



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

El consumo elevado de sacarosa al destete afecta la organización histológica de los tipos de fibras I y II del músculo pubococcígeo en la rata macho

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Carolina Sánchez Sánchez

Directora

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Tlaxcala, Tlax.

Septiembre, 2021



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

El consumo elevado de sacarosa al destete afecta la organización histológica de los tipos de fibras I y II del músculo pubococcígeo en la rata macho

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Carolina Sánchez Sánchez

Comité Tutoral

Directora

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Tutores

Dr. Francisco Castelán

Dra. Dora Luz Corona Quintanilla

Dr. René Zempoalteca Ramírez

Dra. María de Lourdes Arteaga Castañeda

Tlaxcala, Tlax.

Septiembre, 2021

La presente tesis se realizó en el laboratorio de Bioquímica y Metabolismo del posgrado de Maestría en Ciencias Biológicas; registrado en el Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC), en las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para su realización el proyecto fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del apoyo recibido en la beca CONACyT (751648/1011066), y el apoyo al proyecto de investigación (287762) de la Dra. Leticia Nicolás Toledo.

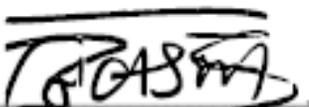


**COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Carolina Sánchez Sánchez** realiza para la obtención del grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“El consumo elevado de sacarosa al destete afecta la organización histológica de los tipos de fibras I y II del músculo pubococcígeo de la rata macho”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., AGOSTO 16 DE 2021



DR. FRANCISCO CASTELAN



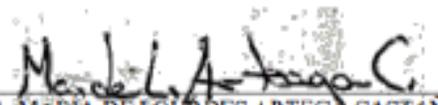
DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO



DRA. DORA LUZ CORONA QUINTANILLA



DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ



DRA. MARÍA DE LOURDES ARTEAGA CASTAÑEDA



**Universidad
Autónoma de
Tlaxcala**

**COMITÉ ACADÉMICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la tesis realizada por la estudiante Carolina Sánchez Sánchez titulada "El consumo elevado de sacarosa al destete afecta la organización histológica de los tipos de fibras I y II del músculo pubococcígeo en la rata macho" para optar por su grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**.

El documento de la tesis de Carolina Sánchez Sánchez fue revisado por mí como directora de tesis antes de presentarse en cada examen tutorial y, posteriormente a los exámenes tutorales, los miembros de su comité tutorial realizaron también sus respectivas observaciones. De manera que el documento, llevó un proceso de revisión por varios profesores expertos en el tema. En el mes de julio, el documento final de la tesis fue procesado con el programa del Turnitin marcando similitud del 12%. Los textos detectados con similitud fueron corregidos por la estudiante. Se volvió a procesar el documento en el mes de agosto marcando 7%. Examinando los detalles de la búsqueda se observó que las similitudes están marcadas en el nombre de la Universidad Autónoma de Tlaxcala y en las secciones del índice y la metodología, correspondiendo a lenguaje común por lo que esta similitud no podría ser considerada como plagio.

Por lo anterior, confirmo que la estudiante no incurrió en ninguna práctica no deseable en la escritura de la tesis.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

CORDIALMENTE

Tlaxcala, Tlax., a 16 de agosto del 2021

**Dra. Leticia Nicolás Toledo
Directora de tesis**

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el amplio programa de estudios de calidad que ofrece a los estudiantes y por el apoyo que el mismo me brindó para la realización de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo otorgado a través de la beca (1011066) para poder llevar a cabo este proyecto.

Le agradezco a la Doctora Leticia Nicolás Toledo del laboratorio de Metabolismo y Reproducción con clave UATLx-CA-237 del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Biomédicas de la UNAM, por brindarme la oportunidad de estudiar y formar parte de su grupo, así mismo por la orientación y los conocimientos aportados al llevar a cabo la realización de este proyecto.

Al Doctor Pablo Pacheco Cabrera, por todos los consejos y la amplia gama de conocimientos que aportó a este proyecto y por el tiempo dedicado al realizar las evaluaciones. Así mismo al Doctor Francisco Castelán por todas sus observaciones, aportaciones y conocimientos aportados. Por último, al Doctor Daniel Omar Lara García por todas las aportaciones que proporcionó, por las correcciones y observaciones realizadas y por todo el conocimiento que aportó al proyecto.

Agradezco a Dios por todo lo que me ha permitido vivir, por guiarme, por permitirme seguir adelante y cumplir mis metas y sueños y por poner en mi vida personas maravillosas que han sido parte importante de mi vida.

De manera particular agradezco a mi asesora la Doctora Leticia Nicolás Toledo por la oportunidad que me dio al poder ser parte de su grupo de trabajo, por el tiempo que me ha dedicado y por todos los conocimientos y momentos que ha compartido conmigo. De igual forma agradezco a todo mi comité tutorial, al Doctor Francisco Castelán, al Doctor Pablo Pacheco Cabrera, y al Doctor Omar Daniel Lara García por todas las aportaciones y el tiempo que realizaron al proyecto.

Agradezco a mi madre Leticia Sánchez Fernández por todo el apoyo que siempre me ha dado, por los consejos tan sabios y sobre todo por el amor que siempre me ha demostrado y que me ha permitido seguir adelante. A mi padre Gacihel Sánchez Morales por el apoyo que siempre me ha proporcionado, por la comprensión y el tiempo que me ha dedicado. Les agradezco a ambos porque su apoyo incondicional me ha permitido seguir mis sueños y cumplir mis metas. A mi hermana Sandra Itzel Sánchez Sánchez por todo el apoyo que siempre me ha dado, por ser un gran ejemplo a seguir y por demostrarme que siempre contare con alguien que me apoya incondicionalmente.

Finalmente agradezco a mis amigos y amigas de los diferentes laboratorios, por todos los buenos momentos que pasamos, a mis compañeros de laboratorio: Yazmín Sánchez Solís, Dennis Vidal y Yanin Santamaria por todo el apoyo y los buenos momentos que pasamos, a Cristhian Neftaly Sánchez Solís por todos los conocimientos que compartí conmigo, por el apoyo, amistad y confianza que me mostró. De manera muy especial y con muchísimo cariño agradezco a Yeimy Mar De León Ramírez por los conocimientos que adquirí de ella en todos estos años, por los momentos que pasamos juntos, por su apoyo, pero en especial le agradezco por la amistad y los consejos que siempre me ha brindado. Por último, agradezco a Vane, Wen, Javier y Nadia por todo su apoyo en el laboratorio y a mi compañero Eliut Pérez Sánchez por todo el apoyo que me ha brindado en especial durante este último año.

Resumen

El consumo de dietas hipercalóricas genera una desestabilización de la función reproductiva derivado del sobrepeso y la obesidad. El tejido muscular es uno de los principales órganos encargados de llevar a cabo la captación y utilización de la glucosa para generar energía, la obesidad y la malnutrición pueden generar enfermedades como resistencia a la insulina que afectan a la musculatura. El músculo pubococcígeo (mPc) depende del metabolismo de los ácidos grasos y la glucosa, posee tres tipos de fibras: oxidativas, glucolíticas y fibras intermedias que se adaptan a los sustratos que se les proporcione. En la rata macho, se sabe que el mPc participa en la micción y la eyaculación; sin embargo, un cambio en el metabolismo muscular podría afectar dichos procesos. Por ello, el objetivo de la presente tesis de maestría fue determinar la relación de consumo de sacarosa sobre la organización de los tipos de fibras musculares, la expresión del transportador Glut 4 y áreas transversales de las fibras del músculo pubococcígeo en la rata macho infante. Analizamos la relación del consumo de sacarosa sobre la organización de los tipos de fibras, la expresión del transportador Glut 4 y las áreas de la sección transversal de las fibras del mPc en la rata macho infante. Se utilizaron 16 ratas Wistar con 21 días de edad. Posteriormente, se asignaron en dos grupos de manera aleatoria: 1) el grupo control tuvo acceso libre a agua simple y una dieta standard Lab-Diet 5001; y 2) al grupo A30 con la misma dieta, pero con libre acceso a una solución de sacarosa al 30% durante 4 semanas. Al día 51 de edad, los animales fueron sacrificados y se les obtuvo bilateralmente el mPc para posteriormente realizar un análisis histológico y bioquímico. Los resultados para el grupo A30 muestran un aumento significativo del área transversal de las fibras musculares ($p < 0.0001$), así como una elevación de los niveles de glucógeno y del transportador Glut 4 muscular ($p < 0.001$, $p < 0.05$), así como un aumento de fibras rápidas, pero una disminución significativa de fibras intermedias y lentas ($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.05$). El consumo de sacarosa genera que el transportador Glut 4 aumente su expresión, así como el contenido de glucógeno muscular. Esto podría estar relacionado con el aumento en el área transversal y distribución de las fibras rápidas del mPc en la rata macho infante; lo cual podría indicar que, desde etapas tempranas, el consumo elevado de sacarosa en los machos modifica la composición de tipo de fibras del mPc y, posiblemente, en etapas adultas los conlleva a disfunciones sexuales masculinas.

Índice

1. Introducción	3
1.1 Sobrepeso y obesidad	5
1.2 Sistema muscular	6
1.3 Desarrollo del músculo estriado	7
1.4 Organización celular de las fibras musculares	9
1.5 Huso muscular	11
1.6 Células satélites	13
1.7 Tipos de fibras musculares	14
1.8 Mecanismo de contracción muscular	16
1.9 Características metabólicas del músculo	17
1.10 Músculo pubococcígeo	20
2. Antecedentes	21
3. Justificación	22
4. Hipótesis	24
5. Objetivo general	24
5.1 Objetivos específicos	24
6. Metodología	25
6.1 Manejo de los animales	25
6.2 Extracción de los músculos Pubococcígeos.	25
6.3 Determinación de glucógeno muscular	25
6.4 Detección del transportador GLUT 4 por Western Blot	26
6.5 Tinción ATPasa del músculo pubococcígeo	26
6.6 Cuantificación del área de las fibras musculares	27
6.7 Análisis estadístico	27
7. Resultados	28
7.1 Contenido de Glucógeno	28
7.2 Determinación del transportador Glut 4.	28
7.3 Determinación del tipo de fibra de acuerdo a la técnica de ATPasa	29

7.4 Área de las fibras musculares	31
7.5 Área de las fibras musculares relacionadas al número de núcleos encontrados	34
8. Discusión	35
9. Conclusión	37
10. Perspectivas	37
11. Bibliografía	38
12. Glosario.	42
13. Anexos	43
14. Publicaciones.	45

1. Introducción

El músculo estriado es un tejido que para su adecuado funcionamiento depende completamente del metabolismo de biomoléculas de naturaleza lipídica (ácidos grasos) y de moléculas de glucosa; debido al tipo de fibras que lo conforman. El tipo de fibras musculares puede clasificarse de acuerdo a su metabolismo y son fibras oxidativas (tipo I), glucolíticas (tipo II) y fibras intermedias (IIa). Las fibras de tipo IIa poseen la capacidad de adaptarse a la cantidad de contracción que realiza la musculatura y cambiar su metabolismo, esto dependerá del sustrato que se proporcione (Friedman 2002; Boffi 2008). Esto es sí la concentración de glucosa es alta, el músculo puede modificar el metabolismo de las fibras IIa y convertirlas en I o glucolíticas (Friedman 2002). Sin embargo, dependiendo la función que tenga cada tipo de músculo será el tipo de fibra muscular que lo conforme; por ejemplo, las fibras oxidativas son fibras lentas con una alta resistencia a la fatiga el cual permite que se realicen actividades por periodos prolongados de tiempo. Por otra parte, las fibras glucolíticas son fibras rápidas con una baja resistencia a la fatiga, el cual impide que se realicen actividades por un periodo de tiempo prolongado (Heredia 2013). Sin embargo, cambios en la dieta de los individuos, como el elevado consumo de carbohidratos, podría alterar el metabolismo muscular, como el aumento o disminución de fibras glucolíticas. Para ello, el estudio en modelos animales como la rata resulta importante.

En las ratas el piso pélvico es un sistema complejo que se encuentra formado por ligamentos y músculos estriados con control voluntario o somático, también contiene tejido conjuntivo denso que brinda soporte y suspensión a todos los órganos del sistema urinario, reproductivo y digestivo, así como a ligamentos, arcos tendinosos, etc. (Do Carmo, y cols. 2011). Se ha descrito, que el principal músculo que compone el piso pélvico es el músculo elevador del ano o *Levator ani (LA)* cuya función principal es soportar las vísceras pélvicas y participar en funciones excretoras y sexuales. A su vez se encuentra formado por tres músculos: el iliococcígeo, el puborrectal y el pubococcígeo (mPc) (Wagenlehner y cols. 2010). Do Carmo y cols en el 2011 realizó una inspección anatómica en ratas macho, la cual mostró la presencia del músculo *LA*, el músculo isquiocavernoso (IC) y bulbocavernoso (BC) (figura 1). En la rata macho el *LA* es un músculo único macroscópicamente visible que rodea el recto (Do Carmo y

cols. 2011). De manera particular en la rata macho el mPc participa en el proceso de micción (Manzo y cols., 1997) y reflejos de eyaculación (Manzo y cols. 1995, Xicohténcatl-Rugiero y cols. 2015), lo que sugiere que un cambio en el metabolismo de las fibras que lo componen podría afectar estos procesos. De León y cols. (artículo en proceso) han demostrado en ratas adultas que el consumo de una dieta alta de sacarosa afecta el patrón copulatorio analizado por el número de montas, intromisiones y eyaculaciones, lo que sugiere que la musculatura del piso pélvico pudiera ser afectada por la dieta alta en carbohidratos. Resulta importante determinar la relación del consumo de sacarosa sobre la organización de los tipos de fibras rápidas, intermedias y lentas, la expresión de Glut 4 y áreas transversales de las fibras del músculo pubococcígeo en la rata macho infante.

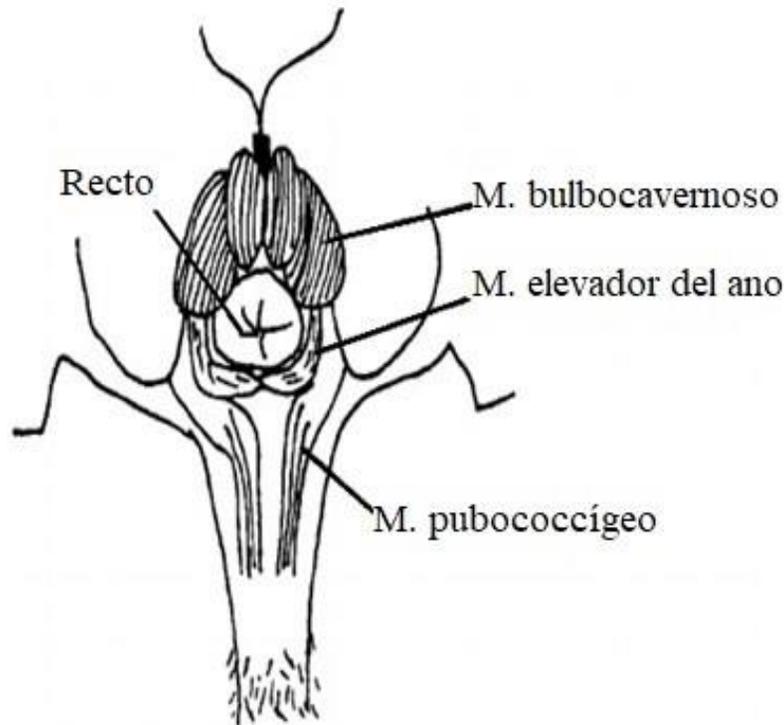


Figura 1. Músculos del piso pélvico en la rata macho. Vista dorsal de los músculos del piso pelvico. Imagen obtenida y modificada de (tomado de Poortmans y Wyndaele 1998).

1.1 Sobrepeso y obesidad

La obesidad y el sobrepeso se definen como una acumulación excesiva de tejido adiposo que genera un daño en la salud. De acuerdo con la organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2016 en el mundo más de 1900 millones de adultos y 340 millones de niños y adolescentes padecían de sobrepeso u obesidad. La organización mundial de la obesidad (WOF) considera que para el año 2030 en México habrá más de seis millones de infantes que serán obesos. En México en el año 2018 la prevalencia de estos padecimientos (figura 2) en la población de edad escolar fue de 35.6%, así mismo se ha reportado que la dieta de los infantes se basa en un 85.7% en el consumo de bebidas azucaradas no lácteas (ENSANUT 2018).

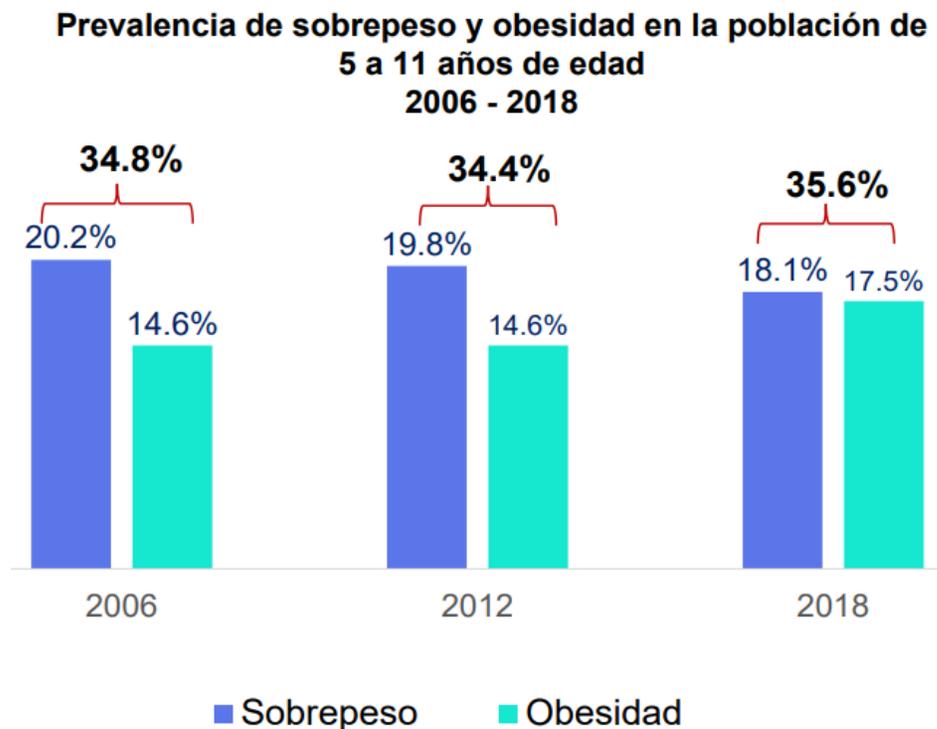


Figura 2. Prevalencia de sobrepeso y obesidad (tomado de ENSANUT, 2018).

El aumento de los niveles circulantes de glucosa produce cambios metabólicos, que son reflejados a nivel de hígado, páncreas y testículo. De manera particular, la obesidad ha sido asociada a una disminución del deseo sexual y problemas de disfunción eréctil, así como con problemas en la fertilidad, ya que disminuye las concentraciones de testosterona a medida que la obesidad se agrava con un aumento en las concentraciones de estrona y estradiol (Strain y

cols. 1982; Zumoff y cols. 1990). Este aumento de los niveles de glucemia puede conducir a la generación de especies reactivas de oxígeno, lo cual podría generar daño en los tejidos y la alteración de la función reproductiva (Ferández y cols. 2011).

En humanos se ha mostrado la correlación entre el aumento del índice de masa corporal (IMC) con baja calidad del semen, disminución en la concentración y motilidad normal de los espermatozoides, el mecanismo para esto es muy posible que incluya, algún tipo de alteración del perfil hormonal reproductivo (Pasquali y cols. 2007). Aunado a esto, el exceso de peso corporal se ha asociado con una disminución de la concentración de testosterona, así como de gonadotropinas y la capacidad de la globulina como hormona transportadora (Khaw y Barrett-Connor 1992). Una de las principales complicaciones del aumento del IMC es la diabetes mellitus, y en la última década se ha observado un aumento en el número de hombres obesos con diabetes mellitus tipo 1 ó 2 (Moreno-Altamirano y cols. 2014; Rojas-Martínez y cols. 2018). Aun cuándo se sabe que la diabetes mellitus es la causa de diversas modificaciones que reducen la tasa de fertilidad, el mecanismo por el cuál esto ocurre aún es desconocido y constantemente se encuentra en debate (Kaufman y Vermeule 2005).

El músculo *LA* tiene una apariencia similar a la forma de un “embudo” cuando se encuentra en reposo, cuando se genera una contracción, este músculo se pone horizontal y se eleva formando un ángulo el cual genera que las heces no puedan pasar con facilidad desde el recto hasta el ano, finalmente éste se relaja y estira de manera coordinada durante el proceso de defecación generando un descenso de la unión anorectal y posteriormente se genera una alineación del recto con el conducto anal para permitir el proceso de evacuación. Por otro lado, el haz iliococcígeo se inserta en la sínfisis púbica, específicamente en las regiones laterales y en el arco tendinoso del *LA* (Do Carmo y cols. 2011). Por otro lado, el mPc es bilateral y tiene una forma triangular debido a que en su origen es más amplio que en su sitio de inserción, puede ser dividido en porción anterior y posterior (Manzo y cols. 1997).

1.2 Sistema muscular

Al conjunto de músculos que existe en el organismo se le llama sistema muscular, la principal función de este sistema es la de producir movimiento, generar equilibrio para que el cuerpo mantenga estable la postura, generar calor, proteger y regular el volumen de los órganos

internos, en los humanos la musculatura estriada comprende cerca del 40% del peso total del cuerpo, es de naturaleza heterogénea y es el sitio principal para la utilización de ácidos grasos y glucosa, además contiene del 50 al 75% de todas las proteínas que el organismo requiere (Frontera y Ochala 2015). Histológicamente este tejido en humanos está compuesto por células polinucleadas denominadas fibras musculares, que tienen un aspecto alargado y cilíndrico, un diámetro aproximado de 10 a 100 micrómetros y una longitud de hasta 15 cm (Gal y cols. 2007). Podemos encontrar tres diferentes tipos de tejido muscular:

1. Tejido muscular estriado. Es un tipo de musculatura voluntaria, capaz de contraerse voluntariamente, posee una gran cantidad de fibras musculares que forman haces de fibras rodeadas por una capa de tejido conjuntivo denominado perimisio, y en su totalidad se encuentra rodeado por una capa denominada epimisio, que conforman a los músculos estriados.
2. Tejido muscular liso. Es un músculo visceral e involuntario, es decir que su contracción no está bajo el control de la voluntad, este tipo de musculatura se puede encontrar rodeando las paredes de vasos sanguíneos y linfáticos, a lo largo del tracto gástrico, el sistema respiratorio, urinario y el útero.
3. Tejido muscular cardíaco. Esta musculatura se localiza únicamente las paredes del corazón, contiene láminas de tejido conectivo entrelazadas con las capas de fibras musculares y las células contráctiles, estas láminas contienen vasos sanguíneos, nervios y es parte del sistema de conducción del corazón (Tortora y Derrickson 2013).

1.3 Desarrollo del músculo estriado

El desarrollo del músculo estriado durante el periodo fetal es de vital importancia debido a que no se puede producir un aumento en la concentración de fibras musculares después del nacimiento (Yan y cols. 2011), el desarrollo durante la etapa fetal implica varios procesos, los más importantes son la miogénesis, adipogénesis y fibrogénesis (Figura 3; Du y cols. 2010).

Las células musculares esqueléticas derivan de las células madre mesenquimales (MSC), y necesitan de la expresión de factores de transcripción como los factores PAX3 y PAX7 que son necesarios para que una porción de MSC se conviertan en células progenitoras miogénicas, las cuales a su vez se diferenciarán en mioblastos y posteriormente en miotúbulos; el desarrollo

de la musculatura estriada se puede dividir en tres etapas: la etapa embrionaria o primaria, fetal o secundaria y postnatal (Frontera y Ochala 2015). Durante la etapa secundaria se forman la mayoría de las fibras musculares a través del proceso de miogénesis, el cual es un proceso fundamental durante el desarrollo de los músculos pues es un paso crucial para la reparación de los músculos durante la vida adulta. Luo y colaboradores (2019) demostraron que los aumentos en los niveles de glucosa durante el proceso de miogénesis genera una inhibición de la diferenciación miogénica, el cual se correlacióna con una disminución de la regeneración celular.

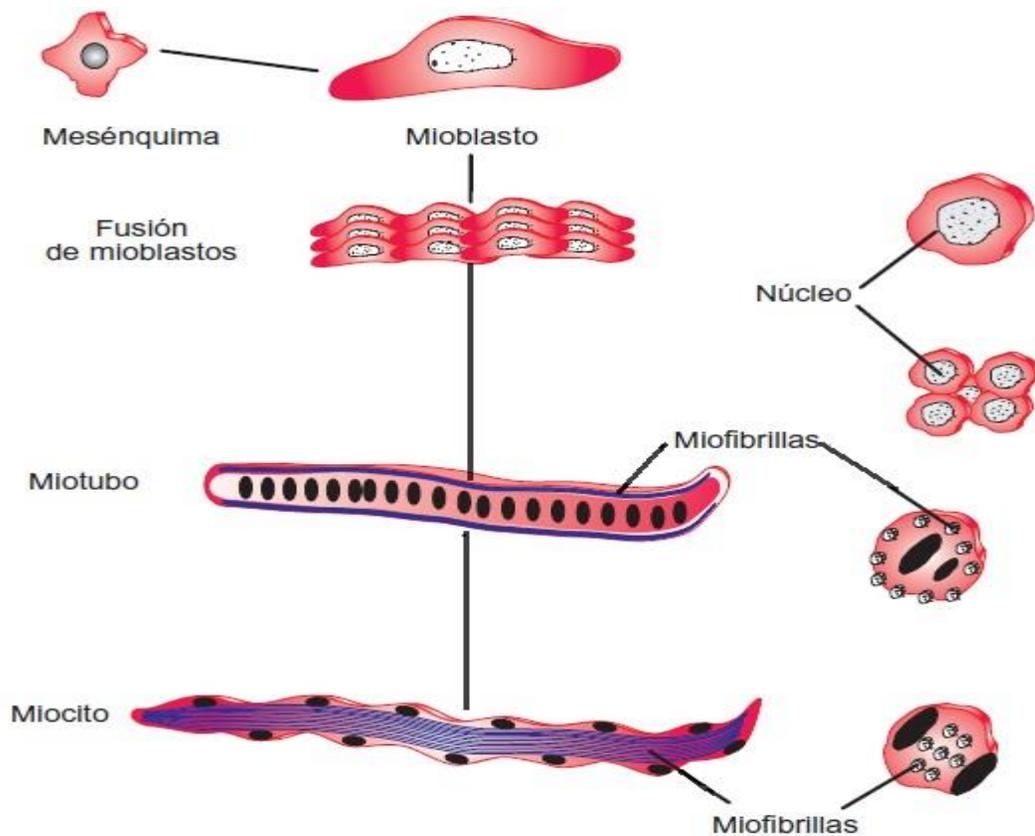


Figura 3. Desarrollo de una fibra muscular. El desarrollo de una fibra muscular se puede dividir en 3 fases: Fase 1, las células fusiformes poseen un único núcleo; Fase 2, Los mioblastos se fusionan y se entrelazan para generar una cadena central mientras que los miofilamentos rodean la periferia; Fase 3, Los núcleos se sitúan en una posición periférica, mientras que los miofilamentos se sitúan en la zona central (tomado de Navarro 2013).

1.4 Organización celular de las fibras musculares

El tejido muscular se encuentra formado por un conjunto de células especializadas que tienen la capacidad de extenderse sobre su eje de contracción y de generar fuerza contráctil a partir de energía química. Poseen una membrana plasmática conocida como sarcolema o membrana muscular que desempeña un papel muy importante al ser permeable a diversos iones y compuestos a partir de los cuales se genera energía mediante la acción metabólica (Ciciliot y Schiaffino 2010). Las células madre adultas del músculo estriado conocidas como células satélites participan en el crecimiento, reparación y regeneración de la musculatura, se localizan entre el sarcolema y la lámina basal del músculo estriado, el citoplasma de las fibras musculares es denominado sarcoplasma, en él se encuentran dispersos los gránulos de colágenos y muchas mitocondrias (figura 4), las cuales son organelos responsables de la generación de energía a través de la formación de moléculas de ATP que son utilizadas por las fibras musculares para generar la contracción. Por otro lado, el glucógeno es una molécula de reserva de energía que se obtiene a partir de glucosa y diversas biomoléculas a través de procesos como la fosforilación oxidativa (Scchiaffino y Reggiani 2011).

Las miofibrillas son estructuras fundamentales para la producción de contracción muscular debido a que están formadas por un conjunto de proteínas de naturaleza contráctil y elástica y bandas en disposición transversal que son zonas en las cuales se apilan los microfilamentos longitudinales, estas bandas pueden ser: bandas A o anisótropas que no permiten que pase la luz, este tipo de bandas presentan dos zonas, una clara llamada zona H y una central o línea M. Las bandas isótropas (I) permiten el paso de la luz y contienen una zona oscura llamada línea Z. Estos microfilamentos son los encargados de generar la base del sistema de contracción de las fibras musculares (Gal y cols. 2007).

La unidad contráctil de las fibras musculares se denomina sarcómero, y está formado por diversas proteínas que ayudan a preservar la estructura y el acoplamiento del citoesqueleto a los procesos de excitación y contracción y participa en la liberación de energía (Greising y cols. 2012). Esta estructura se encuentra entre dos líneas Z, y se pueden distinguir dos tipos de filamentos proteicos: los delgados formados por actina cuya estructura es una doble hélice; sin embargo, cada filamento es un conjunto de monómeros de actina; y los filamentos gruesos de miosina que se encuentran formados por 400 moléculas de miosina, y a su vez, cada una de estas

moléculas está formada por una doble hélice de cadenas proteicas, estas cabezas sobresalen y conectan ambos tipos de filamentos en 6 diferentes direcciones (Gal y cols. 2007). Ambos tipos de filamentos comprenden del 70 al 80% de proteínas totales contenidos en una sola fibra (Frontera y Ochala 2015).

La titina y la nebulina son otras proteínas musculares que poseen propiedades mecánicas y fisiológicas (Greising y cols. 2012). La principal función de la titina es adherirse al disco Z del sarcómero para poder estabilizar y alinear el filamento grueso de miosina. Mientras que la nebulina a través de la integración con los filamentos delgados de actina ayuda a mantener la tensión pasiva, las características de rigidez y la señalización de las células musculares (Frontera y Ochala 2015). El retículo endoplasmático liso de las células de la musculatura estriada es llamado retículo sarcoplásmico. Éste es una estructura muy extensa y se dispone abrazando a cada miofibrilla, dentro de su interior contiene calcio, el cual es necesario para generar el proceso de contracción muscular, por lo tanto, es responsable del almacenamiento y recaptura de calcio después de la activación; asociado a esta estructura se encuentran los túbulos transversos o túbulos T (Figura 4), estas estructuras se encuentran en contacto con el exterior de la células y permiten que los potenciales de acciones, que se encuentran en la parte superior de las fibras musculares entren al interior de la célula y se aseguran de que la excitación que se genera pueda extenderse de manera uniforme por toda la fibra gracias a la acción de la proteína disferlin; proteína sensible a los cambios en las concentraciones de calcio (Frontera y Ochala 2015).

Derivado de la fascia se genera el tejido conectivo que es una capa que separa, rodea y protege al músculo de la piel, a partir de esta estructura se generan tres capas de tejido conectivo cuya función es proteger el tejido muscular: El epimiso es la primera capa y la más externa, su función es la de envolver al músculo en su totalidad y sujetarlo al hueso correspondiente a través de sus extremos (Gal y cols. 2007); La segunda capa se denomina perimiso y se encarga de rodear y crear grupos de entre 10 y 100 fibras musculares: la tercera capa se denomina endomiso y es la encargada de rodear y unir a las fibras musculares (Scchiaffino y Reggiani 2011).

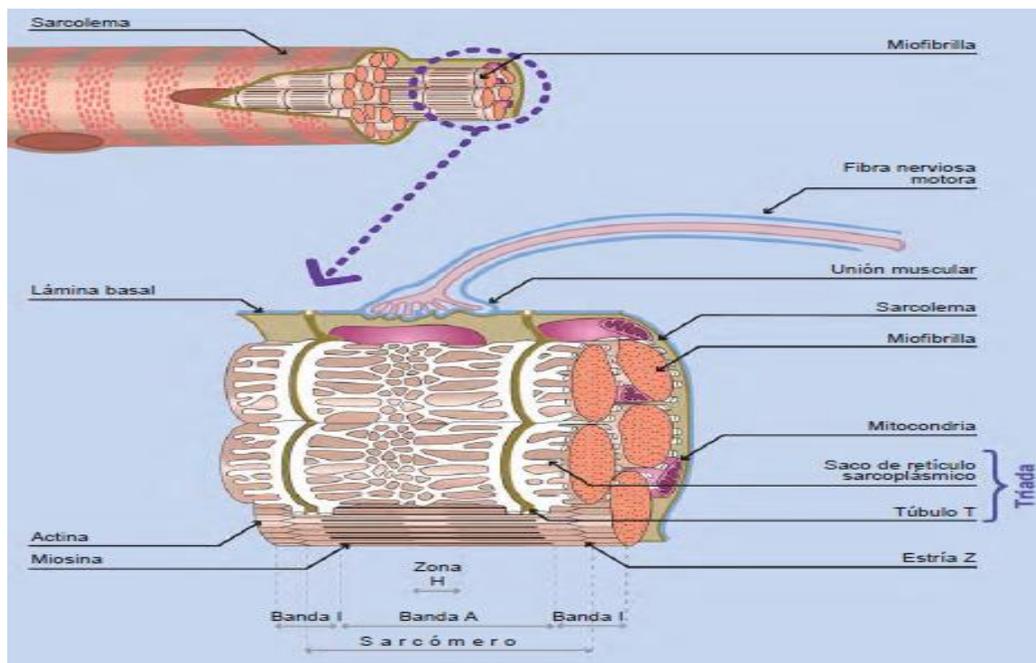


Figura 4. Diagrama de los componentes de una fibra muscular. En la imagen se observa la estructura detallada de una fibra muscular esquelética (tomado de Navarro 2013).

1.5 Huso muscular

Los husos musculares son receptores encapsulados, fusiformes, que se encuentran dispersos entre las fibras de la musculatura estriada, su tamaño varía de los 5 a 10 milímetros de longitud, están formados por un grupo pequeño de fibras extrafusales envueltas en tejido conectivo en forma de capsula. Se inervan por medio de los axones provenientes de las motoneuronas gamma, los husos musculares son los encargados de regular la longitud de las células musculares mediante un mecanismo de retroalimentación. Es decir, cuando se genera un estiramiento aumenta la descarga del huso muscular lo cual genera un acortamiento de acción refleja; de manera contraria si la musculatura se acorta la descarga disminuye y el músculo se relaja nuevamente (Matthews 1981).

Las motoneuronas gamma se localizan en la médula espinal, específicamente en el asta anterior intercaladas entre las motoneuronas de mayor tamaño, denominadas alfa, las cuales inervan fibras extrafusales, que a su vez activan el mecanismo de contracción muscular. Este mecanismo puede ser activado de maneras indirectas a través de las motoneuronas gamma por medio del reflejo miotático (Bolaños-Jiménez y cols. 2011).

Los husos neuromusculares están asociados a fascículos de fibras musculares estriadas o fibras extrafusales, va a contener dos cápsulas que se encargarán de brindar protección y soporte a las estructuras: la primera cápsula está compuesta por una capa de tejido conjuntivo irregular y denso que se encarga de rodear el espacio intrafusar donde se encuentra el líquido intersticial; una capsula más interna cuya función es cubrir a las células musculares modificadas conocidas como fibras intrafusales, a los capilares y a las fibras nerviosas (figura 5), las fibras nerviosas sensoriales aferentes rodean en forma de espiral a las fibras intrafusales y conforman las terminaciones sensoriales primarias (Ia). Además, las terminaciones nerviosas secundarias (II) se encuentran compuestas por fibras nerviosas motoras eferentes que envuelven a las fibras intrafusales (Gartner 2008).



Figura 5. Descripción de un huso muscular. Corte transversal de músculo esquelético teñido con hematoxilina-eosina a 40X. A. Huso muscular; B. Fascículo muscular; C. Perimysio; 1. Fibras intrafusales; 2. Cápsula del huso neuromuscular; 3. Espacio intrafusar; 4. Célula de Schwann de un axón mielinizado aferente; 5. Fibra muscular estriada esquelética extrafusar (obtenido de Moreno 2015).

Existen dos formas diferentes de fibras intrafusales: Un primer tipo de fibras dinámicas que se encuentran en la bolsa nuclear que son grupos pequeños de fibras (generalmente de dos a cuatro fibras) con núcleos centrales y redondeados, estos grupos de fibras se encuentran encapsulados en bolsas no contráctiles inervados por una motoneurona gamma dinámica. Por otro lado, las fibras estáticas de cadena nuclear son más grandes y encapsulan de seis a ocho fibras en forma de cadena, sus núcleos también se encuentran organizados en forma lineal en la

región central de las fibras y su inervación es a través de una motoneurona gamma estática (Moreno 2015). Ambos tipos de fibras interactúan con las terminaciones nerviosas, así cuando se produce un estiramiento de la musculatura, las fibras intrafusales envían información desde el huso muscular a las fibras nerviosas de la médula espinal, esta última recibe la información y se encarga de enviar un impulso hacia el huso muscular, para que éste pueda regular la actividad de las unidades motoras y se pueda mantener la integridad del músculo (Gartner 2008).

1.6 Células satélites

La célula satélite son células alargadas, cuyo citoplasma es escaso y sus núcleos son escasos, están yuxtapuestas a las fibras musculares y se encuentran por debajo de la lámina basal, las principales funciones de las células satélite son las de proporcionar mantenimiento, reparación y crecimiento a las fibras del músculo esquelético, se pueden encontrar de dos maneras:

- Células satélite activas: estas células en respuesta a estímulos como lesiones o estrés generado por cargas excesivas de peso pueden ingresar al ciclo celular, sus células miogénicas precursoras necesitan diferenciarse varias veces antes de poder fusionarse, y una vez que se encuentran diferenciadas son capaces de generar como progenie células satélite en forma inactiva que participan en el proceso de regeneración muscular (McKinnell y cols. 2005; Grau y cols. 2007).
- Células satélite inactivas: son células no diferenciadas y mononucleadas que se caracterizan principalmente por el espacio agrandado que poseen en el espacio nuclear-citoplasmático, el cual contiene un pequeño número de ribosomas y mitocondrias, un núcleo pequeño, pero con una alta concentración de heterocromática inactiva, estas células mantienen su actividad metabólica en estado basal igual que su actividad mitótica y transcripcional (Grau y cols. 2007).

Las células satélite, generalmente, se encuentran en forma inactiva en espera a un estímulo como el daño muscular, el cual genera que estas células se activen y puedan proliferar y fusionar su membrana con el sarcolema de las fibras musculares que se encuentren dañadas, reparando así la lesión, por otro lado, si el daño muscular es muy extenso las células satélite no participan en el proceso de reparación, pues ésta se lleva a cabo a través de la actividad de los fibroblastos

que son capaces de generar una cicatrización a través de la producción de fibras de colágeno (Gartner 2008).

El mantenimiento de homeostasis de la musculatura estriada es dependiente del factor transcripcional Pax7 que es expresado por las células satélite. Seale y cols. (2000) observaron que el número de células satélites disminuía en animales en donde la expresión de Pax7 había sido suprimida, y no se lograba una buena diferenciación en mioblastos, lo cual generó una distrofia muscular. En adultos la expresión de Pax7 se vuelve deficiente y se disminuye la capacidad de regeneración muscular, así como el diámetro de las fibras musculares (Seale y cols. 2000; Avila y cols. 2019).

1.7 Tipos de fibras musculares

Los miocitos son las células que componen a la musculatura estriada. También son células multinucleadas especializadas en la producción de contracción, transmisión de fuerza y en la generación de movimientos a través del desplazamiento de segmentos corporales, la histología de estas células varía dependiendo del músculo que conforman, en general son fibras cilíndricas y de longitud variable, la fuerza que ejercen es determinada dependiendo del diámetro que posean y su velocidad de contracción está determinada por su longitud (Scott y cols. 2001).

Las fibras musculares se pueden clasificar a través de diversas técnicas generando varios sistemas de clasificación como: el tipo de contracción que pueden realizar, el metabolismo que posean, la isoforma de las cadenas pesadas de miosina o de la coloración de las fibras, el enrojecimiento es el resultado de altas cantidades de mioglobina y un alto contenido capilar lo que contribuye a que las fibras tengan una capacidad oxidativa alta (Scott y cols. 2001). De acuerdo a esas características se les agrupa en tres principales grupos:

Fibras de tipo I: Poseen un mecanismo de contracción lento, su coloración es rojiza debido al alto contenido de mioglobina, se encuentran en mayor concentración en los músculos rojos, tienen un diámetro disminuido y contienen un elevado número de células mitocondriales y poca acumulación de glucógeno, debido a esto son capaces de oxidar sustratos energéticos como los carbohidratos y los ácidos grasos, este tipo de musculatura se caracteriza por tener una alta resistencia a la fatiga debido a que el proceso de oxidación mitocondrial es tardado lo cual permite realizar tareas de intensidad baja-media o ejercicios poco energéticos y por un periodo

de tiempo prolongado (Scchiaffino y Reggiani 2011). Debido a estas características, los músculos lentos son capaces de generar el ATP que se necesita durante el proceso mitocondrial oxidativo, de igual forma tienen un bajo consumo energético durante la actividad contráctil permitiéndole llevar a cabo dicho proceso durante periodos prolongados sin fatigarse, así mismo poseen la isoforma MCH I la cual los hace más adecuados para la realización de actividades de baja intensidad y larga duración (Ciciliot y Schiaffino 2010).

Fibras de tipo IIb: Poseen un mecanismo de contracción rápida, tienen poco contenido de mioglobina y están poco vascularizadas, por ello, el aspecto de estos músculos es pálido y sus fibras son conocidas como fibras blancas, tienen un diámetro extenso, poco contenido mitocondrial y un alto contenido de glucógeno, el cual genera que este tipo de maculatura tenga poca resistencia a la fatiga, sin embargo, son músculos muy potentes, por lo tanto, suelen participar en ejercicios breves pero con mucha intensidad, ya que sus fibras consumen los sustratos de manera rápida, generando que se obtenga una disminución en la producción de moléculas de ATP, además durante la generación de energía, las fibras musculares producen ácido láctico disminuyendo la eficiencia de la contracción muscular, este tipo de fibras poseen la isoforma MHC II que genera contracciones rápidas y de mayor fuerza (Rosero y cols. 2015).

Fibras de tipo IIa: Este tipo de fibras se conoce como intermedias debido a que su función varía dependiendo del músculo y el individuo, estas fibras varían en proporción (rápidas/lentas) según el entrenamiento, tipo de ejercicio y sustrato que se les proporcione, pueden cambiar a fibras de tipo I o fibras lentas si los ejercicios que se realizan son prolongados y moderados, sin embargo, si la realización de los ejercicios se modifica a breves e intensos las fibras pueden modificarse a fibras de tipo II o fibras rápidas (Scott y cols. 2001; Scchiaffino y Reggiani 2011; Tabla 1), este tipo de fibras posee la isoforma MHC IIa (Rosero y cols. 2015).

Características	Tipo I	Tipo II	Tipo IIA
<i>Diámetro</i>	Pequeño	Intermedio	Grande
<i>Contenido de mioglobina</i>	Alto	Intermedios	Bajo
<i>Capilares</i>	Muchos	Intermedio	Pocos
<i>Sistema energético predominante</i>	Aerobio	Aerobio/anaerobio	Anaerobio
<i>Resistencia a la fatiga</i>	Alta	Intermedia	Baja
<i>Velocidad de contracción</i>	Lenta	Rápida	Rápida
<i>Potencia</i>	+	++	+++
<i>Resistencia</i>	+++	++	+

Tabla 1: Características principales de las fibras musculares. Se observan las características de las fibras musculares de los diferentes tipos (+) bajo, (++) intermedio y (+++) alto (Scott y cols. 2001).

1.8 Mecanismo de contracción muscular

El proceso por el cual se lleva a cabo la contracción muscular se genera a través de la coordinación de dos procesos que en conjunto generan fuerza: el primer proceso comienza con la entrada del potencial de acción a la membrana de las fibras musculares a través del Túbulo T, generando la despolarización de la membrana celular a la triada, donde el túbulo T se encuentra muy cerca del retículo sarcoplasmático de manera específica en las cisternas terminales, generando una liberación de iones de calcio que se encuentran almacenados. El segundo proceso comienza con la unión de estos iones a moléculas de troponina, lo cual produce un cambio en la conformación celular generando que estas proteínas se desplacen con respecto a las moléculas de actina, seguida de una interacción entre las cabezas de actina y miosina, lo que forma los puentes cruzados y produce una hidrólisis de ATP para generar ADP y piruvato, provocando que las líneas Z se acerquen y produzcan contracción muscular. Este proceso puede repetirse varias veces hasta que la concentración de calcio disminuya al no recibir el estímulo nervioso (Figura 6; Frontera y Ochala 2015; Rebbeck y cols. 2014).

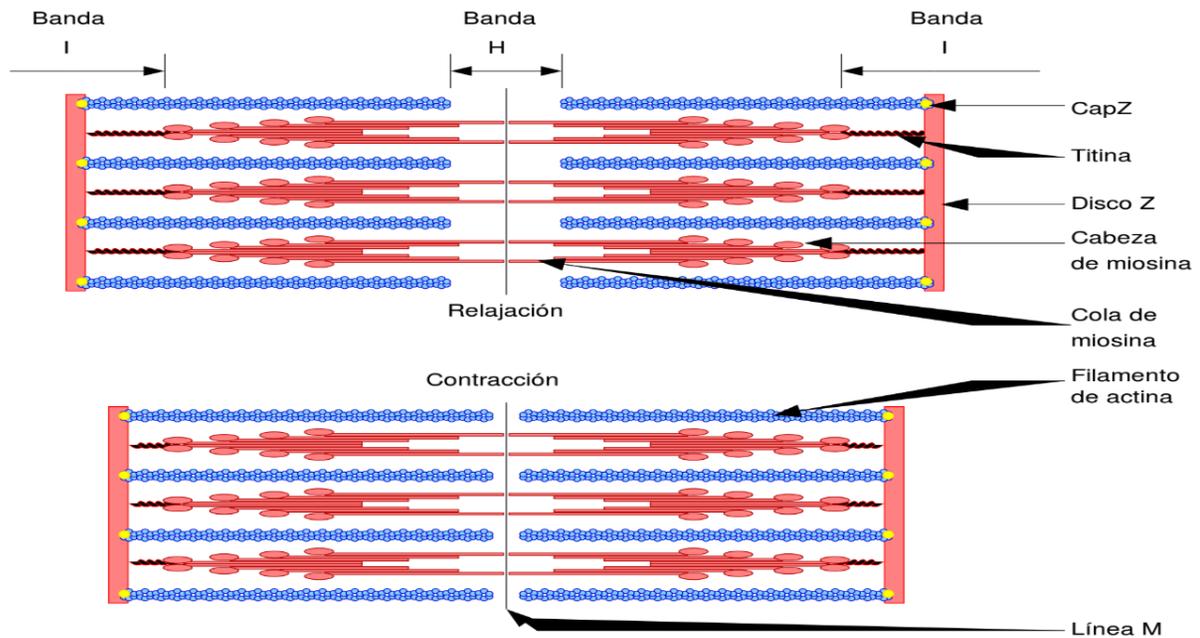


Figura 6. Visualización de las bandas de actina y miosina durante la contracción muscular. ATP (Adenosintrifosfato), Ca (Calcio) y Mg (magnesio).

1.9 Características metabólicas del músculo

La musculatura estriada cumple con diversas funciones en el organismo, sin embargo, considerando solo el proceso metabólico, la función principal del sistema muscular es contribuir al metabolismo energético, funcionando como un almacén de sustratos importantes para el organismo como aminoácidos e hidratos de carbono que proporcionan calor y mantienen la temperatura corporal regulada, durante la actividad física la musculatura ayuda a mantener estables los niveles de oxígeno, también es un órgano de vital importancia durante periodos de inanición, ya que a través del consumo de los aminoácidos almacenados por parte de la musculatura se genera glucosa (Frontera y Ochala 2015). Su metabolismo puede ser: aeróbico, es decir, que las fibras musculares son capaces de oxidar completamente los sustratos que se le proporcionen produciendo CO_2 y H_2O . Las fibras musculares, también, pueden poseer un metabolismo anaeróbico, cuyo producto final es la producción de lactato. Durante este proceso las moléculas de glucógeno son degradadas hasta formar piruvato y en lugar de continuar con la ruta oxidativa mitocondrial, el piruvato forma ácido láctico a través de la acción de la enzima lactato deshidrogenasa, durante este proceso los ácidos grasos proporcionan el suministro de acetil-CoA que es el sustrato de los procesos oxidativos mitocondriales (Peter y cols. 1972).

Las fibras musculares tienen diversas maneras en cuanto a la capacidad de generar ATP, ya sea mediante el metabolismo oxidativo o glucolítico (Figura 7). El proceso que se lleva a cabo durante la glucólisis anaeróbica conduce a la formación de piruvato y a la generación de 2-3 mol de ATP/ mol de glucosa que se consume, esta molécula de glucosa puede ser obtenida del glucógeno almacenado en la musculatura y su concentración es mayor en las fibras de contracción rápida, un aumento en los niveles de AMP e IMP activa la descomposición de las moléculas de glucógeno para poder iniciar la actividad contráctil (Chasiotis 1983). Las fibras de contracción rápida poseen una mayor actividad glucogenolítica, es decir, que pueden sintetizar ATP a una velocidad mayor que las fibras lentas debido a que poseen una mayor concentración de fosforilasa, y a la estimulación inducida por un aumento en las concentraciones de AMP e IMP, el agotamiento en las concentraciones de glucógeno durante la actividad contráctil depende del tipo de fibra muscular, en condiciones fisiológicas de contracción el factor que regula la cantidad de glucógeno que se metaboliza está determinado por la secuencia de reclutamiento de la unidad motora, y no por las propiedades intrínsecas de la fibra. Una vez que las reservas de glucógeno han sido consumidas comienza nuevamente el proceso para la síntesis de nuevas reservas. La actividad de la enzima lactato deshidrogenasa en conjunto con el glicerol-3-fosfato permite que se lleve a cabo de manera rápida la oxidación de NADH producida por el proceso de glucólisis, por otro lado, los niveles elevados de fosfofructoquinas/fructosa-bisfosfatasa 3 por parte de las fibras de contracción rápida permiten la generación de fructosa-2,6-bisfosfato que actúa como un potente activador de la glucólisis (Chiatotis y Hultman 1983). La generación de energía por parte de las mitocondrias necesita de altas concentraciones de oxígeno para llevarse a cabo, pues es el encargado de viajar a lo largo de los gradientes de presión, a diferencia de las fibras de contracción rápida, las fibras lentas contienen una mayor concentración de lípidos (Gollnik y cols. 1981).

La diversidad de las fibras de la musculatura estriada es fundamental ya que permite la realización de diversas tareas, que pueden ir desde actividades de baja intensidad como mantener la postura corporal hasta generar contracciones fuertes y potentes, esta diversidad entre las fibras musculares está dada por la plasticidad muscular, es decir todas las propiedades estructurales y funcionales de cada fibra, estas propiedades pueden cambiar en respuesta a estímulos hormonales y neuronales (Ciciliot y Schiaffino 2010).

Una característica importante de la musculatura estriada es la capacidad que posee de generar cambios radicales y repentinos en cuanto al consumo de energía que se produce al pasar de un estado de reposo a generar actividad contráctil, la producción de ATP mediante el proceso de glucolisis sirve para realizar acciones musculares durante periodos cortos de tiempo. Sin embargo, si se mantiene este proceso por periodos prolongados el lactato producido por la glucolisis genera un deterioro de las funciones musculares, el cual ha sido asociado con el proceso de fatiga muscular, para la realización de actividades de baja intensidad durante periodos prolongados es necesario obtener energía mediante el proceso de fosforilación oxidativa llevado a cabo en las células mitocondriales, mediante transporte de oxígeno a través de capilares al interior de las fibras musculares (Frontera y Ochala 2015).

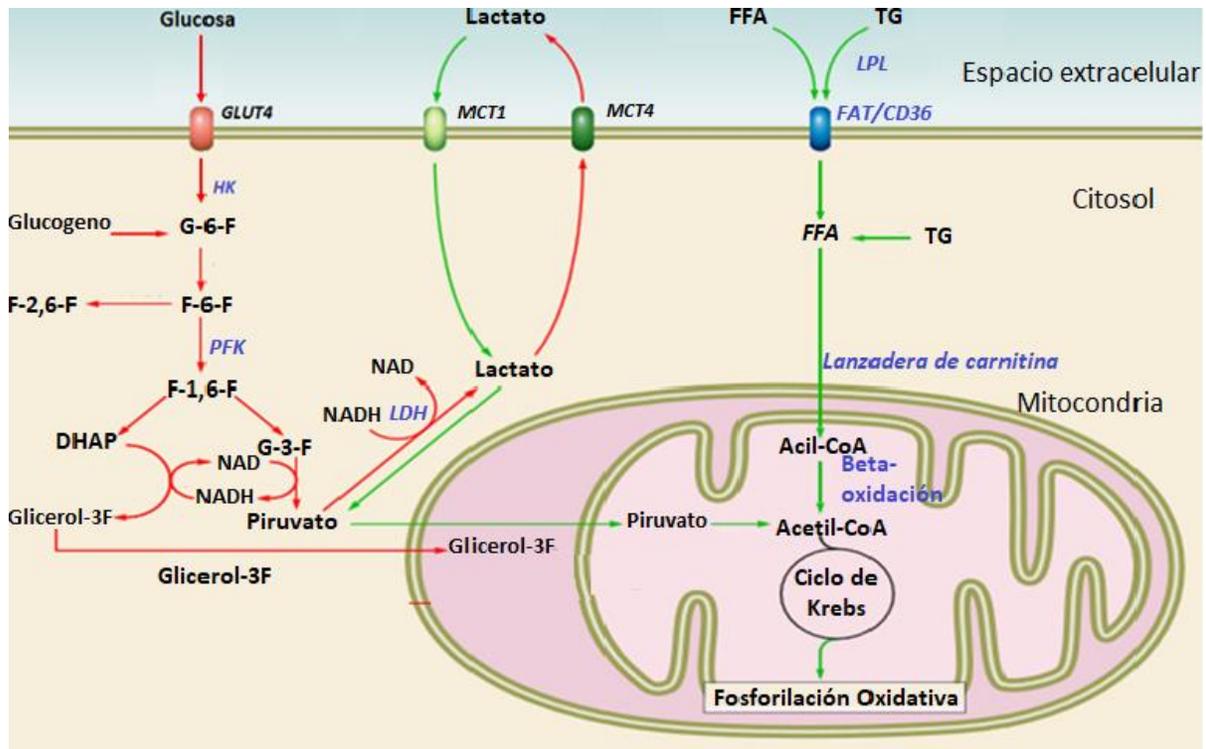


Figura 7. Metabolismo de las fibras musculares. Se observa con flechas rojas el metabolismo de las fibras tipo II (glucolíticas) y con flechas verdes el metabolismo de las fibras tipo I (oxidativas). DHAP, fosfato de dihidroxiacetona; GLUT4, transportador de glucosa 4; F-6-F, fructosa-6-fosfato; FAT / CD36, translocasa de ácido graso; FFA, ácidos grasos libres; F-1,6-P, fructosa-1,6-bifosfato; F-2,6-P, fructosa-2,6-bifosfato; G-3-P, gliceraldehído-3-fosfato; G-6-P, glucosa-6-fosfato; GPD1, glicerolfosfato deshidrogenasa 1 (citoplásmica); GPD2, glicerolfosfato deshidrogenasa 2 (mitocondrial); PDH, piruvato deshidrogenasa; PFK, fosfofructoquinasa; PFKFB3, fosfofructoquinasa fructosa bifosfatasa 3; TG, triglicéridos (tomado de Scchiaffino y Reggiani 2011).

1.10 Músculo pubococcígeo

El mPc es un músculo estriado que forma parte del piso pélvico, es bilateral y tiene una apariencia roja, en su origen es más amplio que en su sitio de inserción dándole una forma triangular (Figura 8). Para su estudio se divide en porción anterior (mitad al origen) y posterior (mitad al sitio de inserción). Tiene una apariencia carnosa en toda su longitud y se une a las vértebras a partir de tendones que se encuentran en su punto de inserción, en la porción posterior se relaciona con las glándulas bulbouretrales y de Cowper (Manzo y cols. 1997). Se origina en la cara interna de los huesos pélvicos y se inserta en las vértebras caudales 3 y 4 (Cruz y cols. 2010; Brink y Pfaff 1980), y es inervado por el nervio llamado rama motora (somatomotora) del nervio pélvico (Manzo y cols. 1997). Cruz y colaboradores en el 2010 demostraron que el mPc participa en funciones urinarias y sexuales, por ello, ha sido asociado a problemas de incontinencia urinaria (Reider 2016: Manzo y cols. 1997). Las fibras del músculo estriado son fibras tipo I, poseen un mecanismo de contracción lento y su acción metabólica es principalmente oxidativa. Este músculo se caracteriza principalmente por su capacidad de realizar contracciones de tipo tónicas-prolongadas ya que presentan gran resistencia a la fatiga (Thor y cols. 2010).

En la rata macho, los principales nervios del área pélvica son: cavernoso, pélvico, hipogástrico y pudendo, los cuales se originan en los segmentos lumbosacros de la médula espinal. Estos nervios son bilaterales y están constituidos por uno o varios fascículos de fibras nerviosas o axones (Martínez-Gómez 1992).

El nervio pélvico está formado por fibras provenientes del sexto segmento lumbar (L₆) y el primer segmento sacro (S₁) de la médula espinal. Se considera como un nervio mixto debido a que posee unidades motoras y sensoriales. Se divide en dos ramas; la somatomotora y la viscerocutánea (Pacheco y cols. 1989a). En la rata macho, la rama viscerocutánea inerva a la piel perineal, a la uretra proximal, a la vejiga urinaria, a las glándulas sexuales accesorias y al recto. Los músculos estriados pélvicos ileococcígeo y mPc son inervados por la rama somatomotora (Pacheco y cols. 1989b). Estos dos músculos forman parte de una estructura conocida como músculo LA y participan en la postura de lordosis durante el apareamiento (Martínez-Gómez y cols. 1992). En la rata macho el nervio pélvico es parte de la vía autonómica parasimpática que controla la erección peneana y la micción. Los axones que recorren el nervio

pélvico excitan la vejiga urinaria y relajan la musculatura lisa de la uretra durante la expulsión de orina (Manzo y cols. 1997).

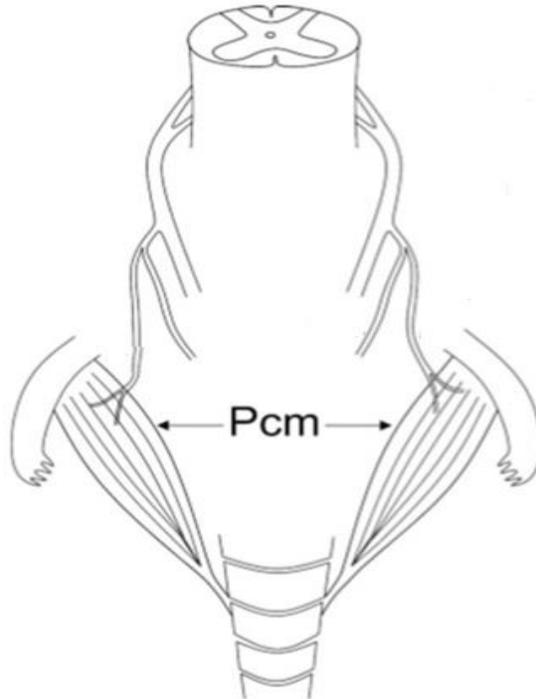


Figura 8. Posición anatómica del músculo Pubococcígeo (mPc). En la rata macho (tomado de Alvarado y cols. 2013).

2. Antecedentes

Las fibras musculares se pueden agrupar de acuerdo a su contracción (rápida, intermedia y lenta) clasificándose en tipo I, IIA y IIB por medio de una tinción histoquímica para ATPasa, que se encarga de evaluar la distribución de las fibras según su tipo de contracción (Wyndaele y Poortmans 2006). Oberbach y cols. (2006), analizaron una muestra del músculo vaso lateral de pacientes con diabetes tipo II y encontraron una elevación en la cantidad de fibras glucolíticas y un decremento de la actividad oxidativa. En los hombres, la musculatura estriada del piso pélvico es de suma importancia durante los procesos de micción y reproducción. Según la secretaría de salud pública en México, del 10 al 13% de la población infantil padece algún tipo de trastornos miccionales, la enuresis nocturna es la emisión de orina de forma involuntaria,

aproximadamente del 15% de una población de 5 a 10 años lo padece (de Anda 2007). Por otro lado, se ha mostrado que los andrógenos afectan el peso de la musculatura estriada, el tamaño de las fibras musculares y el área transversal de las mismas (Alvarado y cols. 2008). Estos cambios morfológicos se correlacionan con un aumento con la velocidad que las fibras musculares tienen para contraerse (Souccar y cols. 1982), Levin y cols. (1995) mostraron en la rata adulta, que el consumo de sacarosa aumenta la frecuencia de micción y que el volumen de micción es paralelo al aumento en el volumen total de orina excretada y por consiguiente al tamaño de la vejiga. Se caracterizó el tipo de fibras del mPc de ratas macho infantes, y se ha encontrado un mayor número de fibras glucolíticas y una disminución de fibras intermedias en las ratas que consumieron agua azucarada por un mes durante la infancia (Sánchez 2019).

3. Justificación

El consumo de dietas ricas en calorías genera una desestabilización de la función reproductiva ya sea a nivel central y/o a nivel gonadal derivado del sobrepeso y obesidad; los cuales son caracterizados por un exceso de tejido adiposo, evaluado mediante el Índice de Masa Corporal (Pasquali y cols. 2007; Alves y cols. 2013). La ENSANUT 2018 reportó que en cuanto al estado nutricional existe una prevalencia del 35.6% de sobrepeso y obesidad en niños menores de 5 a 11 años a nivel nacional, mientras que en adolescentes fue del 38.4%. Estudios epidemiológicos correlacionan la presencia de obesidad infantil con el consumo elevado de azúcares refinados (sacarosa y fructosa) y grasas a edades tempranas (Barquera y cols. 2008).

El tejido muscular y el hígado son órganos metabólicos y los principales encargados de llevar a cabo la captación y la utilización de glucosa para generar energía, la obesidad y la mala alimentación pueden generar enfermedades como hígado graso no alcohólico, o resistencia a la insulina generando diversas complicaciones (Pacheco-Torres y cols. 2006). Corona-Pérez y cols. (2015) observaron en ratas jóvenes la existencia de gotas de grasa citoplasmática e inflamación en los hepatocitos con la ingesta de una solución de sacarosa al 30%. Asimismo, Sánchez y cols. (2019) determinaron que el mPc tuvo un aumento significativo de fibras glucolíticas, aumento en el área muscular y un número bajo de fibras intermedias, cuando los animales habían sido expuestos a la ingesta de una solución de sacarosa al 5%. Un estudio en el

cual se indujo diabetes en ratas jóvenes demostró que las fibras del músculo soleo presentaban una fuerza y potencia disminuida en comparación con los animales control (Rodríguez-Reyez y cols. 2015).

El síndrome de Mala Eliminación (SME) es un padecimiento en el cual existe una alteración en el patrón de evacuaciones, que se caracteriza principalmente por incontinencia y del cual se desconoce una etiología. Sin embargo, se cree que la musculatura del piso pélvico está implicada en estos padecimientos (Nardiello y cols. 2007). En México la secretaría de salud pública reporta que del 10 al 13% de la población infantil padece algún tipo de trastornos miccionales.

En la rata macho, el mPc tiene un rol importante durante los procesos de micción y conducta copulatoria. Existe poca información sobre los resultados reproductivos en el hombre obeso. Sin embargo, De León y cols. (2021) demostraron en la rata macho adulta, a las cuales se les proporcionó agua con sacarosa al 30%, que el patrón de conducta copulatoria fue afectada probablemente por la disminución de la dihidrotestosterona y como consecuencia una disminución en la calidad espermática, la participación de los músculos de piso pélvico es fundamental y en las ratas y podría una dieta alta en carbohidratos afecta dicha musculatura. Sin embargo, se desconoce si la afectación de la musculatura estriada podría iniciar desde temprana edad. El modelo de la dieta alta de sacarosa en roedores son herramientas valiosas para el estudio de los procesos biológicos subyacentes que contribuyen al desarrollo de la obesidad en los seres humanos, porque comparte varias características con la obesidad humana.

4. Hipótesis

El consumo elevado de sacarosa al destete aumenta el contenido de glucógeno muscular y la expresión del transportador Glut 4, afectando la distribución de fibras rápidas, intermedias y lentas, generando cambios en el área transversal de las fibras del músculo pubococcígeo en la rata macho infante.

5. Objetivo general

Determinar si el consumo elevado de sacarosa aumento el contenido de glucógeno muscular y la expresión del trasportador Glut 4, la distribución de fibras rápidas, intermedias y lentas y el área transversal de las fibras del músculo pubococcígeo en la rata macho infante.

5.1 Objetivos específicos

En el mPc de ratas macho infantes experimentales:

- ❖ Cuantificar los niveles de glucógeno mediante un método hidrolítico ácido.
- ❖ Cuantificar el transportador GLUT 4 por medio de Western Blot.
- ❖ Identificar el tipo de fibras del mPc de acuerdo a la tinción ATPasa.
- ❖ Cuantificar el área transversal de las fibras del mPc.

6. Metodología

6.1 Manejo de los animales

Se utilizaron 16 ratas machos de la cepa Wistar de 21 días de edad. El día del destete fueron seleccionadas las ratas machos procedentes de madres diferentes. Las ratas se colocaron aleatoriamente en jaulas independientes mantenidas en condiciones de bioterio, con ciclo luz-oscuridad invertido de 12/12 h, y temperatura de 20 ± 2 °C en el bioterio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala. El Comité de Ética en Investigación de la Universidad Autónoma de Tlaxcala aprobó todos los procedimientos experimentales de acuerdo con las Directrices Mexicanas para el Cuidado Animal, con base en recomendaciones de la Asociación para la Evaluación y Acreditación del Cuidado de Animales de Laboratorio Internacional (Norma Oficial Mexicana NOM-062-200-1999, México). Las ratas se dividieron en dos grupos experimentales: Las ratas controles que consumieron agua simple (C, n=8) y las ratas que consumieron 30% de sacarosa estándar comercial diluida en agua durante un mes (A30 n=8) durante un mes. Todas las ratas fueron alimentadas con dieta normal Chow 5001 de Purina. El consumo de alimento y agua fue *ad libitum*.

6.2 Extracción de los músculos Pubococcígeos.

Al término del experimento, los animales fueron anestesiados y sacrificados por decapitación. Posteriormente, la rata se colocó en posición supina y se realizó una incisión longitudinal sobre la línea media de la piel abdominal para remover el músculo obturador externo, la sínfisis púbica y el músculo obturador interno, inmediatamente se removió el recto y ano para extraer el mPc izquierdo y derecho, que fueron utilizados para las diversas técnicas. El músculo Pc fue identificado usando la descripción de Brink y Pfaff (1980).

6.3 Determinación de glucógeno muscular

El contenido de glucógeno fue medido mediante un método hidrolítico ácido. Aproximadamente 50-100 mg del mPc izquierdo (origen a la media) se colocó en tubos Eppendorf de 1,5 ml que contienen 0,3 ml de ácido clorhídrico (2 M-HCl, J.T. Baker y México) los cuales fueron hervidos previamente durante 5 minutos. Como parámetro de control para

medir la glucosa libre, el ácido clorhídrico fue reemplazado por 0,3 ml de hidróxido de sodio (2 M-NaOH; Sigma-Aldrich, EE. UU.). Las muestras fueron homogeneizadas y congeladas en hielo seco durante 5 minutos y luego fueron homogeneizadas nuevamente. Posteriormente, las muestras fueron hervidas durante 1 hora y agitadas cada 10 minutos durante todo el proceso. Finalmente, los tubos fueron centrifugados a 10.000 rpm durante 5 minutos para obtener la muestra y medir la cantidad de glucógeno utilizando un método disponible comercialmente utilizando un kit colorimétrico-enzimático (Glucose Trinder Liquicolor, STANBIO y México). La cantidad de glucógeno muscular fue cuantificada y reportada como mmoles de unidades de glucosilo / g de peso muscular.

6.4 Detección del transportador GLUT 4 por Western Blot

Para esta técnica se utilizó la parte media a la inserción el mPc izquierdo. Las muestras (80 µg de proteína por carril) fueron separadas en geles de SDS poliacrilamida al 12.5 o 15% bajo condiciones reductoras. Posteriormente fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa (Bio-Rad) en Tris 25 mM pH 8.8, glicina 150 mM y metanol 20% (vol/vol). Estas membranas fueron bloqueadas con leche desnatada en polvo ó BSA (Sigma-Aldrich) al 5% en PBST ó TBS-Tween 20 0.1% (TBST) durante 1 hora e incubadas toda la noche a 4°C con anticuerpo primario. Después fueron lavadas para eliminar el exceso de anticuerpo primario, y posteriormente fueron incubadas con el anticuerpo secundario correspondiente conjugado con peroxidasa. Fueron lavadas nuevamente para eliminar el exceso de anticuerpo secundario y se identificaron las proteínas mediante quimioluminiscencia (ECL, Amersham Pharmacia Biotech), con el revelador Alliance 4.7 (Uvitec, Cambridge, Reino Unido). Las cuantificaciones de las señales se llevaron a cabo con el programa de análisis de imágenes Image J (Image Processing and Analysis in Java). Los resultados se expresan en unidades arbitrarias de densitometrado (uad).

6.5 Tinción ATPasa del músculo pubococcígeo

La parte media al origen del mPc derecho, se congeló con acetona en isopentano con hielo seco, para mantener la estructura histológica, se realizaron cortes transversales a 8µm con un criostato a -25°C que fueron teñidos con ATPasa, para ello, se procesaron a una solución buffer pre-incubadora con un pH de 10.3 durante 20 minutos, se hicieron 3 lavados con agua desionizada

y nuevamente se incubaron durante 1 hora a 37°C con un buffer pre-adicionado con 1.5% de 5-ATP-Na₂ a un pH de 9.4. En seguida se realizaron lavados con cloruro de calcio y cloruro de cobalto durante 3 minutos cada uno, inmediatamente se les añadió sulfuro de amonio por 3 minutos. Finalmente se deshidrataron con alcoholes de manera ascendente. Luego fueron montados con entellan. Se tomaron fotografías a 10x para realizar reconstrucciones, para contar el número de fibras de acuerdo a su coloración con el programa Image.J (Image Processing and Analysis in Java).

6.6 Cuantificación del área de las fibras musculares

Posteriormente el resto del mPc derecho, fue fijado con Bouin durante 24h. Posteriormente el mPc se deshidrato con alcohol etílico en concentraciones ascendentes (70%, 80%,96% y 100%) aclarado con xilol e incluido en Paraplast-plus. Se obtuvieron cortes transversales seriados de 8 µm de espesor con un micrótomo los cuales fueron montados en portaobjetos con polilisina, 6 cortes por laminilla. Las laminillas fueron teñidas con H-E y se toman fotomicrográficas con una cámara OLYMPUS de 5.1 megapixeles, montada en un microscopio óptico Zeiss Imager A.1 (10 y 40 aumentos totales). Se realizan reconstrucciones de las imágenes tomadas a 10x, utilizando el programa Adobe Photoshop CS, para muestrear aleatoriamente usando el programa Axio Vision Rel 4.6. (Zeiss Inc 2007), para determinar los cuadrantes a medir. Posteriormente se tomaron imágenes a 40x y se cuantificó el área de las fibras del mPc.

6.7 Análisis estadístico

Para determinar el nivel de glucógeno, el área y contracción de las fibras, así como la detección de Glut 4 en el músculo, los valores obtenidos se analizaron con una Student-t, en cuanto el análisis del número de núcleos con respecto al área trasversal de las fibras musculares se utilizó un análisis de correlación y prueba de Pearson, dichas pruebas se realizaron en el programa GraphPad Prisma 5.01.

7. Resultados

7.1 Contenido de Glucógeno

El consumo de sacarosa al 30%, aumenta el contenido de glucógeno en el mPc comparado con el grupo C (Figura 9).

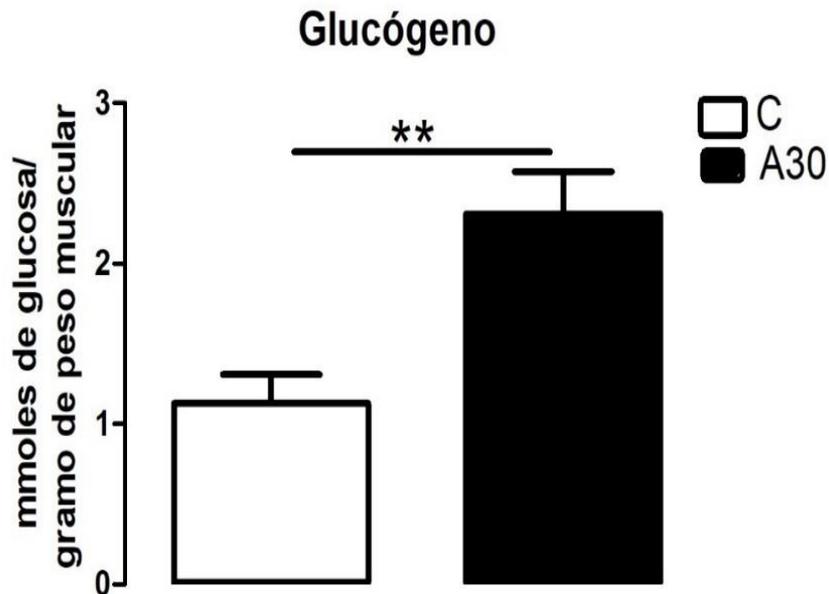


Figura 9. Contenido de glucógeno en el músculo pubococcígeo. El glucógeno aumento significativamente en el músculo pubococcígeo del grupo con consumo de sacarosa al 30 % (A30). Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t-Student*. Diferencias significativas, $**p < 0.001$. Grupo control (C) y sacarosa al 30% (A30) (n=8/grupo).

7.2 Determinación del transportador Glut 4.

En el grupo A30 aumentó significativamente la expresión del trasportador Glut4 en comparación con el grupo ccontrol (grupo C) (Figura 10).

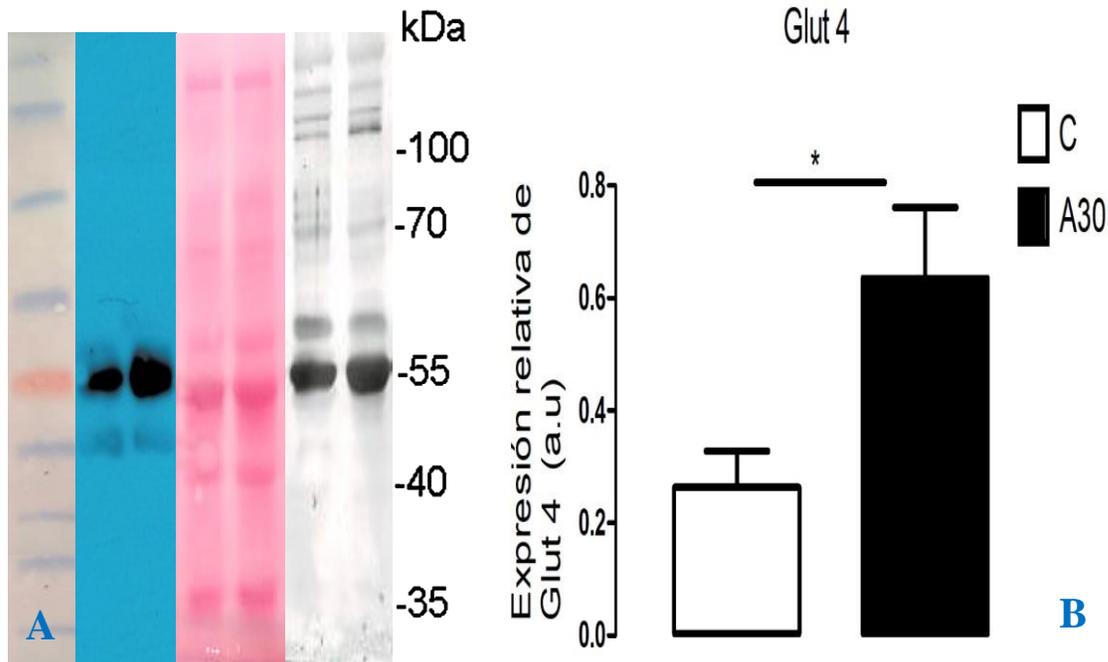


Figura 10. Efecto del consumo de sacarosa sobre la expresión del transportador Glut 4 en el mPc. A) Se observa el marcaje de la detección de la proteína transportadora Glut 4. B) Muestra el aumento de Glut 4. Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t-Student*. Diferencias significativas entre los grupos, * $p < 0.05$. Grupo control (C) y sacarosa al 30% (A30) (n=7/grupo).

7.3 Determinación del tipo de fibra de acuerdo a la técnica de ATPasa

La determinación de la función contráctil de las fibras musculares se realizó mediante la tinción de ATPasa a un pH de 9.4. A través de esta técnica se tiñeron las fibras y se obtuvo una coloración que permitió identificar y clasificar las fibras musculares. Las fibras de contracción rápida (señaladas en la imagen con el número 1) se observaron de un color negro intenso, las fibras de contracción intermedia (señaladas en la imagen con el número 2) se observaron de color café y las fibras de contracción lenta (señaladas en la imagen con el número 3) se observaron de color blanco (Figura 11). En el grupo C se observó un aumento en el número de fibras de contracción lenta e intermedia en comparación al grupo A30 donde se observó una disminución de las fibras de contracción intermedia y lenta y un aumento en las fibras rápidas (Figura 12). En el grupo A30 se encontró un mayor número de fibras rápidas ($p < 0.001$) pero un

menor porcentaje de fibras intermedias ($p < 0.001$) y lentas ($p < 0.05$) comparado al grupo C (Figura 12).

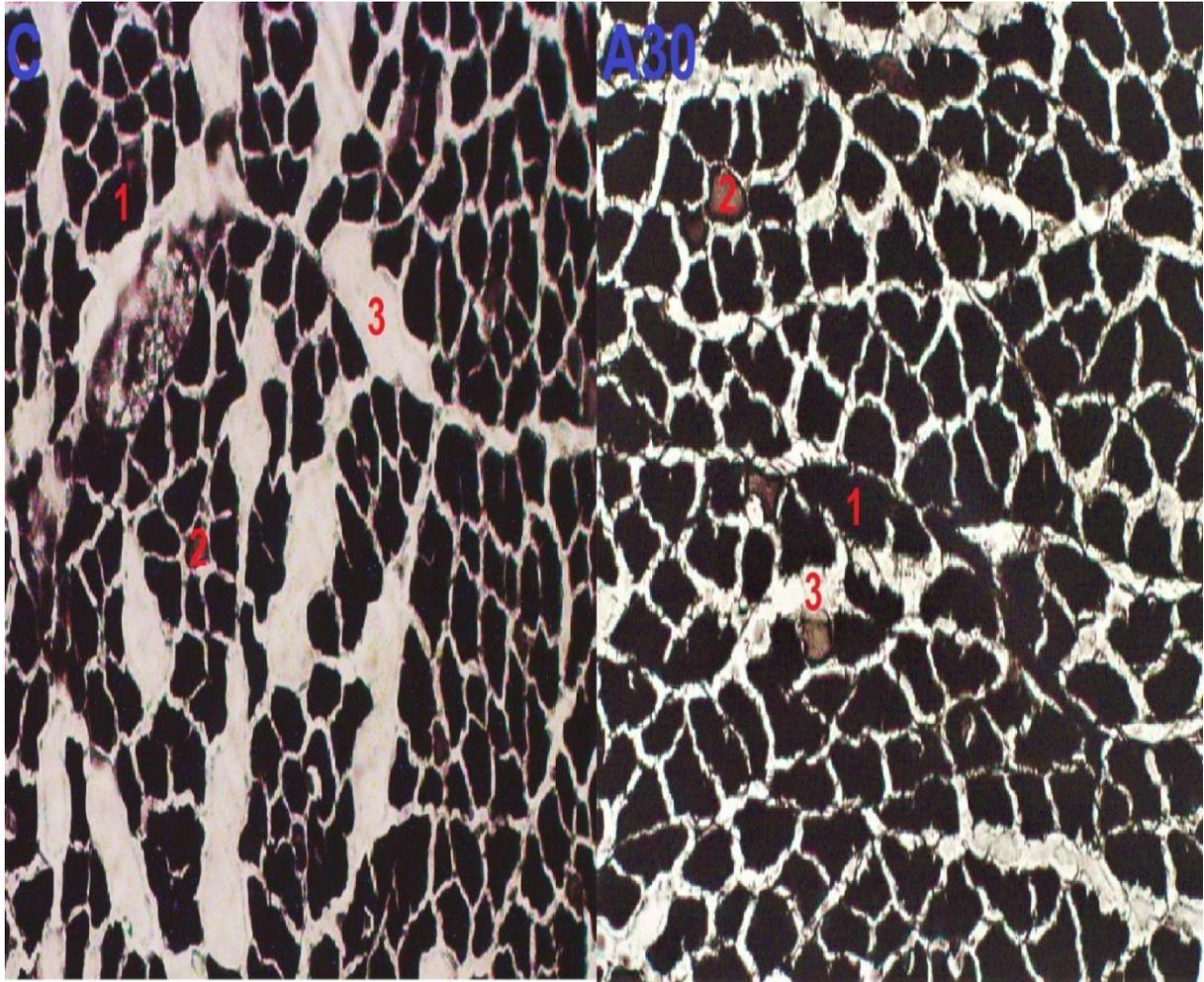


Figura 11. Tipo de fibras musculares del músculo pubococcígeo. Imagen C (grupo control): fibras de contracción rápida (1), fibras de contracción intermedia (2) y fibras de contracción lenta (3). Imagen A30 (grupo experimental): fibras de contracción rápida (1), fibras de contracción intermedia (2) y fibras de contracción lenta (3)- En la imagen C se observa una mayor distribución de fibras lentas (3) he intermedias (2) en comparación a lo observado en la imagen A30 donde se observa un aumento en número de fibras rápidas (1) y una disminución de fibras lentas (3) eh intermedias (2). Tinción ATPasa con un pH de 9.4, microfotografías a 10x.

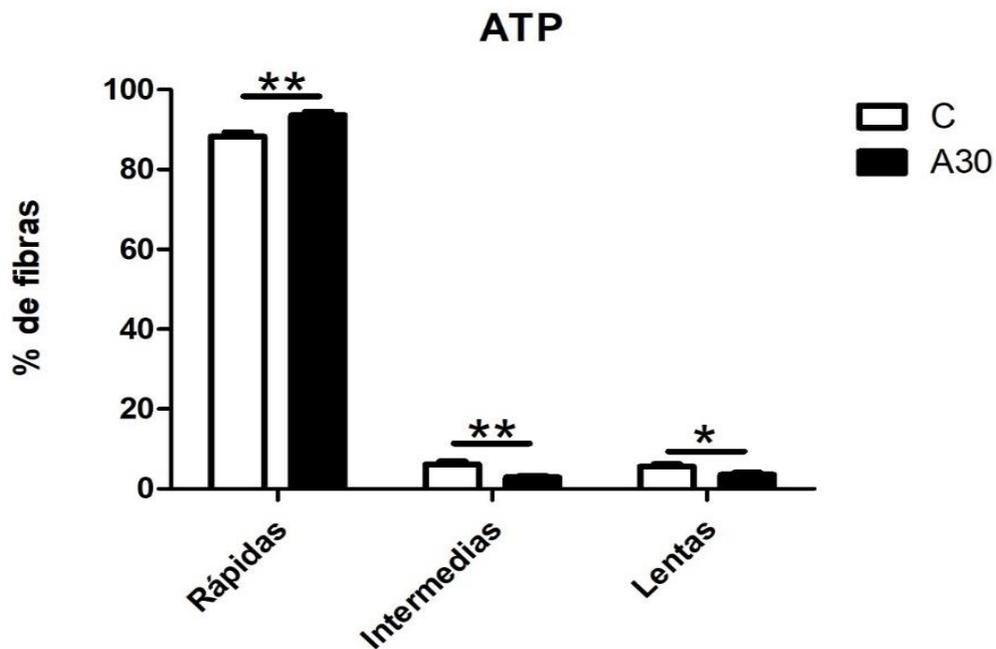


Figura 12. Tipo de fibras musculares del mPc, de acuerdo a la tinción de ATPasa. Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t-Student*. Diferencias significativas, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$. Grupo control (C) y sacarosa al 30% (A30) (n=8/grupo).

7.4 Área de las fibras musculares

En la Figura 13 se observan cortes transversales de las fibras del mPc del grupo control (C) y grupo experimental (A30) se observan las células musculares **A** delimitadas por una capa de tejido conectivo (líneas color verde), que a su vez forman fascículos delimitados por el perimio (línea color naranja). En los cortes del grupo C, se observan fibras musculares bien ordenadas, de tamaños más pequeños en comparación con las fibras musculares mostradas en los cortes del grupo A30. Para el grupo A30 se observan fibras musculares grandes y espaciadas entre sí, no se observan núcleos excéntricos en ninguna de las dos imágenes.

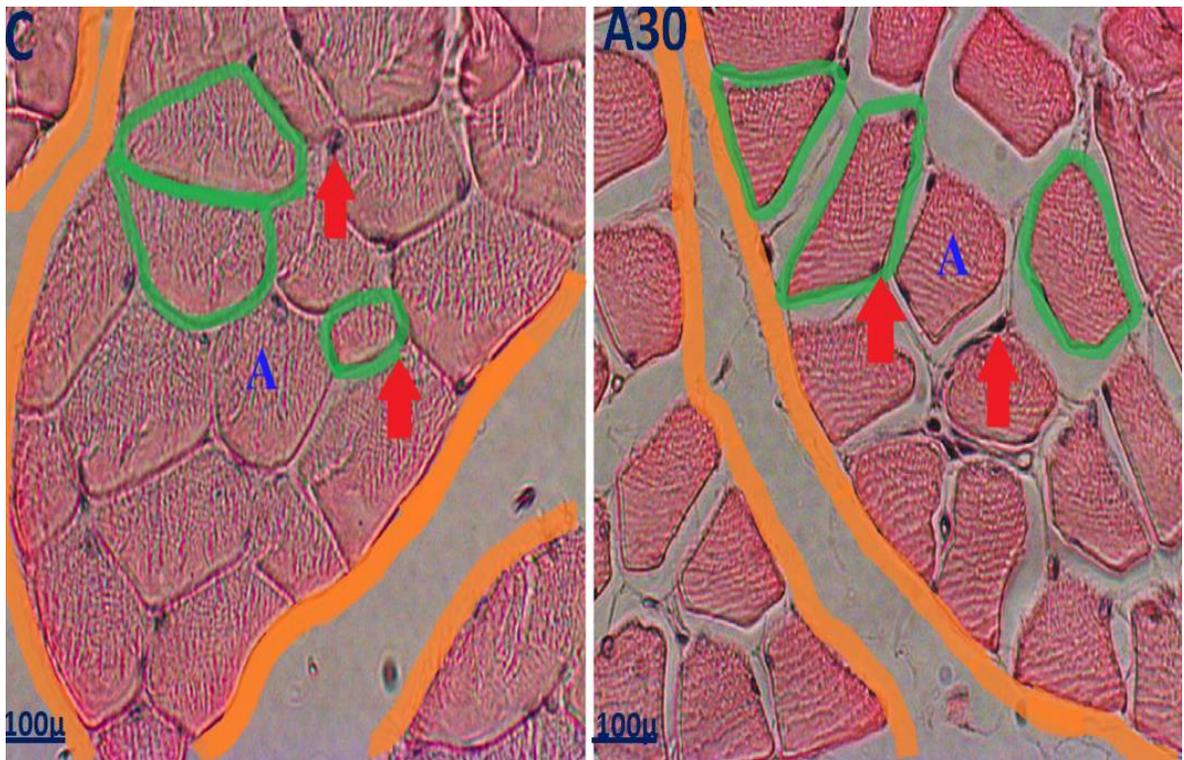


Figura 13. Efecto del consumo de sacarosa sobre el área transversal de las fibras del mPc. 10X. Tinción Hematoxilina-Eosina. Imagen C (grupo control), imagen A30 (grupo experimental). A célula del músculo esquelético, flechas rojas núcleos periféricos, líneas verdes endomysio de las fibras musculares, líneas naranjas perimysio del fascículo muscular.

El consumo de sacarosa al 30 % en una temprana edad aumenta significativamente el área transversal de las fibras del mPc ($p < 0.0001$) en comparación al grupo C (Figura 14). El grupo C mostró mayor número de fibras con área de 0 hasta $1500\mu\text{m}^2$ ($p < 0.0001$); mientras en el grupo A30 se observó un aumento en el área transversal de las fibras con tamaño de $3001\mu\text{m}^2$ hasta $4500\mu\text{m}^2$ ($p < 0.0001$); de $4501\mu\text{m}^2$ hasta $6000\mu\text{m}^2$ ($p < 0.001$) y con un área ≤ 6001 ($p < 0.05$; Figura 15)

Área de las fibras

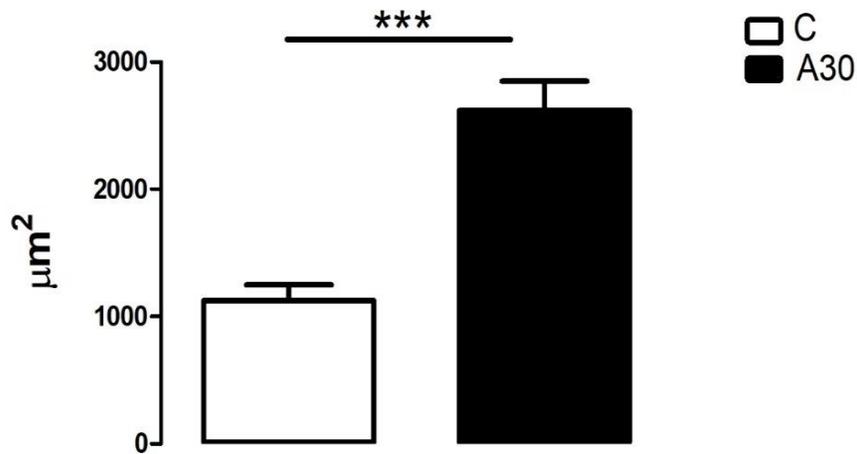


Figura 14. Áreas transversales de las fibras del mPc. Se observa en el grupo A30 un aumento significativo del área transversal de las fibras musculares con respecto al área de las fibras del grupo C. Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t-Student*. Diferencias significativas, *** $p < 0.0001$, Grupo control (C) y sacarosa al 30% (A30) (n=8/grupo).

Área de las fibras

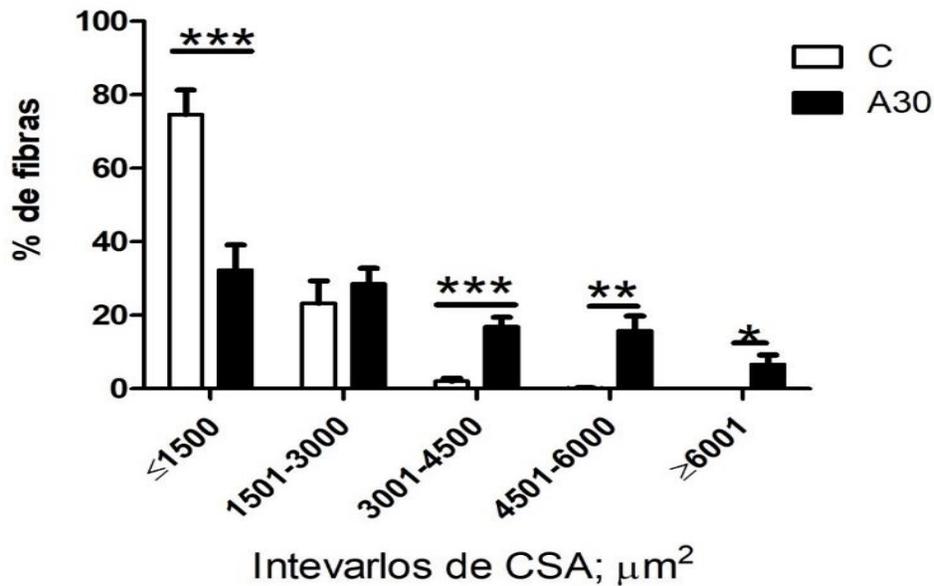


Figura 15. Efecto del consumo de sacarosa sobre el área de las fibras del mPc por rangos del tamaño de fibra. Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t-Student*. Diferencias significativas, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$, Grupo control (C) y sacarosa al 30% (A30) (n=8/grupo).

7.5 Área de las fibras musculares relacionadas al número de núcleos encontrados

En el grupo A30 se observa una correlación positiva entre el área de las fibras musculares con el número de núcleos que las células presentan ($R:0.9358$; $R^2: 0.8758$; $p<0.0001$). En el grupo C al comparar las variables no se observó correlación ni diferencias ($R:0.0344$; $R^2: 0.0011$; $p>0.05$; Figura 16).

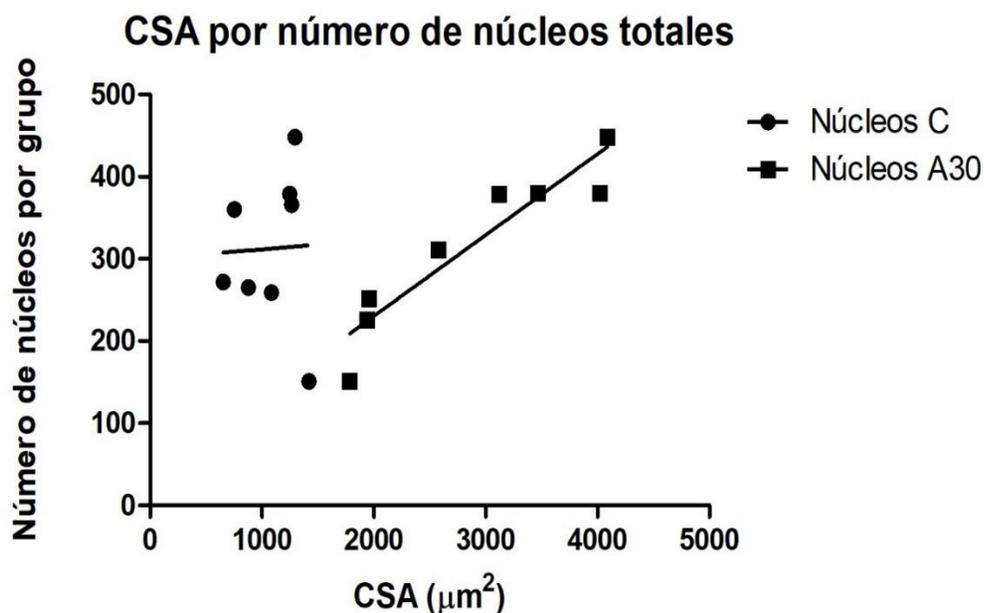


Figura 16. Relación entre el número de núcleos musculares y el área de las fibras del mPc. Análisis de correlación y prueba de Pearson. Diferencias significativas, ($R:0.9699$, $R^2:0.9408$ $***p<0.0001$), Grupo control (C) y sacarosa al 30% (A30) ($n=8$ /grupo).

8. Discusión

La musculatura esquelética comprende alrededor del 50% de la masa corporal total de un organismo y es un tejido que utiliza un alto consumo metabólico de glucosa y ácidos grasos (Du y cols, 2010). Durante el periodo fetal la musculatura esquelética se desarrolla por completo haciéndolo crucial, ya que durante la etapa adulta no se genera un aumento en el número de células musculares. Sin embargo, el metabolismo de las fibras musculares si puede cambiar durante prácticamente toda la vida de un individuo, cambiando la fisiología muscular. En comparación con órganos como el cerebro y el hígado, el músculo es altamente dependiente del metabolismo de glucosa, por lo tanto, puede ser más fácil alterarlo por nutrientes en nuestra dieta (Forsen y col, 2000).

Nuestro estudio mostró que en el grupo A30 hay un aumento significativo en el contenido de glucógeno en el mPc. Estos resultados pueden explicar la entrada elevada de glucosa. Zambrano y cols. (2005) observaron que el consumo de dietas ricas en carbohidratos altera la actividad mitocondrial y el metabolismo de la musculatura en función a la disponibilidad de glucosa y ácidos grasos. El glucógeno actúa en función de diferentes vías de señalización y es mucho más que un almacén de energía, actúa regulando la sensibilidad a la insulina, los procesos contráctiles, la cantidad de proteínas que se degradan, y otros procesos (Impey y cols, 2018). No podemos asegurar que función realiza el exceso de glucógeno, pero un aumento en las concentraciones de glucógeno provoca una elevación de la sensibilidad a la insulina, lo que facilita la permeabilidad en la membrana celular y con ello, aumentar la expresión del transportador de glucosa Glut-4 (Ivy 2012), lo cual parece encajar con los resultados obtenidos en donde se observa un aumento significativo del transportador Glut-4 en el mPc del grupo A30. El aumento de estos receptores facilita la entrada de glucosa, lo cual sugiere que el porcentaje de fibras musculares de tipo intermedio disminuyan, debido al consumo de agua azucarada, mientras que el porcentaje de fibras rápidas aumente. Existe poca información acerca de las dietas ricas en carbohidratos sobre la musculatura estriada. Sin embargo, una reciente tesis de maestría sugiere que el mPc es fatigable glucolítico-rápido (tipo IIb) conocido como intermedio (Sánchez-Mendizábal, 2019). Así, un cambio en el metabolismo y contracción muscular puede generar cambios en los procesos de degradación y síntesis de proteínas generando atrofia muscular, este padecimiento puede ser debido a diversas causas,

como envejecimiento natural, inmovilización y enfermedades crónicas (Ding y cols. 2018). Se sabe que en pacientes diabéticos la atrofia muscular puede asociarse con cambios en los tipos de fibras que el músculo posee, por ejemplo, un cambio de fibras lentas a rápidas puede generar atrofia en los músculos debido al intenso metabolismo que poseen, de igual forma se ha observado que la diabetes genera una disminución del número de fibras tipo IIa y un aumento en el número de fibras tipo IIb (Dumitru y cols. 2018).

La atrofia muscular tiene efectos devastadores para la salud ya que la calidad de vida disminuye y aumenta la mortalidad, la sarcopenia es un factor importante en la aparición de atrofia muscular, ya que genera una disminución de la fuerza y masa muscular; se ha observado que la obesidad aumenta las probabilidades de padecer dicha patología, pues un aumento en la masa magra en combinación con la disminución de la masa corporal genera un padecimiento conocido como obesidad sarcopénica (Ding y cols. 2018).

En este estudio, también se encontró que el consumo de agua con sacarosa al 30 % aumenta significativamente el área transversal de las fibras musculares. Una posible explicación es por el aumento de la hormona testosterona con el consumo de sacarosa al 30% durante un mes De León y cols. (2021); ya que se ha mostrado que la testosterona sérica tiene un importante papel en el tamaño de la musculatura, ya que se ha determinado que la elevación en las concentraciones de testosterona genera un aumento en el volumen de la musculatura al inducir hipertrofia en las fibras musculares (Martín y cols. 2018). Por el contrario, la denervación y/o castración, afecta el área muscular (Alvarado y cols. 2013), mientras que la castración reduce el área de las fibras (Alvarado y cols. 2008). Además, en este mismo modelo animal, también aumentan los niveles séricos de leptina (De León y cols. (2021).

La leptina participa en la proliferación y diferenciación de las células musculares (Ding y cols. 2018). Cabe la posibilidad de la influencia de la leptina a temprana edad sobre el aumento del área transversal. En cuanto al aumento en el número de núcleos celulares se observó una correlación positiva entre el área transversal de las fibras musculares con el número de núcleos, es decir, a mayor área mayor número de núcleos presentan las fibras del mPc en el grupo A30, en este contexto, se sabe que las células musculares, así como las células satélites expresan receptores a hormonas sexuales. Mientras, los andrógenos son capaces de activar la expresión

del receptor IGF-1 generando un aumento en la proliferación de las células satélite y el área de estas células (Martín y cols. 2018).

9. Conclusión

El consumo elevado de sacarosa a temprana edad afecta el arreglo histológico y tipo de fibras del músculo pubococcígeo. Estas alteraciones, posiblemente modifican la función del mPc, lo cual repercutiría en el patrón copulatorio y generaría problemas de micción en la etapa adulta. Existen padecimientos como la diabetes y la resistencia a la insulina que pueden estar involucrados en procesos de atrofia muscular, sin embargo, los resultados muestran que a pesar de no generarse alteraciones metabólicas, el consumo de sacarosa a temprana edad puede generar alteraciones importantes en la musculatura estriada lo cual podría generar complicaciones mayores en la vida adulta.

10. Perspectivas

- Analizar si los efectos generados por el consumo de sacarosa sobre la musculatura estriada son reversibles al dejar de administrar la solución de sacarosa.
- Determinar el efecto del consumo de sacarosa sobre la conducción nerviosa del mPc.
- Analizar si existe alguna alteración de los receptores de insulina generados por el consumo de sacarosa.
- Analizar si los efectos generados por el consumo de sacarosa en la musculatura estriada generan alteraciones en el volumen de orina y en el número de micciones realizadas.
- Determinar en animales adultos las alteraciones generadas por el consumo de sacarosa en el mPc y su relación con los procesos de micción y conducta copulatoria.

11. Bibliografía

- Alvarado M, Cuevas E, Lara-García M, Camacho M, Carrillo P, Hudson R, Pacheco P. 2008. Effect of gonadal hormones on the cross-sectional area of pubococcygeus muscle fibers in male rat. *The Anatomical Record*, 586-592.
- Alvarado M, Lara-García M, Cuevas E, Berbel P, Pacheco P. 2013. Denervation and castration effects on the cross-sectional area of pubococcygeus muscle fibers in male rat. *The Anatomical Record*, 1634-1639.
- Alves M, Martins A, Rato, L, Moreira P, Socorro S, Olivera P. 2013. Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochimica et Biophysica*, 626-635.
- Ávila RD, López LC Hernández, JM. 2019. Células satélite y su contribución a la regeneración muscular en salud y enfermedad. *Ciencias biomédicas*.56-63.
- Barquera S, Hernandez-Barrera L, Tolentino-Mayo M, Espinosa J, Wen N, Rivera J, Popkin B. 2008. Dynamics of adolescent and adult beverage intake patterns in Mexico. *FASEB. J*, 461-464.
- Boffi FM. 2008. Entrenamiento y adaptación muscular: sustratos y vías metabólicas para la producción de energía. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(SPE), 197-201.
- Bolaños-Jimenez R, Arizmendi-Vargas J, Calderón-Álvarez T, Carrillo-Ruiz JD, Rivera-Silva G, Jiménez-Ponce F. 2011. Espasticidad, conceptos fisiológicos y fisiopatológicos aplicados a la clínica. *Revista Mexicana de Neuro Ciencias*. 141-148.
- Brink E, y Pfaff, D. 1980. Vertebral Muscles of the Back and Tail of the Albino Rat (*Rattus norvegicus albinus*). *Brain Behav*, 1-47.
- Chasiotis D. 1983. The regulation of glycogen phosphorylase and glycogen breakdown in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand*, 1-68.
- Chiatotis D, Hultman E. 1983. The effect of circulatory occlusion on the glycogen phosphorylase-synthetase system in human skeletal muscle. *J. Physiol*, 167-173.
- Ciciliot S, Schiaffino S. 2010. Regeneration of Mammalian Skeletal Muscle: Basic Mechanisms and Clinical Implications. *Current pharmaceutical design*, 906-914.
- Corona-Pérez A, Díaz-Muñoz M, Rodríguez I, Cuevas-Romero E, Martínez-Gómez M, Castelán F, Nicolás-Toledo L. 2015. High sucrose intake ameliorates the accumulation of hepatic triacylglycerol promoted by restraint stress in young rats. *Lipids*, 1103–1113.
- Cruz Y, Corona-Quintanilla DL, Juárez M, Martínez-Gómez M. 2010. Anatomical and physiological characteristics of pelvic muscles in the female rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinaria México*, 263-274.
- De Anda RJG. 2007. Actualización en el estudio y tratamiento de la enuresis primaria nocturna. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 5(3), 141-148.
- De León-Ramírez YM, Lara-García M, Pacheco P, Lara-García O, Martínez-Gómez M, Cuevas-Romero E, Nicolás-Toledo L. 2021. Cambios histomorfológicos testiculares y disminución del recuento de espermatozoides en ratas púberes inducidos por una dieta rica en azúcar. *Anales de Anatomy-Anatomischer Anzeiger* , 235 , 151678.
- Ding S, Dai Q, Huang H, Xu Y, Zhong C. 2018. An overview of muscle atrophy. *Muscle Atrophy*, 3-19.

Do Carmo EM, Miyaoaka TM, Denipoti N, de Camargo MR, Rodriguez AP, Bizetti E, Machado W. 2011. Histochemical Characteristics of the Levator Ani Muscle in Rats. 1195-1201.

Du M, Yan X, Tong JF, Zhao J, Zhu MJ. 2010. Maternal Obesity, Inflammation, and Fetal Skeletal Muscle Development. *Biology of Reproduction*, 4-12.

Dumitru A, Radu BM, Rad M, Cretoiu, SM 2018. Cambios musculares durante la atrofia. *Atrofia muscular*, 73-92.

Encuesta Nacional de Salud y Nutricion. 2006; 2012; 2018

Fernández CD, Bellentani FF, Fernandez G, Perobelli, JE, Favareto AP, Kempinas WD. 2011. Diet-induced obesity in rats leads to a decrease in sperm motility. *Reprod. Biol. Endocrinol*, 9-32.

Forsen T, Eriksson J, Tuomilehto J, Reunanen A, Osmond C, Barker D. 2000. The fetal and childhood growth of persons who develop type 2 diabetes. *Annals of internal medicine*. 133(3): 176–82.

Friedman JE. 2002. *Metabolismo de la Glucosa en el Músculo Esquelético*. PubliCE.

Frontera WR, Ochala J. 2015. Skeletal Muscle: A Brief of Structure and Function. *Calcif Tissue Int*, 183-195.

Gal IB, López GM, Martín AI, Prieto J. 2007. Bases de la fisiología. Madrid: Tebar.

Gartner LP, Hiatt JL. 2008. Texto atlas de histología. Tercera edición. Editorial McGraw-Hill. México.

Gollnick P, Pernow B, Essen B, Jansson E, Saltin B. 1981. Availability of glycogen and plasma FFA for substrate utilization in leg muscle of man during exercise. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 27-42.

Grau AG, Guerra B, López JA. 2007. Role of satellite cells on muscle hypertrophy and muscle in response to exercise. *European Journal of Sport Science*. 187-196.

Greising SM, Gransee HM, Mantilla CB, Sieck GC. 2012. Systems biology of skeletal muscle: fiber type as an organizing principle *WIREs. Syst Biol Med*, 457-473.

Heredia H, Gaitán M, de Hegedüs J. 2013. Observaciones sobre los distintos tipos de células o fibras musculares a nivel metabólico, molecular y su rendimiento en la actividad física. *Boletín electrónico REDAF*, 3(56).

Impey SG, Hearn MA, Hammond KM, Bartlett JD, Louis J, Close GL. 2018. Combustible para el trabajo requerido: un marco teórico para la periodización de carbohidratos y la hipótesis del umbral de glucógeno. *Deportes med*. 5: 1031–48.

Kaufman JM, Vermeulen A. 2005. The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. *Endocr Rev*, 833-876.

Khaw T, Barrett-Connor E. 1992. Lower endogenous androgens predict central adiposity in men. *Annals of epidemiology*, 2(5), 675–682.

Levin R, Wein A, Eika B, Tmmela T, Longhurst P. 1995. Effect of Diuresis on Micturition. *Neurourology and Urodynamics*, 169-176.

Luo W, Ai L, Wang Bf, Zhou Y. 2019. High glucose inhibits myogenesis and induces insulin resistance by down-regulating AKT signaling. *Biomedicine y pharmacotherapy*, 109498.

Manzo J, Esquivel A, Hernández ME, Carillo P, Gómez M, Pacheco P. 1997. The role of pubococcygeus muscle in urinary continence in the male rat. *The journal of Urology*, 2402-2406.

- Manzo J, Lucio R, Martínez-Gómez M, Pacheco P. 1995. Fisiología de la conducta sexual masculina: control neutral de la erección peneana en la rata.
- Martín, AI, Priego, T. y López-Calderón, A. 2018. Hormonas y atrofia muscular. *Atrofia muscular*, 207-233.
- Martínez-Gómez M, Chirino R, Beyer C, Komisaruk BR, Pacheco P. 1992. Visceral and Postural Reflexes Evoked by Genital Stimulation in Urethane-Anesthetized Female Rats. *Brain research*, 279-284.
- Matthews PB. 1981. Evolving views on the internal operation and functional role of the muscle spindle. *El diario de fisiología*, 320, 1-30.
- McKinnell WI, Parise G, Rudnicki MA. 2005. Muscle Stem Cells and Regenerative Myogenesis. *Current Topics in Developmental Biology*. 113-130
- Moreno-Altamirano L, García-García JJ, Soto-Estrada G, Capraro S, Limón-Cruz D. 2014. Epidemiología y determinantes sociales asociados a la obesidad y la diabetes tipo 2 en México. *Revista Médica del Hospital General de México*, 77(3), 114-123.
- Moreno F. 2015. Histological description of muscle spindle. *Salutem Scientia Spiritus*. Pp. 2463-1426.
- Nardiello A, Baquedano P, Cavagnaro F. 2007. Dysfunctional Elimination Syndrome. *Rev. Chil. Pediatr*, 128-134.
- Navarro C. 2013. El músculo esquelético. Federación Española de enfermedades neuromusculares (ASEM).
- Oberbach A, Bossenz Y, Lehmann S, Niebauer J, Adams V, Paschike R, Punk K. 2006. Altered Fiber Distribution and Fiber-specific Glycolytic and Oxidativa Enzyme Activity in Skeletal Muscle of Patients Whith Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 895-900.
- Organización Mundial de la Salud. 1016. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Pacheco P, Martínez-Gómez M, Whiple B, Beyer C, Komisaruk B. 1989a. Somatomor components of the pelvic and pudendal nerves of the famele rat. *Brain Research*, 85-94.
- Pacheco P, Martinez-Gomez M, Whipple B, Beyer C, Komisaruk BR. 1989b. Somato-motor components of the pelvic and pudendal nerves of the female ratX. 490(1), 85-94.
- Pacheco-Torres L, Piñeiro R, Fragoso T, Valdés MDC, Martínez, R. 2006. Hígado graso no alcohólico en niños obesos. *Revista Cubana de Pediatría*, 78(1), 0-0.
- Pasquali R, Patton L, Gambineri A. 2007. Obesity and infertility. *Curr. Opin*, 482-487.
- Pérez, E, Fernández A. 2016. Cuidados auxiliares de enfermería. España: Mc Graw-Hill.
- Peter J, Barnard R, Edgerton V, Gillespie C, Stempel K. 1972. Perfiles metabólicos de tres tipos de fibras del músculo esquelético en cobayas y conejos. *Bioquímica*, 2627-2633.
- Poormans A, Wyndaele JJ. 1998. M. levator ani in the Rat: Does it really lift the anus? *The anatomical record*, 20-27.
- Rebbeck RT, Karunasekara Y, Board PG, Beard NA, Casarotto MG, Dulhunty AF. 2014. Skeletal muscle excitation-contraction coupling: who are the dancing partners? *Int J Biochem Cell Biol*, 28-3.
- Reider B. 2016. El papel de los músculos del suelo pelvivo en la respuesta orgásmica femenina. *Journal of Women´s Health, Issues y care*, 2-6.
- Rojas-Martínez R, Basto-Abreu A, Aguilar-Salinas CA, Zárate-Rojas E, Villalpando S, Barrientos-Gutiérrez T. 2018. Prevalence of previously diagnosed diabetes mellitus in Mexico. *Salud publica de Mexico*, 60(3), 224-232.

Rodríguez-Reyes N, Rodríguez-Zayas AE, Javadov S, Frontera WR. 2016. Single muscle fiber contractile properties in diabetic rat muscle. *Muscle & Nerve*, 53(6), 958-964.

Rosero DH, Salazar L, Tovar MA. 2015. Músculo esquelético y lesión por perfusión. *Revista Médica de Risaralda*, 58-68.

Sánchez C. 2019. El consumo de sacarosa afecta el metabolismo de las fibras del músculo pubococcígeo relacionadas con la cantidad de glucógeno en ratas macho. Tesis de licenciatura en Química Clínica. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Sánchez S. 2019. Relación de la conducta de consumo de agua azucarada prenatal y posnatal con el tipo de fibra de los músculos pubococcígeo e iliococcígeo en rata macho. Tesis de Maestría en Neuroetología. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Scchiaffino S, Reggiani C. 2011. Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev*, 1447-1531.

Scott W, Stevens J, Binder-Macleod SA. 2001. Human skeletal muscle fiber type classifications. *Phys Ther*, 1810-1816.

Seale P, Sabourin LA, Girgis-Gabardo A, Mansouri A, Gruss P, Rudnicki MA. 2000. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell*. 777-786.

Souccar C, Lapa A, Ribeiro-Do-Valle J. 1982. Influence of castration on the electrical excitability and contraction properties of the rat levator ani muscle. *Experimental Neurology*, 576-588.

Strain GW, Zumoff B, Kream J, Strain JJ, Deucher R, Rosenfeld RS, Fukushima DK. 1982. Mild Hypogonadotropic hypogonadism in obese men. *Metabolism*, 871-875.

Thor K, De Groat W. 2010. Neural control of the female urethral and anal rhabdosphincters and pelvic floor muscles. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 416-438.

Tortora GJ, Derrickson B. 2013. Anatomía y fisiología. Editorial Panamericana. Buenos Aires.

Wagenlehner F, Bschleipfer T, Liedl B, Gunnemann A, Petros P, Weidner W. 2010. Surgical Reconstruction of Pelvic Floor Descent: Anatomic and Functional Aspects. *Urologia Internationalis*, 1-9.

WORLD OBESITY. 2019. Atlas of childhood Obesity

Wyndaele J, Poortmans A. 2006. Functional and histological effects of intravaginal electrical stimulation on the pelvic muscles: a study in the rat. *Urogynecol. J*, 444-448.

Xicohtencatl-Rugiero I, Corona-Quintanilla DL, Nicolás L, Martínez-Gómez M, Cuevas E, Castelán F, Rodríguez-Antolín J. 2015. The role of the pubococcygeus muscle in the urethro-genital reflex of male rats. *Neurourology and Urodynamics*, 80-85.

Yan X, Yan H, Zhao JX, Largo NM, Uthlaut AB, Zhu MJ, Du M. 2011. Maternal obesity-impairing insulin signaling in sheep and induced lipid accumulation and fibrosis in skeletal muscle of offspring. *Biology of reproduction*, 172-178.

Zambrano E, Martínez-Samayoa PM, Bautista CJ, Deás M, Guillén L, Rodríguez-González GL, Nathanielsz PW. 2005. Sex differences in transgenerational alterations of growth and metabolism in progeny (F2) of female offspring (F1) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *The Journal of physiology*, 225-236.

Zumoff B, Strain GW, Miller LK, Rosner W, Seine R, Seres DS, Rosenfeld RS. 1990. Plasma free and non-sex-hormone-binding-globulin-bound testosterone are decreased in obese men in proportion to their degree of obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 929-931.

12. Glosario.

LA: Músculo elevador del ano.

IC: Músculo isquiocavernoso.

BC: Buelbocavernoso.

Mpc: Músculo pubococcígeo.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

WOF: Organización mundial de la
obesidad.

IMC: Índice de masa corporal.

ATP: Adenosín trifosfato.

MCH: cadena pesada de miosina.

ADP: Adenosín difosfato.

Ca: Calcio.

Mg: Magnesio.

NADH: Nicotinamida adenina
dinucleótido.

SME: Síndrome de Mala Eliminación.

CSA: Área transversal de las fibras
musculares.

Glut: Transportador de glucosa.

LDH: Lactato deshidrogenasa.

13. Anexos

Deshidratación del tejido muscular.

- 1) Después de la disección, mantener la mitad del mPc derecho en Bouin por 24 horas.
- 2) Sacar el tejido del Bouin y cortarlo de acuerdo a la porción que se va a deshidratar.
- 3) Realizar la deshidratación de acuerdo a la lista siguiente, cuidando que la solución cubra ligeramente el tejido y mantener en agitación.

<i>N. de solución</i>	<i>Solución y concentración</i>	<i>Tiempo en minutos</i>
<i>1</i>	OH 60%	15 minutos
<i>2</i>	OH 70%	20 minutos
<i>3</i>	OH 80%	50 minutos
<i>4</i>	OH 96%	50 minutos
<i>5</i>	OH 100%	50 minutos
<i>6</i>	OH 100% -Xileno	30 minutos
<i>7</i>	Xileno I	30 minutos
<i>8</i>	Xileno II	30 minutos
<i>9</i>	Paraplast Plus I	1 hora
<i>10</i>	Paraplast Plus II	2 horas
<i>11</i>	Paraplast Plus II	2 horas

- 4) Incluir todos los tejidos con Paraplast Plus limpio y dejar que solidifiquen.

Nota: Previamente poner a licuar el Paraplast Plus en el horno a una temperatura máxima de 56°C.

Tinción de Hematoxilina – Eosina

Después de obtener los cortes en el micrótopo se dejan secar mínimo por 24 h, posteriormente se tiñen con los siguientes tiempos en las diferentes soluciones.

<i>Paso</i>	<i>No.</i>	<i>Solución</i>	<i>Tiempo</i>
<i>Desparaafinar</i>	1	Xileno I	5 minutos
	2	Xilol II	5 minutos
	3	Xilol-etanol	5 minutos
<i>Hidratación</i>	4	Etanol 100%	5 minutos
	5	Etanol 100%	5 minutos
	6	Etanol 96%	3 minutos
	7	Etanol 80%	3 minutos
	8	Etanol 60%	3 minutos
	9	Agua destilada	3 minutos
	10	Hematoxilina de Harris	30 minutos
<i>Contraste</i>	11	Agua corriente	40 segundos
	12	Etanol ácido	40 segundos
	13	Agua destilada	40 segundos
<i>Azuleamiento</i>	14	Etanol amoniacal	3 minutos
	15	Agua destilada	40 segundos
	16	Eosina	3 minutos
	17	Agua destilada	40 segundos
<i>Deshidratación</i>	18	Etanol 96%	40 segundos
	19	Etanol 96%	40 segundos
	20	Etanol 100%	30 segundos
	21	Etanol 100%	30 segundos
	22	Etanol-Xileno	30 segundos
<i>Montaje</i>	23	Cytoseal TM 60	

- ✓ En cada canastilla caben 32 portaobjetos.
- ✓ Revisar al salir el tren en la hematoxilina, eosina, alcohol ácido y alcohol amoniacal un porta en el microscopio para ver cómo se tiñe.
- ✓ En caso de que a la hora de montar con el cytoseal queden burbujas regresar el porta al Xileno para volver a montar.

14. Publicaciones.

46 Reunión Anual
Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C.
Universidad Veracruzana
Boca del Río, Veracruz. 24-26 de mayo de 2021

15.El consumo elevado de sacarosa afecta el metabolismo de las fibras del músculo pubococcigeo.

Sánchez Sánchez C¹, Castelán F^{2,3}, Lara García O², Rodríguez-Antolín J², Martínez-Gómez M^{2,3}, Carrasco Ruiz MA⁴, Cuevas-Romero E², Nicolás-Toledo L².

¹Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. ²Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala. ³Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. ⁴Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

El músculo pubococcigeo (mPb) depende del metabolismo de los ácidos grasos y la glucosa, posee tres tipos de fibras: oxidativas, glucolíticas y fibras intermedias que se adaptan a los sustratos que se les proporcione. En la rata macho, se sabe que el mPc participa en la micción y la eyaculación, sin embargo, un cambio en su metabolismo podría afectar dichos procesos.

Dado lo anterior, analizamos la relación del consumo de sacarosa sobre la organización de los tipos de fibras, la expresión del transportador Glut 4, las áreas transversales de las fibras musculares y se realizó un registro electromiográfico de la actividad refleja del mPc en ratas infantiles macho. Se utilizaron 16 ratas Wistar con 21 días de edad, se asignaron de manera aleatoria en dos grupos: el grupo control tuvo acceso libre a agua simple y una dieta standard Lab-Diet 5001. El grupo A30 se le proporcionó la misma dieta y libre acceso a solución de sacarosa al 30% durante 4 semanas. Los animales se sacrificaron a los 51 días de edad y se extrajeron ambos mPc para analizarlos. En el grupo A30, se observó un aumento de peso ($p < 0.01$) y en el área transversal de las fibras musculares ($p < 0.0001$), una elevación de los niveles de glucógeno y del transportador Glut 4 muscular ($p < 0.01$, $p < 0.05$), así como un aumento de fibras glucolíticas y una disminución de fibras intermedias ($P < 0.05$, $P < 0.001$). El análisis de la actividad refleja del mPc mostró una diferencia entre los grupos en cuanto a la amplitud y duración de la actividad, además se observó una actividad de posdescarga en el control, pero no en el grupo A30. El consumo de sacarosa aumenta la expresión del transportador Glut 4 y el contenido de glucógeno muscular, generando un aumento en el área transversal y la distribución de las fibras rápidas del mPb en la rata macho infante. El consumo elevado de sacarosa desde temprana edad afecta el metabolismo de las fibras del músculo pubococcigeo.