



ABRIR RESULTADOS

D i s c u s i ó n

13.- VALORACIÓN DEL MÉTODO UTILIZADO.

13.1.- EXTRACCIÓN DE MUESTRAS.

El primer aspecto a considerar en esta discusión es la utilidad del método empleado en la obtención de las muestras de tejido. Cuando se presenta la necesidad de estudiar un tejido tan accesible como el muscular, ya sea desde el punto de vista de la investigación, como del diagnóstico de diferentes patologías, el perfeccionamiento de los instrumentos de toma de muestras, ha sido fundamental para conseguir evitar al donante, el mayor número de molestias.

En este sentido, creemos que la biopsia muscular con aguja es, a todos los niveles, un gran adelanto, sobre la toma abierta. Como procedimiento no es en absoluto traumático y por supuesto, es indoloro, como hemos podido comprobar con las extracciones a nuestros grupos de estudiantes y deportistas. También el tiempo invertido en realizar la toma de muestras es bastante reducido, no superando los 15 minutos. Al ser la incisión tan pequeña, el paciente puede movilizarse inmediatamente. Este punto de vista ha sido compartido por numerosos autores, desde los inicios de este modo de proceder, como podemos constatar en las publicaciones de Edwards y cols. (1977), Kirby y cols. (1982) y Pampheltt y cols. (1985).

En la clínica es muy útil para biopsia muscular con fines diagnósticos en pacientes problemáticos. Diliberty y cols. (1983) han biopsiado a 77 niños para la valoración de alteraciones neuromusculares, sin que se presentase ninguna complicación. Boltshauser (1986) apunta la conveniencia de aplicar esta técnica de biopsia con aguja, como método de elección en algunas personas, en las que la técnica abierta es discutida (niños, obesos, enfermos con alteraciones cardíacas), mientras que en otros casos, cuando debe visualizarse exactamente la zona del músculo en la que se va a tomar la muestra, no hay más remedio que recurrir a la técnica abierta.

En cuanto a la posibilidad de complicaciones, el análisis también es favorable a este método. En primer lugar se reduce considerablemente la posibilidad de infecciones al ser la incisión mínima. La producción de hematomas en la casuística de Hultmann (1967) se reduce al 4 por mil y Edwards (1973) en 120 biopsias no detecta ningún hematoma. Bergström (1975) en 5000 biopsias, solamente en una ocasión requirió una intervención para detener una hemorragia arterial. Aunque Kirby (1982) utilizando ultrasonidos, demuestra que los hematomas pequeños en la zona de la biopsia son más frecuentes de lo que se refiere sin esta comprobación. En nuestra estadística no hemos encontrado ninguna complicación. Únicamente una ligera molestia en la contracción del

músculo en el transcurso de las primeras 48 horas, en un número reducido de donantes, preferentemente del grupo control, que no influyó en su actividad normal.

Por otra parte, el resultado del estudio histológico no varía sea cual sea la técnica que utilicemos, como ya demostró Dubowitz en 1977, porque el tamaño de la muestra obtenida es suficiente para llevar a cabo una gran batería de técnicas, encaminadas a estudios morfológicos, histoquímicos o bioquímicos (Diliberty y cols. 1983, Boltshauser 1986). Al reducirse el tiempo de manipulación de la muestra desde la incisión hasta la inmersión en fijadores o la congelación, se obtienen datos más precisos en los resultados a todos los niveles. Su sencillez ha permitido aplicarlo en el deporte, para un mejor conocimiento de la relación morfología-función de las células de este tejido, llegando incluso a poder realizar la toma de muestras durante los entrenamientos (Sjöström y cols., 1982b), para estudios detallados de momentos metabólicos concretos.

13.2.- DETERMINACIÓN DE TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS.

En segundo lugar debemos considerar la validez del estudio enzimático, que tanta controversia ha despertado entre los diferentes y numerosos autores. La elección de las técnicas la caracterización de cada tipo de fibra se ha convertido en los últimos años en uno de los principales puntos de discusión, precisamente por la gran variedad de las que disponemos.

El músculo esquelético en las especies de mamíferos representa a una heterogénea población celular, con fibras que tienen una diversidad individualizada en características fisiológicas (Close, 1972; Bershitsky y cols., 1997), bioquímicas (Peter y cols., 1972; Vigoreaux, 1994), histoquímicas (Khan, 1976; Santana-Pereira y cols., 1995), inmunohistoquímicas (Hoh y cols., 1978; Schiaffino y Reggiani, 1996) y ultraestructurales (Eisenberg y Kuda, 1976; Ogata y Yamasaki, 1985). Estas diferencias se han utilizado para separar las fibras musculares en grupos o tipos de características similares.

Pero, normalmente, los tejidos procesados para microscopía electrónica son inservibles para valoración histoquímica y viceversa. Sin embargo cuando se plantea un ensayo histológico, se puede llevar a cabo un fraccionamiento del tejido previamente programado. La biopsia muestra, paquetes poligonales de fibras musculares organizadas en fascículos bien definidos, de forma que secciones contiguas, en las que es fácil localizar la misma disposición de una serie de fibras, se puede fijar para diferentes métodos, proveyendo una correlación directa, tanto histoquímica como electrónica, mucho más útil para la interpretación de resultados.

La elección de la batería de pruebas histoquímicas es esencial para que la clasificación obtenida a partir de ella sea absolutamente significativa, de forma que si solo utilizamos la demostración del sustrato citoplásmico ATPasa, incluso a diferente pH (Brooke y Kaiser, 1970), la interpretación de datos obtenidos con reacción intermedia puede desvirtuar los resultados. Pero si estas técnicas se complementan con la caracterización de otros sustratos definitorios del tipo de fibra (NADH-TR, SDH, etc.), se puede hacer el estudio comparativo entre todas las técnicas, que nos va a permitir eliminar los falsos positivos y negativos.

A esto se suma la clasificación más reciente expuesta por Staron y Johnson (1993) en la que proponen la inclusión de fibras tipo Ic, IIac y IIab como elementos individualizados. Los conocimientos actuales apuntan al concepto de continuidad bioquímica, según el cual, los músculos pueden expresar diferente proporción de isoformas dentro de una misma célula (Billeter y cols., 1980; Staron e Hikida, 1992) cuando están en periodo de crecimiento activo fisiológico, o cuando se le somete a una actividad dinámica diferente a la que venía desarrollando. Por lo tanto, fibras que en un corte, pueden dar reacción claramente positiva para una enzima, se supone que puede hacerse menos positivas en cortes sucesivos y distorsionar los resultados, pudiendo evitarse con estas técnicas cruzadas, ya que los cambios en la composición de las miofibrillas, no siempre son contemporáneos con los cambios en su metabolismo.

En nuestro caso, las muestras se obtienen en momentos en los que cualquier cambio en la expresión de isomiosinas ha podido ocurrir ya o estar produciéndose, porque no se sabe el tiempo que tarda en instaurarse estas modificaciones. Por eso es necesaria la utilización de otras técnicas que demuestren sustratos glicolíticos y mitocondriales cuyas variaciones en los diferentes tipos de fibras también son muy constantes, para el mismo tipo de ejercicio (Ingjer, 1979; Staron, 1983). Los cambios glicolíticos y oxidativos que acompañan las variaciones en la dotación mitocondrial concuerda plenamente con la capacidad oxidativa de cada tipo de fibra, pero además Cogswell y cols. (1993) vieron que la citocromo oxidasa aumenta más específicamente (un 20%) en las mitocondrias intermiofibrilares, mientras que la SDH presenta las mayores variaciones en las subsarcolémicas (un 40%). La comparación de estos datos con el resto de enzimas propuestas, y con las imágenes obtenidas con microscopía electrónica de transmisión, no dejan lugar a dudas sobre la bondad de los resultados obtenidos.

Si a esto añadimos la demostración por Santana-Pereira y cols. (1995) de la especificidad común entre la ATPasa miofibrilar y los MoAb anti MHC humana, no tenemos dudas ya en afirmar que los objetivos que queremos llevar a cabo no necesitan

esencialmente el empleo de técnicas inmunocitoquímicas para confirmar el detallado y amplio estudio histoquímico.

13.3.- VALORACIÓN DEL ANÁLISIS MORFOMÉTRICO.

El análisis morfométrico en cuanto al planteamiento matemático que determina el área de corte de fibra debe superar dos obstáculos. Por un lado, la manipulación técnica deshidrata en parte el tejido y sus dimensiones pueden variar con la realidad. De hecho Holly y cols. (1980) valoraron la disminución del área hasta en un 33%. Sin embargo, debemos tener en cuenta que nosotros estamos estudiando un cambio en los tipos de fibras, utilizando el mismo sistema de obtención de muestras y procesamiento en todas ellas, por lo que la posible diferencia apuntada, al afectar a todas por igual, no varía el resultado final obtenido.

El otro punto es que aunque en el grupo control, al estar las fibras menos comprimidas, tiendan a una superficie de corte que se pueda estimar como circunferencial, en los atletas varía el área transversal de cada fibra y las presiones de unas sobre otras, determinan formas poligonales. Por lo tanto, no se puede aplicar directamente la medida de un solo diámetro para calcular el área, como utilizan numerosos autores, teniendo que ser analizados varios puntos perimétrales en cada fibra, para que el estudio sea correcto (Aniansson y cols. 1981).

La validez de los datos obtenidos en relación con el volumen mitocondrial, a partir de muestras de muestras procesadas para MET, no deja lugar a dudas, porque el procedimiento matemático de estudio estereológico propuesto por Weibel en 1966 y 1979, es el que en la actualidad está admitido como más exacto, y es seguido por todos los investigadores con un planteamiento similar al nuestro.

14.- VALORACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y ULTRAESTRUCTURALES EN CADA TIPO DE FIBRA.

Durante mucho tiempo se ha estudiado la estructura de la fibra muscular estriada esquelética y su función como si de una sola célula se tratara. Poco a poco, al ir profundizando en pequeños detalles, se ha ido viendo que lo mismo la morfología, que la forma de llevar a cabo su trabajo, difiere de unos músculos a otros y dentro de un mismo músculo, cada célula presenta características estructurales que consiguen un mejor acondicionamiento para una forma de contracción u otra. En la actualidad se sabe que estas diferencias proporcionan a la población celular que estamos estudiando, una capacidad de realización del trabajo mecánico, muy superior a la que se había apuntado

y, su origen, desarrollo y adaptabilidad, son mucho más complejas de lo que podría haberse imaginado.

En la parte de nuestro estudio dedicada a la ultraestructura de la fibra muscular en los grupos del protocolo experimental, constatamos sin lugar a dudas las diferencias morfológicas características de cada tipo de fibras, que permitan su inclusión entre las de contracción rápida o lenta, y una vez caracterizadas, nos van a permitir estudiar las variaciones morfológicas que ha impuesto sobre ellas el ejercicio físico en función de la modalidad elegida y del tiempo dedicado a su realización.

14.1.- VARIACIONES EN LA SUPERFICIE DE CORTE TRANSVERSAL.

Siguiendo este planteamiento, vemos en primer lugar cómo la superficie de corte transversal es diferente ya en una primera impresión entre unos grupos y otros, de forma que las fibras musculares que predominan en el grupo control, que por sus características morfológicas y por su comparación con técnicas enzimáticas, corresponden a las tipo I, tienen un diámetro bastante constante, mientras que las tipo II, varían más entre ellas, siendo mayores las IIa y IIb que las clasificadas por Ogata y Murata (1969) como intermedias y que en nuestra clasificación corresponden a las IIc. Estos datos concuerdan con los aportados por Jennekens y cols. (1971).

A pesar de que desde el primer momento hemos dicho que no se suelen utilizar como dato característico para un estudio clínico, sí es útil como primer rasgo avalorar en la calidad de un entrenamiento para una actividad deportiva concreta, como es nuestro caso. Esta primera impresión va encaminada a precisar la validez o no de los diferente grupos de deportistas de nuestro protocolo.

Así observamos ya en la visión general que proporcionan los cortes semifinos, comparados con los correspondientes de histoquímica, cómo en los grupos de resistencia, hay un aumento en el número de fibras con características tipo I, con respecto al grupo control. A la vez aumentan la diversidad de sus diámetros en el corte transversal, es decir, las hay mayores que en el grupo control, pero también otras más delgadas, aunque como ya veremos en el estudio cuantitativo, la superficie media de corte transversal ha aumentado. Lo mismo ocurre con el resto de las fibras, aumentando también algo en número las IIc, en las que además se detecta un incremento en su superficie de corte, ocurriendo lo mismo en las tipo IIa y IIb, pero el número total de éstas ha disminuido.

En el grupo de atletas de velocidad, sin embargo, el mayor aumento en número y proporción afecta a poblaciones compatibles morfológicamente con fibras tipo II, de contracción rápida, mientras que las tipo I y las intermedias, disminuyen en comparación con los controles. La variación en dimensiones dentro de cada tipo es amplia, mucho más que la apuntada por los autores que hacen una valoración (Edström y Ekblom, 1972; McDougall y cols., 1979; Bell y Jacobs, 1990), sin establecer previamente el tipo de actividad que realiza el donante de la muestra.

De esta primera impresión puede deducirse que hay un aumento de tamaño del músculo, justificable tanto por aumento en el número de fibras musculares que aparecen en el corte, como por las dimensiones de éstas. Es decir, se produce un crecimiento cuya única causa lógica es la influencia que tiene el ejercicio sobre este tejido, y se puede demostrar cómo este fenómeno constituye una adaptación progresiva a la mayor demanda de trabajo mecánico ejercida sobre él.

En este sentido todo apunta a la validez de nuestro protocolo y a la concordancia con otros autores, como Goldspink (1964) e Ikai y Fukunaga (1970), que observaron el fenómeno y abrieron un nuevo camino en la investigación sobre este punto. El aumento en el número de fibras de contracción lenta, más resistentes a la fatiga, y de las de contracción rápida, con facilidad para la fatiga, en diferente proporción para cada grupo de deportistas, parece la consecuencia lógica a la adaptación a cada tipo de ejercicio.

Como hemos dicho al comienzo de esta consideración, este dato planteado desde el punto de vista morfológico ya llama la atención sobre el fenómeno de crecimiento muscular, pero su análisis en profundidad lo haremos al valorar las modificaciones que aparecen en el estudio ultraestructural de las miofibrillas en los distintos grupos de atletas.

14.2.- VARIACIONES MORFOLÓGICAS EN LA DOTACIÓN MITOCONDRIAL.

Otro dato morfológico a favor de la correcta diversificación de los tipos de fibras en nuestros grupos de trabajo, puede derivarse de la distribución de organelas citoplásmicas, y así vemos cómo las fibras predominantes en los atletas de resistencia, presentan grupos de mitocondrias subsarcolémicas y perinucleares, con mayor frecuencia que el resto de las fibras, y las de localización intermiofibrilar son también más abundantes y de mayor tamaño, orientándonos a incluirlas entre las fibras tipo I. Mientras, en las imágenes obtenidas de los atletas de velocidad, las fibras más abundantes no tienen acúmulos subsarcolémicos y no son tan llamativos los que se localizan alrededor del núcleo. También las mitocondrias que se disponen entre las

miofibrillas son menos numerosas y de menor tamaño. Es decir, concuerdan con los datos morfológicos propuestos para las fibras tipo II por Ogata y Yamasaki (1985).

Los resultados morfológicos que hemos obtenido, concuerdan con los de Shafiq y cols (1966), que demuestran el mayor tamaño de las mitocondrias en las fibras tipo I, aunque ellos hacen un estudio destinado solo a profundizar en la morfología de la organela y apuntan también que existe una mayor complejidad en las crestas de estas mitocondrias. Por todos los datos estudiados sobre el metabolismo de este tipo de fibra de contracción lenta y muy resistente a la fatiga, y por su forma de conseguir energía para la contracción muscular, parece correcta la necesidad de un soporte metabólico amplio, capaz de mantener en funcionamiento las cadenas respiratorias durante largos periodos de tiempo. Estos hechos hacen pensar que el ejercicio de resistencia estimula el desarrollo de este tipo de fibra de tipo I y todas sus organelas implicadas en el aporte energético.

La morfología específica descrita por Gauthier (1970) para las mitocondrias de las diferentes localizaciones en este tipo de fibra, también la hemos encontrado en las muestras, incluso las grandes mitocondrias que aparecen entre las miofibrillas, con sus prolongaciones laterales a ambos lados de la línea Z y que son de mayor tamaño en los grupos de deportistas, sobre todo de resistencia, que en los controles. La localización de las mitocondrias intermiofibrilares, a ambos lados de la línea Z, es un clásico en todas las descripciones, como Ogata y Yamasaki (1985) demostraron con imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido, que no dejaban lugar a dudas.

Pero el hablar de "mitocondrias limitantes bandas I" como término definitorio de un tipo de mitocondrias, propuesto por Padykula y Gauthier (1967) y Schmalbruch (1970) es más impreciso. Por un lado, en esta localización, en el límite entre las bandas A e I, pueden encontrarse tanto pequeñas mitocondrias, como los brazos y prolongaciones que emiten las subsarcolémicas entre las miofibrillas adyacentes, o bien los brazos de las grandes mitocondrias, en un corte que no incluya el cuerpo de esta organela. También influye la forma en que se ha fijado el tejido. Si no se fija en extensión, para que la sarcómera mantenga su tamaño de relajación, hay una tendencia durante los primeros momentos de falta de aporte de Ca^{2+} , a desarrollar un fenómeno de tetanización de la muestra de músculo, por falta de reposición de ATP para invertir la contracción. Es un fenómeno similar al que se produce en el "rigor mortis", con lo que la unión de las bandas A-I quedarían más cerca de la línea Z y las mitocondrias de una y otra localización se confundirían.

Los autores consultados no hacen mención de este dato, salvo Ogata y su equipo, que fijan en extensión y aceptan como válidas las tres posibilidades en el origen de las mitocondrias en la banda I. El por qué de esta localización predominante a ambos lados de la línea Z, puede tener su explicación en el planteamiento del procedimiento mecánico de la contracción. Por el deslizamiento de los filamentos, la región a ambos lados de la banda H va a sufrir modificaciones importantes y continuas por el deslizamiento de filamentos, luego es preferible que sobre ella no se localizan elementos rígidos de citoplasma, que limiten el desplazamiento. Por otro lado, el sistema de triadas implicadas en el transporte de Ca^{2+} utilizable en la contracción, integrado por las cisternas terminales de RS y los túbulos T, se sitúa también a ambos lados de la línea Z, en la unión A-I, y en este transporte es necesario el consumo de grandes cantidades de energía, que pueden ser suministradas directamente por las mitocondrias contiguas.

Ogata y Yamasaki (1987) también estudiaron la morfología de la dotación mitocondrial en el músculo de anfibios, constatando una mayor simplicidad que en sus primeros estudios en músculo de rata. En nuestro trabajo encontramos una gran similitud entre la distribución de mitocondrias en fibras humanas, y la morfología descrita por estos autores en otros mamíferos. Shafiq y cols. (1966) y Ogata y Murata (1969) en fibras de músculo humano, ya habían adelantado la descripción de estas formas y localizaciones utilizando el microscopio electrónico de transmisión. Por los resultados de ambos trabajos, parece que en el músculo humano se mantiene la forma y distribución, pero son mucho menos numerosas que en el equivalente de rata.

En nuestro caso sí podemos constatar una mayor complejidad en el condrioma de los tipos de fibras que aparecen en los grupos de deportistas en comparación con los controles, por lo que deducimos que la simplicidad que estos autores han encontrado en sus muestras es debida a que su estudio se realizó en personas de vida sedentaria, con músculos que necesitan menos consumo de energía por su menor utilización.

Para ellos, la acumulación mitocondrial se observa rara vez en los cortes de fibras rojas, pero las hay distribuidas individualmente bajo el sarcolema y difieren en número y dimensiones en los tres tipos de fibra, disminuyendo en tamaño y en número desde las rojas a las intermedias y blancas. Stein y Padykula (1962) las describen como un brazalete en forma de malla, alrededor de las miofibrillas a nivel de la banda I, además de grandes y redondas en la banda A, que no existen en las blancas.

Las grandes mitocondrias interfibrilares con sus brazos rodeando la miofibrilla, pueden verse a veces ocupando bandas A, pero no en toda la circunferencia de la miofibrilla, lo que permite la contracción. No sabemos si la falta de esta forma de

mitocondrias en las fibras tipo IIa y IIb puede deberse precisamente a que la contracción rápida de estas células estaría limitada por la barrera mecánica mitocondrial, pero las de contracción lenta tipo I, que a la vez son muy resistente, necesitan mayor aporte de ATP producido en estas mitocondrias, y por eso las mantiene aun a riesgo de un posible impedimento mecánico.

14.3.- VARIACIONES MORFOLÓGICAS EN EL RETÍCULO SARCOPLÁSMICO Y TÚBULOS T.

Otro dato ultraestructural a considerar en la veracidad de la clasificación de los tipos de fibras, es la variación que observamos en la distribución del RS y túbulos T en nuestras preparaciones. En las fibras que clasificamos como tipo I de nuestros grupos, son poco manifiestos y de menor calibre que en las tipo II. En el corte longitudinal se localizan sacos de RS en las proximidades de la unión A-I en ambos casos, más o menos comprimidos o desplazados hacia la línea Z, en función del número de mitocondrias a ese nivel. En el corte transversal se aprecian mejor por su estructura membranosa algo más circunferencial, que se localiza con mayor frecuencia en los vértices de los polígonos de miofibrillas. Cuando estos paquetes densos son de gran tamaño, también pueden localizarse en las caras laterales.

El sistema de túbulos T es difícil de ver por sus reducidas dimensiones transversales, pero su localización en zonas concretas A-I y en relación con el RS, ayuda a localizarlos. A veces solo aparecen como una estructura membranosa en forma de saco aplanado, y en otras algo más dilatado, entre dos cisternas de RS, de forma que la típica estructura descrita por Andersen-Cedergreen (1959) y las triadas de Franzini-Armstrong (1971), son difíciles de apreciar.

En la proporción y distribución de este sistema de membranas, tenemos que hacer dos puntualizaciones. Por un lado, la relación inversa entre el tamaño de las mitocondrias y el de las triadas y por otro, la mayor o menor cantidad de cisternas de RS que rodea las miofibrillas de cada tipo de fibra.

En el primer caso puede deberse a fenómenos de compresión, que no parece lógico porque dificultaría el transporte de Ca^{2+} y disminuiría el rendimiento de la fibra. También puede pensarse en una menor necesidad de superficie de intercambio de iones. De hecho, la mecánica de las fibras tipo I estaría de acuerdo con esta última justificación: al contraerse con más lentitud, hay más tiempo para que la redistribución de iones tenga lugar, sin necesidad de una gran superficie de membranas. Sin embargo, en las fibras tipo II, de contracción rápida, el intercambio es el mismo, pero al disminuir

el tiempo para llevarlo a cabo, necesitan una mayor superficie con receptores y bombas de intercambio de iones.

El segundo punto en cuanto a la preferente localización en los vértices, creemos que se trata simplemente de un problema de espacio, más amplio en estos puntos, de forma que solo cuando se requiere una mayor cantidad de membranas, para rodear a una miofibrilla con más número de elementos integradores, ocupa los lados entre dos de ellas, bastante más estrechos que los vértices.

La localización de las triadas a nivel de la unión de las bandas A-I en todos los tipos de fibras del músculo esquelético, puede tener un significado funcional en cuanto al punto en que se inicia la fijación de Ca^{2+} en la molécula de TnC en el filamento de actina. Es decir, además de la distribución en red más o menos compleja que Ogata y Yamasaki (1985) describieron en sus trabajos con MEB, Fryer y Neering (1986) demostraron que el calcio se libera antes en las zonas contiguas al túbulo T que en el centro de los sacos de RS, y por tanto, es más fácil que pase en primer lugar al hialoplasma y a la TnC en esta localización y la fijación de Ca^{2+} sea diferente en el tiempo.

El mismo razonamiento puede seguirse con el grosor de la red de túbulos T entre dos cisternas al corte longitudinal, más estrechos en las fibras ST que en las FT. Este hecho puede deberse a la menor proporción de proteoglicanos en las fibras de contracción lenta, como han visto Davis y Carlson (1995), o estar en dependencia de esa mayor o menor cantidad de Ca^{2+} que necesita cada tipo de célula muscular para una correcta función, ya que la diferencia de distribución de RS de unos tipos de fibra a otros, es más marcada en los deportistas que en los controles.

Como ya veremos más adelante, el aumento en la extensión de la red del RS y túbulos T en las fibras musculares de los deportistas, está en relación directa con el aumento en el número de miofibrillas tanto longitudinal como transversal. Estos datos ya habían sido expuestos en los trabajos de Shear y Goldspink (1971). Shafiq y cols. (1981) llaman la atención sobre la necesidad del crecimiento simultáneo de las dos estructuras, basándose en la necesidad de que la velocidad de ceder y secuestrar Ca^{2+} , debe mantenerse constante en cada miofibrilla, para que la contracción sea eficaz y no se produzcan lesiones por falta de coordinación.

Sato y cols. (1986) hablaron de la densidad de los túbulos T, que aparecen en menor cantidad en las fibras tipo I que en las II, pero nosotros no hemos visto esta diferencia en los deportistas de resistencia ni en los de velocidad, y sin embargo si

hemos podido apreciar la formación de este sistema de invaginaciones a partir de la membrana, aunque es verdad que se visualizan peor en las tipo I, pero nuestras limitaciones para identificar esta estructura, cuando su mecanismo bioquímico de acción está tan demostrado (Klitgaard y cols., 1989; Dulhunty y cols. 1987; Viru, 1994; Maguire y cols. 1997), no pueden hacer dudar de su presencia constante en esta localización.

En cuanto a sus variaciones con el ejercicio, nuestros resultados son similares a los aportados por Alway y cols. (1989) en atletas de velocidad, en los que aumentan directamente en las fibras tipo I y en la mayor proporción en las tipo II, siempre en proporción con el aumento de tamaño de cada fibra, y los de Sukhova y cols. (1991) que utilizan biopsias musculares con la misma localización que nosotros y también comprueban que la densidad del sistema de membranas aumenta en un 28,5% en atletas de resistencia y un 36% en los de velocidad. En nuestros grupos no hemos llegado a cuantificar las dimensiones de la red, pero por las imágenes obtenidas en microscopía electrónica, estamos en condiciones de afirmar que las fibras caracterizadas como de tipo I, presentan sacos de RS de menor calibre y aumentan proporcionalmente menos que en los atletas de velocidad.

14.4.- VARIACIONES EN EL SUSTRATO ENERGÉTICO.

La reserva energética que presenta datos morfológicos a nivel de las imágenes obtenidas por microscopía electrónica, está representado por el glucógeno y las gotas lipídicas. Con respecto al primero, vemos que en nuestros resultados se observa de forma más abundante y constante en los deportistas que en los estudiantes, y más aun en los deportistas de velocidad que llevan siete años de entrenamiento. Sin embargo, este dato no es útil para valorar el tipo de fibra que tenemos delante, porque aunque sabemos de otros autores que han determinado que el depósito es mayor en los deportistas de velocidad (Saltin y cols. 1976; Abernethy y cols., 1990), depende muy directamente de la alimentación y el ejercicio inmediatamente anterior a la toma de la muestra (Viru 1994) y nosotros no hemos tenido en cuenta este dato, por no ser necesario para nuestros objetivos.

Sin embargo, las gotas lipídicas intermiofibrilares que solo aparecen en las fibras tipo I y no en las tipo II, descritas por Lehninger (1967) y confirmadas por Abernethy y cols. (1990), sí se localizan en esta posición en el tipo de fibra predominante en los deportistas de resistencia y no en los de velocidad.

Con todas estas coincidencias creemos estar en condiciones de afirmar que los datos morfológicos y ultraestructurales que imputamos a cada tipo de fibra, están en

consonancia con las teorías y datos aportados por el resto de los autores consultados, hecho que además se reafirma como veremos, al poder apoyar plenamente en ellos los datos funcionales obtenidos por técnicas histoquímicas. Por lo tanto, las variaciones que produzcan en las fibras de cada grupo el diferente ejercicio pueden ser perfectamente valoradas.

15.- VARIACIONES MORFOLÓGICAS INDUCIDAS POR EL EJERCICIO EN CADA GRUPO DE NUESTRO PROTOCOLO.

Una vez comprobada la normalidad morfológica del tejido muscular que estudiamos en las muestras de cada donante, estamos en condiciones de discutir los datos expuestos en los resultados en cuanto al efecto que produce en la estructura de los tipos de fibra, la modalidad de ejercicio elegido por cada grupo.

Antes de profundizar en este apartado, tenemos que insistir en el hecho de que la descripción que hemos llevado a cabo en los resultados, sobre las diferencias morfológicas de las fibras que integran cada grupo, están basadas en la de sus formas predominantes. Es decir, en los atletas de resistencia el cambio afecta sobre todo a la población de células tipo I, mientras que los de velocidad muestran mayores diferencias en las fibras tipo IIa y IIb. De esta forma, en los deportistas de resistencia insistimos en las características y modificaciones de las tipo I, como hechos más llamativos, pero no quiere decir que los otros tipos no varíen. Las tipo IIc y sobre todo las IIa y IIb muestran variaciones similares a las que aparecen en los deportistas de velocidad, pero en menor número, porque son un tipo menos numeroso en los ciclistas. Estos hechos, pero a la inversa, se detectan en los atletas de velocidad, por lo que en ellos hacemos más hincapié en las modificaciones de las fibras tipo II, aunque también crecen las tipo I. El mismo planteamiento vamos a seguir en esta discusión, para no hacer el proceso demasiado repetitivo.

15.1.- VARIACIONES EN EL CRECIMIENTO LONGITUDINAL.

Como ya hemos visto, las descripciones de las células se han hecho siguiendo primero las modificaciones que se presentan en los extremos, para luego describir lo que sucede en la porción central de la célula. Creemos que esta forma de plantear los resultados, puede facilitar en gran medida la comprensión de los fenómenos de crecimiento que el ejercicio impone en las fibras musculares. Así vemos cómo tanto los atletas de resistencia como los de velocidad, siguen trayectorias paralelas en cuanto a

conseguir mayor masa muscular, pero con modificaciones que difieren en algunos puntos.

En términos generales, sin llegar al extremo de Williams y Goldspink (1971), que contaron el número de sarcómeras en músculos de animales de diferentes edades, para ver el crecimiento de estas fibras, ni el marcaje con isótopos radiactivos en el extremo final de las miofibrillas, que desarrollaron paralelamente Goldspink, Larson y Davies (1970), es fácil deducir que todas las transformaciones que se visualizan en los extremos de las fibras musculares de los deportistas, están en relación con un fenómeno de crecimiento longitudinal de este tejido.

Las imágenes indicadoras de crecimiento de la fibra muscular en cada grupo, nos habla de la posibilidad de responder de forma diferente a los distintos trabajos impuestos. Ya desde los cortes semifinos, podemos ver que los extremos de las fibras predominantes en los atletas de resistencia, son más largos, más afilados y terminan de forma puntiaguda, presentando con mucha frecuencia un núcleo en el extremo final, a modo de remate. Mientras tanto, en los atletas de velocidad, el extremo final con mayor frecuencia es más ancho y romo, mostrando a veces una protuberancia redondeada en este extremo, que normalmente no tiene núcleo final, sino lateral, en las proximidades del arranque de la protuberancia.

Las zonas laterales de estos extremos en ambos tipos de fibras, son diferentes, con mayor número de núcleos que en los sujetos control en ambos casos, y muchos más en las fibras de los atletas de velocidad que en el mismo tipo de los atletas de resistencia. En este caso, aparecen individualizados o alineados en grupos de tres, cinco o más. En general, los núcleos de estos miocitos son de formas globulosas con nucleolos marcados. La presencia de células con cromatina más densa en estas localizaciones es mayor que en los sujetos control, y parecen corresponder a células satélites.

El por qué de esta distinta morfología, podemos deducirla del trabajo mecánico que impone a las fibras, cada uno de los deportes: en el entrenamiento para resistencia, se producen contracciones a velocidad constante, mantenidas mucho tiempo, por lo que necesita fibras tipo I, más delgadas, con puntos de inserción de las sarcómeras y de las células que soporten muchas contracciones, aunque no tienen que desarrollar su máxima potencia. Según los trabajos de Roy y cols (1982), las fibras ST ganan en elasticidad y resistencia si el tamaño de sus miofibrillas se mantiene en forma de paquete delgado, con gran cantidad de proveedores de energía entre ellos, para mantener el trabajo durante largo tiempo. Sin embargo, las fibras de contracción rápida,

tipo II, que son las implicadas en los deportes de velocidad, tienen que estar preparadas para desarrollar la máxima potencia en el menor tiempo, por tanto, sus puntos de inserción deben ser anchos, igual que los paquetes de miofibrillas, como se deduce de los trabajos de Bershitsky y cols. (1997), de forma que si una fuerza excesiva es capaz de romper la inserción, no lo haga en su totalidad, evitando lesiones intra y extracelulares.

Estos datos se pueden aplicar a nuestros modelos y vemos que es un patrón morfológico que se mantiene en todos los grupos de deportistas. Sin embargo, en los controles no es tan marcada la diferencia en los extremos de ambos tipos de fibras. En primer lugar no se observan constantes señales de crecimiento y en segundo lugar, la vida diaria de tipo sedentario, no lleva a desarrollar predominantemente ninguno de los tipos de fibras, por lo que las inserciones no tienen una definición específica.

Visto ya con microscopía electrónica, las imágenes llamativas de crecimiento longitudinal en los atletas de resistencia con tres años de práctica deportiva, son evidentes, mostrando señales que indican una actividad de síntesis proteica constante. Desde la estructura de los núcleos cercanos, con sus nucleolos marcados y sus poros nucleares extraordinariamente activos, hasta los datos citoplásmicos, como el aumento en el número y dilatación de las cisternas del retículo endoplásmico rugoso perinucleares, tan poco manifiestas normalmente, el aumento en el número de polirribosomas en sus proximidades, los pequeños acúmulos de material fibrilar y granular denso, en las cercanías de la membrana plasmática y en los extremos de las miofibrillas y el hecho de casi no aparecer líneas Z en los extremos finales, suponemos que para permitir la polimerización de nuevos miofilamentos.

Una demostración bioquímica que confirme estos hechos, podemos encontrarla en los recientes trabajos de Rosser y cols. (1995) que nos hablan de un aumento de concentración de moléculas de MHCneo en los extremos de las fibras en crecimiento. Estos autores piensan que los núcleos en esta zona, transcriben para RNAm capaz de inducir la síntesis de estas cadenas, similares a las que se encuentran en la vida fetal, y por eso las miosinas recién formadas en el extremo distal son de este tipo.

Aparte de estas moléculas de RNAm detectadas en condiciones normales, Neuffer y cols. (1996) también apuntan la existencia de RNAr y RNAm en esta localización, cuando un músculo se estimula eléctricamente. La presencia de estos dos tipos de moléculas se asocian constantemente a la fabricación de proteínas, y en el caso concreto de la fibra muscular, Young y cols. (1975) demostraron que este proceso tiene lugar en las proximidades de las membranas de la célula.

El frente de avance afilado, parece indicarnos que son las miofibrillas centrales las que primero aumentan su número de sarcómeras, para después ir adicionando nuevos elementos en las miofibrillas laterales que rodean a éstas y así sucesivamente hasta llegar a las más externas. El extremo actúa a modo de cuña, abriéndose paso entre las demás fibras musculares que le rodean, profundizando en el conjuntivo subyacente. Sin embargo, el crecimiento del extremo final de las fibras tipo II de los atletas de velocidad, al ser más ancho, hace que sean varias las miofibrillas que van adicionando nuevas sarcómeras, de forma menos ordenada que en las fibras descritas en los atletas de resistencia.

Esta descripción parece contraria a lo que acabamos de describir en el párrafo anterior pero debemos pensar que la miofibrilla central de las tipo I, se encuentra a la misma distancia de la membrana que las laterales, gracias su forma cónica. En el caso del crecimiento de las miofibrillas en las fibras tipo II, puede producirse en las fibras centrales, más alejadas de la membrana, una forma de crecimiento similar a la que se produce en la zona media de la célula, para aumentar su diámetro transversal, y ya veremos entonces que no hay ninguna contradicción.

También hemos llamado la atención sobre la diferente densidad de la membrana de cada célula en los extremos, sobre todo en relación a paquetes de miofibrillas terminales. Estos hechos pueden explicarse desde dos puntos de vista: por un lado como refuerzo de una zona de inserción de las miofibrillas en el citoplasma, que con el deporte se contraen con más intensidad y durante más tiempo. Por otro, como una zona que recibe señales del conjuntivo adyacente y responde, preparando en la cara interna, las baterías de enzimas necesarias para la nucleación y polimerización de los filamentos de actina y miosina para nuevas sarcómeras. Son puntos sobre los que no hemos encontrado referencias. Realmente es ahora cuando se están caracterizando estas moléculas, que actúan como inductoras o inhibidoras de la polimerización de proteínas filamentosas estructurales del citoesqueleto y creemos que es un punto importante para plantear líneas de investigación, que soporten los datos moleculares que se van dilucidando.

Sabemos por los trabajos de Schafer y cols. (1995) que los filamentos de actina se forman por nucleación y polimerización de sus subunidades en las proximidades de la membrana celular, y en su extremo "más" pueden fijarse proteínas cap-Z, bloqueando su crecimiento y preparándola para que se una a la α -actinina de la línea Z. En el otro extremo, las moléculas de tropomodulina caracterizadas por Fowler y cols. (1993) limitarían el crecimiento del extremo "menos", consiguiendo una longitud útil para integrar la sarcómera. Estos hechos no se pueden ver con las técnicas que hemos

utilizado, pero su existencia durante este proceso es innegable por las consecuencias estructurales conseguidas.

Aparte de la síntesis de estos filamentos, tienen que formarse también moléculas de miosina y las proteínas integradoras de la línea Z. Las primeras se producen en zonas próximas a las membranas y de hecho, los paquetes aislados de miofilamentos gruesos que detectamos en esta localización, ya sea en haces paralelos o perpendiculares al eje de la célula, puede ser la expresión de este proceso. Su síntesis tiene lugar a partir de polirribosomas y RNAm específico en el citoplasma de esta localización (Young y cols., 1975).

Pomeroy y cols. (1991) demostraron que las moléculas de miosina II recién formadas, se van asociando a otros filamentos del citoesqueleto, que van a determinar su ordenación en filamentos paralelos al eje mayor de la célula. Según Kang y cols. (1995) después de esta primera orientación, la acción de la transglutaminasa influye de manera decisiva sobre ellas, para conseguir la forma estable del microfilamento grueso, que ya podríamos comparar con nuestras aportaciones. También Briggs y cols. (1995) demuestran que la unión de estos filamentos tiene lugar en la zona media, en la porción que luego formará la línea M.

Por otro lado, hemos hablado de mayor acumulación de zonas electrodensas en la cara interna de la membrana celular en estas zonas de finalización de las miofibrillas, y por los trabajos de McDonald y cols. (1995) sabemos que es precisamente a ese nivel, donde se produce el nacimiento de las miofibrillas, por ordenación de sus elementos, de forma que las moléculas de integrina actúan como receptores de adhesión, para luego disociarse de su localización y pasar a formar parte de los costámeros, que se tienen que originar en esta zona.

Cómo se asocian estas proteínas en la línea Z, cómo se fabrican y unen entre sí las proteínas que integran la línea Z, es algo que todavía no se conoce. Ya dijimos en su momento (Vigoreaux, 1994) que de la mayoría de las proteínas que se detectan en esta estructura, solo algunas como la α -actinina (Blanchard y cols., 1989) y la Cap-Z (Schafer y cols., 1994) forman componentes estructurales constantes a nivel molecular, mientras que el resto, pueden ser hasta productos de la degradación del trabajo efectuado. El hecho de que la estructura de algunas de estas proteínas sea similar a las que se localizan a nivel de la membrana (espectrina, distrofina, etc.), nos hace pensar que su lugar de integración, podría estar en relación con la membrana plasmática y que las figuras de grumos densos en su cara interna, también podrían corresponder al inicio de formación de líneas Z.

Si nos fijamos, en algunos haces de miofibrillas aislados y pequeños a este nivel, podemos ver uno de sus extremos con una estructura que presenta la misma densidad que la línea Z y la misma que esos gránulos de la membrana. Aun así, no estaremos seguros de estos hechos, hasta que se lleve a cabo su comprobación molecular. Además, para que esta zona de la sarcómera se estabilice y pueda continuar la adición de un nuevo segmento, es necesario que el citoesqueleto adyacente también haya aumentado su concentración en desmina y vimentina, que como Tokuyasu y cols. (1983) demostraron, forman parte de la unión entre varias líneas Z contiguas.

En nuestras preparaciones hemos visto que cuando las miofibrillas terminan directamente en el citoplasma, no hay acúmulos de mitocondrias a este nivel, pero sí aparecen de forma constante en posición intermiofibrilar, en hileras y según nos vamos alejando del extremo hacia porciones más anchas, las hileras disminuyen y aparecen más como elementos aislados a ambos lados de la línea Z. Estas imágenes pueden estar en relación, con la mayor necesidad de aporte energético para el crecimiento, por adición de miofilamentos a las miofibrillas en formación, e incluso para aportarla en la formación de nuevas redes de RS y túbulos T, que se extienden alrededor de las nuevas sarcómeras.

El aumento de metabolismo que imponemos al músculo durante el ejercicio presenta como consecuencia inmediata un aumento en esta organela citoplásmica, directamente implicada en la obtención de energía. No solo sufren variaciones morfológicas, si no también bioquímicas y de la conjunción de ambas surge el acondicionamiento para cada tipo de ejercicio. En general, los datos de los que disponemos en la bibliografía consultada, hacen referencia a variaciones cuantitativas de las mitocondrias, detectando un aumento de su volumen de 4 veces para las fibras FT y 2,5 para las ST (Bylund-Fellenius, 1977) o al revés, más alta para las tipo I que en las II (Wang y cols., 1993), pero estos datos y sus contradicciones también serán analizados con más detenimiento en nuestro apartado de resultados cuantitativos.

Desde el punto de vista morfológico, que ahora nos ocupa, Hoppeler y cols. (1985) hablan de un mayor aumento en la zona subsarcolémica que en la intermiofibrilar en distintos músculos de rata, con entrenamiento de resistencia, y Howald y cols. (1985) detectan en humanos a las 6 semanas y a los 6 meses del mismo tipo de ejercicio, un aumento de volumen en el condrioma de todos los tipos de fibras, con distribución preferentemente interfibrilar para los tipo I y subsarcolémicas en los tipo II. En nuestras imágenes estos hechos no concuerdan completamente. Hay una clara evidencia de aumento de todas ellas, pero la distribución se mantiene proporcionalmente igual que en el patrón normal descrito por Ogata y Yamasaki (1985), excepto en las zonas de

crecimiento, en las que ocupa las posiciones que estábamos analizando. Ninguno de los autores consultados hace referencia a esta diferente distribución de unas zonas a otras, excepto Neuffer y cols. (1996) que estudian el momento en que se desencadena la síntesis proteica, inducida por la estimulación muscular con contracción continuada y detecta RNAm originando en DNA mitocondrial para proteínas HSP60 precisamente más concentradas en los extremos de las fibras. De todas formas, en nuestros casos, y después de tantos años de práctica deportiva, los cambios mitocondriales que se siguen produciendo, deben estar ya perfectamente adaptados a los programas de entrenamiento, para mantener el doble aporte energético, en el trabajo mecánico muscular y en el de síntesis de nuevos elementos proteicos.

Tampoco puede plantearse la valoración paralela de las lesiones que describen Studistsky y cols (1985), como procesos de lesiones en las fibras, al comienzo de programas de entrenamiento, como la presencia de una matriz mitocondrial hinchada, destrucción de crestas y degeneración vacuolar de esta organela. No podemos decir que no se produzca, pero nosotros no hemos estudiado este momento inicial y pensamos que a los tres y siete años de práctica deportiva, cualquier lesión de este tipo puede ser indicativa de una alteración en el ritmo de entrenamiento, bien por inmovilización previa o por mayor demanda de trabajo, hasta llegar a la fatiga.

La localización en hileras subsarcolémicas que se detecta en los extremos de crecimiento longitudinal en todos los grupos de deportistas, está en relación con las zonas laterales de las sarcómeras y en rara ocasión, con los extremos libres de las miofibrillas, por lo que deducimos que necesitan permanecer despejados, para que la asociación y estabilización de filamentos tenga lugar.

Este hecho puede estar apoyado por la imagen de acúmulos perinucleares, que son mayores en las proximidades de los núcleos que mantienen una actividad alta, con nucleolos y poros nucleares visibles. De todas formas, en la mayoría de las fibras de los atletas de resistencia, quedan más hileras de mitocondrias que en los de velocidad, según vamos avanzando hacia zonas más anchas de la célula, como corresponde a la descripción clásica de Ogata y Yamasaki (1985) para este tipo de fibras.

Que en el extremo final encontremos o no, un núcleo, puede ser anecdótico o tener alguna relevancia. Es decir, puede ser casualidad que en el fenómeno de crecimiento, la emigración de estos núcleos para promover y controlar una zona de nueva síntesis de miofibrillas, les lleve a colocarse en esta posición, y según avanza el citoesqueleto los va desplazando lateralmente o, por otro lado, puede convertirse él mismo en un obstáculo temporal que limita el libre crecimiento de la célula.

Las imágenes abigarradas que aparecen en estas mismas zonas en los atletas de resistencia con siete años de entrenamiento, nos hace pensar más bien en esta segunda posibilidad, con desviación de la dirección de crecimiento de las miofibrillas, que se interrumpen a nivel de los núcleos, distorsionando las células, para continuar su formación una vez superado el obstáculo, que queda incluido en un primer momento en la porción central de la célula, suponemos que para ir desplazándose lateralmente, cuando esta zona de la célula crezca en anchura. En este grupo de atletas, el extremo final de las células muestra menos acúmulo de mitocondrias entre las miofibrillas, pero es mayor el perinuclear. Es decir, parece como si el avance de incorporación de nuevas sarcómeras estuviera enlentecido, aunque los núcleos continúan siendo muy activos. También la cantidad de fibrillas libres a este nivel, es menor que en los ciclistas con menos años de dedicación al ejercicio.

De estos datos podemos deducir en primer lugar, que al llegar a los siete años de entrenamiento continuado para resistencia, hay un enlentecimiento de la velocidad de crecimiento de sus fibras musculares, sin que en ninguno de los atletas estudiado se haya constatado una disminución de rendimiento. Por tanto, la otra interpretación posible es que se está llegando a conseguir la forma física ideal, con pleno rendimiento para este tipo de deporte, aunque todavía hay muestras de actividad de síntesis, que puede ser tanto para mantener un crecimiento necesario todavía, o para regeneración de elementos dañados.

Por el número de mionúcleos y sus características morfológicas, los atletas de velocidad con siete años de entrenamiento, continúan aumentando el crecimiento en la zona final en mayor medida que los de resistencia, en apariencia en forma longitudinal, por lo menos en lo que afecta a sus fibras tipo II, con un frente de avance más redondeado. La disposición ordenada de sus núcleos en las caras laterales, puede hablarnos también de una forma de ensanchar el miocito desde los extremos, ya que son estas células las que mayores dimensiones transversales alcanzan en todos los grupos de velocidad. Además sabemos que las fibras tipo IIa, expresan durante más tiempo MHCneo y MHCemb (Schiaffino y Reggiani, 1996), lo que podría estar relacionado con el mayor tiempo de crecimiento activo que encontramos en este tipo de fibras más frecuente en los deportistas de velocidad.

Tampoco podemos estar seguros de que el aumento en el número de núcleos en esta localización sea debida solo a la emigración distal de mionúcleos ya existentes o a la incorporación de nuevos núcleos a partir de células satélites. La localización de estas células en las proximidades de los núcleos del extremo distal, puede estar también en relación con el crecimiento muscular. Es un hecho bastante aceptado, que esta

población celular puede incorporarse a la estructura del miocito y cambiar su morfología hasta ser uno más de los núcleos que lo integran, dirigiendo ellos mismos la síntesis de nuevas moléculas proteicas para miofibrillas y contribuir de esta forma fundamental al crecimiento de las fibras musculares. Para nosotros es un hecho discutible ya que a pesar del gran número de cortes estudiados, en ninguno hemos encontrado una mitosis de estas células, ni imágenes claramente progresivas de incorporación al miocito, con fusión de los citoplasmas y desaparición de sus membranas.

Las variaciones en el número, disposición y estructura de los núcleos en esta localización, pueden tener una relación directa con el tipo de isoformas proteicas para miofilamentos que se estén fabricando en ese momento. En este punto debemos tener en cuenta algunas consideraciones especiales. En primer lugar, si los mionúcleos existentes en un punto de la célula pueden desplazarse a una zona contigua para que esta crezca, controlada por el núcleo. Este hecho supone que el territorio original controlado por este y otros núcleos, no tenía una extensión límite, sino mucho menor. Es decir, si la proporción núcleo/citoplasma se mantiene constante y el número de núcleos no aumenta en el adulto, al crecer el citoplasma, tanto en longitud como en grosor, cada núcleo, que suponemos que no se puede dividir, puede ejercer un control de citoplasma mayor que el que estaba controlando en el sujeto sedentario.

Esto podría indicar que la reserva regenerativa de la célula muscular, no depende de la multiplicación de sus núcleos, sino de que no lleguen a desarrollar todo su potencial evolutivo. De esta manera, la respuesta ante una mayor demanda de trabajo, estaría asegurada. Por otro lado, este sería un dato a favor de la no total diferenciación nuclear, que estaría relacionada con la posibilidad de cambiar la expresión de isoformas génicas y por tanto, de las isoformas proteicas de los filamentos para diferentes tipos de contracción, a lo largo de la vida del individuo.

Lo primero que llama la atención en los núcleos que encontramos en esta zona de crecimiento es su gran actividad: su forma globulosa, que no varía en la contracción, los nucleolos grandes y llamativos, el predominio de eucromatina y los poros nucleares muy activos, nos hablan de fabricación y exportación de RNAm y RNAr en grandes cantidades y ya hemos dicho anteriormente que algunos autores han comprobado, caracterizado y cuantificado este hecho (Neufer y cols., 1996). También hemos llamado la atención sobre la caracterización de las MHC sintetizadas a este nivel que son de la forma MHCneo (Rosser y cols., 1995).

Es decir, un núcleo que en condiciones de reposo estaba ordenando la síntesis de cantidades moderadas de MHCs o MHCf, dependiendo del tipo de fibra muscular al

que pertenecen, por alguna señal inducida por el ejercicio, cambia su morfología y sus programas y empieza a dar nuevas órdenes para fabricar otras moléculas. Estos hechos han sido comprobados en diferentes músculos de rata adulta, en los que fibras que presenta una alta expresión MHC2A, cambian progresivamente durante el desarrollo postnatal y expresan formas lentas de MHC (Butler-Browne y Whalen, 1984). De igual manera hemos mencionado cómo con la edad, en la rata, va disminuyendo la expresión de MHC2B y aumentando la de MHC2X (Sugiura y cols., 1992), por lo que no podemos desechar esta teoría como origen del crecimiento impuesto por el ejercicio.

La otra probabilidad es que estos mionúcleos sean nuevos, incorporados en la célula a partir de las células satélites regionales. Existen datos de incremento de ADN en el músculo esquelético durante el entrenamiento deportivo (Hamosh y cols. 1967; Hubbard y cols. 1985). Estos autores aceptarían por tanto, el planteamiento de Moss y Leblond (1970), Shafiq y cols. (1968) y Schmalbruch (1978) que apoyan la teoría de incorporación de estas células como únicas responsables de la hipertrofia, pero Fleckman y cols. (1978) demostraron que al bloquear la síntesis de DNA, no se frena la hipertrofia de la célula.

Los experimentos de Bischoff (1986) que consiguió la multiplicación y fusión de células satélites en cultivos, activadas por mitógenos, fueron ampliados por McLennan y Koishi (1997) estudiando procesos de reparación de necrosis muscular y viendo cómo el TGF- β 2 fomenta la formación de miotubos "in vivo" a partir de células satélite locales activadas y Phela y Gonyea (1997) demuestran que el TGF-insulina like de los miocitos también activa las células satélites. Pero ninguno de ellos muestra imágenes de mitosis en esta población celular, ni de incorporación al miocito.

Kelly (1978) con H³-timidina, justifica la incorporación de una célula en la otra, por la detección de núcleos marcados, primero en las células satélite y luego en las fibras, pero esto también puede deberse a que ambos núcleos incorporan el producto con un desfase en el tiempo. Tampoco Robertson y cols (1992) en su pretendida demostración de incorporación al miocito, llegan en sus imágenes más allá que nosotros, mostrando algunos puntos de aparente comunicación entre los citoplasmas de ambas células, pero no en una extensión llamativa.

Con las imágenes que nosotros hemos obtenido, sí podemos aceptar que existe una relación muy estrecha entre las células satélites y los núcleos activados de los miocitos, en las zonas de crecimiento de todos los tipos de fibras, por la predominante localización en sus proximidades. La naturaleza de esta influencia no podemos determinarla pero puede estar relacionada a nivel de las aparentes comunicaciones

citoplásmicas, con señales para síntesis proteica o con cambios en la expresión genética de las isoformas proteicas. Por otro lado, las imágenes de refuerzo entre las membranas de ambas células, pueden suponer solo un mejor anclaje para evitar desplazamientos en la contracción muscular impuesta por el entrenamiento.

Una cosa que nos ha llamado la atención, y por eso pensamos que puede enviar señales para crecimiento, es la formación de invaginaciones profundas de la membrana del miocito a este nivel, de muy pequeño calibre y que se dirigen a las miofibrillas. Esta imagen puede ser compatible con la formación de nuevos túbulos T en zonas de crecimiento y solo las vemos cuando coinciden los núcleos de ambas poblaciones celulares. No hemos encontrado referencias sobre este detalle, que nos orienten en su interpretación.

Los nuevos trabajos de Kameda y cols. (1993) y Esser y cols. (1993), estudiando la influencia de la inervación en la maduración de esta población, y la expresión de isoformas de proteínas miofibrilares, tal vez puedan arrojar un poco de luz sobre este punto, que pensamos que sigue todavía lejos de aclararse.

15.2.- VARIACIONES EN EL CRECIMIENTO TRANSVERSAL.

El crecimiento de las fibras de nuestros grupos problema, no solo se produce longitudinalmente en sus extremos finales, sino que en los cortes de la zona media de estas células, se aprecian también cambios morfológicos que nos orientan hacia la necesidad de valorar el crecimiento transversal producido por el incremento en el número de miofibrillas así como el de las cisternas de RS, mitocondrias y el mayor almacenamiento de sustratos energéticos.

Si atendemos a los núcleos, vemos que según nos vamos alejando del extremo, hacia la zona central de la célula, su morfología va variando, con formas más abigarradas y en las que predominan las indentaciones y la cromatina más densa en la cara interna de la carioteca, pero siguen alternando con otros de formas globulosas, similares a los que hemos descrito en los extremos. Esta alternancia en las formas nucleares es mucho más manifiesta en los grupos con tres años de práctica deportiva. A los siete años, en el grupo R25, hay un claro predominio de los núcleos con heterocromatina, sobre los atletas del grupo V25, en los que solo es algo menor que en los corredores más jóvenes.

Si consideramos que la forma nuclear con eucromatina y nucleolos activos, está directamente implicada en la síntesis proteica, la distribución de estos núcleos

demuestra que con el ejercicio continuo, aparecen zonas en el espesor de la célula que necesitan una mayor síntesis de proteínas, que en los sujetos control, y que esta necesidad sigue presente en mayor o menor grado aunque hayan pasado siete años de práctica deportiva. La mayor actividad sintética puede deberse directamente a crecimiento, pero también a cambios reparadores por desgaste o deterioro de las miofibrillas, o a cambios en la expresión isogénica, que a su vez va a inducir modificaciones en la estructura molecular de las miofibrillas, en un proceso de adaptación a la demanda específica del trabajo mecánico impuesto.

A pesar de la descripción de Moore y Ruska (1957) y Franke (1987) como un núcleo con una cantidad de eucromatina de hasta el 76%, Snow (1983) y Scheer y cols. (1993) plantean esta morfología en relación a la actividad muscular en cuanto a síntesis proteica. Es decir, en nuestro caso, se aprecian núcleos con una alta actividad sintética, mientras que otros concentran más su cromatina y exponen menos sus nucleolos, posiblemente por entrar en periodos de descanso. De hecho, hemos visto la coincidencia de zonas citoplásmicas estables, sin señales de rotura y con poca degeneración en las miofibrillas, coincidiendo con estos núcleos heterocromáticos.

Los poros nucleares se aprecian con igual claridad en ambas formas nucleares y no vemos que sean más patentes en zona de regeneración como afirmaron Price y cols. (1964) en sus trabajos. Esta impresión puede deberse a que en los núcleos heterocromáticos el contraste entre la densidad de esta cromatina y la falta de ella a nivel de los poros se hace más patente, pero a mayores aumentos, parece que el paso de productos en estas zonas es más activo en zonas de regeneración. Estas impresiones y la mayor actividad de los polirribosomas y retículo endoplásmico rugoso a este nivel, nos hacen pensar que el paso de proteínas, RNAm y RNAr, son constantes en esos momentos metabólicos, como ya demostraron Pante y Aebi (1993).

Otro punto sobre el que debemos insistir aquí, es el que no hemos detectado en ningún momento, datos que hagan sospechar alguna actividad mitótica en estos núcleos, como ya han demostrado numerosos autores (McCallun, 1898; Rowe y Goldspink, 1969; Stickland y Goldspink, 1973; Nygaard, 1982 y Rosser y cols. 1995), con los que estamos completamente de acuerdo, como tampoco la presentan las células satélites que se localizan en sus proximidades, a pesar de los datos aportados por Tamaki y cols. (1997) recientemente, apoyándose en el aumento de captación de aminoácidos y síntesis proteica en estas células.

Nosotros también hemos visto en esta localización igual que en los extremos, en las proximidades de los núcleos más activos de miocitos, la presencia de células

satélites, de características similares a los que hemos descrito en el apartado anterior. En la zona perinuclear de todas ellas se localizan porciones de citoplasma con mayor concentración de retículo endoplásmico rugoso, polirribosomas y mitocondrias, con expresión de mayor actividad metabólica, pero no se aprecian centriolos ni condensación de cromosomas, ni ninguna muestra de una posible actividad mitótica en estas células.

En las proximidades de estos núcleos, aparecen figuras de rotura de miofibrillas, con características propias según se trate de fibras tipo I o tipo II. Bien es verdad que ambas imágenes podemos encontrarlas en todos los tipos de fibras, pero el predominio de las tipo I en los atletas de resistencia y las tipo II en los de velocidad es tan claro, que solo merece la pena tenerlo en cuenta si pensamos en las formas de transición descritas con MoAb para las isoformas de proteínas de fibras ST y FT, que comentaremos más adelante.

La rotura y división de las miofibrillas, para luego adicionar nuevos miofilamentos en sus porciones periféricas, puede deberse a la necesidad de aumentar el número de sarcómeras, no solo en serie, sino también en paralelo, para asegurarnos una contracción eficaz y con máximo rendimiento. El mecanismo de proliferación de las miofibrillas ha sido bien estudiado por Goldspink (1968) demostrando que cuando las miofibrillas llegan a una talla crítica, se rompen para separarse longitudinalmente. Una de las causas puede achacarse al hecho de que nuevos miofilamentos que se van formando inducidos por el ejercicio, se van sumando a las miofibrillas ya formadas, en sus zonas periféricas y producen un alejamiento progresivo entre los miofilamentos centrales, las cisternas que aportan el Ca^{2+} y las mitocondrias que aportan la energía para la contracción. De esta manera, llega un momento en que esta distancia supone una dificultad en el recambio iónico y energético de cada contracción y se impone la división de la miofibrilla.

La mayoría de los autores plantean este fenómeno como procesos de reparación de miofibrillas interrumpidas al principio de programas de entrenamiento (Gibala y cols. 1995) y consideran que siempre están precedidas de un daño tisular, que depende de la intensidad del ejercicio (Tamaki y cols. 1997). En nuestro caso no estamos hablando, ni mucho menos, de un inicio de ejercicio, por que ya llevamos al menos tres años de entrenamiento, pero también podríamos interpretarlo solo como un defecto mecánico, al imponer una mayor cantidad de contracciones con el entrenamiento, que producirían roturas en las líneas Z que van a sufrir las tracciones continuas más o menos intensas, que deben ser restauradas, siendo en este proceso de reparación de desajuste de

filamentos donde se produce el desdoblamiento de las miofibrillas para prevenir una nueva lesión similar.

La diferente forma de producirse la rotura y el aumento en el número de miofibrillas entre los dos tipos de fibras, ya ha sido apuntada por Shear y Goldspink (1971) que hablaban de roturas con punteado continuo en las fibras FT y bifurcaciones en las ST. Después se ha abandonado esta diferencia, aunque Sjöström (1987) hace una ligera mención a este hecho en sus trabajos. Nosotros hemos podido constatar en nuestros resultados estas diferencias, viendo como en las fibras predominantes en deportistas de resistencia, las tipo I, la rotura de las miofibrillas, cuando son anchas y cuentan con gran número de miofilamentos, se produce en la porción central, con una separación que se inicia a nivel de la línea Z, y se extiende longitudinalmente a ambos lados, hacia la siguiente línea Z.

La distribución de separaciones varía en el espesor de la fibra muscular, siendo más numerosas en zonas periféricas de las células, y coincidiendo, como ya hemos apuntado anteriormente, con zonas de mionúcleos activos.

Cuando la separación va avanzando y se hace más patente en su zona media, se empieza a localizar en esta zona vesículas de RS, polirribosomas, partículas de glucógeno, alguna gota lipídica e incluso mitocondrias pequeñas. Es decir, se está consolidando la separación morfológica y funcionalmente, hecho apuntado por Gollnick (1980).

De todas formas, esta descripción no es del todo exacta. La imagen así obtenida es la que encontramos en el corte longitudinal, pero en el transversal, vemos como una porción de hialoplasma, penetra desde el borde de la miofibrilla, hacia el centro, dividiendo en dos partes la figura poligonal inicial. Ambas imágenes son compatibles y no modifican el criterio de división, pero explican cómo desde el primer momento podemos ver una porción de hialoplasma interpuesto entre las dos porciones de la línea Z dividida.

La velocidad de separación va avanzando en varias sarcómeras, pero en los cortes longitudinales en los que se consigue la continuidad con un extremo distal de la fibra, vemos que el avance es mayor y por tanto la separación se completa antes en dirección distal de la célula y avanza más lentamente en dirección central. Esto puede indicarnos que el citoplasma de la fibra muscular, alcanza antes su contracción eficaz en las zonas centrales de la célula que en las distales y es precisamente esta falta de

equilibrio en esas zonas, uno de los factores que más pueden influir par el crecimiento adaptativo.

El número de estas divisiones disminuye considerablemente entre R21 y R25, pero se mantiene constante la imagen que podríamos atribuir a procesos reparadores del excesivo uso de las sarcómeras y que es igual en todos los tipos de fibras. Esta disminución de bifurcaciones parece indicar que en los atletas de resistencia se completa antes que en los de velocidad el tamaño de fibra óptimo para el máximo rendimiento en esta especialidad.

Un último dato a tener en cuenta a esta forma de bifurcación y que afecta también a la que comentamos a continuación en las fibras FT, es una reflexión sobre la demostración de tipos de miosinas en su forma de expresión más joven que Rosser y cols. (1995) llevaron a cabo en los extremos de crecimiento longitudinal. Según estos autores, la síntesis de MHCneo es propia de zonas en crecimiento, y posteriormente, al avanzar el frente de crecimiento, las zonas que quedan en zonas más anchas, van cambiando a una expresión MHCs o MHCf. No hemos encontrado datos sobre la forma en que se presentan las miosinas nuevas de los miofilamentos que se van sintetizando y adicionando en las zonas longitudinales, pero creemos que la demostración de síntesis de formas MHCneo en esta localización, podría confirmar más la idea de "crecimiento", mientras que si directamente se sintetizan las MHC de forma adulta, el proceso sería de "reparación".

En las fibras tipo II, predominantes en los atletas de velocidad, en lugar de ver estas separaciones, vemos roturas en varios puntos de la línea Z. Su distribución es similar a la que hemos descrito para los deportistas de resistencia, es decir se localizan con más frecuencia en las zonas periféricas de la célula y aun más en las proximidades a un mionúcleo con nucleolo patente y numerosos poros nucleares, y con las modificaciones del citoplasma perinuclear que impone esta estructura nuclear. La diferencia es que es una imagen que puede verse también en zonas muy próximas al extremo ancho de la fibra, en su porción intermedia, pero esto puede deberse al crecimiento de estas fibras FT buscando más puntos de inserción par cada una de ellas.

Shear y Goldspink (1971) habían descrito esta forma de rotura en las fibras FT, confirmando la diferencia en el modo de crecimiento transversal en ambos tipos de fibras. La buena orientación de este criterio empieza a tener su confirmación en los trabajos de Sjöström y cols. (1982a) que estudian las características de las líneas Z y M en cada tipo de fibra, estableciendo las medidas en cada una de ellas, en un primer intento de caracterizar la distribución de los componentes de estas zonas, y obtener un

elemento morfológico más en la clasificación. Estos autores llegaron a la conclusión de que el grosor de la línea Z en las fibras tipo I es mayor que en las tipo IIa y IIb. Posteriormente, la caracterización de la composición bioquímica de las proteínas que componen esta estructura por Blanchard y cols. (1989), y la demostración de isoformas distintas para cada tipo de fibra muscular por Schafer y cols. (1994), sirvieron a Vigoreaux (1994) como base para implicar a esta diferente composición como responsable en parte, de la distinta forma de rotura por stress en cada tipo de fibra.

No hay descripciones del crecimiento de las fibras tipo II, en cortes transversales pero en las muestras que nosotros hemos obtenido, se observa una imagen compatible con la teoría anterior, en la que vemos varias pequeñas invasiones de hialoplasma dirigidas hacia la zona central, pero de forma más asimétrica que en el caso precedente. Esta zona de rotura expone muchos más puntos de nueva inserción, luego permite un crecimiento en grosor más rápido en este tipo de fibras, y de hecho, este dato coincide con los resultados cuantitativos que veremos más adelante. El proceso molecular de síntesis de los nuevos miofilamentos no se aprecia con las técnicas que hemos utilizado pero con los datos estudiados en la bibliografía podemos llegar a conclusiones compatibles con nuestras imágenes.

Además de estas roturas longitudinales, hay otras transversales coincidentes con fracturas de los miofilamentos en zona I o A-I, pero no normalmente en zona A. Esto podría indicarnos que es mucho más estable mecánicamente la unión entre los filamentos de miosina que entre los de actina, aunque también podemos pensar que no es una rotura lo que vemos, sino la formación longitudinal de nuevas fibrillas, a partir de las líneas Z rotas, con velocidad de adición de miofilamentos diferente entre ambos extremos.

De todas formas, se han visto diferencias en la línea M, que nos hablan de menos puentes de unión transversal entre los filamentos de miosina en su porción central (Sjöström y cols. 1982a), en las fibras tipo II que en las tipo I, de forma que nos induciría a pensar en una mayor facilidad de rotura a este nivel, y sin embargo, no hemos visto ninguna en los múltiples cortes estudiados. Tampoco se han caracterizado todavía isoformas en las moléculas de miomesina y proteína M y se tienen pocos datos de su organización espacial en la línea M, capaz de proporcionar este alto grado de resistencia.

En el apartado correspondiente al crecimiento longitudinal hemos comentado cómo la síntesis de nuevos filamentos produce en relación con proteínas y grupos enzimáticos próximos a la membrana celular, y es de suponer que el sistema sea similar

en zonas más profundas de la fibra. De hecho, en esas porciones de hialoplasma que penetran en las zonas de rotura de las miofibrillas, aparecen polirribosomas que nos indican ya un proceso de síntesis proteica. El otro componente, la membrana celular, también tiene su representación a este nivel en forma de túbulos T, y ya hemos dicho que cuando las roturas se consolidan, empiezan a localizarse entre ellas cisternas del sistema de membranas y mitocondrias, que van a aportar el resto de elementos necesarios para que la síntesis de todos los tipos de miofilamentos pueda llevarse a cabo, con adición a los que ya existían como modelo previo. Posiblemente la demostración por parte de Muñoz y cols. (1995) y Wakayama y cols. (1997) de la existencia de subcompartimentos en el sarcolema, con caveolas provistas de diferentes tipos de receptores para β -integrina, caveolina, clatrina, distrofina y α -1 sintrofina, sean la base para llegar a entender este mecanismo de síntesis y organización de miofilamentos, que implica a la membrana celular y sus proteínas constituyentes.

A diferencia de los grupos de resistencia, en estos atletas de velocidad, el número de roturas a los siete años de inicio del entrenamiento, se mantiene alto, orientándonos sobre la posibilidad de conseguir una masa muscular total de más envergadura, para llegar en un mayor tiempo al rendimiento óptimo.

Otras imágenes que aparecen con frecuencia similar en todos los grupos de deportistas y en muchos de los cortes del grupo control, son las zonas de enrarecimiento del paquete de miofilamentos en el punto de contacto con la línea Z, y que nosotros hemos interpretado como zonas dañadas de la sarcómera, con necesidad de reparación. El llegar a esta conclusión es el resultado de plantearse el trabajo que sufre cada filamento en la contracción: las moléculas de nebulina, actina, tropomiosina y troponina, solo sufren pequeños desplazamientos laterales entre ellos para bloquear o liberar los receptores para miosina. De la misma forma, la miosina, anclada en la línea M, solo sufre un deslizamiento entre los filamentos de actina, con gasto de energía, y movilidad de su estructura pero sin grandes tracciones que debiliten el filamento.

Sin embargo, la titina, insertada firmemente en la línea Z, y en la M, por sus extremos NH₂-terminal y COOH-terminal respectivamente (Bennett y cols. 1997) sí que sufre continuamente modificaciones en su longitud con fenómenos de compresión y estiramiento continuo, como ya indicaron Fürst y cols. (1985), siendo pues la molécula físicamente más débil en apariencia, y con más posibilidades para sufrir roturas en la porción más cercana a la línea Z. Es precisamente en esta zona donde encontramos las imágenes que estamos comentando. Que sean un proceso de reparación o destrucción, es difícil de valorar con imágenes estáticas, pero la localización de polirribosomas en la misma localización hace que nos inclinemos más a favor de la reparación.

La porción variable en dimensiones de la molécula de titina, en la región de la banda I, presenta en su composición sucesiones repetidas de aminoácidos con estructura similar a las inmunoglobulinas (Laibet y Kolmerer, 1995), cuya resistencia es menor que la presentada en la región A, demostrando también que el control genético es diferente para cada una de las dos partes de la molécula. Los siguientes pasos para aclarar este proceso de reparación de la inserción en la zona Z, parece que dependen más del estudio fisiológico de capacidad de resistencia y acumulación de tensión en esta molécula, pudiendo así delimitar la cantidad y tiempo de ejercicio capaz de producir lesiones o colaborar en la reparación y rehabilitación del tejido.

15.3.- VARIACIONES EN EL TEJIDO CONJUNTIVO.

Durante el desarrollo de actividades deportivas, no solo aparecen cambios en las fibras musculares sino que todo el músculo se ve afectado por estas variaciones, y parte fundamental de él, es el tejido conjuntivo que rodea cada célula, no solo para proporcionar coherencia mecánica, sino por todo lo que representa en cuanto al emisor y receptor de señales metabólicas y funcionales, a vehículo de inervación y de vascularización. La imagen general que aparece en relación con los grupos control nos habla, en general, de una mayor actividad en este tejido, pero con características diferentes para cada grupo problema.

Ya hemos comentado que este tejido conectivo es esencial para que las fibras musculares puedan transmitir su fuerza contráctil a las estructuras vecinas. La morfología que la célula muscular presenta en estas zonas de contacto con el tejido conjuntivo, sobre todo en los extremos ya ha sido descrito por Muir (1961) y Stickland (1983), aunque ellos no especificaron a qué tipo de fibra correspondían. Schippel y Reissig (1968) describieron la densificación que aparece en las proximidades del tendón y que en mucho menor grado, al referirse solo al endomisio, entre dos células musculares fue estudiado por Hanak y Böck (1971). Para ellos, la lámina basal es más gruesa y en casi continuidad con el colágeno y la reticulina de las proximidades, de forma que se establece una cohesión entre la membrana del miocito, las fibras del endomisio y la sustancia fundamental de este, demostrada desde hace tiempo por Ishikawa (1965).

En nuestros deportistas hemos podido constatar un aumento en la densificación de estas zonas de tejido conjuntivo entre los miocitos. En los atletas de resistencia con tres años de práctica deportiva, llama la atención el aumento de densidad en las zonas contiguas a los extremos de crecimiento de las fibras que no existía antes en las porciones en contacto con zonas medias de las células musculares. Esta modificación

aparece en mayor o menor grado en todos los grupos de atletas por lo que creemos que puede contribuir a la formación de un refuerzo mecánico durante el acortamiento del músculo en la contracción, o bien, puede formar parte de un sistema de señales que contribuyan a acelerar la velocidad de crecimiento longitudinal de las fibras, impuestas por el ejercicio y cuya existencia de momento solo hay sospechas fundadas por el aumento de enzimas implicadas en el metabolismo energético demostradas por numerosos autores (Turto y cols, 1974; Suominen y cols., 1980 y Kovanen y cols. 1980). Para McLennan (1997), la conversión de un tipo de fibra en otro, puede estar bajo la influencia del TGF β 2, producido en el conjuntivo que rodea la fibra.

El número de fibroblastos también aumenta en los deportistas, pero presentan señales de mayor actividad en los grupos con menos tiempo de dedicación al deporte. En sus núcleos alargados también puede verse la imagen de poros nucleares muy marcados y largas prolongaciones con una gran cantidad de organelas citoplásmicas de síntesis proteica que pueden estar implicadas en la fabricación de fibras de colágena o reticulina, o de factores de estimulación para miocitos. La actividad de los fibroblastos de los deportistas de velocidad del grupo V21, es más moderada que en los de resistencia.

La descripción que Sakuma y cols. (1993) hacen de las poblaciones de fibroblastos en ligamentos y fascias musculares de ratas entrenadas para correr, es aplicable directamente a nuestras observaciones sobre morfología de esta población celular, que también presenta forma alargada, con escotaduras y un citoplasma con signos de mayor actividad metabólica.

En esta primera parte de nuestro estudio, a los tres años de desarrollo de la actividad encontramos además, el resto de células propias del tejido conjuntivo, que aparecen regularmente representadas, con algún linfocito extravasado y restos celulares similares a los que acontecen en fenómenos de apoptosis, por lo tanto no parece que sean necesarios en este momento cambios adaptativos importantes.

Los capilares presentan un calibre algo mayor que en los controles, sin aparecer comprimidos y con mayor profusión, tanto en el corte longitudinal como en el transversal, en zonas vértices entre varias fibras, que son a su vez las más espaciosas. Sus endotelios muestran una gran actividad pinocítica. Ya veremos en el apartado correspondiente, que las variaciones de calibre pueden explicarse en relación a los cambios cuantitativos en el aporte máximo de oxígeno, provocado por el ejercicio.

Sin embargo, en los atletas con siete años de vida deportiva, empezamos a ver cambios en este tejido que nos hacen pensar en la necesidad de programar el entrenamiento de forma que se consiga siempre el mayor equilibrio entre la masa muscular y el tejido conjuntivo. Al crecer las fibras musculares, el sitio que puede ocupar el endomisio y perimisio entre ellos, disminuye, de forma que las fibras de la sustancia intercelular se densifican aun más . Por otra parte, la presión de las células musculares sobre los fibroblastos y capilares en cada contracción, puede ser responsable de las imágenes de degeneración de las mitocondrias en los primeros, y del calibre disminuido en los segundos, con mayor número de núcleos endoteliales con signos apoptóticos. Además, el aumento de linfocitos extravasados y la presencia de monocitos y células cebadas a este nivel nos hace pensar en una respuesta inflamatoria de este tejido conjuntivo, sobre todo en los atletas de resistencia.

Lexell y cols. (1983) al estudiar el tejido muscular de una muestra de población humana entre 30 y 75 años, llamaron la atención sobre la compresión que se produce en el tejido conjuntivo cuando va pasando el tiempo y toda la masa muscular se reduce a un proceso de atrofia. Es decir, con la edad la masa muscular disminuye, pero también lo hace el tejido conjuntivo, apareciendo además más cantidad de haces de fibras colágenas que dificulta los procesos de regeneración vascular y nerviosa fisiológicos. Este grupo de autores ampliaron estos datos con enfermos de insuficiencia arterial periférica con daño tisular por isquemia aguda, en los que también detectaron un cierto grado de compresión vascular por parte del tejido conjuntivo adyacente.

Más tarde, el equipo de Sjöström (1982c y 1988) detectó el mismo tipo de proceso con reacción inflamatoria y fenómenos regenerativos, en atletas de resistencia de alta competición, en los que hay mayor compromiso de fibras tipo IIa, que son además las primeras afectadas en la claudicación intermitente. La razón por la que el compromiso es mayor en los atletas de resistencia que en los de velocidad, puede deberse a una mayor rigidez general en las fibras tipo I que en las tipo II, y la única diferencia morfológica podría atribuirse a la presencia de mitocondrias subsarcolémicas y perinucleares en las fibras tipo I, predominantes en los grupos de resistencia, que proporcionasen rigidez a la superficie de la fibra. Mientras que las de tipo II, más numerosas en los deportistas de velocidad, mantendrían un grado de plasticidad y adaptabilidad mayor que las primeras, comprimiendo menos los espacios ocupados por el tejido conjuntivo.

Éstos hechos requieren una mayor profundización en su estudio, para evitar el desarrollo de patologías en los atletas, que puedan acortar su vida deportiva, o suponer un empeoramiento en la calidad de vida posterior al ejercicio competitivo.

16.- ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS CUANTITATIVOS.

Hemos visto que el análisis de las variaciones morfológicas que aparecen en las células musculares humanas, inducidas por la actividad deportiva, aportan conocimientos imprescindibles sobre la naturaleza de estos cambios y su localización precisa, orientándonos además en las relaciones que se establecen entre los distintos compartimentos de la célula y sus organelas. Pero no podemos dejar de cuantificar estas modificaciones, para llegar a conseguir una valoración correcta y precisa de cada hecho. Para ello estudiaremos punto a punto todos los datos que hemos obtenido con el estudio estadístico de los parámetros propuestos en los objetivos, de tal forma que al contrastarlos con las aportaciones de otros grupos de investigadores, nos puedan proporcionar unas conclusiones científicamente válidas.

16.1.- VARIACIONES EN LA PROPORCIÓN DE LOS DISTINTOS TIPOS DE FIBRAS.

Del estudio de los diferentes autores que han aportado datos sobre este tema, se desprende que nuestro organismo es capaz de adoptar el predominio de uno u otro tipo de fibra muscular, en función del tipo de trabajo que se le imponga. Este cambio es lento y progresivo en el tiempo, lo que nos va a permitir valorar si se produce por aumento en el número de elementos contráctiles o por crecimiento de los ya existentes.

16.1.1.- Población control.

En nuestra población control, vemos que al llegar la edad adulta y durante todo el tiempo que estamos considerando, no hay variación en el porcentaje de fibras tipo I (47.1 ± 6.2 y 46.9 ± 5.9), que además son predominantes en el músculo vasto externo, en personas de vida sedentaria, seguidas por las fibras tipo IIa (32.8 ± 5.7 y 34.1 ± 5.4), mientras que los tipos IIb (19.3 ± 6.7 y 19.3 ± 10.0) que estarían en el extremo metabólicamente opuesto, y IIc (0.8 ± 0.5 y 0.8 ± 0.5) aparecen en una proporción considerablemente menor.

Desde el punto de vista de las necesidades que el trabajo mecánico impone durante la vida diaria en nuestro ambiente, este patrón de distribución es funcionalmente lógico y aceptable, ofreciendo la posibilidad de utilizar las fibras tipo I para movimiento prolongado en el tiempo y las tipo IIa para una demanda de emergencia, de forma que el organismo no se viese excesivamente agotado por una larga caminata o por una carrera imprevista.

Estos porcentajes concuerdan con los datos aportados por los trabajos de otros autores como Howald y cols. (1985), con una media de un 48% de fibras tipo I, un 39% para IIa y un 18% para IIb, en el mismo músculo de la población control de su protocolo, o para Tesch y Karlsson (1985) con un $48\pm 6\%$ en el tipo I y Sjoogard (1984) con 45% para ST y del 55% restante, 2/3 para FTa y 1/2 para FTb. También coinciden con lo que Taylor y Bandman (1989) han aceptado como patrón normal, con técnicas de separación electroforética para isoformas de MHC en el vasto lateral, encontrando una expresión de MHC-I $49\pm 18\%$, MHC-IIA y MHC-IIC $35\pm 16\%$ y MHC-IIB $16\pm 10\%$.

Únicamente Staron y cols. (1983) presentan datos diferentes, con un 19'8% para tipo I, 16'0% para IIa y 17'7% para IIb y 12% para IIab. Para estos últimos autores el predominio se mantienen, pero los totales son mucho menores. La técnica utilizada es la misma ATPasa con preincubación a diferentes pH que nosotros hemos utilizado, pero el grupo de Staron llevó a cabo su protocolo tratando de clasificar poblaciones tipo IIab y IIac, incluso despreciando la pequeña cantidad de fibras de tipo IIc, por lo que algunas de las células que normalmente nosotros encuadraríamos en un tipo concreto, para ellos serían fibras mixtas.

Por todo esto creemos que el modelo de distribución porcentual que nosotros hemos obtenido, se adapta al de la mayoría de los autores y es plenamente aceptable, desde un punto de vista metabólico y funcional, para el desarrollo de una vida normal.

16.1.2.- Deportistas de resistencia.

Al comparar los datos de la población control con los deportistas de resistencia, vemos como las fibras tipo I aumentan en un $59\pm 5'7\%$ a los tres años de entrenamiento y continúan hasta el $63'3\pm 4'5\%$ a los 7 años, así como las tipo IIc que pasan a un $2'0\pm 0'7\%$ y $2'7\pm 1'4\%$ respectivamente. Sin embargo, las fibras de contracción rápida IIa y IIb sufren una disminución progresiva a lo largo de todo el tiempo considerado.

El ejercicio prolongado en el tiempo y de intensidad mantenida, propio de los atletas de resistencia, depende en gran medida de las fibras de contracción lenta y de metabolismo aerobio, viendo cómo fisiológicamente son éstas las que responden, aumentando en cantidad, hasta constituir el tipo más numeroso en el vasto externo de este grupo de deportistas.

El trabajo de Tesch y Karlsson (1985) afianza y determina este cambio en la proporción que aparecen los tipos de fibras, comparando canoistas de kajak con corredores, dos deportes de resistencia en los que se utilizan grupos musculares

diferentes de brazos y piernas, en cada uno de ellos. Estudiando los porcentajes en el deltoides y el vasto externo, que originariamente presentan una proporción similar de fibras ST (Billeter 1980), demostraron que en el primer grupo, las fibras tipo I aumentan significativamente en el deltoides, pero en el vasto no hay diferencia con el grupo control, mientras que en los corredores, aumentaban ligeramente en deltoides y hasta un 20% en el vasto externo. Por lo tanto es el tipo de ejercicio lo que condiciona en cada músculo el cambio en la proporción de fibras con diferente rendimiento.

En el protocolo de Howald y cols. (1985), se plantea una proporción de cambio, de solo un 10% de incremento para el tipo I y una disminución de tipo IIb, bastante menor que en nuestro caso, pero ellos solo hacen el seguimiento durante 6 meses de entrenamiento para resistencia. En sus grupos, 9 de los 10 atletas aumentaban las tipo I y solo 7 disminuían las IIb. A lo largo de los 6 meses plantean la transformación de las tipo IIb en IIa durante la primera semana y las IIa en I a las seis semanas de iniciar el ejercicio. Parece evidente que en nuestro grupo, al hacer un seguimiento durante siete años, el cambio incipiente que apuntan estos autores, ya se ha producido y el porcentaje en el tipo de fibras tiende a ser más estable.

Sjoogard (1984), plantea un estudio similar en ciclistas y coincide con nosotros en la proporción de cambio, pero llama la atención sobre el hecho de que dentro de este grupo, los que reciben además una preparación para sprintar, porque estén mejor dotados para ello, llegan a alcanzar un 67% de población tipo I. Este autor considera que el desarrollo de las competiciones ciclistas en la actualidad, pide esfuerzos diferentes dentro de cada prueba, teniendo que recibir un entrenamiento tanto de resistencia como de velocidad.

Otros investigadores intentan justificar estos cambios en los tipos de fibra muscular, fuera de la propia célula, por influencia de la inervación y admiten que el incremento de las primeras está producido por una transformación del estímulo nervioso, que se puede establecer experimentalmente con la estimulación eléctrica de baja frecuencia (Green y cols. 1984). Sjöström y cols. (1988) demostraron que el monótono entrenamiento diario para maratón, somete a los músculos a una situación similar a la estimulación crónica, por lo que la interpretación sobre la influencia del control nervioso justificaría el predominio de las fibras tipo I.

El hecho de que existan lesiones en las fibras nerviosas, mientras discurren por el tejido conjuntivo asociadas a este entrenamiento para grandes y extremas distancias, no debe ser ignorado. Además, las fibras tipo II son más vulnerables en estas circunstancias y, de hecho Sjöström (1980, 1982c y 1988) demostró que la isquemia

aguda afecta primero a las IIb. Pero esta situación puede ser beneficiosa para el tipo de resultado que se desea en este deporte, porque el deterioro en un tipo de fibra que debe disminuir con el tiempo, supone una aceleración en la consecución de niveles óptimos en el porcentaje de las fibras tipo I, para alcanzar antes un mayor rendimiento.

No podemos olvidar la variación de las fibras IIc, que aumentan durante ese mismo tiempo hasta un 140% y 225% en los atletas de resistencia de 21 y 25 años respectivamente, siendo el grupo más llamativamente afectado por este ejercicio, aunque en el valor absoluto de la cantidad de fibras, sigue siendo el menos numeroso.

Este aumento tan llamativo de porcentaje de fibras tipo IIc se puede justificar e interpretar desde dos puntos de vista: por un lado, como célula de metabolismo y velocidad de contracción intermedia, se adapta bien por su dotación enzimática al ejercicio mantenido mucho tiempo, para reforzar el trabajo de las tipo I, e incluso colaborar en los cambios de ritmo al responder en menos tiempo al estímulo que demanda un aumento de velocidad o de fuerza. Por otro lado, si seguimos los trabajos de Abernethy y cols (1990) y aceptamos la posibilidad de cambio de unos tipos de fibra en otros, el aumento de IIc sería reflejo de la disminución de IIa y IIb, que irían cambiando sus isoformas de MHC y MLC, de la forma rápida a la forma lenta, para acabar en las fibras tipo I que se necesitan en esta modalidad deportiva.

16.1.3.- Deportistas de velocidad.

Atendiendo al grupo de velocidad, vemos que al contrario del caso anterior, las fibras tipo I y IIc son las que disminuyen progresivamente, según va avanzando el tiempo dedicado a la práctica deportiva. Las tipo I disminuyen casi en la misma proporción que aumentaban en el caso anterior, con lo que la diferencia entre ambos grupos de deportistas llega ser de hasta un 68% a los 3 años de entrenamiento y de un 116% a los 7. Pero en las IIc la disminución no es tan llamativa como el aumento en la valoración de resistencia. Este cambio puede deberse a que el paso de IIb, a IIa y a I, sea más lento que de I a IIa y IIb, a través de la expresión de MHC-IIx. De hecho, a lo largo del desarrollo, primero se expresan las fibras ST y luego van apareciendo poco a poco las formas de miosinas para fibras FT, por lo que quizá este camino sea el más equilibrado y quede como un patrón de evolución durante toda la vida.

En el caso de los deportistas de velocidad, la demanda es de una gran utilización de toda su masa muscular, casi de forma explosiva, y en muy poco tiempo: necesitan un tipo de fibra muscular que sea capaz de producir una gran cantidad de energía en ese tiempo, aunque también el rápido consumo de sustrato sea responsable de su

facilidad para la fatiga. El tipo de fibra que se necesita para este trabajo es de contracción rápida y metabolismo glicolítico o glicolítico oxidativo. El hecho de que éstas fibras IIa y IIb sean además las más gruesas, puede justificar el aumento de masa muscular y peso por encima de los de resistencia.

Por lo que llevamos estudiado, en todos los trabajos hay una información parcial sobre lo que acontece en cada tipo de fibra y en deportes concretos, dentro de este grupo de utilización de fuerza de manera explosiva, como pueden ser los levantadores de pesas, que además de desarrollar velocidad desarrollan exageradamente su masa muscular. En nuestro caso, con corredores de 100 a 400 m, el desarrollo de la masa muscular es casi tan importante como la de los culturistas y levantadores de peso, pero las proporciones corporales se mantienen más equilibradas.

Si queremos comparar nuestros resultados con los de otros autores, vemos que también son datos irregulares e imprecisos los que aporta la literatura. Los de Allemaier y cols (1994) que utilizan biopsia de vasto lateral y determinan que hay un aumento de fibras tipo IIa y disminución de tipo IIb. Esta diferencia puede deberse al corto tiempo que controla, solo 3 meses y a los entrenamientos mixtos en algunos casos, intercalando programas para velocidad y resistencia.

Andersen y cols. (1994) estudian la expresión de formas de MHC, detectando una disminución de MHC-I y MHC-IIb con un incremento de MHC-IIa. Ellos plantean la disminución de IIb por la presencia de fibras de expresión mixta MHC-IIb-IIa, que dependiendo del nivel del corte en la misma fibra, nos va a dar resultados diferentes. También es menor que el nuestro, el tiempo que valoran, por lo que, si volvemos al planteamiento del cambio de tipo de fibra, todavía no se haya establecido el porcentaje de cada tipo, ideal para este trabajo de velocidad.

Por los trabajos de Schiaffino y cols. (1988) en sóleo de rata, sabemos que las fibras tipo IIa del individuo adulto, tardan más tiempo que las demás en expresar en su totalidad las isoformas MHC-2A, persistiendo en la misma célula la expresión MHCemb y MHCneo. Cuando al animal se le somete a un entrenamiento intensivo para desarrollar fuerza, se acelera la maduración. De la misma forma, en nuestro modelo, la mayor demanda de trabajo intenso, puede hacer que disminuya la represión genética restante y aumente el número de células positivas para MHC-IIa.

De todas formas, aunque en nuestro caso, a largo plazo y comparando con el grupo control, aumentan los dos. Las IIb lo hacen en proporción del 20 y 36% en velocistas de 21 y 25 años y las IIa en un 29 y 35%. Es decir, que el aumento de fibras

FT, cuando la práctica deportiva está ya plenamente establecida, se mantienen en los tipos IIa y IIb en proporción similar al patrón que aparece en sujetos control, por lo tanto creemos que la principal diferencia entre el criterio de los autores consultados y el nuestro, es que no han dejado transcurrir el tiempo necesario para que la transformación de la expresión MHC-IIA o IIB se establezca.

16.2.- VARIACIONES EN LA SUPERFICIE DE CORTE TRANSVERSAL.

Cuando consideramos las variaciones de la superficie de corte transversal de las fibras musculares de los deportista, vemos siempre un aumento de este parámetro. El hecho ya fue apuntado desde el siglo pasado por Morpurgo (1897), que hace responsable directo del proceso al ejercicio. Los estudios posteriores se orientaron a determinar qué componentes estructurales están implicados en las variaciones y desde los trabajos de Helander (1961) y Goldspink (1964), sabemos que esta hipertrofia se debe a un aumento del material contráctil de la célula, es decir, de las miofibrillas. La causa es conocida por todos desde los trabajos de Ikai y Fukuyama (1970) que lo plantean como un hecho fisiológico: el número de sarcómeras en serie y el tipo de miosina que las compone, es directamente proporcional a la fuerza desarrollada por unidad de área del músculo.

Según los datos aportados por Flear y cols. (1960), el aumento de tamaño de la musculatura, referido al peso, se va produciendo desde el nacimiento hasta la edad adulta y varía en cada músculo considerado, dependiendo de su localización en el organismo y de la función que va a desarrollar. El 85% de este incremento corresponde a las fibras musculares y el 15% restante al aumento paralelo del tejido conjuntivo que le acompaña (Kobayashi y Yonemura, 1967). La cantidad de agua que contiene es de un 90% en el feto y de un 76% en el adulto. Según estos datos fisiológicos, el aumento de peso se debe a un aumento de los elementos celulares que ya hemos apuntado. En el caso de las proteínas, Ling y Kromash (1967) demostraron que puede elevarse hasta 3'5 veces, desde el nacimiento hasta la edad adulta. El incremento de proteínas se traduce en un aumento de tamaño de las células, visible en su superficie de corte.

Hay numerosos datos que apoyan esta teoría, basados sobre todo, en la diferencia positiva de peso que presentan los músculos de personas, que sistemáticamente hacen deporte (Alwais y cols 1989) y que durante toda la vida van a mantener la diferencia de peso, llegando al 58% en ancianos (Iwaoka y cols, 1989) cuando ya se ha invertido el fenómeno de crecimiento, con lo que podemos afirmar que el ejercicio produce un retraso en el proceso de envejecimiento.

En la actualidad y dentro de la inquietud por conseguir una mejor calidad de vida, se están planteando muchos protocolos sobre esta base, como el de Jubrias y cols. (1997), que valoran la superficie de corte de las fibras musculares en hombres y mujeres desde los 23 a los 80 años, utilizando el mismo procedimiento que nosotros y basándose también en biopsias de vasto externo, como herramienta de trabajo homogéneamente significativa. Ellos estudian la relación entre el área encontrada y la fuerza producida y demuestran que mientras la superficie disminuye en un 39% entre los 65 y los 80 años, la fuerza se va perdiendo progresivamente un 1'5% anual, hasta un 21% en total. Por lo tanto, consideran que el mecanismo de atrofia, no es suficiente para explicar la disminución de fuerza y no está tan clara la proporción directa, que relaciona la fuerza con la superficie de corte, según el planteamiento de Ikai y Fukuyama (1970).

Para conciliar ambas teorías, debemos pensar que en el rendimiento de trabajo muscular, no solo interviene el aparato contráctil estructural constituido por las miofibrillas, sino una ingente cantidad de enzimas, que coordinan y dirigen los procesos de despolarización de membranas y transporte de iones a sus lugares de acción, que morfológicamente tienen menos significado estructural, afectando en menor grado a las dimensiones métricas, pero sí un alto significado funcional, en cuanto a la cantidad de fuerza producida. Es decir, las baterías enzimáticas se van deteriorando progresivamente, sin que el efecto se traduzca inmediatamente en la variación del número de sarcómeros, que empiezan a disminuir a partir de un nivel crítico de integridad de los demás parámetros. Dada la edad a la que tienen lugar estos procesos y las de nuestros grupos experimentales, creemos que esta progresiva disminución masa muscular y por lo tanto de fuerza, aunque sean datos a considerar, pueden tener muy poca incidencia en nuestros resultados.

16.2.1.- Variaciones en el grupo control.

Atendiendo a los datos de superficie de corte transversal que se plantean en este apartado, analizamos en primer lugar el grupo control y vemos que el parámetro estudiado permanece prácticamente constante con el paso del tiempo, excepto en las fibras tipo IIc que en los tres últimos años considerados, aumentan su grosor en un 5%, a expensas de una pequeña disminución de las fibras IIa y IIb.

El hecho de que la superficie de corte de la mayoría de las fibras se mantenga constante, nos habla de un grupo de adultos sanos, que han llegado a completar el desarrollo de una musculatura que corresponde fisiológicamente al sedentarismo, y que

además, es un grupo uniforme perfectamente indicado para su finalidad en cuanto a ser utilizado como elemento comparativo en las modificaciones producidas por el ejercicio.

Debemos pararnos a analizar ese incremento del 5% de las fibras tipo IIc entre los 21 y 24 años. Ya sabemos que el aumento de tamaño del músculo durante el crecimiento es un hecho fisiológico, pero este grupo de 21 años ya ha completado su desarrollo, por lo que cualquier variación en el tamaño, estará condicionada por otros factores.

A lo largo de la historia ha habido una tendencia a considerar este tipo de fibras como un elemento de tránsito de unas poblaciones a otras (Brooke y Kaiser, 1973, Schiaffino y Reggiani, 1994) y una de las que primero aparecen en animales jóvenes, en el proceso de diferenciación de las fibras musculares (Brooke y cols. 1971).

Es un hecho demostrado que dentro de cada célula muscular existen dominios nucleares, que producen transcritos y productos proteico asociados con membranas y miofibrillas, que permanecen en la vecindad de los núcleos responsables de su síntesis (Pavlati y cols., 1989), y que la mayor o menor actividad de cada núcleo, depende de las señales que recibe del microambiente. En las fibras tipo IIc la principal isoforma de MHC que aparece es la MHC-2X, pero también pueden aparecer en menor proporción el resto de isoformas, β /slow, 2A y 2B, propia de las fibras musculares esqueléticas, en una formación híbrida continua, descrita por numerosos autores (Robbins y cols. 1986, Blanchard y cols. 1984, Danielli-Betto y cols. 1986, Smerdu y cols. 1994).

Por otro lado, (Sugiura y cols. 1992) han demostrado en la rata, que con la edad aparece una progresiva disminución de fibras con expresión de isoformas MHC-2B y un aumento paralelo de MHC-2X, en los componentes miofibrilares de los músculos rápidos.

Con todos estos datos podemos deducir que, ante la falta de ejercicio que aparece en el grupo de estudiantes entre los 21 y 25 años, en los que incluso el de tipo lúdico disminuye por la gran demanda de horas de trabajo intelectual, empiezan a producirse variaciones en su tejido muscular, por la falta de uso en esa edad, no tan marcadas como para que se vea afectada significativamente la población tipo IIb, pero sí para que las fibras IIc aumenten su síntesis de proteínas, como forma de reserva para una transformación rápida en otro tipo de fibra, si hay una mayor demanda de ejercicio físico.

16.2.2.- Variaciones en el grupo de deportistas de resistencia.

En el caso de los deportistas que entrenan para resistencia, todos los tipos de fibras aumentan su diámetro con respecto al grupo control, como corresponde a un ejercicio que se va a llevar a cabo durante mucho tiempo y que implica la colaboración sincronizada de prácticamente todos los grupos musculares, pero el mayor aumento lo experimentan las fibras tipo I de contracción lenta (25 y 28%) y en una proporción paralela, las IIc (32%), en las que sigue creciendo la cantidad de miofibrillas durante todo el tiempo considerado. Las fibras tipo IIb (17 y 26%) mantienen también una curva ascendente y constante, pero no tan llamativa como en el caso anterior, y las IIa (7 y 10%) apenas sufren variación con respecto al grupo control.

Las fibras de contracción lenta son las primeras que aparecen en la evolución ontogénica (Rubinstein y Kelly, 1981) y posteriormente empiezan a expresarse las miosinas de las fibras tipo IIb y IIa. Este ejercicio permite pues mantener un patrón típico de formas musculares jóvenes. Debido a la clase de trabajo que van a llevar a cabo, las fibras más necesarias son las que mantienen su actividad al completo con una ATPasa baja o intermedia, a la vez que aprovechan al máximo la capacidad oxidativa de sus grandes mitocondrias.

Dentro de las rápidas, las IIb responden como las de mayor actividad de síntesis en los últimos tres años, aumentando en un 9% mientras que las de tipo I solo un 3% en el mismo periodo. Parece que llegado el momento de madurez en este ejercicio, cuando las fibras lentas ya han alcanzado su actividad máxima, aun pueden mejorar el rendimiento total con el aporte de trabajo de las fibras rápidas más diferenciadas.

Durante esta modalidad de entrenamiento, aparece un reclutamiento progresivo de unidades motoras, demostrado por Lowry y cols. (1980) y Bernardi y cols. (1997), dentro del patrón evolutivo similar al ontogénico: primero activa fibras ST y finalmente las FT.

Parece que la necesidad de mantener un aporte constante de sustrato energético para las largas horas de trabajo muscular, puede llegar a depleccionar el poco glucógeno almacenado en las fibras ST y la habilidad para renovar al ATP que soporta la contracción disminuye, activando entonces las fibras tipo IIb. Estas fibras pueden mantener incluso condiciones anaerobias porque su potencial oxidativo es considerablemente menor que las fibras tipo I, en el hombre sedentario.

16.2.3.- Variaciones en el grupo de deportistas de velocidad.

Los atletas de velocidad presentan un incremento de superficie en corte transversal claramente inclinado hacia las formas rápidas, tanto IIa (11 y 34%) como IIb (17 y 31%), que han aumentando a los tres y continúan haciendolo hasta los siete años y en mayor proporción a favor de las primeras. Las IIc presentan también mayores dimensiones también, pero discretamente y siempre en menor cantidad que en los deportistas de velocidad.

Estos resultados concuerdan completamente con lo que se puede deducir de la bibliografía consultada en cuanto a las necesidades funcionales para desarrollar un esfuerzo de intensidad máxima en un tiempo mínimo. Así los trabajos de Edström y Ekblom (1972), Costill y cols. (1979) y McDougall y cols. (1977) avalan esta hipertrofia de la fibras FT, con aumento significativo en la sección transversal de todas ellas, al contrario de Thorstensson y cols. (1977) que no detectan ninguna variación a las 8 semanas de iniciado el entrenamiento.

Volvemos al mismo punto de poco tiempo de desarrollo del ejercicio, si nos fijamos en nuestras gráficas, el aumento es progresivo no solo a los tres años de inicio, sino que continúa elevándose en este grupo de velocidad en los cuatro años siguientes, de forma más acusada en las fibras tipo IIa. Al ser las fibras tipo IIa las de mayor diámetro en condiciones normales, además de las que más aumentan en grosor, seguidas por las IIb, los músculos de estos deportistas son los que alcanzan mayores dimensiones y mayor peso, bastante por encima que los músculos de los atletas de resistencia, con una masa muscular delgada a partir de la puesta en forma ideal. Debido a la velocidad a la que se desarrolla la fuerza, el resto de fibras debe contrarrestar la fuerza de la gravedad, justificando el discreto aumento de las fibras tipo I.

Este aumento tan marcado de las fibras FT, está producido porque el número de contracciones máximas y rápidas en serie, del entrenamiento de estos atletas, hace que respondan primero y con más intensidad las fibras rápidas, por lo que la tensión que se produce en sus líneas Z es mayor y más repetida, originando mayor número de roturas que facilitan el aumento en grosor de estas poblaciones celulares.

16.3.- VARIACIONES CUANTITATIVAS EN LA DOTACIÓN MITOCONDRIAL.

El estudio del diferente modo de utilización de los músculos dedicados a locomoción en personas sedentarias y deportistas, nos ha aportado ya muchos datos

sobre los cambios inducidos en ellos por el ejercicio. Si nos paramos a pensar en la forma en que esta maquinaria consume energía para su funcionamiento, es indispensable plantearnos dentro de este estudio, cómo varían las distintas vías de las que dispone el músculo para conseguirla, almacenarla, utilizarla y reponerla.

Algunos de estos puntos ya los hemos ido mencionando en los apartados correspondientes, tanto morfológicos como funcionales, pero nos queda analizar los resultados aportados por la valoración cuantitativa de la densidad de volumen mitocondrial en cada tipo de fibra y en cada actividad deportiva, así como su relación con procesos metabólicos, que aunque se salen de nuestro campo por pertenecer al apartado de fisiología, han sido aportados por otros autores, permitiéndonos contar con sus resultados, para interpretaciones analíticas y base de posibles hipótesis.

La relación entre el volumen de las mitocondrias y el volumen de las fibras, varía notablemente de un músculo a otro. En algunas especies de animales, en los músculos utilizados para la locomoción, ésta oscila entre el 2 y el 6%, mientras que en el diafragma alcanza el 10 o 12%, pero, como demostraron Ogata y Murata (1969), las diferencias que existen en la distribución, forma y tamaño de las mitocondrias, también varían según la especie considerada y en el caso concreto del hombre, estas diferencias se suavizan.

El músculo esquelético humano de tipo mixto, como el que nosotros estamos utilizando en nuestro trabajo, presenta una relación volumen de mitocondrias/volumen de fibras, cuantificada en un 3% en sujetos no entrenados específicamente. Por efecto del entrenamiento, en cualquiera de sus formas, Prampero (1990) demostró que esta relación aumenta acercándose al 4-5% de volumen de las fibras, tanto en las tipo I como en las tipo II, con características diferentes dependiendo del músculo, tipo de ejercicio y tiempo dedicado a él.

Estos datos admitidos por la generalidad de los autores consultados, discrepan de las primeras aportaciones de McDougall y cols, (1979) que sostienen que al aumentar la cantidad de proteínas contráctiles, se produce una dilución de las mitocondrias, con disminución de la densidad. Parece que esta diferencia puede deberse al modo de llevar a cabo el análisis morfométrico, que él realizó con un método indirecto, valorando capacidades metabólicas, al contrario que el resto de los trabajos, incluido el nuestro, en los que se visualizan directamente con microscopía electrónica los parámetros métricos de esta organela.

16.3.1.- Variaciones en la población control.

En este punto vemos que existen diferencias cuando tenemos en cuenta el paso del tiempo, ya que excepto en las mitocondrias de las fibras tipo IIc, cuya densidad no varía, tanto las tipo I como las tipo IIa y IIb sufren variaciones que hacen necesaria la comparación parcial de resultados con los grupos de deportistas. Así vemos que las mitocondrias en las fibras tipo I aumentan de los 21 a los 25 años desde $2'9\pm 0'5$ a $3'1\pm 1'0\%$ y las IIa y IIb disminuyen de $2'7\pm 0'5$ a $2'2\pm 0'7\%$ y de $1'8\pm 0'3$ a $1'6\pm 0'6\%$ respectivamente. Por lo tanto tenemos que analizar dos hechos: el aumento de densidad del volumen mitocondrial en fibras tipo I del 7% y la disminución en IIa del 19% y IIb del 11%, en personas de vida sedentaria entre los 21 y 25 años y la mayor densidad de las IIc sobre las I en ambos grupos.

Apenas hemos encontrado datos comparativos para explicar y contrastar estos hechos en la bibliografía consultada, por lo que debemos atenernos únicamente a nuestra propia interpretación, apoyada en algunos datos relativos a adaptación en la inmovilización prolongada.

Como veremos más adelante, existe la tendencia a considerar que el aumento de volumen mitocondrial, provocado por el ejercicio, es un hecho paralelo al aumento de tamaño de las fibras (Staron y cols. 1983), pero en nuestro caso estamos valorando la población control y las pequeñas oscilaciones que se producen en cuanto al aumento de superficie de corte transversal, no son en absoluto significativas, excepto en las fibras tipo IIc que habíamos apuntado con un crecimiento el 5%, por lo que no resulta un criterio de referencia útil.

Staron y cols. (1984) también nos hablan de esta disminución del volumen mitocondrial, en las fibras tipo IIb de su grupo control, y lo justifican considerándolo como una consecuencia de la inactividad. También los trabajos de Ferretti y cols. (1997) muestran una disminución de densidad de volumen mitocondrial del 16'5% después de un periodo de inmovilización forzada de 42 días, con una disminución de enzimas oxidativas del 11%.

Rantanen y cols. (1994), confirman que en el envejecimiento la diferencia de distribución de los distintos tipos de fibras, va disminuyendo, con desaparición progresiva de las fibras tipo II y predominio de las I y IIc, de menor tamaño y sin diferencia significativa entre los dos sexos, modificando el patrón de respuesta oxidativa, con mayor dependencia aerobia, tanto en la vida diaria, como en el ejercicio. Este dato ha sido ampliamente estudiado por Schiaffino y Reggiani (1996), demostrando que

existe una tendencia progresiva con la edad a retornar a un patrón de distribución en el que predominen las fibras ST, y que las variaciones oxidativas preceden a veces los cambios morfológicos que las soportan, como es el número y tamaño de las mitocondrias.

La teoría de la dilución mitocondrial cuando aumenta el tamaño de las fibras, de McDougall y cols. (1979), llevando a una disminución de la capacidad enzimática de estas fibras, tendría cabida aquí en cuanto a explicar que unas células que se utilizan poco en la vida sedentaria de los estudiantes, como son las FT, mantengan unos niveles oxidativos en disminución, aun antes de que se produzca el cambio de expresión de isoformas de MHC-IIA, IIB, a MHC-X y MHC-I por la edad. Sobre todo si pensamos en sentido inverso al ejercicio, es decir, el desuso produciría primero cambios bioquímicos, que actuarían como señales para inducir una forma de expresión, que se manifieste en cambios morfológicos adecuados para el trabajo que desempeñan. Esta forma de interpretación explica también el aumento de densidad en las fibras tipo I, que son las de utilización preferente en sujetos sedentarios, precediendo el aumento metabólico al aumento en su número y tamaño, considerando la superficie total de un músculo dado.

Como idea final de estas reflexiones, llegamos a la tristemente conocida falta de actividad de la mayoría de los estudiantes que utilizamos en este estudio como grupo control, que en realidad tiene consecuencias importantes en cuanto a un envejecimiento prematuro de su masa muscular.

16.3.2.- Variaciones en los deportistas de resistencia.

Esta modalidad deportiva totalmente aeróbica, es la que lógicamente estimula más los cambios positivos en la dotación mitocondrial, y así podemos ver cómo en todos los tipos de fibras, la densidad es mayor si la comparamos con sujetos control, e incluso en casi todas las comparaciones con los deportistas de velocidad. También se aprecia cómo el tiempo de dedicación al deporte influye en el aumento de esta organela celular en todas las fibras musculares.

En el caso de las fibras tipo I, este aumento en la densidad de volumen mitocondrial era de esperar a la vista del aumento importante que sufren las fibras, tanto en porcentaje como en superficie de corte transversal, de forma que a los tres años de práctica deportiva, la diferencia con el grupo control es de un 28%, llegando a los siete años al 39%. Por lo tanto, al mantener la dedicación, sigue equilibrando el metabolismo, para conseguir superarse en un 16% entre los dos estadios que consideramos. Lo mismo sucede con las fibras tipo IIc, que aumentan considerablemente la capacidad

oxidativa durante la realización de este deporte, de forma paralela al aumento de sus dimensiones, hasta llegar a superar en un 44% a las fibras IIc del grupo control.

El resto de fibras, IIa y IIb, que habitualmente mantienen un tipo de metabolismo glicolítico, aumentan también su grosor, pero disminuyen su proporción a lo largo de la práctica deportiva. Sin embargo, vemos también en ellas un incremento en la densidad de volumen mitocondrial, aunque tarda bastante más en producirse y nunca llega a tener en valor absoluto la importancia numérica que aparece en las tipo I y IIc. Las fibras IIa, a los tres años de realización de este trabajo muscular, no se diferencian en densidad mitocondrial de las de los controles, llegando a experimentar después de ese momento y hasta los 25 años, el mayor incremento proporcional de todas las fibras, un 68%, con respecto a su grupo control. Para el grupo IIb, el proceso de cambio metabólico es progresivo desde el primer momento, hasta superar en un 50% a su grupo control al final de nuestra valoración.

Podríamos pensar que este aumento tan llamativo, proporcionalmente el mayor que hemos encontrado, aunque no en valor absolutos que correspondería a las fibras tipo I, sería utilizado para apoyar el trabajo de estas fibras eminentemente oxidativas, para llevar a cabo todo el proceso de gasto y reposición energética del metabolismo aeróbico en estos atletas.

Estos cambios con el entrenamiento para resistencia han sido analizados por numerosos autores, con resultados similares a los nuestros, tanto en el hombre como en otras especies animales, como Jansson y Kaijser (1977) y Bylund-Fellenius (1977) que utilizando diferentes protocolos, llegan a conclusiones similares, valorando el aumento de volumen mitocondrial hasta en cuatro veces en las fibras FT y dos veces y media en las ST. Kayar y cols (1986) en ratas con estimulación para resistencia, cuantifican el aumento en un 50% superior con respecto al grupo control, y Sukova y cols. (1991) hallan un incremento del 9'2% en el vasto externo humano, acompañado de un incremento significativo de las enzimas mitocondriales implicadas en el metabolismo oxidativo.

Wang y cols. (1993) en el mismo músculo que nosotros hemos utilizado, y con 18 meses de entrenamiento, hablan de un aumento en valor absoluto del volumen de las mitocondrias en todas las fibras, pero siempre manteniendo la proporción en cuanto a las variaciones de tamaño de cada tipo de fibra. El porcentaje de volumen mitocondrial en fibras tipo II de corredores y culturistas fue similar y significativamente más alta que en los controles.

En nuestro trabajo vemos que este aumento no es paralelo en todos los casos, puesto que la superficie de corte transversal en los atletas de resistencia, aumenta significativamente en todos los tipos de fibras, aunque en menor proporción en las FT, mientras que la densidad mitocondrial aumenta en las tipo I y IIc y en las IIa y IIb, permanece igual a los tres años, para aumentar después a los siete. Estas aparentes diferencias entre los dos resultados las hemos comentado ya, al detectar en el grupo de Wang, un aumento de las fibras tipo I y IIa, que interpretábamos como una medida en un tiempo prematuro para que se estabilizaran los porcentajes de los diferentes tipos de fibras y que en nuestros deportistas empezábamos a considerar a partir de los tres años.

De la misma forma, puede que el establecimiento de patrones metabólicos claramente oxidativos, tarde más tiempo en llevarse a cabo que el que estos autores han considerado, ya que ellos mismos afirman que el análisis enzimático indica que el músculo incrementa su capacidad de fosforilación oxidativa, según va disminuyendo su porcentaje de fibras tipo IIb. Parece que las fibras tipo II que son primariamente glicolíticas, con el efecto del entrenamiento pueden desarrollar un alto nivel oxidativo, sin interrumpir la jerarquía de la capacidad metabólica (I>IIa>IIb). Sin embargo, debe haber algún punto en el que la utilización dicte una alteración de la molécula de miosina dentro de la población de subtipos de FT.

16.3.3.- Variaciones en los deportistas de velocidad.

Con respecto al grupo de deportistas entrenados para pruebas de velocidad, es de esperar que mejoren sus capacidades glicolíticas, puesto que hemos visto que son precisamente estas fibras FT las que aumentan tanto en superficie de corte como en porcentaje, por tanto sus variaciones en dotación mitocondrial sería inferior al grupo que hemos comentado en el apartado anterior.

Las fibras tipo I, oxidativas, disminuyen en porcentaje según va pasando el tiempo, pero aumentan en diámetro, de forma que este aumento de tamaño condiciona un incremento de densidad mitocondrial, similar al que se observa en los deportistas de resistencia y que igualmente se mantiene en el tiempo hasta llegar a un 14% más entre los 21 y 25 años. En las fibras IIc, intermedias, oxidativas y glicolíticas, el contenido mitocondrial no varía en relación a los controles, a pesar del aumento de grosor. La disminución del porcentaje IIc en velocidad, hace que la proporción con respecto al volumen de esta organela en las fibras de los atletas de resistencia, llegue a ser inferior al 40% a los 7 años.

Ambos datos concuerdan con los presentados por autores como Costill y cols. (1979) y Staron y cols. (1984), en los estudios que llevaron a cabo en los levantadores de peso. Jansson y cols. (1978) y Schantz y cols. (1982) estudian la variación en el número de mitocondrias de las fibras tipo IIc, en función del planteamiento de células de transición. Es decir, al ir convirtiéndose en glicolíticas para transición a fibras tipo IIa, van disminuyendo sus mitocondrias, sobre todo en sus localizaciones subsarcolémicas y perinucleares, para llegar al patrón de distribución intermiofibrilar más ordenado de éstas últimas.

Por último, en las fibras FT, vemos un fenómeno parecido al que describíamos en el grupo de resistencia, con porcentajes parecidos en los dos grupos. El aumento de densidad aparece muy lentamente en IIa, mientras se está produciendo el lento aumento en diámetro y número de fibras de este grupo, pero en el momento de rápido incremento de la fibra tanto en tamaño como en número, la densidad de volumen mitocondrial aumenta rápidamente, hasta presentar un 5% más alto que en los controles de la misma edad. En el caso de las IIb tiene lugar un incremento similar en cuanto a su manifestación, pero llega a ser un 44% mayor que en los controles de 25 años.

Esta diferencia en la densidad de volumen mitocondrial entre las fibras tipo IIa y IIb en este grupo de velocidad, podría ser superponible a la idea de McDougall y cols. (1979) en cuanto a la dilución mitocondrial, de forma que las que más aumentan en tamaño, menos aumentan en esta organela. Pero hemos de tener en cuenta que las fibras tipo IIb son las que primero presentan una depleción glicolítica en los deportistas de velocidad, que depende de la intensidad y tiempo de realización del ejercicio, por lo tanto, como ya demostraron Essen (1978), Green (1978) y Thomson y cols. (1979), con el entrenamiento, esta población celular debe desarrollar mecanismo oxidativos compensatorios, en mayor medida que las tipo IIa. Por lo tanto, y de acuerdo con el planteamiento de Staron y cols (1984), el entrenamiento para velocidad contribuye a incrementar la capacidad oxidativa total del músculo, sin que se afecte significativamente el máximo consumo de O_2 .

Aunque hablamos de incrementos importantes en las fibras tipo I, son siempre referidas a densidad de volumen mitocondrial en relación al volumen de la fibra, y por tanto, en valor absoluto, el mayor incremento lo sufren las fibras IIa y IIb, que a pesar de mantener un metabolismo eminentemente glicolítico, aumenta también su potencial oxidativo, como importantes herramientas de apoyo a su gasto energético. Estos hechos tienen su imagen histoquímica paralela en las técnicas para enzimas mitocondriales como la SDH que nosotros hemos mostrado en los resultados como dato comparativo

al estudio morfométrico y, que como Oda y cols. (1958) habían demostrado, está absolutamente limitado a las mitocondrias.

En rasgos generales los datos que hemos obtenido en nuestro trabajo, concuerdan con los de Baldwin y cols. (1973) y Saltin y cols. (1976) que durante el estudio de la respuesta adaptativa al ejercicio de velocidad, obtienen un aumento significativo de enzimas mitocondriales, demostrando mayores sustratos NADH y SDH, como respuesta al alto y rápido consumo de O₂ que se produce con este tipo de deporte. Más recientemente, Sukhova y cols (1991) determinan la densidad de volumen mitocondrial en vasto lateral en sprinters, valorándolo en un 7'6%, pero no especifican localizaciones dentro de la célula, ni porcentajes en los diferentes tipos de fibras.

16.4.- VARIACIONES EN LA DENSIDAD DE CAPILARES.

Los datos que nos aporta la revisión bibliográfica en cuanto a los cambios que sufren los capilares que nutren la fibra muscular, en respuesta al ejercicio, son contradictorios según el autor considerado, bien porque afirman categóricamente que aumentan en número y densidad (Ingjer, 1978, Bell y Jacobs, 1990, Kuzon y cols. 1990) o que disminuyen en alguno de estos parámetros (Nygaard y Nielsen, 1982; Luque y cols, 1995). Lo que está claro en todos ellos, y nosotros nos unimos a este criterio, es que el árbol vascular va a adaptarse a la nueva situación, colaborando para mantener un flujo sanguíneo adecuado, que garantice la buena oxigenación y nutrición de cada tipo de fibra, y en general, está plenamente aceptado el aumento de capilares en el músculo con el ejercicio. Este aumento no hace más que confirmar sobre el plano cuantitativo, el dato conocido desde hace tiempo en cuanto a que los animales domésticos, en condiciones de relativa inactividad, tienen una menor densidad de capilares musculares, que los que se detectan en las especies homólogas que viven en libertad.

En el extremo opuesto, el efecto de la inactividad sobre los capilares del músculo humano, es menos conocido, pero sí es importante que primero se aprecia una disminución de la superficie de corte transversal de las fibras y luego una disminución en el número de capilares, es decir, los capilares se adaptan a las necesidades de las fibras musculares.

Ya hemos comentado en el apartado correspondiente, que existen diferencias fisiológicas importantes entre los índices de capilaridad de los músculos lentos (soleo), rápidos (EDL) o mixtos (vasto externo), porque el número de capilares que rodea cada tipo de fibra, es diferente dependiendo del tamaño del músculo en cada especie

considerada, de su grado de desarrollo y de su velocidad de contracción (Hudlickä, 1980). La diferencia en el aporte capilar entre fibras ST y FT en el músculo esquelético humano, es algo distinta de lo que se ha visto en otras especies y creemos que puede estar influenciado por el potencial oxidativo de los dos tipos de fibras. En el conejo y hámster, Peter y cols. (1972) demostraron que la proporción es de 2/3 entre el número de fibras oxidativas y glicolíticas y la misma relación aparece entre los capilares relacionados con cada uno de los subtipos fibrilares. Pero en el hombre esta misma comparación tiene un valor de 1'6 (Essen 1979). Por lo tanto el flujo capilar en las fibras ST y FT, es similar en el hombre, pero no en otras especies y también es compatible con los datos aportados por Sjogaard (1982), que demuestra el hecho de que el potencial metabólico de ambas fibras sea más parecido que en otras especies.

Sin embargo, estas diferencias no son apreciables cuando los índices se relacionan con el tamaño de la fibra muscular (Boreham y cols., 1988) o cuando se valora la capacidad oxidativa con la capilaridad (Hoppeler y cols 1983): las fibras FT tienen menos capilares por fibra, pero su capacidad oxidativa también es menor, y por lo tanto el rendimiento es el mismo que proporciona el mayor número de vasos en las fibras ST (Boreham, 1988). Concretamente en nuestro caso, al ser un músculo mixto, un mismo capilar puede estar rodeado por diferentes tipos de fibras y estar en contacto con parte de la superficie de membrana de una FT y de otra ST, por lo que el trabajar con datos de número de capilares en relación al número de fibras, no aportaría resultados interpretativamente válidos, y hemos preferido trabajar en todos los casos con densidad capilar, es decir, número de capilares/mm² de fibra muscular.

Ya habíamos comentado que durante el periodo de crecimiento y desarrollo humano, el músculo aumenta en tamaño en relación inversa al número de capilares (Boreham, 1988), pero el aumento de tamaño del músculo, con el inicio del ejercicio intenso y programado, ya no guarda relación con el equilibrio homeostático del individuo, para que la musculatura esté al servicio de las necesidades sedentarias, sino que impone sus propias reglas y poco a poco va favoreciendo la organización de una nueva morfología, para una nueva función.

Sabemos que los capilares tienden a mantener la relación capilar/fibra constante y empiezan a desarrollarse antes de que lo hagan los enzimas oxidativos y que la angiogénesis se inicia por señales químicas, debidas a la acumulación de metabolitos provocados por la hipoxia que origina el ejercicio intenso (Flugevand y Segal 1997), pero en este momento no están identificados ni cuantificados estos factores, que pueden derivar tanto de señales del tejido conjuntivo, como del propio endotelio sometido a cambios mecánicos y de transporte de forma violenta (Hudlickä, 1984), o de la fibra

muscular, con el conjunto de anomalías y daño celular que ya hemos expuesto (Lexell, 1983), como mecanismo inicial de cambios para adaptarse al ejercicio.

Tampoco se conocen los factores que determinan el número y la distribución de los capilares alrededor de la fibra muscular durante el desarrollo, pero se ha propuesto que puede ser la propia distribución de los organelas de las células musculares las que produzcan señales químicas para inducir la localización final de los capilares (Poole y Mathieu-Costello, 1996), y dentro de estas organelas, la situación de las mitocondrias en cada tipo de fibra puede tener una implicación especial, que en nuestro caso parecen lógicas y comentaremos más adelante.

16.4.1.- Población control.

Analizando los resultados obtenidos en el estudio de la densidad capilar de cada grupo del protocolo experimental, vemos que en los controles no hay una variación significativa, dentro del periodo de tiempo que hemos seguido, y los valores obtenidos ($277,1 \pm 82,5$ y $300,2 \pm 96,0$) son similares a los aportados por otros autores, en análogas condiciones (Kuzon y cols. 1990, Sjogaard, 1984, Ingjer 1979, Andersen y Henriksson 1977). Las diferencias que puedan existir a lo largo del tiempo en porcentaje de fibras, superficie de corte transversal y densidad del volumen mitocondrial, no son de suficiente envergadura como para producir cambios en la vascularización y por tanto en el aporte de O_2 .

El primer dato que salta a la vista al comparar este grupo control con cualquiera de los otros grupos considerados, es el aumento llamativo de hasta un 104% en el caso de los deportistas de resistencia y un 95% en los de velocidad en el número de capilares/ mm^2 de fibra muscular. Por lo tanto, está clara la relación que existe entre la práctica deportiva y el aumento de vascularización de la musculatura, al contrario de lo que sucede, como ya hemos mencionado, durante el crecimiento y desarrollo fisiológico del músculo, en los que Sillau y Bancho (1978) determinaron que la densidad de capilares por unidad de área disminuye, según va aumentando la longitud y el diámetro de la población de células musculares.

Sabemos que este hecho es debido a la propia maduración del tejido, que según Aquin y cols. (1980) estabiliza la concentración de pigmentos respiratorios dentro de la célula, de forma que aunque exista una mayor distancia desde el capilar al centro de las células, la difusión de oxígeno y elementos nutritivos esté garantizada por estos mecanismos compensatorios. En la actualidad se está estudiando también la relación

que existe entre el aporte capilar y el metabolismo propio de cada tipo de fibra, que se puede plantear en paralelo a las variaciones del volumen mitocondrial.

16.4.2.- Deportistas de resistencia.

El aumento del 50 y 104% que experimentan los capilares en los deportistas de resistencia de 21 y 25 años respectivamente, nos permite ver que con esta modalidad deportiva, el lecho capilar sufre un aumento progresivo constante, igual que habíamos visto en el aumento de la superficie y el número de fibras tipo I y IIc. Sabemos que la relación entre el número de capilares que rodea cada fibra, varía dependiendo del tipo de fibra y así, mientras las fibras rápidas tienen de 2 a 3 capilares por fibra, las lentas pueden tener 3 o 4 capilares a su alrededor (Prampero, 1990), en el caso de músculos mixtos, como el que estamos valorando. Por lo tanto, el incremento final que obtenemos en los ciclistas que llevan ya siete años entrenando, debe ser el mayor de todos, porque este tipo de deporte hace que aumenten precisamente en número y tamaño, las fibras lentas y así vemos que nuestros resultados concuerdan con este planteamiento y el grupo de resistencia con siete años de práctica deportiva presenta un 4% más de capilares que el grupo equivalente, dedicado a velocidad.

Esta interpretación puede estar en desacuerdo con el planteamiento de Ahmed y cols (1997) que afirman que el aumento de densidad está siempre en función del cambio de tamaño de las fibras, pero no del tipo de fibra. Aun así, no es contradictoria, si pensamos que la superficie de las fibras tipo IIa y IIb, también aumenta en este proceso, aunque su porcentaje disminuye.

Entre los autores consultados, Wang y cols. (1993) no encuentran variaciones en densidad capilar en un grupo similar al nuestro, pero ellos solo valoran la diferencia durante 18 meses, y ya hemos visto que en este caso el incremento es progresivo más con el tiempo que con el esfuerzo, por lo que no es un estudio válido para compararlo con nuestros resultados. Sin embargo, Kuzon (1990) trabajando con jugadores de fútbol playa, sí encuentra un aumento tanto en número, de $4'9 \pm 0'4$ a $5'7 \pm 0'9$, como en densidad, de $220'8 \pm 38$ a $282'7 \pm 42$, a los dos años de práctica deportiva. Siguiendo el mismo planteamiento, McCall y col. (1996) encuentra un cambio en el número y la densidad capilar, proporcional al cambio de las fibras tipo I.

En el modelo experimental propuesto por Sjoogard (1984), dentro del mismo deporte que nosotros estamos considerando, demuestra que el número de capilares es mayor, cuando en el entrenamiento para resistencia se incluyen diferentes grados de intensidad, como puede ser considerar un grupo de ciclistas de competición de élite, y

otro grupo de entrenamiento y dedicación menos intensa, pero igualmente organizada y con participación en pruebas de menor envergadura. Los datos obtenidos en su estudio (509 capilares/mm² en el primer grupo y 380 capilares/mm² en el segundo), pueden ser plenamente equivalentes a los de nuestros dos grupos, en los que varía sólo el tiempo de realización del deporte, manteniendo la misma dedicación y tipo de competición. En ambos casos, la densidad de capilares es mayor en ST, acompañando el predominio de este tipo de fibra.

El efecto negativo de este deporte llevado al extremo, como Sjöström y su equipo (1982c y 1987) demostraron en corredores de maratón, ya lo hemos comentado anteriormente, con una alteración por compresión en el tejido conjuntivo que repercute en los vasos, provocando una insuficiencia arterial periférica. No sabemos si esto mismo puede ocurrir en ciclistas dedicados más años al deporte, pero en el grupo R25 solo aparece una mayor densidad en el tejido conjuntivo y una disminución de calibre, aunque no del número, de los capilares que rodean las fibras musculares, que podría ser el inicio del cuadro patológico.

16.4.3.- Deportista de velocidad.

El cambio en el número de capilares en los atletas de velocidad, se manifiesta también como un incremento más rápido y mantenido y vemos que desde los tres años de práctica deportiva para velocidad, el aumento es considerablemente mayor que en el grupo equivalente de resistencia. Llegado a este punto, ya no hay aumento significativo entre los tres y los siete años de desarrollo de esta modalidad deportiva.

De los datos aportados por Mizumo y Secher (1989), se desprende que las fibras tipo IIa, son las que, ante un trabajo incrementado, pueden llegar a presentar mayor capilaridad. Es precisamente este grupo de fibras, seguidas de las tipo IIb, las que más aumentan, en porcentaje y en superficie de corte, dentro del grupo de velocidad de nuestro protocolo. También sabemos que este aumento es similar en ambos sexos, dentro de un mismo deporte, como demostraron Bell y Jacobs (1990) en un grupo de culturistas, pero ellos solo encuentran diferencias en cuanto al número de capilares/fibra, y no en cuanto a la densidad capilar.

Hepple y cols. (1997) llevan a cabo un estudio en deportistas de velocidad en condiciones de diferente aporte de O₂ y observan que, aunque las fibras más implicadas en este proceso sean las de metabolismo glicolítico, el número de capilares aumenta en ambas condiciones, mientras que la densidad capilar solo lo hace en condiciones aerobias. Esta posible explicación sobre las diferencias obtenidas en los resultados de

diferentes autores, muestra además una significativa correlación entre el cambio en el aporte capilar y el VO_2 máximo.

Otra explicación al fenómeno del aumento más rápido de la densidad capilar en los deportistas de velocidad, podemos encontrarla entre líneas, si interpretamos los trabajos del grupo de Sjöström (1980 y 1982c), sobre las alteraciones musculares en la claudicación intermitente. Ellos demuestran que pacientes con isquemia incompleta y reconstrucción vascular quirúrgica, muestran signos metabólicos de lesión tisular, que están en relación con las fibras tipo II. En este proceso hay una relación directa entre el número de fibras IIa y la distancia que el paciente es capaz de recorrer, antes de que se manifiesten los síntomas. Todo esto apunta a que la mayoría de las fibras tipo IIa, son las que primero sufren el daño y disminuyen su tamaño. Por eso en el extremo opuesto, en los deportistas de velocidad, como las IIa son las que más y primero aumentan, es necesario que el número de capilares suba ya desde los primeros estadios.

La forma en que aumenta la densidad capilar en este grupo de nuestro protocolo, alcanzando más del 90% a los tres años y hasta el 95% a los siete años, está en consonancia con las variaciones cuantitativas de las fibras: las tipo II aumentan extraordinariamente los primeros tres años en porcentaje y superficie de corte y por lo tanto, van a necesitar un aumento de capilares, mientras que las tipo I disminuyen en los mismos tiempos, siendo además las fibras que en teoría presentan mayor número de capilares a su alrededor, lo que podría justificar la estabilización en la vascularización con el paso del tiempo, para mantener el equilibrio entre las variaciones de ambos tipos de fibras.

Pero según los trabajos de Ahmed y cols.(1997), que ya hemos apuntado en el comentario sobre atletas de resistencia, el aumento en el número de capilares producido por el ejercicio, está en relación con el incremento en el tamaño de las fibras y no con el tipo de fibra. Luego también es lógico que en los velocistas aumente desde el primer estadio considerado, porque son precisamente las fibras tipo IIa y IIb las de mayor tamaño previo y las que más aumentan en superficie de corte. También hemos visto que la masa muscular total es mayor en los deportista de velocidad que en los de resistencia, luego su alto número de capilares, aun manteniendo el criterio de que metabólicamente necesitan menos aporte vascular, es un resultado plenamente justificado y aceptable.

Después de estas comparaciones, podemos pensar que el ejercicio no es una ampliación de la función que el músculo realiza cotidianamente, sino un nuevo trabajo,

no absolutamente necesario para la vida, pero sí para mantener una mejora en la calidad del resto de los tejidos y del suyo propio. Llevado a extremos de alta competición puede originar patologías que se deben evitar con una correcta ejecución de programas de entrenamientos personalizados, con posibilidad de hacerlos extensibles a toda la población para una correcta calidad de vida.

17.- ADAPTABILIDAD DE LA FIBRA MUSCULAR ESTRIADA ESQUELÉTICA: CAMBIOS EN EL FENOTIPO

Una de las cuestiones principales que conciernen a la adaptabilidad del músculo esquelético, es la posibilidad de cambiar la proporción del tipo de fibras que lo componen. El tema, de la existencia de un cambio en los tipos de fibras, no está resuelto todavía y el hecho de relacionar este punto con el crecimiento postnatal hipertrófico e hiperplásico, es un problema que ha originado numerosos estudios, que hemos venido enunciando y analizando en cada punto de nuestro trabajo.

El músculo esquelético está clasificado en base a sus propiedades contráctiles y puede ser identificado por métodos morfológicos, histoquímicos, inmunológicos, electroforéticos y por caracterización bioquímica de sus proteínas. Con todas estas herramientas se va avanzando en la comprensión de los cambios que tienen lugar en estas fibras, como consecuencia de un cambio en su trabajo mecánico, que también puede ser útil para comprender el resto de las situaciones que implican un cambio similar.

En la actualidad, la investigación del genoma expresado por las células musculares y las correspondientes proteínas que codifican, están siendo elementos claves para ir despejando progresivamente estas incógnitas (Moore y cols. 1992). El descubrimiento de las familias isogénicas para las proteínas que estructuran la sarcómera, ha servido de explicación a la diferente forma de comportamiento de cada tipo de fibra.

El por qué cada músculo tiene un patrón predominante de distribución de los diferentes tipos de fibras, es el resultado de un proceso evolutivo que en cada especie va adaptando la forma a la función que deberá realizar y viceversa (Ordahl y Le Douarin, 1992). Pero este patrón puede ser modificado por elementos patógenos, experimentales como la estimulación eléctrica a diferentes frecuencias y por medio del ejercicio o la inmovilización. Dependiendo de los resultados, el nuevo patrón puede ser beneficioso o no, para la vida del individuo.

En el embrión, las futuras fibras musculares están determinadas antes de emigrar a su localización definitiva, donde forman primero fibras lentas, para después salir a escena las rápidas, en el esbozo muscular. Es decir, antes de emigrar, las células embrionarias han adquirido un compromiso hacia el miembro donde formarán las fibras primarias lentas y rápidas (Hauschka, 1974). Este resultado muestra que el compromiso celular tiene un gran peso en el desarrollo del linaje celular y por ello, la teoría de Stockdale (1992) sugiere que la diversidad de fibras debe ser considerada como el compromiso prioritario para la formación de los diferentes tipos de fibras.

La primera de las situaciones de mutación en este tejido, está suficientemente comprobada y es un proceso fisiológico, que tiene lugar durante la maduración después del nacimiento. En este momento la mayoría de las células musculares son ST y algunas de ellas deben ir cambiando hasta la forma FT (Drachman y Johnston, 1973). La velocidad a la que se lleva a cabo este cambio de isoformas, depende de la especie que estemos considerando (Buller y cols., 1960, 1965).

Una vez pasada la época fetal, después del nacimiento, parece que existe un acuerdo generalizado sobre la no existencia de mioblastos y por supuesto, desde los últimos estadios de vida fetal, no se evidencia ninguna actividad mitótica, ni separación longitudinal de las fibras ya formadas (McCallum y cols 1898).

Por todos estos datos y las observaciones morfológicas en las zonas de crecimiento, pensamos que el aumento que hemos ido describiendo en nuestras muestras de tejido muscular de los diferentes atletas, se debe únicamente a un proceso hipertrófico, puesto que en ningún momento hemos detectado la presencia de células en mitosis, ni en núcleos de miocitos, ni en células satélites, como tampoco hemos encontrado datos ultraestructurales que confirmen la incorporación de células satélites a la estructura del miocito adyacente, cuya lámina basal comparte.

De esto se deduce que el incremento en el número de fibras en el corte, depende única y exclusivamente del crecimiento longitudinal de éstas, de forma que al avanzar se van interponiendo unas entre otras, dando a la sección un aspecto de mayor densidad celular (Williams y Goldspink, 1971; Rosser y cols., 1995). Si además es un tipo concreto de fibra el que crece, el resultado final es que este tipo aparece en un mayor número de cortes sucesivos, por lo que el porcentaje final aumenta.

La coincidencia morfológica y funcional de las organelas que componen cada tipo de fibra, en cuanto a la distribución de mitocondrias con respecto a las miofibrillas y al sistema de membranas, la cantidad de enzimas oxidativas o glicolíticas, la forma de

crecimiento de las miofibrillas, etc., propias de cada tipo de fibra, ya sea ST o FT, nos habla de un control y expresión nuclear muy preciso y mucho más amplio de lo que supone pensar solamente en controlar la producción de un tipo de proteínas para una sarcómera determinada, llevándonos a pensar que la reserva de la capacidad evolutiva de los núcleos de las células musculares, después del nacimiento, es mucho mayor de lo que en un principio se había planteado (Schiaffino y Reggiani, 1996).

Estos núcleos están capacitados para controlar un volumen citoplásmico mucho mayor que el conseguido al nacimiento. Es decir, desde el nacimiento a la edad adulta, el músculo sigue creciendo y cada núcleo debe controlar una zona mayor de citoplasma, y esto sucede con toda normalidad, sin ningún compromiso en la relación establecida. Pero si además tiene lugar un crecimiento por estimulación dinámica a través del deporte, los mismos núcleos son capaces de controlar un mayor volumen citoplásmico con más cantidad de organelas, por el crecimiento que experimenta la célula.

Si esto es posible, las células satélite, al contrario de lo propuesto por Moss y Leblond (1971), Hubber y cols. (1985) y Robertson y cols. (1992), entre otros autores, no estarían implicadas tan directamente en estos procesos de crecimiento, aunque no podemos asegurar que no dispongan de un sistema de participar en mecanismos reparadores, porque no hemos profundizado en este punto que se sale de nuestro cometido. En nuestro caso, ya hemos comentado que en ningún momento hemos visto imágenes de mitosis o incorporación al miocito, en esta población celular, debiendo establecerse una nueva línea de estudio que aclare las relaciones que pueden establecerse entre las dos poblaciones celulares y las señales utilizadas entre ellas, en el caso del crecimiento del tejido muscular con el ejercicio.

El otro punto conflictivo en cuanto a la posible variación real de un tipo de fibra a otro, cambiando las proteínas que componen las sarcómeras y por tanto, el resto de las organelas que intervienen en la contracción, está siendo objeto en la actualidad de múltiples estudios.

El punto inicial de este cambio, es decir, si es el ejercicio el que actúa directamente sobre la fibra, o es a través del sistema nervioso, al aumentar o disminuir el tipo y la intensidad de estímulos para la contracción, cambiando por tanto la estructura de la placa motora, tan definida para cada tipo de fibra como nos había hecho ver Ogata y Yamasaki (1985), es uno de los campos de investigación de la fisiología que tampoco están resueltos en la actualidad. La transición postnatal desde formas MHCneo a MHCs o MHCf, es independiente de la inervación y ocurre también en músculos denervados (Russell y cols. 1988). De todas formas, un núcleo de vida tan larga como el muscular,

debe tener al menos tanta autonomía en su autocontrol, como la célula nerviosa, de forma que una y otra puedan coordinar sus funciones, sin que se llegue a producir un absoluto control en la evolución del músculo desde el sistema nervioso.

La composición bioquímica y el resto de proteínas sarcoméricas que caracterizan a cada una de las fibras de contracción rápida o lenta, las proporciona una identificación bioquímica absolutamente específica (Brooke y Kaiser, 1970; Staron e Hikida, 1992; Santana-Pereira y cols. 1997), pero a pesar de que la clasificación es correcta, es necesario tener en cuenta que las fibras musculares presentan una gran capacidad de adaptación y por lo tanto numerosas variedades intermedias.

Teniendo en cuenta únicamente las cadenas pesadas de las miosinas, algunas fibras musculares contienen una variedad de isoformas particulares de MHC, que no permiten tipificarlas de forma rutinaria. A pesar de que la principal distribución de fibras lentas y rápidas están establecidas en el nacimiento, a lo largo de la existencia tienen lugar ingeniosas modificaciones que parecen asociadas a distintos niveles hormonales o de actividad en cada edad.

El cambio de las isoformas parece un proceso lento, que se va desarrollando en diferentes partes de la célula muscular, dependiendo de cómo cada núcleo va cambiando su expresión génica, desde la previa existente, hasta la nueva que necesita y de ahí la existencia del continuo de isoformas coexistentes que se presenta en algunos estudios y que bien podría estar relacionado con formas morfológicas mixtas, tanto en el corte transversal como en el longitudinal. Su existencia estaría representada por las formas intermedias Ic, Ilc, Ilac, Ilab, en cuya existencia Staron viene insistiendo en sus trabajos (1990-1997).

Según esto, el cambio se produce, pero es mucho más lento que el que habíamos visto como final de la diferenciación postnatal, como puede verse por el tiempo que tardan en producirse en nuestro trabajo. La sucesión de hechos implica en primer lugar, una demanda diferente de actividad, capaz de originar una alteración metabólica. En un músculo sano, la respuesta lógica es la puesta en marcha de los mecanismos oportunos para una adaptación funcional, con emisión de señales que demanden un cambio en el soporte morfológico. Para que varíe la morfología, debe haber un cambio de expresión de DNA, que transcriba diferentes RNAm y RNAs, como elementos que nos llevan por fin a la síntesis de las nuevas isoformas proteicas. Su distribución será responsable de la nueva forma, impuesta por su variación metabólica.

Sin embargo, son pocas las células que se ven con características morfológicas intermedias, que pudieran considerarse como el soporte formal de estas variaciones bioquímicas. Para llegar a determinar estos cambios, sería necesario llevar a cabo un estudio con tomas de muestras en estadíos más próximos entre sí, aunque no sea en humanos, para evitar un gran número de microcicatrices en el músculo, que pueden hacer variar los resultados.

Si el cambio en la expresión de isoformas es posible y fácil, no importa la proporción del tipo de fibras musculares al nacimiento, previo a la elección de un deporte. Evidentemente el rendimiento óptimo se alcanzará antes, cuando el individuo muestre un predominio de isoformas correcto para el ejercicio elegido, pero con programas de entrenamiento adecuado, puede conseguirse el cambio requerido para cada modalidad deportiva.

C
o
n
c
i
l
i
u
s
i
o
n
e
s

18.- CONCLUSIONES.

1.- Las células musculares del vasto externo humano, en todos los grupos de nuestro protocolo, presentan unas características morfoestructurales y un patrón de distribución de los diferentes tipos de fibras, que se adapta al admitido como normal.

2.- La práctica deportiva continuada, es responsable de los cambios morfológicos que aparecen en las fibras del músculo vasto externo de los atletas estudiados, donde encontramos signos de hipertrofia, con crecimiento longitudinal y transversal.

2.1.- Existen datos de crecimiento longitudinal en los extremos de las fibras musculares tipo I de los atletas de resistencia con tres años de práctica deportiva, que incluyen la localización de núcleos y organelas citoplásmicas implicadas en la formación de miofilamentos, para integrarse en las sarcómeras distales incompletas. En los atletas de resistencia con siete años de dedicación al deporte, aparecen zonas de compresión entre los extremos longitudinales de las distintas células que distorsionan esta zona de crecimiento.

Las tipo II de los atletas de velocidad, crecen en forma roma, con una mayor cantidad de núcleos alineados en el extremo de crecimiento longitudinal, bajo el sarcolema de la célula, y sin que aparezcan fenómenos de compresión en los deportistas de mayor edad.

2.2.- Las imágenes que encontramos en la zona intermedia de las células, y que corresponden a mecanismos de crecimiento transversal, por división de las miofibrillas, son diferentes según se produzca en las fibras tipo I o tipo II, de forma que en los deportistas de resistencia predomina el mecanismo de división en la línea media y posterior bifurcación de las miofibrillas, propio de las fibras tipo I, mientras que en las muestras de los deportistas de velocidad, la imagen más frecuente es la de roturas en varios puntos de la línea Z, que al avanzar provoca la rotura de las miofibrillas de forma irregular.

Acompañando estas variaciones, se aprecian los cambios correspondientes al retículo sarcoplásmico y túbulos transversos, implicados en la despolarización y el recambio iónico propios de la contracción muscular, así como de las mitocondrias que van a aportar la energía necesaria para ello.

3.- No hemos encontrado ninguna imagen de crecimiento hiperplásico que afecte a miocitos o células satélites, en las muestras de todos los grupos estudiados.

Las células satélites de las fibras musculares de los grupos control y de los deportistas, de resistencia y de velocidad, presentan una morfología normal y establecen con la membrana celular de los miocitos un estrecho contacto, pero no hemos encontrado imágenes de fusión entre ambas células. En los grupos de atletas se localizan con mayor frecuencia en las proximidades de los núcleos de miocitos, sobre todo en zonas de crecimiento de esta célula.

4.- El desarrollo de programas de entrenamiento deportivo, imponen en las fibras musculares cambios metabólicos que tienen representación morfológica en estudios con microscopía electrónica de transmisión.

4.1.- Las mitocondrias de las fibras tipo I de los atletas de resistencia, aumentan en número en todas las localizaciones en las zonas de crecimiento. En los extremos aparecen acúmulos intermiofibrilares, que pasan a ser columnas de un elemento al ir avanzando a la zona media de las células. Los acúmulos subsarcolémicos y perinucleares son más llamativos que en el grupo control. Las fibras tipo IIc de este mismo grupo de atletas, muestra un aumento de zonas subsarcolémicas con mitocondrias alineadas, y mayor número de columnas intermiofibrilares.

En el caso de los atletas de velocidad, varían más las fibras tipo II, cuya zona de crecimiento distal es la única que presenta acúmulos de mitocondrias, y las intermiofibrilares se muestran más regularmente distribuidas y son de mayor tamaño que en los estudiantes del grupo control.

4.2.- La distribución de los gránulos de glucógeno, es principalmente intermiofibrilar, y aumenta en todos los deportistas con el paso del tiempo, pero su imagen se va haciendo más constante en las fibras tipo II de los atletas de velocidad.

4.3.- Los acúmulos de gotas lipídicas aumentan en todos los grupos de deportistas, pero en diferente proporción, siendo más llamativos en las fibras tipo I de los atletas de resistencia, tanto a los tres años, como a los siete de práctica deportiva. En las fibras de este grupo, también aparecen en zonas perinucleares restos lipídicos degenerativos en cuerpos residuales. En los atletas de velocidad, la presencia de gotas de grasa, es algo mayor que en el grupo control, pero siempre en pequeñas cantidades.

5.- El tejido conjuntivo que se localiza entre las fibras musculares, y que constituye el endomisio, también se ve afectado por los cambios inducidos por la práctica deportiva. En los atletas de resistencia, las fibras de colágeno y reticulina son más numerosas y se presentan en haces más compactos, sobre todo en los extremos

de crecimiento, que proporcionan al corte un aspecto de compromiso espacial. Aumentan también el número y la actividad de las células propias de este tejido, en función del tiempo de práctica deportiva. En los atletas de velocidad, el espacio interfibrilar es más reducido que en los controles, pero la cantidad de fibras colágenas es menos llamativa que en el caso anterior, sin encontrar células deformadas entre ellas.

6.- La demanda de O_2 que lleva aparejada la práctica deportiva, induce también cambios en la vascularización de este músculo. En los deportistas de ambos grupos con tres años de práctica deportiva, aumentan ligeramente en número y su calibre es igual o algo inferior al de los controles, sobre todo en el grupo de resistencia. A los siete años de entrenamiento regular, si hay mayores diferencias entre ellos y con el grupo control. Así vemos que el número de capilares sigue aumentando en ambos, pero los de los deportistas de resistencia, presentan desviaciones en su trayecto, provocadas por la mayor rigidez del tejido circundante.

7.- El entrenamiento deportivo, en cualquiera de sus formas, impone en el tejido muscular implicado en el proceso, una serie de cambios funcionales, que están encaminados a conseguir el grado de adaptación necesario, para lograr un rendimiento óptimo.

8.- Las técnicas deportivas encaminadas a la competición de resistencia o de velocidad, determinan un cambio en la proporción de las distintas poblaciones de fibras celulares, de forma que van a aumentar o disminuir aquellas cuya presencia o ausencia suponga una mejora en el rendimiento del deporte elegido.

8.1.- En los grupos de resistencia, las fibras que más actividad presentan son aquellas capaces de soportar un trabajo muscular durante mucho tiempo, con intensidad variable, y serán las de contracción lenta y metabolismo aerobio las más indicadas para ello. Por lo tanto, las fibras tipo I, incrementan su número con el paso del tiempo, mientras va disminuyendo la proporción de las tipo IIa y IIb.

8.2.- En los atletas de velocidad, se requiere un tipo de fibra capaz de desarrollar una fuerza máxima en la menor cantidad de tiempo, es decir, hace falta una fibra de contracción rápida y metabolismo glicolítico o glicolítico oxidativo. El fenómeno parece inverso, detectando un mayor número de las fibras tipo IIa y IIb.

9.- El aumento de trabajo impuesto a las fibras musculares con el ejercicio, va a determinar en ellas una serie de variaciones en su estructura que dan como resultado

cambios en el tamaño de su superficie de corte transversal, es decir, un fenómeno de hipertrofia de sus componentes.

9.1.- En los atletas de resistencia, aumenta la superficie de todas las fibras que lo componen, pero en mayor proporción en comparación con los controles, las tipo I y IIc.

9.2.- En los atletas de velocidad, el incremento de la superficie de corte de las fibras tipo I y IIc, es menor que las de los IIa y IIb, que alcanzan las mayores dimensiones de todos los grupos estudiados.

10.- La cuantificación del volumen mitocondrial en relación al volumen de cada tipo de fibra, proporciona datos que confirman las variaciones morfológicas que hemos descrito, y sobre todo muestran la influencia directa que tiene la actividad deportiva en el aumento del metabolismo oxidativo.

10.1.- Al estudiar este parámetro, encontramos diferencias en el grupo control, con aumento en la densidad de volumen mitocondrial de las fibras tipo I, mantenimiento de las IIc y disminución de las tipo IIa y IIb. Por lo tanto, la vida sedentaria también impone cambios en el metabolismo de las fibras musculares.

10.2.- El grupo de atletas de resistencia aumenta el volumen mitocondrial desde el primer momento en todos los tipos de fibras, pero debemos tener en cuenta que el aumento en número y tamaño de las tipo I, proporcionan un mayor incremento en valor absoluto en esta organela.

10.3.- En los deportistas de velocidad, la variación que experimentan en los primeros tres años, es similar a la de los atletas de resistencia de la misma edad, pero a los siete años, es menor en las fibras tipo I y IIc que en el grupo anterior. La aparente diferencia de las fibras IIa y IIb entre los dos grupos, debemos considerarla también en cuanto a un mayor volumen celular.

11.- El tejido muscular implicado en un ejercicio sistematizado, aumenta su densidad capilar, para asegurar el aporte de O₂ necesario para el mantenimiento de su función.

11.1.- Los atletas dedicados al deporte de resistencia, presentan un aumento en el número de capilares por unidad de fibra, desde el primer estadio considerado, llegando a los siete años a presentar el mayor aumento de todos los grupos estudiados.

11.2.- Los atletas de velocidad presentan un rápido incremento en el primer estadio, para ir estabilizándose según va avanzando el tiempo de dedicación al deporte.

12.- De todas estas conclusiones se desprende una final, la gran capacidad de adaptación que presenta el tejido muscular ante los cambios en el trabajo que debe realizar. Estas transformaciones están condicionadas por la posibilidad de variaciones en el fenotipo de sus poblaciones fibrilares.

Por tanto, el aumento en los distintos parámetros estudiados entre unos y otros tipos de fibras, en cada grupo del protocolo propuesto, puede deberse tanto al crecimiento de las fibras con mayor implicación en cada deporte, o al cambio en el fenotipo de la población menos necesaria.

B i b l i o g r a f í a

19.- BIBLIOGRAFÍA.

- * ABE, H., KOMIYA, T. y OBINATA, T.: "Expression of multiple troponin T variants in neonatal chicken breast muscle". *Dev. Biol.* 118:42-51 (1986).
- * ABERNETHY, J.P., THAYER, R. y TAYLOR, A.W.: "Acute and chronic responses of skeletal muscle to endurance and sprint exercise". *Sports Med.* 10:365-389 (1990).
- * ADAL, M.N.: "The fine structure of the sensory region of cat muscle spindles". *J. Ultrastruc. Res.* 26:332-354 (1969).
- * ADAMS, C. y cols.: "Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training". *J. Appl. Physiol.* 74:911-915 (1993).
- * ADRIAN, R.H.; CONSTANTIN, L.L. y PEACHEY, L.D.: "Radial spread of contraction in muscle fibres". *J. Physiol. London* 204:231-257 (1969).
- * AHERNE, W. y cols.: "Muscle fibre size in normal infants, children and adolescents". *J. Neurol. Sci.* 14:171-182 (1971).
- * AHLBORG, B. y cols.: "Muscle glycogen and muscle electrolytes during prolonged physical exercise in man". *Acta Physiol. Scand.* 70:127-142 (1967).
- * AHMED, S.K. y cols.: "Is human skeletal muscle capillary supply modelled according to fibre size or fibre type?". *Exp. Physiol.* 82:231-234 (1997).
- * AITKEN, J.C., BENNET, W.M. y THOMPSON, J.: "The effects of high intensity training upon respiratory gas exchanges during fixed term maximal incremental exercise in man". *Eur. J. Appl Physiol.* 58:717-721 (1989).
- * ALLEMEIER, C.A. y cols.: "Effects of sprint cycle training on human skeletal muscle". *J. Appl. Physiol.* 77:2385-2390 (1994).
- * ALLINGER, T.L.; HERZOG, W. y EPSTEIN, M.: "Force-length properties in stable skeletal muscle fibers-theoretical considerations". *J. Biochem.* 29:1235-1240 (1996).
- * ALOISI, M., MUSSINI, I. y SCHIAFFINO, S.: "Activation of muscle nuclei in denervation and hypertrophy". In: *Basic research in myology*, Kakulas, B.A., Ed., Excerpta Medica, Amsterdam, part 1, pp. 338-342 (1973).
- * ALWAY, S.E., MACDOUGALL, J.D. y SALE, D.G.: "Contractile adaptations in the human triceps sural after isometric exercise". *J. Appl. Physiol.* 66:2725-2732 (1989).
- * ALWAY, S.E. y cols.: "Contrasts in muscle and myofibers of the elite male and female bodybuilders". *J. Appl Physiol.* 67:24-31 (1989).
- * ANDERSEN, J.L. y cols.: "Myosin heavy chain isoforms in single fibres from m. vastus lateralis of soccer players: effects of strength-training". *Act. Physiol. Scand.* 150:21-26 (1994).
- * ANDERSEN, P.: "Capillary density in skeletal muscle of man". *Acta Physiol. Scand.* 95:203-205 (1975).
- * ANDERSEN, P., y HENRIKSSON, J.: "Capillary supply of the quadriceps femoris muscle of man: adaptive response to exercise". *J. Physiol. Lond.* 270:677-690 (1977).
- * ANDERSEN, P. y KROESE, A.J.: "Capillary supply in soleus and gastrocnemius muscles of man". *Pluegers Arch.* 375:245-249 (1978).
- * ANDERSSON-CEDERGREN, E.: "Ultrastructure of motor end-plate and sarcoplasmic components of mouse skeletal muscle fiber as revealed by three-dimensional reconstructions from serial sections". *J. Ultrastr. Res. Suppl* 1:1-191 (1959).
- * ANLANSOON, A. y cols.: "Muscle morphology anzyme activity and muscle strength in elderly men and woman". *Clin. Physiol.* 1:73-86 (1981).
- * APPELYARD, S.T. y cols.: "Monoclonal antibodies detect a spectrin-like protein in normal and dystrophic human skeletal muscle". *Proc. Nat. Acad. Sc.(USA)* 81:776 (1984).

- * AQUIN, L. y cols.: "Growth and skeletal muscle microvasculature in the guinea pig". *Microvascular Res.* 20:41-50 (1980).
- * ARMEND, O. y cols.: "Origin of satellite cells in avian skeletal muscle". *Arch. Anat. Microsc.* 72:163-189 (1983).
- * ARMSTRONG, R.B. y cols.: "Glycogen depletion in rat skeletal muscle fibers at different intensities and durations of exercise". *Pfluegers Arch.* 352:243-256 (1974).
- * ASTRAND, P.Q.: "Fisiología del esfuerzo humano". *El Médico* 1-12:106-112 (1990).
- * BAGSHAW, C.R. y cols.: "Oxygen exchange in the γ -phosphoryl group of protein-bound ATP during Mg^{2+} -dependent adenosine triphosphatase activity of myosin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72:2592-2596 (1975).
- * BAKER, S.J. y HARDY, L.: "Effects of high intensity canoeing training on fibre area and fibre type in the latissimus dorsi muscle". *Br. J. Sports Med.* 23:23-26 (1989).
- * BALDWIN, K.M. y cols.: "Glycolytic enzymes in different types of skeletal muscle: adaptation to exercise". *Am. J. Physiol.* 225: 962-966 (1973).
- * BALDWIN, K.M. y cols.: "Biochemical properties of overloaded fast-twitch skeletal muscle". *J. Appl. Physiol.* 52:467-472 (1982).
- * BALDWIN, K.M. y WINDER, W.W.: "Adaptative response in different types of muscle to endurance exercise". *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 301:411-423 (1977).
- * BANDMAN, E.: "Contractile protein isoforms in muscle development". *Dev. Biol.* 154:273-283 (1992).
- * BANGSBO, J. y COLS.: "Elevated muscle glycogen and anaerobic energy production during exhaustive exercise in man". *J. Physiol. Lond.* 451:205-227 (1992).
- * BÁRÁNY, M. y CLOSE, R.I.: "The transformation of myosin in cross-innervated rat muscles". *J. Physiol. London* 213:455-474 (1971).
- * BARKER, D.: "The innervation of the muscle spindle". *Quart. J. Micr. Sci.* 89:143-186 (1948).
- * BARKER, D., STACEY, M.J. y ADAL, M.N.: "Fusimotor innervation in the cat" *Phil. Trans. B.* 258:315-346 (1970).
- * BARLOW, T.E., HAIGH, A.L. y WALDER, D.N.: "Evidence for two vascular pathways in skeletal muscle". *Clin. Sci.* 20:367-385 (1961).
- * BARNARD, R.J. y cols.: "Histochemical, biochemical and contractile properties of red, white, and intermediate fibers". *Am. J. Physiol.* 220:410-414 (1971).
- * BEAMS, H.W. y EVANS, T.C.: "Electron micrographs of motor end-plates". *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 82:344-346 (1953).
- * BECKETT, E.B. y BOURNE, G.H.: "Histochemical observations on the cytochrome oxidase and succinic dehydrogenase activity of normal and diseased human muscle". *Act. Anat. (Basel).* 33:289 (1958).
- * BEHR, T. y cols.: "Myofibrillogenesis in primary tissue cultures of adult human skeletal muscle: expression of desmin, titin and nebulin". *Clin. Invest.* 72:150-155 (1994).
- * BELL, D.G. y JACOBS, I.: "Muscle fibre area, fibre type and capillarization in male and female body builders". *Can. J. Sports Sci.* 15:115-119 (1990).
- * BENNETT, H.S.: "The structure of striated muscle". In "The structure and function of muscle". (Ed. G. H. Bourne), vol 1, Structure, Chap. 6 (Acad. Press, N.Y.) (1960).
- * BENNETT, H.S. y PORTER, K.R.: "An electron microscope study of sectioned breast muscle of the domestic fowl". *Amer. J. Anat.* 93:61 (1953).
- * BENNETT, P.M. y cols.: "The ultrastructural location of C-protein and H-protein in rabbit muscle". *J. Muscle Res. Cell Motil.* 7:550-567 (1986).
- * BENNETT, P.M., HODKIN, T.E. y HAWKINS, C.: "Evidence that the tandem Ig domains near the end of the muscle thick filament form an inelastic part

- of the I-band titin". *J. Struct. Biol.* 120:93-104 (1997).
- * BENSLEY, R.R. y HOERR, N.L.: "Studies on cell structure by the freezing-drying method". *Anat. Rec.* 60:449 (1934).
- * BERGSTRÖM, J.: "Muscle electrolytes in man determined by neutron activation analysis on needle biopsy specimen: a study in normal subjects, kidney patients, and patients with chronic diarrhoea". *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 14:(Supplement 68) 1-110 (1962).
- * BERGSTRÖM, J., GUARNIERI, G. y HULTMAN, E.: "Changes in muscle water and electrolytes during exercise". En: *Limiting factors of physical performance*, pp. 173-178. Ed. Keul J. Georg Thieme, Stuttgart (1973).
- * BERNARDI, M.; SOLOMONOW, M. y BARATTA, R.V.: "Motor unit recruitment strategy of antagonist muscle pair during linearly increasing contraction". *Electrom. Clin. Neurophysiol.* 37:3-12 (1997).
- * BERSHITSKY, S.Y. y cols.: "Muscle force in generated by myosin heads stereospecifically attached to actin". *Nature* 388:186-190 (1997).
- * BILLETER, R. y cols.: "Myosin types in human skeletal muscle fibers". *Histochemistry* 65:249-259 (1980).
- * BILLETER, R. y HOPPELER, H.: "Basis of muscle contraction". *Schweiz Z. Med. Traumatol.* 2:6-20 (1994).
- * BIRAL, D. y cols.: "Myosin heavy chain composition of single fibres from normal human muscle". *Biochem. J.* 250:307-308 (1988).
- * BISCHOFF, R.: "Activation and proliferation of muscle satellite cells on isolated fibers". *J. Cell Biol.* 91:342a (1983).
- * BISCHOFF, R.: "A satellite cell mitogen from crushed adult muscle". *Dev. Biol.* 115:140-147 (1986).
- * BLANCHARD, A., OHANIAN, V. y CRITCHLEY, D.: "The structure and function of α -actinin". *J. Muscle Res. Cell Motil.* 10:280-289 (1989).
- * BOEKE, J.: "Die motorische Endplatte bei den höheren Vertebraten, ihre Entwicklung, Form und Zusammenhang mit der Muskelfaser". *Anat. Anz.* 35:193-226 (1910).
- * BOLTSCHAUSER, E., LANG, W. y VARGA, E.: "Erfahrungen mit der perkutanen nadel-muskelbiopsie in der padiatrie: alternative zur offenen biopsie?". *Schweiz. Med. Wschr.* 166:396-399 (1986).
- * BÓNILLA, E.: "Ultrastructural study of the muscle cell surface". *J. Ultrastruc. Res.* 82:341-345 (1983).
- * BOREHAM, C.A.G. y cols.: "Effects of ageing and chronic dietary restriction on the morphology of fast and slow muscles of the rat". *J. Anat.* 157:11-125 (1988).
- * BOWMAN, W.: "On the minute structure and movement of voluntary muscle". *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* 130:457-501 (1840).
- * BOYD, I.A.: "The tenuissimus muscle in the cat". *J. Physiol. (London)* 133:35-36 (1956).
- * BOYD, I.A.: "The diameter and distribution of the nuclear bag and nuclear chain muscle fibres in the muscle spindles of the cat". *J. Physiol. (London)* 153:23-24 (1960).
- * BRIGGS, R.T., SCORDILIS, S.P. y POWELL, J.A.: "Myofibrillogenesis in rodent skeletal muscle in vitro: two pathways involving thick filament aggregates". *Tissue Cell* 27:91-104 (1995).
- * BROOKE, M.H. y ENGEL, W.K.: "The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. IV. Children's biopsies". *Neurol.* 19:591-605 (1969).
- * BROOKE, M.H. y KAISER, K.K.: "Muscle fibre types: how many what kind?". *Arch. Neurol. (Chicago)*. 23:369-379 (1970).
- * BROOKE, H.M. y KAISER, K.K.: "Use and abuse of muscle histochemistry". *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (1973).

- * BROOKE, M.H., WILLIAMSON, E. y KAISER, K.K.: "The behavior of four fiber types in developing and reinnervated muscle". *Arch. Neurol. (Chicago)*. 25:360-366 (1971).
- * BROSAMLE, C. y KUFFLER, D.P.: "Rapid dispersal of clustered postsynaptic nuclei following dissociation of skeletal muscle fibers". *J. Exp. Biol.* 199:2359-2367 (1996).
- * BUCHTHAL, F., KAMIENIECKA, Z. y SCHMALBRUCH, H.: "Fibre types in normal and diseased human muscles and their physiological correlates". In: *Exploratory Concepts in Muscular Dystrophy II*. Amsterdam: Excerpta Med. p. 526-551 (Int. Congr. Ser. 333) (1974).
- * BUCHTHAL, F. y SCHMALBRUCH, H.: "Motor unit of mammalian muscle". *Physiol. Rev.* 60:90-142 (1980).
- * BULLARD, H.H.: "Histological as related to physiological and chemical differences in certain muscles of the cat". *Johns Hopk. Hosp. Reports*. 18:323 (1919).
- * BULLER, A.J., ECCLES, J.C. y ECCLES, R.M.: "Differentiation of fast and slow muscles in the cat hind limb". *J. Physiol. London*. 150:399-416 (1960).
- * BULLER, A.J. y LEWIS, D.M.: "Further observations on the differentiation of skeletal muscles in the kitten hind limb". *J. Physiol. Lond.* 176:355-370 (1965).
- * BUÑO, W y GERMINO, N.I.: "Distribution of succino dehydrogenase in the organs of the adult albino rats". *Act. Anat. (Basel)*. 33:161 (1958).
- * BURKE, R.E. y cols.: "Mammalian motor units: physiological-histochemical correlation in three types in cat gastrocnemius". *Science*. 174:709-712 (1971).
- * BURKE, R.E. y TSAIRIS, P.: "Anatomy and innervation ratios in motor units of cat gastrocnemius". *J. Physiol., Lond.* 234:749-765 (1973).
- * BURKE, E.R. y cols.: "Characteristics of skeletal muscle in competitive cyclists". *Med. Sc. Sports* 9:109-112 (1977).
- * BUTLER-BROWNE, G.S. y cols.: "Denervation of newborn rat muscles does not block the appearance of adult fast myosin heavy chain". *Nature Lond.* 299:830-833 (1982).
- * BUTLER-BROWNE, G.S. y WHALEN, R.G.: "Myosin isozyme transitions occurring during the postnatal development on the rat soleus muscle". *Dev. Biol.* 102:324-334 (1984).
- * BUTLER-BROWNE, G.S. y cols.: "Adult human masseter muscle fibers express myosin isozymes characteristic of development". *Muscle Nerve* 11:610-620 (1988).
- * BYLUND-FELLENUS, A.C.: "Physical training in man. Skeletal muscle metabolism in relation to muscle morphology and running ability". *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 36: 151-169 (1977).
- * CAMPION, D.R.: "The muscle satellite cell: A review". *Int. Rev. Cytol.* 87:225-251 (1984).
- * CAMPION, D.R., MARKS, H.L. y RICHARDSON, L.R.: "An analysis of satellite cell content in the semimembranosus muscle of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) selected for rapid growth". *Acta Anat.* 112:9-13 (1982).
- * CANNON, J.G. y COLS.: "Increased interleukin 1 beta in human skeletal muscle after exercise". *Am. J. Physiol.* 257:451-455 (1989).
- * CARRARO, F. y cols.: "Effect of exercise and recovery on muscle protein synthesis in human subjects". *J. Physiol.* 259:470-476 (1990).
- * CASTILLO, J. y KATZ, B.: "Local activity at a depolarized nerve-muscle junction". *J. Physiol. London*. 128:396-411 (1955).
- * CASTILLO, J. y KATZ, B.: "Biophysical aspects of neuro-muscular transmission". *Progr. Biophys. and Biophys. Chem.* 6:121-170 (1956).
- * CHANCE, B. y WILLIAMS, C.R.: "The respiratory chain and oxidative phosphorylation". *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 17:65-134 (1956).
- * CHEVALLIER, A.: "Etude de la migration des cellules somatiques dans le mésoderme somatopleural de l'évauche de l'aile". *Wilhelm*

- Roux *Entwicklungsmechan. Org. Arch.* 184:57-73 (1978).
- * CHEVALLIER, A., KIENY, M. y MAUGER, A.: "Limb-somite relationship: origin of the limb musculature". *J. Embryol. Exp. Morphol.* 41:243-258 (1977).
- * CHIQUET, M., EPPENBERGER, H.M. y TURNER, D.C.: "Muscle morphogenesis: evidence for and organizing function of exogenous fibronectin". *Dev. Biol.* 88:220-235 (1981).
- * CHOU, S.M. y NONAKA, I.: "Satellite cells and muscle regeneration in diseased human skeletal muscles". *J. Neurol. Sci.* 34:131-145 (1977).
- * CIACCIO, G.V.: "La découverte des muscles blancs et des muscles rouges, chez la lapin, revendiquée en faveur de S. Lorenzini". *Archives Italiennes de Biologie* 30:287 (1898).
- * CIFUENTES-DIAZ, C. y cols.: "M-cadherin localization in developing adult and regenerating mouse skeletal muscle: possible involvement in secondary myogenesis". *Mech. Dev.* 50:85-97 (1995).
- * CLOSE, R.I.: "Dynamic properties of mammalian skeletal muscles". *Physiol. Rev.* 52:129-197 (1972).
- * COERS, C. y DURAND, J.: "Données morphologiques nouvelles sur l'innervation des fuseaux neuromusculaires". *Arch. Biol.* 67:685-715 (1956).
- * COERS, C. y WOOLF, A.L.: "The innervation of muscle". Blackwell: Oxford (1959).
- * COGSWELL, A.M., STEVENS, R.J. y HOOD, D.A.: "Properties of skeletal muscle mitochondria isolated from subsarcolemmal and intermyofibrillar regions". *Am. J. Physiol.* 264:383-389 (1993).
- * COLLING-SALTIN, A.S.: "Skeletal muscle development in the human foetus and during childhood". En *Children and exercise IX*, pp 193-207. Ed. K. Berg y Eriksson. Baltimore (1980).
- * CONDON, K. y cols.: "Development of muscle fiber types in the prenatal rat hindlimb". *Dev. Biol.* 138:256-274 (1990).
- * COOKE, R.: "Actomyosin interaction in striated muscle". *Physiol. Rev.* 77: 671-697 (1997).
- * COOPER, S. y DANIEL, P.M.: "Human muscle spindles". *J. Physiol. (London)* 133:1-3 (1956).
- * CORVAJA, N., MARINOZZI, V. y POMPEIANO, O.: "Close appositions and junctions of plasma membranes of intrafusal muscle fibres in mammalian muscle spindles". *Pflügers Arch. Ges. Physiol.* 296:337-345 (1967).
- * CORVAJA, N., MARINOZZI, V. y POMPEIANO, O.: "Muscle spindles in the lumbrical muscle of the cat". *Arch. Ital. Biol.* 107:365-543 (1969).
- * COSSU, G. y cols.: "In vitro differentiation of satellite cells isolated from normal and dystrophic mammalian muscle. A comparison with embryonic myogenic cells". *Cell Differ.* 9:357-368 (1980).
- * COSSU, G. y cols.: "TPA-induced inhibition of the expression of differentiative traits in cultured myotubes: dependence on protein synthesis". *Differentiation.* 21:62-65 (1982).
- * COSTILL, D.L. y cols.: "Adaptations in skeletal muscle following strength training". *J. Appl. Physiol.* 46:96-99 (1979).
- * COUTEAUX, R.: "Localization of cholinesterases at neuromuscular junctions". *Intern. Rev. Cytol.* 4:335-375 (1955).
- * COUTEAUX, R. y NACHMANSOHN, D.: "Cholinesterase at the end-plates of voluntary muscles after nerve degeneration". *Nature* 142:1481 (1938).
- * COUTEAUX, R. y TAXI, J.: "Recherches histochemiques sur la distribution des activités cholinestérasiques au niveau de la synapse myoneurale". *Arch. d'Anat. Microscop. et Morphol. Exptl.* 41:352-392 (1952).
- * CULL-CANDY, S.G. y cols.: "Visualization of satellite cells in living muscle fibres of the frog". *Proc. R. Soc. London B.* 209:563-568 (1980).
- * CUMMINS, P. y PERRY, S.V.: "Chemical and immunochemical characteristics of tropomyosins from striated and smooth muscle". *Biochem. J.* 141:43-49 (1974).

- * DANIELI-BETTO, D., ZERBATO, E. y BETTO, R.: "Type 1, 2A and 2B myosin heavy chain electrophoretic analysis of rat muscle fibers". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 138:981-987 (1986).
- * DAVID, J.D. y HIGGINBOTHAM, C.A.: "Fusion of chick embryo myoblasts: interactions of prostaglandin E1, adenosine 3':5' monophosphate and calcium influx". *Dev. Biol.* 82:308-316 (1981).
- * DAVIS, A.K. y CARLSON, S.S.: "Proteoglycans are present in the transverse tubule system of skeletal muscle". *Matrix Biol.* 14:607-621 (1995).
- * DE ROBERTIS, E.: "Submicroscopic morphology and function of the synapse". *Exptl. Cell Res. Suppl.* 5:347-369 (1958).
- * DECARY, S. y cols.: "Replicative potential and telomere length in human skeletal muscle: implications for satellite cell-mediated gene therapy". *Hum. Gene Ther.* 8:1429-1438 (1997).
- * DELL'ORBO, C. y cols.: "The role of proteoglycans in maintaining collagen fibril morphology". *Histol. Histopathol.* 10:583-588 (1995).
- * DENNIS, M.J.; ZISKIND-CONHAIM, L. y HARRIS, A.J.: "Development of neuromuscular junction in rat embryos" *Dev. Biol.* 81:266-279 (1981).
- * DENNY-BROWN, D.: "The histological features of striped muscle in relation to its functional activity". *Proc. Roy. Soc. B* 104:371 (1929).
- * DESAKI, J. y UEHARA, Y.: "The overall morphology of neuromuscular junctions as revealed by scanning electron microscopy". *J. Neurocytol.* 10:101-110 (1981).
- * DEVOTO, S.H. y cols.: "Identification of separate slow and fast muscle precursor cells in vivo prior to somite formation". *Development* 122:3371-3380 (1996).
- * DIETERT, S.E.: "The demonstration of different types of muscle fibres in human extraocular muscle by electron microscopy and cholinesterase staining". *Invest. Ophthalmol.* 4:51-63 (1965).
- * DILIBERTY, J.H., D'AGOSTINO, A.N. y COLE, G.: "Needle muscle biopsy in infants and children". *J. Pediatr.* 103:566-570 (1983).
- * DOYERE, L.: "Mémoire sur les tardigrades". *Ann. Sci. Nat.* 14:269-361 (1840).
- * DRACHMAN, D.B. y JOHNSTON, D.M.: "Development of mammalian fast muscle: dynamic and biochemical properties correlated". *J. Physiol. Lond.* 234:29-42 (1973).
- * DREWS, G.A. y ENGEL, W.K.: "An attempt at histochemical localization of myoglobin in skeletal muscle by the benzidine-peroxidase reaction". *J. Histochem. Cytochem.* 9:206-207 (1961).
- * DUANCE, V.C. y cols.: "A role for collagen in the pathogenesis of muscular dystrophy?". *Nature (London)* 284:470 (1980b).
- * DUBOWITZ, V.: "Contribution of histochemistry to diagnosis of muscle pathology". *Isr. J. Med. Sci.* 13:126-130 (1977).
- * DUBOWITZ, V. y BROOKE, M.H.: "Muscle biopsy: A modern approach, 1st edn. London, Philadelphia and Toronto: W.B. Saunders. (1973).
- * DUBOWITZ, V. y PEARSE, A.G.E.: "Reciprocal relationship of phosphorylase and oxidative enzymes skeletal muscle". *Nature (London)*. 185:701 (1960a).
- * DUBOWITZ, V. y PEARSE, A.G.E.: "A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle". *Histochemie.* 2:105 (1960b).
- * DULHUNTY, A., GAGE, P. y VALOIS, A.: "Indentations in the terminal cisternae of slow- and fast-twitch muscle fibers from normal and paraplegic rats". *J. Ultrastruc. Res.* 84:50-59 (1983).
- * DULHUNTY, A.F., BANYARD, M.R. y MEDVECZKY, J.L.: "Distribution of calcium ATPase in the sarcoplasmic reticulum of fast and slow-twitch muscles determined with monoclonal antibodies". *J. Membr. Biol.* 99:79-92 (1987).
- * DULHUNTY, A.F. y VALOIS, A.A.: "Indentations in the terminal cisternae of

- amphibian and mammalian skeletal muscle fibres*". *J. Ultrastruc. Res.* 84:34-49 (1983).
- * DUNN, M.J. y cols.: "Studies on the extracellular matrix in diseased human muscle". In *Matrices and cell differentiation*, Ed. Kemp, R.B. y Hinchcliffe, J.R., pp. 213-231. N.Y.: Alan R. Liss. (1984).
- * DÜSTERHOFT, S. y PETTE, D.: "Satellite cells from slow rat muscle express slow myosin under appropriate culture conditions". *Differentiation* 53:25-33 (1993).
- * DUXSON, M.J., USSON, Y. y HARRIS, A.J.: "The origin of secondary myotubes in mammalian skeletal muscles: ultrastructural studies". *Development* 107:743-750 (1989).
- * ECCLES, J.C., ECCLES, R.M. y KOZAK, W.: "Further investigations on the influence of motoneurons on the speed of muscle contraction". *J. Physiol. London* 163:324-339 (1962).
- * EDGERTON, V.R., ESSÉN, B. y CARROW, R.: "Histochemical changes in rat skeletal muscle after exercise". *Exp. Neurol.* 24:110-123 (1969).
- * EDMAN, K.A.: "The velocity of unloaded shortening and its relation to sarcomere length and isometric force in vertebrate muscle fibres". *J. Physiol. London* 291:143-159 (1979).
- * EDOM, F.V. y cols.: "Clones of human satellite cells can express in vitro both fast and slow myosin heavy chains". *Dev. Biol.* 164: 219-229 (1994).
- * EDSTRÖM, L. y EKBLÖM, B.: "Differences in size of red and white muscle fibres in vastus lateralis of musculus quadriceps femoris of normal individuals and athletes. Relation to physical performance". *Scand.J. Clin. Lab. Invest.* 30:175-181 (1972).
- * EDSTRÖM, L. y EKBLÖM, B.: "Differences in sizes of red and white muscle fibres in vastus lateralis of musculus quadriceps femoris of normal individuals and athletes. Relation to physical performance". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 30:175-181 (1972).
- * EDSTRÖM, L., THORNELL, L.E. y ERIKSSON, L.: "A new type of hereditary distal myopathy with characteristic sarcoplasmic bodies and intermediate (skeletal) filaments". *J. Neurol. Sc.* 47:171 (1980).
- * EDWARDS, R.H.T. y cols.: "Percutaneous needle-biopsy in the diagnosis of muscle diseases". *Lancet* ii:1070-1071 (1973).
- * EDWARDS, R.H.T., YOUNG, A. y WILES, M.: "Needle biopsy of skeletal muscle in diagnosis of myopathy and clinical study of muscle function and repair". *N. Engl. J. Med.* 302:261-271 (1980).
- * EHMER, S. y cols.: "Spatial distribution of beta-spectrin in normal and dystrophic human skeletal muscle". *Acta Neuropathol. Berl.* 94:240-246 (1997).
- * EISEMBERG, E. y KIELLEY, W.W.: "Evidence for a refractory state of heavy meromyosin and subfragment-1 unable to bind to actin in the presence of ATP". *Cold Spring Harbor Symp. Biol.* 37:145-152 (1972).
- * EISEN, A. y cols.: "The motor unit profile of the rat soleus in experimental myopathy and reinnervation". *Neurology* 24:878-884 (1974).
- * EISENBERG, D.R. y KUDA, A.M.: "Discrimination between fibre populations in mammalian skeletal muscle by using ultrastructural parameters". *J. Ultrastruct. Res.* 54:76 (1976).
- * EISENBERG, D.R. y KUDA, A.M.: "Stereological analysis of mammalian skeletal muscle. I. Soleus muscle of the adult guinea pig". *J. Cell Biol.* 60:732 (1974).
- * EISENBERG, D.R. y KUDA, A.M.: "Stereological analysis of mammalian skeletal muscle. II. White vastus muscle of the adult guinea pig". *J. Ultrastruct. Res.* 51:176 (1975).
- * ELDRIGE, L. y MOMMAERTS, W.: "Ability of electrically silent nerves to specify fast and slow muscle characteristics". In: *Plasticity of Muscle*, ed. Pette. N.Y.: de Gruyter, p. 325-338 (1980).
- * ELLIOTT, A. y OFFER, G.: "Shape and flexibility of the myosin molecule". *J. Mol. Biol.* 123:505-509 (1978).
- * EMONET-DENAND, F., JOFFROY, M. y LAPORTE, Y.: "Absence d'axones exclusivement

- fusimeteur dans les muscles pré-tibiaux du chat*". *J. Physiol.* 63:46 (1971).
- * EMONET-DENAND, F., JOFFROY, M. y LAPORTE, Y.: "Fibres fusimotrices dont l'action sur la sensibilité phasique des terminaisons primaires dépend de leur fréquence de stimulation". *C.R. Acad. Sci.* 275: 89-91 (1972).
- * ENDO, M.: "Calcium release from the sarcoplasmic reticulum". *Physiol. Rev.* 57:71-108 (1977).
- * ENESCO, M. y PUDDY, D.: "Increase in the number of nuclei and weight in skeletal muscle of the rats of various ages". *Am. J. Anat.* 114:235-244 (1964).
- * ENGEL, W.K.: "The essentiality of histo-and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular disease". *Neurology.* 12:778 (1962).
- * EPSTEIN, H.F. y FISCHMAN, D.A.: "Molecular analysis of protein assembly in muscle development". *Science Wash. DC* 251:1039-1044 (1991).
- * ERIKSSON, E. y MYRHAGE, R.: "Microvascular dimensions and blood flow in skeletal muscle". *Act. Physiol. Scand.* 86:211-222 (1972).
- * ESSÉN, B. y HENRICKSON, J.: "Glycogen content of individual muscle fibres in man". *Acta Physiol. Scand.* 90:645-647 (1974).
- * ESSER, K., GUNNING, P. y HARDEMAN, E.: "Nerve-dependent and -independent patterns of mRNA expression in regenerating skeletal muscle". *Dev. Biol.* 159:173-183 (1993).
- * FAULKNER, J.A. y cols.: "Adaptation of guinea pig plantaris muscle fibers to endurance training". *Am. J. Physiol.* 221:291-297 (1971).
- * FAZARINC, G. y cols.: "Combined histochemical and immunohistochemical determination of three muscle fibre types in a single section of porcine skeletal muscle". *Eur. J. Histochem.* 39:309-316 (1995).
- * FERRETTI, G. y COLS.: "The interplay of central and peripheral factors in limiting maximal O₂ consumption in man after prolonged bed rest". *J. Physiol. Lond.* 501:677-686 (1997).
- * FIEHN, W. y PETER, J.B.: "Properties of fragmented sarcoplasmic reticulum from fast twitch and slow twitch muscles". *J. Clin. Invest.* 50:570-573 (1971).
- * FITTS, R.H. y HOLLOSZY, J.O.: "Contractile properties of rat soleus muscle: effects of training and fatigue". *Am. J. Physiol.* 233:86-91 (1977).
- * FLEAR, C.T.G., CRAMPTON, R.F. y MATTHEWS, D.M.: "An in vitro method for the determination of the inulin space of skeletal muscle with observations on the composition of human muscle". *Clin. Sci.* 19:483-493 (1960).
- * FLECKMAN, P., BAILYN, R.S. y KAUFMAN, S.: "Effects of the inhibition of DNA synthesis on hypertrophying skeletal muscle". *J. Biol. Chem.* 253:3320-3327 (1978).
- * FLUCHER, B.E., TAKEKURA, H. y FRANZINI-ARMSTRONG, C.: "Development of the excitation-contraction coupling apparatus in skeletal muscle: association of sarcoplasmic reticulum and transverse tubules with myofibrils". *Dev. Biol.* 160:135-147 (1993).
- * FOWLER, V.M. y cols.: "Tropomodulin is associated with the free (pointed) ends of the thin filaments in rat skeletal muscle". *J. Cell Biol.* 120:411-420 (1993).
- * FRANCIS, R.: "Gomori rapid one step trichrome". En *Manual of histological techniques and their diagnostic application*. Ed. Churchill Livingstone. London. pp. 43-44 (1994).
- * FRANKE, W.W.: "Nuclear lamins and cytoplasmic intermediate filament proteins: A growing multigene family". *Cell* 48:3-4 (1987).
- * FRANZINI-ARMSTRONG, C.: "Studies of the triad. II. Penetration of tracers into the junctional gap". *J. Cell Biol.* 49:196 (1971).
- * FREMONT, P.H., FOURNIER LE RAY, C. y LE DOUARIN, G.H.: "In vitro differentiation in the absence of nerve and avian myoblasts derived from slow and fast muscle rudiments". *Cell Different.* 13:325-339 (1983).

- * FRYER, M.W. y NEERING, I.R.: "Relationship between intracellular calcium concentration and relaxation of rat fast and slow muscles". *Neuroscience Letters* 64:231-235 (1986).
- * FUGLEVAND, A.J. y SEGAL, S.S.: "Simulation of motor unit recruitment and microvascular unit perfusion: spatial considerations". *J. Appl. Physiol.* 83:1223-1234 (1997).
- * FÜRST, D.O. y cols.: "The organization of titin filaments in the half-sarcomere revealed by monoclonal antibodies in immunoelectron microscopy: a map of ten nonrepetitive epitopes starting at the Z line extends close to the M line". *J. Cell Biol.* 106:1563-1572 (1988).
- * FÜRST, D.O., VINKEMEIER, U. y WEBER, K.: "Mammalian skeletal muscle C-protein: purification from bovine muscle, binding to titin and the characterization of a full-length human cDNA". *J. Cell Sci.* 102:769-778 (1992).
- * GALVAS, P.E., NEAVES, W.B. y GONYEA, W.J.: "Direct correlation of histochemical profile to the ultrastructure of single myofibers at their neuromuscular junction from a mixed muscle". *Anat. Rec.* 203:1-17 (1982).
- * GARAMVÖLGYI, N.: "Slow and fast muscle cells in human striated muscle". *Acta Biochem. Biophys. Acad. Sci. Hung.* 7:165-169 (1972).
- * GARNETT, R.A.F. y cols.: "Motor unit organization of human medial gastrocnemius". *J. Physiol. London* 287:33-43 (1978).
- * GAUTHIER, G.F.: "On the relationship of ultrastructural and cytochemical features to color in mammalian skeletal muscle". *Z. Zellf. Mikrosk. Anat.* 95:462-482 (1969).
- * GAUTHIER, G.F.: "The ultrastructure of three fiber types in mammalian skeletal muscle". In: *The Physiology and Biochemistry of muscle as a food*. Vol.2, ed. Briskey, E., Cassens, R.G. and Marsh, B.B. Madison, Milwaukee and London: University of Wisconsin Press. (1970).
- * GAUTHIER, G.F.: In "Physiol and Biochem. of Muscle as Food, II" (Briskey, E.J., Cassens, R.G. and Marsh, B.B., Eds.), pp. 103-130, University of Wisconsin Press, Madison, (1970).
- * GAUTHIER, G.F. y LOWEY, S.: "Distribution of myosin isoenzymes among skeletal fiber types". *J. Cell Biol.* 81:12-25 (1979).
- * GELBER, D., MOORE, D.H. y RUSKA, H.: "Observations of the myo-tendon junction in mammalian skeletal muscle". *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 52:396-400 (1960).
- * GEORGE, J.C. y SCARIA, K.S.: "A histochemical study of dehydrogenase activity in the pectoralis major muscle of the pigeon and certain other vertebrate skeletal muscles". *Quart. J. Microscop. Science.* 99:469 (1958).
- * GEORGE-WEINSTEIN, M. y cols.: "In vitro and in vivo expression of $\alpha 7$ integrin and desmin define the primary and secondary myogenic lineages". *Dev. Biol.* 156:209-229 (1993).
- * GIBALA, M.J. y COLS.: "Changes in human ultrastructure and force production after acute resistance exercise". *J. Appl. Physiol.* 78:702-708 (1995).
- * GIBSON, M.C. y SCHULTZ, E.: "The distribution of satellite cells and their relationship to specific fiber types in soleus and extensor digitorum longus muscles". *Anat. Rec.* 202:329-337 (1982).
- * GIBSON, M.C. y SCHULTZ, E.: "Age-related differences in absolute numbers of skeletal muscle satellite cells". *Muscle Nerve.* 6:574-580 (1983).
- * GLENMARK, B.: "Skeletal muscle fibre types, physical performance, physical activity and attitude to physical activity in women and men. A follow-up from age 16 to 27". *Acta Physiol. Scand.* 623:1-47 (1994).
- * GOLDEWSKI, H.G.: "Are active and inactive phosphorylase histochemically distinguishable?". *J. Histochem. Cytochem.* 11: 108-112 (1963).
- * GOLDSPINK, G.: "The combined effects of exercise and reduced food intake on skeletal muscle fibers". *J. Cell. Comp. Physiol.* 63:209-216 (1964).
- * GOLDSPINK, G.: "Sarcomere length during the post-natal growth of mammalian muscle fibre". *J. Cell. Sci.* 3:539-548 (1968).

- * GOLDSPINK, G., LARSON, R.G. y DAVIES, R.E.: "Thermodynamic efficiency and physiological characteristics of the chick anterior latissimus dorsi muscle". *Z. Vgl. physiol.* 66:379-388 (1970).
- * GOLLNICK, P.D. y cols.: "Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men". *J. Appl. Physiol.* 33: 312-319 (1972).
- * GOLLNICK, P.D., HERMANSEN, L. y SALTIN, B.: "The muscle biopsy: Still a research tool". *Phys. Sports Med.* 8:50-65 (1980).
- * GOMORI, G.: "Silver impregnation of of reticulum in paraffin section". *Am. J. Path.* 13: 993 (1937).
- * GORDON, A.M., HUXLEY, A.F. y JULIAN, F.J.: "The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres". *J. Physiol. London* 184:143-169 (1966).
- * GORDON, H. y VAN ESSEN, D.C.: "Specific innervation of muscle fiber types in a developmentally polyinnervated muscle" *Dev. Biol.* 111:42-50 (1985)
- * GORZA, L.: "Identification of a novel type 2 fiber population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies" *J. Histochem. Cytochem.* 38: 257-265 (1990).
- * GRABAREK, Z., TAO, T. y GERGELY, J.: "Molecular mechanisms of troponin-C function". *J. Muscle Res. Cell. Motil.* 13:383-393 (1992).
- * GRANIT, R.: "Muscular afferents and motor control". Nobel Symposium I. New York: J. Wiley (1966).
- * GRANT, R.T. y PAYLING-WRIGHT, H.: "Further observations on the blood vessels of skeletal muscle". *J. Anat.* 103:553-565 (1968).
- * GRAY, S.D. y RENKIN, E.M.: "Microvascular supply in relation to fiber metabolic types in mixed skeletal muscles of rabbits". *Microvasc. Res.* 16:404-425 (1978).
- * GREASER, M.L. y GERGELY, J.: "Purification and properties of the components from troponin". *J. Biol. Chem.* 248:2125-2133 (1973).
- * GREEN, H.J.: "Glycogen depletion patterns during continuous and intermittent ice skating". *Med. Sci. Sports* 10:183-198 (1978).
- * GREEN, H.J. y cols.: "Exercise-induced fibre type transitions with regard to myosin, parvalbumin and sarcoplasmic reticulum in muscles of the rat". *Pflügers Arch.* 400:432-438 (1984).
- * GREEN, H.J. y cols.: "Fibre type specific glycogen utilization in rat diaphragm during treadmill exercise". *J. Appl. Physiol.* 63:75-83 (1987).
- * GREEN, H.J., REICHMAN, H. y PETTE, D.: "Fibre type specific transformations in the enzyme activity pattern of rat vastus lateralis muscle by prolonged training". *Pflügers Arch.* 399:216-222 (1983).
- * GRUNER, J.E.: "La structure fine du fuseau neuromusculaire humain". *Rev. Neurol.* 104:490-507 (1961).
- * GRÜTZNER, P.: "Zur Anatomie und Physiologie der quergestreiften Muskeln". *Rec. Zool. Suisse.* 1:665 (1884).
- * GULATI, J. y PODOLSKY, R.J.: "Isotonic contraction of skinned muscle fibers on a slow time base. Effects of ionic strength and calcium". *J. Gen. Physiol.* 78:233-257 (1981).
- * GUO, W., JORGENSEN, A.O. y CAMPBELL, K.P.: "Characterization and ultrastructural localization of a novel 90-kDa protein unique to skeletal muscle junctional sarcoplasmic reticulum". *J. Biol. Chem.* 269:28359-28365 (1994).
- * GUTH, L. y SAMAHA, F.J.: "Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle". *Exp. Neurol.* 25:138-152 (1969).
- * GUTMANN, E. y HANZLIKOVÁ, V.: "Age changes in neuromuscular system". *Scientifica (publ.) Ltd., Bristol.* (1972).

- * HÄGGMARK, T. y THORSTENSSON, A.: "Fibre types in abdominal muscles". *Acta Physiol. Scand.* 107:319-325 (1979).
- * HAILSTONE, D.L. y GUNNING, P.W.: "Characterization of human myosin light chains 1sa and 3nm: implications for isoform evolution and function". *Mol. Cell Biol.* 10:1095-1104 (1990).
- * HÄKKINEN, K. y COLS.: "Neuromuscular adaptations and serum hormones in females during prolonged power training". *Int. J.Sports Med.* 11:91-98 (1990).
- * HALL, S.M. y ENVER, K.: "Axonal regeneration through heat pretreated muscle autografts. An immunohistochemical and electron microscopic study". *J. Hand Surg. Br.* 19:444-451 (1994).
- * HAMOSH, M. y cols.: "Enhanced protein synthesis in a cell-free system from hypertrophied skeletal muscle". *Science* 157:935-937 (1967).
- * HANAK, H. y BÖCK, P.: "Die feinstruktur der Muskel-séhnenverbindung von Skelett-und Herzmuskel". *J. Ultrastruct. Res.* 36:68-75 (1971).
- * HANSON, J. y LOWY, J.: "The structure of F-actin and of actin filaments isolated from muscle". *J. Molec. Biol.* 6:46 (1963).
- * HÄRKÖNEN, M. y cols.: "High-energy phosphate compounds in human slow-twitch muscle fibers: methodological and functional aspects". *Muscle Nerve* 3:264 (1980).
- * HARRI, M.N.E.: "Effect of prolonged beta-blockade on energy metabolism and adrenergic responses in the rat". *Med. Biol.* 55:268-276 (1977).
- * HASSELBACH, W.: "Elektromikroskopische untersuchungen an muskelfibrillen bei totaler und partieller estraktion des L-myosins". *Ztschr. Naturforsch.* 86:449 (1953).
- * HATHER, B.M. y COLS.: "Influence of eccentric actions on skeletal muscle adaptations to resistance training". *Acta Physiol. Scand.* 143:177-185 (1991).
- * HEIDENHAIN, M.: "Noch einmal über die Darstellung der Centrankörper durch Eisen-hämatoxylin nebst einigen allgemeinen Bamerkunden über die Hämatoxylin-färben". *Z. Wiss. Mikr.* 13: 186-199 (1896).
- * HEIDENHEIN, M.: "Über die Entstehung der quergestreiften Muskelsubstanz". *Arch. Mikroskop. Anat. Entwickl.* 83:427-653 (1913).
- * HEISTRACHER, P. y HUNT, C.C.: "The relation of membrane changes to contraction in twitch muscle fibres". *J. Physiol.* 201:589-611 (1969).
- * HELANDER, E.A.S.: "Influence of exercise and restricted activity on the protein composition of skeletal muscle". *Biochem. J.* 78:478-482 (1961).
- * HENDERSON, D.W., GOLL, D.E. y STROMER, M.E.: "A comparison of shortening and Z-line degradation in post-mortem bovine, porcine, and rabbit muscle". *Am. J. Anat.* 128:117-136 (1970).
- * HENNERMAN, E. y OLSON, C.: "Relations between the structure and function in the design of skeletal muscles". *J. Neurophysiol.* 28:581-598 (1965).
- * HENNERMAN, E., SOMJEN, G. y CARPENTER, D.O.: "Excitability and inhibitability of motoneurons of different sizes". *J. Neurophysiol.* 28:599-620 (1965).
- * HEPPLER, R.T.: "A new measurement of tissue capillarity: the capillary-to-fibre perimeter exchange index". *Can. J. Appl. Physiol.* 22:11-22 (1997).
- * HEPPLER, R.T. y COLS.: "Resistance and aerobic training in older men: effects on VO₂ peak and the capillary supply to skeletal muscle". *J. Appl. Physiol.* 82:1305-1310 (1997).
- * HERMANSEN, L., HULTMAN, E. y SALTIN, B.: "Muscle glycogen during prolonged severe exercise". *Acta. Physiol. Scand.* 71:129-139 (1967).
- * HESS, A. y ROSNER, S.: "The satellite cell bud and myoblast in denervated mammalian muscle fibers". *Am. J. Anat.* 129:21-40 (1970).
- * HEUSER, J.E. y SALPETER, S.R.: "Organization of acetylcholine receptors in quick-frozen, deep-etched, and rotary-replicated

- torpedo postsynaptic membrane*". *J. Cell Biol.* 82:150-173 (1979).
- * HICKSON, R.C. y cols.: "Skeletal muscle enzyme alterations after sprint and endurance training". *J. Appl. Physiol.* 40:868-872 (1975).
- * HIGASHI-FUJIME, S.: "In vitro movements of actin and myosin filaments from muscle". *Cell Mot. Cytoskeleton* 6:159-162 (1986).
- * HILFER, S.R., SEARLS, R.L. y FONTE, V.G.: "An ultrastructural study of early myogenesis in the chick wing bud". *Dev. Biol.* 30:374-391 (1973).
- * HILL, A.V.: "First and last experiments in muscle mechanics". Cambridge Univ. Press: Cambridge (1970).
- * HILL, A.V.: "The maximum work and mechanical efficiency of human muscles and their most economical speed". *J. Physiol London* 56:19-41 (1922).
- * HILL, A.V., y HARTREE, W.: "The four phases of head production of muscle". *J. Physiol. London* 54:84-128 (1920).
- * HILL, D.K.: "The space accesible to albumin within the striated muscle fibers of the toad". *J. Physiol.(London)* 175:275 (1964).
- * HINTZ, C.S. y cols.: "Enzyme levels in individual rat muscle fibers". *Am. J. Physiol.* 239:C58-65 (1980).
- * HOH, J.F.Y.: "Neural regulation of mammalian fast and slow muscle myosins: an electrophoretic analysis". *Biochemistry* 14:742-747 (1975).
- * HOH, J.F.Y., McGRATH, P.A. y HALE, P.T.: "Electrophoretic analysis of multiple forms of cardiac myosin: effect of hypophysectomy and thyroxine replacement". *J. Mol. Cell Cardiol.* 10:1053-1076 (1978).
- * HOLLEY, J.A. y FAHIM, M.A.: "Scanning electron microscopy of mouse muscle microvasculature". *Anat. Rec.* 205:109-117 (1983).
- * HOLLY, R.G. y cols.: "Stretch-induced growth in chicken wing muscle: a new model of stretch hypertrophy". *Am. J. Physiol.* 238:C62-C71 (1980).
- * HOPPELER, H., HUDLICKÁ, O. y UHLMANN, E.: "The relationship between capillary density, volume density of mitochondria and maximal blood flow in various cat muscles". *J. Physiol.* 342:1-32 (1983).
- * HOPPELER, H. y cols.: "Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle". *J. Appl. Physiol.* 59:320-327 (1985).
- * HORTOBAGY, T y cols.: "The effects of detraining on power athletes". *Med. Sci. Sports Exerc.* 25:929-935 (1993).
- * HOTCHKISS, R.D.: "A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations". *Arch. Biochem.* 16: 131-141 (1948).
- * HOUSTON, M.E.: "The use of histochemistry in muscle adaptation: a critical assessment". *Can. J. Appl. Sport Sc.* 3:109-118 (1978).
- * HOWALD, H. y COLS.: "Influences of endurance training on the ultrastructural composition of the different muscle fiber types in humans". *Pflügers Arch.* 403:369-376 (1985).
- * HUBBARD, R.W. y cols.: "Compensatory adaptation of skeletal muscle composition to a long-term functional overload". *Growth* 39:85-93 (1985).
- * HUDLICKÁ, O.: "Muscle blood flow. Its relation to muscle metabolism and function". Amsterdam: Swez y Zeitlinger, (1973).
- * HUDLICKÁ, O.: "Effect of training on macro- and microcirculatory changes in exercise". *Exercise Sport Sci. Rev.* 6:181-230 (1980).
- * HUDLICKÁ, O.: "Development of microcirculation: capillary growth and adaptation". En *Handbook of Physiology-The cardiovascular system. vol IV. pp 165-215.* Ed. Renkin y Michel. Maryland (1984).
- * HURSH, J.B.: "Conduction velocity and diameter of nerve fibers". *Am. J. Physiol.* 127:131-139 (1939).

- * HULTMAN, E.: "Muscle glycogen in man determined in needle biopsy specimens: method and normal values". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 19:209-217 (1967).
- * HUXLEY, A.F.: "Muscle structure and theories of contraction". *Prog. Biophys. Biophys. Chem.* 7:255-318 (1957).
- * HUXLEY, A.: "Muscular contraction". *Ann. Rev. Physiol.* 50:1-16 (1988).
- * HUXLEY, A.F. y NIEDERGERKE, R.: "Structural changes in muscle during contraction". *Nature. London.* 173:971-973 (1954).
- * HUXLEY, A.F. y PEACHEY, L.D.: "The maximum length for contraction in vertebrate striated muscle". *J. Physiol. London* 156:150-165 (1961).
- * HUXLEY, H.E.: "The double array of filaments in cross-striated muscle". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 3:631 (1957).
- * HUXLEY, H.E.: "Electron microscope studies of natural and synthetic protein filaments from striated muscle". *J. Molec. Biol.* 7:281-308 (1963).
- * HUXLEY, H.E.: "The fine structure of striated muscle and its functional significance". *Harvey Lect.* 60:85 (1965).
- * HUXLEY, H.E.: "The mechanism of muscular contraction". *Science* 164:1356 (1969).
- * HUXLEY, H.E. y BROWN, W.: "The low-angle X-ray diagram of vertebrate striated muscle and its behaviour during contraction and rigor". *J. Molec. Biol.* 30:383 (1967).
- * HUXLEY, H.E. y HANSON, J.: "Changes in the cross striations of muscle during contractions and stretch and their interpretation". *Nature. London.* 173:973-976 (1954).
- * IGLESIAS, M. y cols.: "S-laminin and N-acetylgalactosamine located at the synaptic basal lamina of skeletal muscle are involved in synaptic recognition by growing neurites". *J. Neurocytol.* 24:903-915 (1995).
- * IKAI, M. y FUKUNAGA, T.: "A study of training effects on strength per unit cross-sectional area of muscle by means of ultrasonic measurement". *Int. Z. Angew. Physiol.* 28:173-180 (1970).
- * ILLG, D. y PETTE, D.: "Turnover rates of hexokinase I, phosphofructokinase, pyruvate kinase, and creatinine kinase in slow-twitch soleus muscle and heart of the rabbit". *Eur. J. Biochem.* 97:267-273 (1979).
- * INGJER, F.: "Maximal aerobic power related to the capillary supply of the quadriceps femoris muscle in man". *Acta Physiol. Scand.* 104:238-240 (1978).
- * INGJER, F.: "Effects of endurance training on muscle fibre ATPase activity, capillary supply and mitochondrial content in man." *J. Physiol.* 294:419-432 (1979a).
- * INGJER, F.: "Capillary supply and mitochondrial content of different skeletal muscle fiber types in untrained and endurance trained men". *Eur. J. Appl. Physiol.* 40:197-209 (1979b).
- * ISHIKAWA, H.: "The fine structure of myotendon junction in some mammalian skeletal muscles". *Arch. Histol. Jpn.* 25:275-296 (1965).
- * ISHIMOTO, S. y cols.: "A quantitative study of the muscle satellite cells in various neuromuscular disorders". *J. Neurol. Sci.* 62:303-314 (1983).
- * IWAOKA, K. y cols.: "Characteristics of the leg extensor muscle in a world champion masters jumper". *Sports Med Phys Fitness.* 29:394-397 (1989).
- * JANSSON, E. y KAIJSER, L.: "Muscle adaptation to extreme endurance training in man". *Acta Physiol. Scand.* 100:315-324 (1977).
- * JANSSON, E. y SYLVEN, C.: "Myoglobin concentration in single type I and type II muscle fibres in man". *Histochem.* 78:121-124 (1983).
- * JENNEKENS, F.G.I., TOMLINSON, B.E. y WALTON, J.L.: "Data on the distribution of the fibre type in five human limb muscles". *J. Neurol. Sci.* 14:245-257 (1971).
- * JONES, P.H.: "In vitro comparison of embryonic myoblasts and myogenic cells isolated from

- regenerating adult rat skeletal muscle". *Exp. Cell Res.* 139:401-404 (1982).
- * JUBRIAS, S.A. y cols.: "Decline in isokinetic force with age: muscle cross-sectional area specific force". *Pflugers Arch.* 434:246-253 (1997).
- * KALLMAN, J.: "Aldehyde fuchsin-toluidine blue". *Stain Tech.* 46: 210 (1971).
- * KAMEDA, N. y COLS.: "Developmental studies of the expression of myosin heavy chain isoforms in culture human muscle aneurally and innervated with fetal rat spinal cord". *J. Neurol. Sci.* 114:85-98 (1993).
- * KANG, S.J. y cols.: "Involvement of transglutaminase in myofibril assembly of chick embryonic myoblasts in culture". *J. Cell Biol.* 130:1127-1136 (1995).
- * KARLSSON, J. y cols.: "Muscle lactate, ATP, and CP levels during exercise after physical training in man". *J. Appl. Physiol.* 33:199-203 (1972).
- * KARLSSON, J. y cols.: "Distribution of LDH isozymes in human skeletal muscle". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 33:307-312 (1974).
- * KARLSSON, J.; DIAMANT, B. y SALTIN, B.: "Muscle metabolites during submaximal and maximal exercise in man". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 26:358-394 (1971).
- * KATZ, B.: "The terminations of the afferent nerve fibre in the muscle spindle of the frog". *Philos. Trans. R. Soc. London B.* 243:221-240 (1961).
- * KATZUNG, B.G.: "Basic and clinical pharmacology". Ed. East Norwalk, Appleton-Lange (1989).
- * KAYAR, S.R. y cols.: "Mitochondrial distribution in relation to changes in muscle metabolism in rat soleus". *Resp. Physiol.* 64:1-11 (1986).
- * KELLY, A.M.: "Satellite cells and myofiber growth in the rat soleus and extensor digitorum longus muscle". *Dev. Biol.* 65:1-10 (1978).
- * KELLY, A.M. y RUBINSTEIN, N.A.: "Patterns of myosin synthesis in regenerating normal and denervated muscles of the rat". In: *Plasticity of Muscle*, ed. Pette. N.Y.: de Gruyter, p. 161-175 (1980).
- * KELLY, R. y cols.: "Myosin light chain 3F regulatory sequences confer regionalized cardiac and skeletal muscle expression in transgenic mice". *J. Cell. Biol.* 129:383-396 (1995).
- * KENNEDY, W.R.: "Innervation of normal human muscle spindles". *Neurology* 20:463-475 (1970).
- * KIENS, B. y LITHELL, H.: "Lipoprotein metabolism influenced by training-induced changes in human skeletal muscle". *J. Clin. Invest* (1989).
- * KIRBY, R.L. y cols.: "Needle muscle biopsy: techniques to increase sample sizes, and complications". *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 63:264-268 (1982).
- * KJELDSEN, K.; NORGAARD, A. y HAU, C.: "Human skeletal muscle Na, K-ATPase concentration quantified by 3H-ouabain binding to intact biopsies before and after moderate physical conditioning". *Int. J. Sports Med.* 11:304-307 (1990).
- * KLITGAARD, H., ANSONI, S. Y DAMIANI, E.: "Sarcoplasmic reticulum of human skeletal muscle: age-related changes and effects of training". *Act. Physiol. Scand.* 137:23-31 (1989).
- * KLITGAARD, H. y CLAUSEN, T.: "Increased total concentration of Na-K pumps in vastus lateralis muscle of old trained human subjects". *J. Appl. Physiol.* 67:2491-2494 (1989).
- * KNAPPEIS, G.G. y CARLSEN, F.: "The ultrastructure of the Z disc in skeletal muscle". *J. Cell Biol.* 13:323-335 (1962).
- * KNAPPEIS, G.G. y CARLSEN, F.: "The ultrastructure of the M line in skeletal muscle". *J. Cell Biol.* 38:202-211 (1968).
- * KNOLL, P.: "Über protoplasmaarme und protoplasmareiche Muskulatur". *Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften (Mathematische Naturwissenschaftliche Class Wien).* 58:663 (1891).

- * KOBAYASHI, N. y YONEMURA, Y.: "The extracellular space in red and white muscle of the rat". *Jpn. J. Physiol.* 17:698-707 (1967).
- * KÖLLIKER, A.: "Einige Bemerkungen über die Endigungen der Hautnerve und den Bau der Muskeln". *Z. Wiss. Zool.* 8:311 (1857).
- * KOMINZ, D.R. y cols.: "The papain digestion of skeletal myosin A.". *Biochemistry* 4:2373 (1965).
- * KONIGSBERG, U.R., LIPTON, B.H. y KONIGSBERG, I.R.: "The regenerative response of single mature muscle fibers isolated in vitro". *Dev. Biol.* 45:260-275 (1975).
- * KORNELIUSSEN, H. y WAERHAUG, O.: "Three morphological types of motor nerve terminals in the rat diaphragm, and their possible innervation of different muscle fiber types". *Z. Anat. Entw.-Gesch.* 140:73-84 (1973).
- * KOVANEN, V., SUOMINEN, H. y HEIKKINEN, E.: "Connective tissue of fast and slow skeletal muscle in rats-effects of endurance training". *Acta Physiol. Scand.* 108:173-180 (1980).
- * KRSTIC, R.V.: "Los tejidos del hombre y los mamíferos". Ed. McGraw-Hill. Madrid (1989).
- * KUGELBERG, E. y LINDEGREN, B.: "Transmission and contraction fatigue of rat motor units in relation to succinate dehydrogenase activity of motor unit fibres". *J. Physiol. London* 288:285-300 (1979).
- * KÜHNE, W.: "Neue Untersuchungen über motorische Nervenendigungen". *Z. Biol.* 23:1-148 (1887).
- * KÜHNE, W.: "Über die endigung der nerven in den nervenhügeln der muskeln. *Virch. Arch. Path. Anat.* 30:187-220 (1864).
- * KUZON, W.M. y cols.: "Skeletal muscle fiber type, fiber size, and capillary supply in elite soccer players". *Int. J. Sports Med.* 11:99-102 (1990).
- * LABEIT, S. y KOLMERER, B.: "The complete primary structure of human nebullin and its correlation to muscle structure". *J. Mol. Biol.* 248:308-315 (1995).
- * LANDIN, S. y cols.: "Muscle metabolism during exercise in patients with Parkinson's disease". *Clin. Sc. Mol. Med.* 47:493-506 (1974).
- * LARSSON, L.: "Is the motor unit uniform?". *Acta Physiol. Scand.* 144:143-154 (1992).
- * LAYMAN, D.K., HEGARTY, P.V.J. y SWAN, P.B.: "Comparison of morphological and biochemical parameters of growth in rat skeletal muscle". *J. Anat.* 130:159-171 (1980).
- * LAZARIDES, E.: "Intermediete filaments as mechanical integrators of cellular space". *Nature (London)* 283:249-256 (1980).
- * LEE, F.S., GUENTHER, A.E. y MELENEY, H.E.: "Some of the general physiological properties of diaphragm muscle as compared with other mammalian muscles". *Am. J. Physiol.* 40:446 (1916).
- * LEHNINGER, A.L.: "Cell organelles: the mitochondrion". In "The Neurosciences". Ed. Quarten, G.C., Melnechuls, T. y Schmitt, F.O.. Rockefeller Univ. Press, N.Y. (1967).
- * LEXELL, J., HENRIKSSON-LARSEN, K. y SJÖSTRÖM, M.: "Distribution of different fibre types in human skeletal muscle. 2. A study of cross-sections of whole muscle vastus lateralis". *Acta Physiol. Scand.* 117:115-122 (1983).
- * LEXELL, J. y COLS.: "Heavy-resistance training in older Scandinavian men and women: short- and long-term effects on arm and leg muscles". *Scand. J. Med. Sci. Sports* 5:329-341 (1995).
- * LIGHT, N. y CHAMPION, A.E.: "Characterization of muscle epimysium, perimysium and endomysium collagens". *Biochem. J.* 219:1017-1026 (1984).
- * LING, G.N. y KROMASH, M.H.: "The extracellular space of voluntary muscle tissue". *J. Gen. Physiol.* 50:677-694 (1967)
- * LIPTON, B.H.: "Collagen synthesis by normal and bromideoxy uridine modulated cells in myogenic culture". *Dev. Biol.* 61:153-165 (1977).
- * LIPTON, B.H. y SCHULTZ, E.: "Developmental fate of skeletal muscle satellite cells". *Science.* 205:1292-1294 (1979).

- * LOMO, T. y WAERHAUG, O.: "Motor endplates in fast and slow muscles of the rat: What determines their differences?". *J. Physiol.* 80:290-297 (1985).
- * LOMPRÉ, A.M., NADL-GINARD, B. y MAHDAVI, V.: "Expression of the cardiac ventricular alpha- and beta-myosin heavy chain is developmentally and hormonally regulated". *J. Biol. Chem.* 259:6437-6446 (1984).
- * LÓPEZ DE REGO, J., VILLALÓN, J.M. y FLORES HERRÁEZ, R.: "Efectos del entrenamiento en el desarrollo de la fuerza muscular". *Selección* 1:27-34 (1989).
- * LOWEY, S. y cols.: "Substructure of the myosin molecule. I. Subfragments of myosin by enzymic degradation". *J. Molec. Biol.* 42:1 (1969).
- * LOWRY, C.V. y cols.: "Enzyme pattern in single human muscle fibres". *J. Biol. Chem.* 253:8269-8277 (1978).
- * LOWRY, O.H. y cols.: "Enzymological heterogeneity of human muscle fibers". In: *Plasticity of Muscle*, editado por D. Pette. New York: de Gruyter, p.3-18 (1980).
- * LUFT, J.H.: "Improvements in epoxy resin embedding methods". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9:409-414 (1961).
- * LUNDE, P.K. y SEJERSTED, O.M.: "Intracellular calcium signalling in striated muscle cells". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 57:559-568 (1997).
- * LUQUE, E. y cols.: "Capillary supply during development of individual regenerating muscle fibers". *Anat. Histol. Embryol.* 24:87-89 (1995).
- * LYMN, R.W. y TAYLOR, E.W.: "Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actyomycin". *Biochemistry* 10:4617-4624 (1971).
- * MACCHI, G.: "Potasio y trabajo muscular". *Sport Med.* 27:42-45 (1991).
- * MAGUIRE, P.B. y cols.: "Oligomerization is an intrinsic property of calsequestrin in normal and transformed skeletal muscle". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 240:721-727 (1997).
- * MAGUIRE, P.B. y COLS.: "Oligomerization is an intrinsic property of calsequestrin in normal and transformed skeletal muscle". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 240:721-727 (1997).
- * MARECHAL, G. y cols.: "Isozymes of myosin in growing and regenerating rat muscles". *Eur. J. Biochem.* 138:421-428 (1984).
- * MARGOSSIAN, S.S. y LOWY, S.: "Substructure of the myosin molecule. IV. Interactions of myosin and its subfragments with adenosine triphosphate and F-actin". *J. Mol. Biol.* 74:313-330 (1973).
- * MARTINELLI, M. y COLS.: "Muscle lipofuscin content and satellite cell volume is increased after high altitude exposure in humans". *Experientia* 46:672-676 (1990).
- * MARTONOSI, A.N. y BEELER, T.J.: "Mechanism of Ca²⁺ transport by sarcoplasmic reticulum". In "Skeletal muscle" pp.417-485 (*Handbook of Physiology*). Ed. Peachey, L.D., Adrian, R.H. y Geiger, S.R. Am. Physiol. Soc. Maryland (1983).
- * MASSON, P.: "Some histological methods. Trichrome stainings and their preliminary technique". *J. Tech. Meth. Bull. Int. Ass. Med. Museums* 12: 75 (1929).
- * MASTAGLIA, F.L., PAPADIMITRIOU, J.M. y KAKULAS, M.B.: "Regeneration of muscle in Duchenne muscular dystrophy: An electron microscope study". *J. Neurol. Sci.* 11:425-444 (1970).
- * MASTAGLIA, F.L. y KAKULAS, B.M.: "A histological and histochemical study of skeletal muscle regeneration in polymyositis". *J. Neurol. Sci.* 10:471-487 (1970).
- * MAURO, A.: "Satellite cell of skeletal muscle fibers". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9:493-498 (1961).
- * MAURO, A. y ADAMS, R.: "The structure of the sarcolemma of the frog skeletal muscle fiber". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 10:177 (Supplement) (1961).
- * MAZANET, R. y cols.: "Variability in the shapes of satellite cells in normal and injured frog sartorius muscle". *Dev. Biol.* 93:22-27 (1982).

- * MAZANET, R. y FRANZINI-ARMSTRONG, C.: "Scanning electron microscopy of pericytes in rat red muscle". *Microvasc. Res.* 23:361-369 (1982).
- * McCALL, G.E. y cols.: "Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training". *J. Appl. Physiol.* 81:2004-2012 (1996).
- * McCALLUM, J.B.: "On the striated muscle and the growth of the human sartorius muscle". *Johns Hopkins Hops. Bull.* 9:208-215 (1898).
- * McCOMAS, A.J. y cols.: "Electrophysiological estimation of the number of motor units within human muscle". *J. Neurol. Neurosur. Psychiatry* 34:121-131 (1971).
- * McCOMAS, A.J. y THOMAS, H.C.: "Fast and slow twitch muscles in man". *J. Neurol. Sci.* 7: 301-307 (1968).
- * McDONALD, K.A., LAKONISHOK, M. y HORWITZ, A.F.: "Alpha v and alpha 3 integrin subunits are associated with myofibrils during myofibrillogenesis". *J. Cell Sci.* 108:2573-2581 (1995).
- * McDOUGALL, J.D. y cols.: "Biochemical adaptation of human skeletal muscle to heavy resistance training and immobilization". *J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 43:700-703 (1977).
- * McDOUGALL, J.D. y cols.: "Mitochondrial volume density in human skeletal muscle following heavy resistance training". *Med. Sci. Sports* 11:164-166 (1979).
- * McLENNAN, I.S. y KOISHI, K.: "Cellular localisation of transforming growth factor-beta 2 y -beta 3 in damage and regenerating skeletal muscle". *Dev. Dyn.* 208:278-289 (1997).
- * MCMAHAN, U.J., SPITZER, N.C. y PEPER, K.: "Visual identification of nerve terminals in living isolated skeletal muscle". *Proc. R. Soc. Lond. B.* 181:421-430 (1972).
- * McMANUS, J.F.A.: "Histological demonstration of mucin after periodic acid". *Nature* 158:202-203 (1946).
- * McMILLAN, A.S. y HANNAM, A.G.: "Motor-unit territory in the human masseter muscle". *Arch. Oral Biol.* 36:435-441 (1991).
- * MEECH, R.W. y STANDEN, N.B.: "Potassium activation in *Helix aspersa* neurones under voltage clamp: a component mediated by calcium influx". *J. Physiol.* 249:211-239 (1975).
- * MELLANDER, S.: "Differentiation of fiber composition, circulation, and metabolism in limb muscles of dog, cat, and man". In: *Mechanisms of Vasodilatation*, editado por P.M. Vanhoutte and I. Leusen. New York: Raven, p. 243-254 (1981).
- * MERO, A., JAAKKOLA, L. y KOMI, P.V.: "Relationships between muscle fibre characteristics and physical performance capacity in trained athletic boys". *J. Sports Sci.* 9:161-171 (1991).
- * MERRILLEES, N.C.R.: "Some observations on the fine structure of Golgi tendon organ of a rat". In: *Symposium on muscle receptors*. Barker, D. Ed. pp. 199-206. Hong Kong Univ. (1962).
- * MIDSUKAMI, M.: "The structure and distribution of satellite cells of cardiac muscles in decapod crustaceans". *Cell. Tiss. Res.* 219:69-83 (1981).
- * MILBURN, A.: "The early development of muscle spindles in the rat". *J. Cell. Sci.* 12:175-195 (1973).
- * MILWARD, D.J.: "Protein turnover in skeletal muscle and cardiac muscle during normal growth and hypertrophy". In: *Degradative processes in heart and skeletal muscle*, Wildenthal, K., Ed., Elsevier North-Holland Biomedical Press. pp. 161-199 (1980).
- * MIZUMO, M. y SECHER, N.H.: "Histochemical characteristics of human expiratory and inspiratory intercostal muscles". *J. Appl. Physiol.* 67:592-598 (1989).
- * MONDELLO, MR. Y cols.: "Immunolocalization of the costameres in human skeletal muscle fibers: confocal scanning laser microscope investigations". *Anat. Rec.* 245:481-487 (1996).
- * MOORE, D.H. y RUSKA, H.: "Electron microscope study of mammalian cardiac muscle cells". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 3:261 (1957).

- * MOORE, L.A. y cols.: "Gene conversions within the skeletal myosin multigene family". *J. Mol. Biol.* 223:383-387 (1992).
- * MORGAN, T.E. y cols.: "Effects of long-term exercise on human muscle mitochondria". En: *Muscle metabolism during exercise*. pp. 87-95. Ed. Pernow y Saltin. New York (1971).
- * MORNET, D. y cols.: "Structure of the actin-myosin interface". *Nature London* 292:301-306 (1981).
- * MORPURGO, B.: "On the nature of functional hypertrophy of voluntary muscle". *Arch. Sc. Med.* 19:327-336 (1897).
- * MOSCOSO, L.M., MERLIE, J.P. y SANES, J.R.: "N-CAM, 43K-rapsyn, and S-laminin mRNAs are concentrated at synaptic sites in muscle fibers". *Mol. Cell Neurosci.* 6:80-89 (1995).
- * MOSS, F.P. y LEBLOND, C.P.: "Nature of dividing nuclei in skeletal muscle of growing rats". *J. Cel. Biol.* 44:459-462 (1970).
- * MOSS, F.P. y LEBLOND, C.P.: "Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats". *Anat. Rec.* 170:421-436 (1971).
- * MOSS, R.L.: "Ca regulation of mechanical properties of striated muscle. Mechanistic studies using extraction and replacement of regulatory proteins". *Circ. Res.* 70:865-884 (1992).
- * MUIR, A.R.: "Observations on the attachment of myofibrils to the sarcolemma at the muscle-tendon junction". In *Electron Microscopy in Anatomy*. J. D. Boyd, F. R. Johnson y J. D. Lever (Eds.). Arnold, London (1961).
- * MUIR, A.R.: "The structure and distribution of satellite cells". In: *Regeneration of striated muscle, and myogenesis*, Mauro A. et al., Eds, *Excerpta Medica*, Amsterdam, pp. 91-100 (1970).
- * MUIR, A.R., KANJI, A.H.M. y ALLBROOK, D.B.: "The structure of the satellite cells in skeletal muscle". *J. Anat.* 99:435-444 (1965).
- * MUÑOZ, P. y cols.: "Isolation and characterization of distinct domains of sarcolemma and T-tubules from rat skeletal muscle". *Biochem. J.* 307:273-280 (1995).
- * MURATA, F. y OGATA, T.: "The ultrastructure of neuromuscular junction of human red, white and intermediate striated muscle fibers". *Tohoku J. Exp. Med.* 99:289-301 (1969).
- * MURRAY, M.A. y ROBBINS, N.: "Cell proliferation in denervated muscle: time course, distribution and relation to disuse". *Neuroscience.* 7:1817-1822 (1982a).
- * MURRAY, M.A. y ROBBINS, N.: "Cell proliferation in denervated muscle: identity and origin of dividing cells". *Neuroscience.* 7: 1823-1834 (1982b).
- * NABESHIMA, Y. y cols.: "Alternative transcription and two modes of splicing result in two myosin heavy chains from one gene". *Nature Lond.* 308:333-338 (1984).
- * NACHLAS, M.M., WALKER, D.G. y SELIGMAN, A.M.: "A histochemical method for the demonstration of diphosphopyridine nucleotide diaphorase". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4:29-38 (1958a).
- * NACHLAS, M.M., WALKER, D.G. y SELIGMAN, A.M.: "The histochemical localization of triphosphopyridine nucleotide diaphorase". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4:467-474 (1958b).
- * NACHMIAS, V.T. y PADYKULA, H.A.: "A histochemical study of normal and denervated red and white muscles of the rat". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4:47 (1958).
- * NAKAJIMA, Y. y ENDO, M.: "Release of calcium induced by depolarization of the sarcoplasmic reticulum membrane". *Nature London* 246:216-218 (1973).
- * NARICI, M.V. y COLS.: "Human quadriceps cross-sectional area, torque and neural activation during 6 months strength training". *Acta Physiol. Scand.* 157:175-186 (1996).
- * NEMETH, P. y PETTE, D.: "Succinate dehydrogenase activity in fibres classified by myosin ATPase in three hind limb muscles of rat". *J. Physiol.* 320:73-81 (1981).
- * NEMETH, P., PETTE, D. y VRBONVA, G.: "Comparison of enzyme activities among single

- muscle fibres within defined motor units. *J. Physiol.* 311:489-495 (1981).
- * NEUFER, P.D. y COLS.: "Continuous contractile activity induces fiber type specific expression of HSP70 in skeletal muscle". *Am. J. Physiol.* 271:1828-1837 (1996).
- * NYGAARD, E.: "Morfologi og funktion i m. Biceps brachii". Copenhagen: Univ. Of Copenhagen, Tesis. (1981).
- * NYGAARD, E.: "Skeletal muscle fibre characteristics in young women". *Acta Physiol. Scand.* 112:299-304 (1982).
- * NYGAARD, E. Y NIELSEN, E.: "Skeletal muscle fiber capillarization with extreme endurance training in man". In: *Swimming Medicine IV*, editado por B. Eriksson y B. Furberg. Baltimore, MD: University Park, p.282-293, (1978).
- * ODA, T., SEKI, S. y OKAZAKI, H.: "New colorimetric methods for the estimation of cytochrome c oxidase and cytochrome c-cytochrome oxidase system". *Acta Med. Okayama* 12:293-301 (1958).
- * OGATA, T.: "A histochemical study of the red and white muscle fibres. I. Activity of the succinoxidase system in muscle fibres". *Acta. Med. Okay.* 12:216-227 (1958a).
- * OGATA, T.: "A histochemical study of the red and white muscle fibres. II. Activity of the cytochrome oxidase in muscle fibres". *Acta. Med. Okay.* 12:228-232 (1958b).
- * OGATA, T.: "A histochemical study of the red and white muscle fibres. III. Activity of the diphosphopyridine nucleotide diaphorase and triphosphopyridine nucleotide diaphorase in muscle fibres". *Acta Med. Okay.* 12:233 (1958c).
- * OGATA, T.: "A histochemical study on the structural differences of motor end-plate in the red, white and intermediate muscle fibers of mouse limb muscle". *Act. Med. Okayama.* 19:149-153 (1965).
- * OGATA, T.: "Structure of motor end-plate in the different fiber types of vertebrates skeletal muscles". *Arch. Histol. Cytol.* 51:385-424 (1988).
- * OGATA, T., HONDO, T. y SEITO, T.: "An electron microscopic study on differences in the fine structures of motor end-plate in red, white and intermediate muscle fibers of rat intercostal muscle. A preliminary study". *Act. Med. Okayama.* 21:327-338 (1967).
- * OGATA, T. y MURATA, F.: "Fine structure of motor end-plate in red, white and intermediate fibers of mammalian fast muscle". *Tohoku J. Exp. Med.* 98:107-115 (1969a).
- * OGATA, T. y MURATA, F.: "Cytological features of three fiber types in human striated muscle". *Tohoku J. Exp. Med.* 99:225 (1969b).
- * OGATA, T. y YAMASAKI, Y.: "Scanning electron microscope studies on the Schwann cells in rat motor endplates with special reference to their finger-like projection". *Arch. Histol. Jap.* 47:533-539 (1984).
- * OGATA, T. y YAMASAKI, Y.: "The three-dimensional structure of motor end-plates in different fiber types of rat intercostal muscle. A scanning electron-microscopic study". *Cell Tiss. Res.* 241:465-472 (1985).
- * OGATA, T. y YAMASAKI, Y.: "High-resolution scanning electron-microscopic studies on the three-dimensional structure of mitochondria and sarcoplasmic reticulum in the different twitch muscle fibers of the frog". *Cell Tissue Res.* 250:489-497 (1987).
- * ONTELL, M.: "Muscle satellite cells: a validated technique for light microscopic identification and a quantitative study of changes in their population following denervation". *Anat. Rec.* 178:211-228 (1974).
- * ONTELL, M. y DUNN, R.F.: "Neonatal muscle growth: a quantitative study". *Am. J. Anat.* 152:539-556 (1978).
- * ONTELL, M., BOURKE, D. y HUGHES, D.: "Cytoarchitecture of the fetal murine soleus muscle". *Am. J. Anat.* 181:267-278 (1988).
- * ORDAHL, C.P. y Le DOUARIN, N.M.: "Two myogenic lineages within the developing somite". *Development* 114:339-353 (1992).

- * OSCAI, L.B. y HOLLOSZY, J.O.: "Biochemical adaptations in muscle. II. Response of mitochondrial adenosine triphosphatase, creatinine phosphokinase, and adenylate kinase activities in skeletal muscle to exercise". *J. BIOL. Chem.* 246: 6968-9672 (1971).
- * OUDET, C.L. y PETROVIC, A.G.: "Regulation of the anatomical length of the lateral pterygoid muscle in the growing rat". *Adv. Physiol. Sci.* 24:115-121 (1981).
- * OVALLE, W.K.: "Fine structure of rat intrafusal muscle fibres. The equatorial region". *J. Cell Biol.* 52:382-396 (1972a).
- * PADYKULA, H.A. y GAUTIER, G.F.: "Morphological and cytochemical characteristics of fiber types in normal mammalian skeletal muscle". En: Milhorat AT. Ed. *Exploratory concepts in muscular dystrophy and related disorders*, Internat Congr. Series n° 147, Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, pp 117-131 (1967).
- * PADYKULA, H.A. y GAUTHIER, G.F.: "The ultrastructure of the neuromuscular junctions of mammalian red, white and intermediated skeletal muscle fibers". *J. Cell Biol.* 46:27-41 (1970).
- * PAGE S.G.: "Structure and some contractile properties of fast and slow muscles of the chicken". *J. Physiol. London* 205:131-145 (1969).
- * PAGE, S.G. y HUXLEY, H.E.: "Filament lengths in striated muscle". *J. Cel. Biol.* 19:369 (1963).
- * PALADE, G.E.: "Electron microscope observations of interneural and neuromuscular synapses". *Anat. Record.* 118:335-336 (1954).
- * PALAY, S.L.: "The morphology of synapses in the central nervous system". *Exptl. Cell Res. Suppl.* 5:275-293 (1958).
- * PALMER, S. y KENTISH, J.C.: "The role of troponin C in modulating the Ca²⁺ sensitivity of mammalian skinned cardiac and skeletal muscle fibres". *J. Physiol. Lond.* 480:45-60 (1994).
- * PAMPHLETT, R. y cols.: "Needle muscle biopsy: will it make open biopsy obsolete?". *Aust. Nz. J. Med.* 15:199-202 (1985).
- * PANTE, N. y AEBI, U.: "The nuclear pore complex". *J. Cell Biol.* 122:977-984 (1993).
- * PAPADOPOULOS, S., JURGENS, K.D. y GROS, G.: "Diffusion of myoglobin in skeletal muscle cells-dependence on fibre type, contraction and temperature". *Pflugers Arch.* 430:519-525. (1995).
- * PAPPENHEIMER, J.R., RENKIN, E.M. y BORRERO, L.M.: "Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes. A contribution to the pore theory of capillary permeability". *Am. J. Physiol.* 167:13-46 (1951).
- * PARDO, J.V., D'ANGELO SILICIANO, J. y CRAIG, S.W.: "A vinculin-containing cotical lattice in skeletal muscle: transverse lattice elements (costameres) mark sites of attachment between myofibrils and sarcolemma". *Proc. Nat. Acad. Sc. (USA)* 80:1008 (1983).
- * PAUL, M.H. y SPERLING, E.: "the cyclophorase system: correlation of cyclophorase activity and the mitochondrial density in striated muscle". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 79:352 (1952).
- * PAVLATH, G.K. y cols.: "Localization of muscle gene products in nuclear domains". *Nature Lond.* 337:570-573 (1989).
- * PEACHEY, L.D.: "The sarcoplasmic reticulum and transverse tubules of the frog's sartorius". *J. Cell Biol.* 25:209 (1965).
- * PERLASAMY, M.E. y cols.: "Fast skeletal muscle myosin light chains 1 and 3 are produced from a single gene by a combined process of differential RNA transcription and splicing". *J. Biol. Chem.* 259:13595-13604 (1984).
- * PERRY, S.V. y CORSI, A.: "Extraction of proteins other than myosin from isolated rabbit myofibril". *Biochem. J.* 68:5 (1958).
- * PETER, J.B. y cols.: "Lactate dehydrogenase isoenzymes: distribution in fast-twitch red, fast-twitch white, and slow-twitch intermediate fibers of ginea pig skeletal muscle". *Arch. Biochem. Biophys.* 144:304-307 (1971).

- * PETER, J.B. y cols.: "Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits". *Biochem.* 11:2627 (1972).
- * PETTE, D. y STARON, R.S.: "Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers". *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 116:1-76 (1990).
- * PFUHL, M., WINDER, S.J. y PASTORE, A.: "Nebulin, a helical actin binding protein". *EMBO J.* 13:1782-1789 (1994).
- * PHELAN, J.N. y GONYEA, W.J.: "Effect of radiation on satellite cell activity and protein expression in overloaded mammalian skeletal muscle". *Anat. Rec.* 247:179-188 (1997).
- * PHILLIPS, G.N., FILLERS, J.P. y COHEN, C.: "Tropomyosin crystal structure and muscle regulation". *J. Mol. Biol.* 192:111-131 (1986).
- * PIEHL, K., ADOLFSSON, S. y NAZAR, K.: "Glycogen storage and glycogen synthetase activity in trained and untrained muscle of man". *Acta Physiol. Scand.* 90:779-788 (1974).
- * PIEROBON-BORMIOLI, S.: "Fast isomyosins and fiber types in mammalian skeletal muscle". *J. Histochem. Cytochem.* 29:1179-1188 (1981).
- * PLAGHKI, L.: "Régénération et myogénèse du muscle strié". *J. Physiol.* 80:51-110 (1985).
- * POMEROY, M.E. y cols.: "Distribution of myosin heavy chain mRNA in embryonic muscle tissue visualized by ultrastructural in situ hybridization". *Dev. Biol.* 143:58-67 (1991).
- * POOLE, D.C. y MATHIEU-COSTELLO, O.: "Relationship between fiber capillarization and mitochondrial volume density in control and trained rat soleus and planteris muscles". *Microcirc.* 3:175-186 (1996).
- * PORTER, G.A. y cols.: "Two populations of beta-spectrin in rat skeletal muscle". *Cell Motil. Cytoskeleton* 37:7-19 (1997).
- * PORTER, J.D. y BAKER, R.S.: "Prenatal morphogenesis of primate extraocular muscle: neuromuscular junction formation and fiber type differentiation". *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33:657-670 (1992).
- * PRAKASH, Y.S. y cols.: "Morphology of diaphragm neuromuscular junctions on different fibre types". *J. Neurocytol.* 25:88-100 (1996).
- * PRAMPERO, P.E.: "Fibras musculares de contracción lenta y rápida". *Sport Med.* 2:15-23 (1990).
- * PRICE, H.M., HOWES, E.L. y BLUMBERG, J.M.: "Ultrastructural alternations in skeletal muscle fibers injured by cold. II. Cells of the sarcolemmal tube: observations on 'discontinuous' regeneration and myofibril formation". *Lab. Invest.* 13:1279 (1964).
- * PRICE, M. y GOMER, R.: "Skelemin, a cytoskeletal M-disc periphery protein, contains motifs of adhesion/recognition and intermediate filaments proteins". *J. Biol. Chem.* 268:21800-21810 (1993).
- * PRZYBYLSKI, R.J.: "Occurrence of centrioles during skeletal and cardiac myogenesis". *J. Cell Biol.* 48:214-221 (1971).
- * PRZYBYLSKI, R.J. y BLUMBERG, J.M.: "Ultrastructural aspects of myogenesis in the chick". *Lab. Invest.* 15:836 (1966).
- * PUZO, J. y COLS.: "Perfil lipoproteico en corredores de fondo, ciclistas y karatecas". *Hipertens. Arterioscl.* 4:145-148 (1989).
- * RABERGER, E.: "Innervationsunterschiede zwischen roten und weissen Muskelfasern der rat". *Verh. Anat. Ges.* 66:431-434 (1971).
- * RAHKILA, P. y cols.: "Endoplasmic reticulum to Golgi trafficking in multinucleated skeletal muscle fibers". *Exp. Cell Res.* 234:452-464 (1997).
- * RANTANEN, J., RISSANEN, A. y KALIMO, H.: "Lumbar muscle fiber size and type distribution in normal subjects". *Eur. Spine J.* 3:331-335 (1994).
- * RANVIER, L.: "Propriétés et structures différentes des muscles rouges et des muscles blancs chez les lapin et chez les raies". *Comp. Rend. Hebd. Séances de l'Académie des Sciences (Paris)*. 77:1030 (1873).
- * RANVIER, L.: "Note sur les vaisseaux sanguine et la circulation dans muscles rouges". *C. R. Hebd. Seances Mem. Soc. Biol.* 26:28-31 (1874a).

- * RANVIER, L.: "De quelques faits relatifs à l'histologie et à la physiologie des muscles striés". *Arch. Physiol.* 6:1 (1874b).
- * RANVIER, L.: "Leçons d'Anatomie Générale sur les Systèmes Musculaires". Paris: De La Haye (1880).
- * RAYNS, D.G., DEVINE, C.E. y SUTHERLAND, C.L.: "Freeze-fracture studies of membrane systems in vertebrate muscle. I. Striated muscle". *J. Ultrastruct. Res.* 50:306-321 (1975).
- * REGER, J.F.: "Electron micrographs of neuromuscular synapses from mammalian (albino mice) and amphibian (*Rana pipiens*) gastrocnemii muscles". *Ibid.* 128:608-609 (1957).
- * REGER, J.F.: "Electron microscopy of the motor end-plate in intercostal muscle of the rat". *Anat. Rec.* 118:344 (1954).
- * REGER, J.F.: "Electron microscopy of the motor end-plate in rat intercostal muscle". *Ibid.* 122:1-15 (1955).
- * REGER, J.F.: "The fine structure of neuromuscular synapses of gastrocnemii from mouse and frog". *Ibid.* 130:7-24 (1958).
- * REICHMANN, H. y PETTE, D.: "A comparative microphotometric study of succinate dehydrogenase activity levels in type I, IIA and IIB fibres of mammalian and human muscles". *Histochem.* 74:27-41 (1982).
- * RENKIN, E.M. y cols.: "Heterogeneity capillary distribution and capillary circulation in mammalian skeletal muscles". *Symposium on O2 transport. Underwater Physiology Proc. 7th Symp.*, editado por A.J. Bachrach y M. Matzen. Bethesda, MD: Undersea Med. Soc., p. 465-474 (1981).
- * RETZIUS, G.: "Muskelfibrille und Sarkoplasma". In *Biologische Untersuchungen. Neue Folge*, 2 pp.81. Stockholm (1890).
- * ROBBINS, J. y cols.: "The chicken myosin heavy chain family". *J. Biol. Chem.* 261:6606-6612 (1986).
- * ROBERT, B. y cols.: "A single locus in the mouse encodes both myosin light chains 1 and 3, a second locus corresponds to a related pseudogene". *Cell* 39:129-140 (1984).
- * ROBERTSON, J.D.: "The ultrastructure of a reptilian myoneural junction". *Ibid.* 123:381-394 (1956).
- * ROBERTSON, T.A., PAPADIMITRIOU, J.M. y GROUNDS, M.D.: "Fusion between a myogenic cell in the satellite cell position and undamaged adult myofibre segments". *Experientia* 48:394-395 (1992).
- * ROBINSON, D.M. y cols.: "Increase peak oxygen consumption of trained muscle requires increased electron flux capacity". *J. Appl. Physiol.* 77:1941-1952 (1994).
- * ROMANUL, F.C.A. y POLLOCK, M.: "The parallelism of changes in oxidative metabolism and capillary supply of skeletal muscle fibers". In: *Modern Neurology*, editada por S. Locke. Boston, MA: Little, Brown, p. 203-214 (1969).
- * ROMEI, B.: "Taschenbuch der mikroskopischen Technik". 12th Ed. Oldenbourg, Munich. (1928).
- * ROSSER, B.W. y COLS.: "Myosin heavy chain expression within the tapered ends of skeletal muscle fibers". *Anat. Rec.* 242:462-470 (1995).
- * ROUGET, M.: "Note sur la terminaison des nerfs moteurs dans les muscles chez les reptiles, les oiseaux et les mammifères". *Compt. Rend.* 55:548-551 (1862).
- * ROUND, J.M., MATTHEWS, Y. y JONES, D.A.: "A quick simple and reliable method for ATPase in human muscle preparations". *Histochemical Journal* 12: 707-709 (1980).
- * ROWE, A.J.: "The contractile proteins of skeletal muscle". *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 160:437 (1964).
- * ROWE, R.W.D., GOLDSPINK, G.: "Muscle fiber growth in the five different muscles in both sexes of mice". I. Normal mice. *J. Anat.* 104:519-530 (1969).
- * ROY, R.R. y cols.: "Functional significance of compensatory overloaded skeletal muscle". *J. Appl. Physiol.* 52:473-478 (1982).

- * RUBINSTEIN, N.A. y KELLY, A.M.: "Development of muscle fiber specialization in the rat hindlimb". *J. Cell Biol.* 90:128-144 (1981).
- * RUFF, R.L.: "Sodium channel slow inactivation and the distribution of sodium channels on skeletal muscle fibres enable the performance properties of different skeletal muscle fibre types". *Acta Physiol. Scand.* 156:159-168 (1996).
- * RUSHTON, W.A.H.: "A theory of the effects of fibre size in medullated nerve". *J. Physiol. London* 115:101-122 (1951).
- * RUSSELL, B., WENDROTH, M.P. y GOLDSPINK, P.H.: "Remodeling of myofibrils subcellular distribution of myosin heavy chain mRNA and protein". *Am. J. Physiol.* 262:339-345 (1992).
- * SAHLIN, K. y COLS.: "Phosphocreatine content in single fibers of human muscle after sustained submaximal exercise". *Am. J. Physiol.* 273:172-178 (1997).
- * SAKUMA, K. y COLS.: "Ultrastructural changes of collagen fibers in the anterior cruciate ligament of bipedal rats after enforced running" *Nippon Seik. Gakkai Zasshi* 67:655-661 (1993).
- * SALTIN, B. y cols.: "The nature of the training response; peripheral and central adaptations to one-legged exercise". *Acta Physiol. Scand.* 96:289-305 (1976).
- * SALTIN, B. y cols.: "Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners". *Ann. NY Acad. Sci.* 301:3-29 (1977).
- * SALTIN, B. y ROWELL, L.B.: "Functional adaptations to physical activity and inactivity". *Fed. Proc.* 39:1506-1513 (1980).
- * SALVIATI, G. y cols.: "Myofibrillar-protein isoforms and sarcoplasmic-reticulum Ca^{2+} -transport capacity of single human muscle fibres". *Biochem. J.* 224:215-225 (1983).
- * SANTA, T. y ENGEL, A.G.: "Histometric analysis of neuromuscular junction ultrastructure in rat red, white and intermediate muscle fibers". In: *Developments in electromyography and clinical neurophysiology*, edited by J.E. Desmedt. Bassel: Karger, vol. 1:41-54 (1973).
- * SANTANA-PEREIRA, J.A. y cols.: "New method for the accurate characterization of single human skeletal muscle fibres demonstrates a relation between mATPase and MyHC expression in pure and hybrid fibre types". *J. Muscle Res. Cell Motil.* 16:21-34 (1995).
- * SANTANA-PEREIRA, J.A. y COLS.: "Myosin heavy chain isoform expression and high energy phosphate content in human muscle fibres at rest and post-exercise". *J. Physiol. Lond.* 496:583-588 (1996).
- * SARTORE, S. y cols.: "Fibre types in extraocular muscle: a new myosin isoform in the fast fibres". *J. Muscle Res. Cell Motil.* 8:161-172 (1987).
- * SARTORELLI, L. y cols.: "Direct and O^{18} -exchange measurements relevant to possible activated or phosphorylated states of myosin". *Biochemistry* 5:2877-2884 (1966).
- * SATO, T. y cols.: "Age changes in myofibrils of human minor pectoral muscle". *Mech. Ag. Dev.* 34:297-304 (1986).
- * SAUBER, C.W. y cols.: "Anaerobic enzyme adaptations to sprint training in rats". *Pfluegers Arch.* 341:305-312 (1973).
- * SCHAFER, D.A., HUG, C. y COOPER, J.A.: "Inhibition of CapZ during myofibrillogenesis alters assembly of actin filaments". *J. Cell Biol.* 128:61-70 (1995).
- * SCHAFER, D.A. y cols.: "Differential localization and sequence analysis of capping protein β -subunit isoforms of vertebrates". *J. Cell Biol.* 127:453-465 (1994).
- * SCHEER, U., THIRY, M. y GOESSENS, G.: "Structure, function and assembly of the nucleolus". *Trends Cell Biol.* 3:236-241 (1993).
- * SCHIAFFINO, S. y cols.: "Differentiation of fibre types in rat skeletal muscle visualized with monoclonal antimyosin antibodies". *J. Muscle Res. Cell Motil.* 6:60-61 (1985).
- * SCHIAFFINO, S. y cols.: "Embryonic and neonatal myosin heavy chain in denervated and

- paralyzed rat skeletal muscle". *Dev. Biol.* 127:1-11 (1988).
- * SCHIAFFINO, S., BORMIOLI, S.P. y ALOISI, M.: "The fate of newly formed satellite cells during compensatory muscle hypertrophy". *Virchows Arch. B.* 21:113-118 (1976).
- * SCHIAFFINO, S., HANZLIKOVA, V. y PIEROBON, S.: "Relations between structure and function in rat skeletal muscle fibers". *J. Cell Biol.* 47:107-119 (1970).
- * SCHIAFFINO, S. y REGGIANI, C.: "Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle". *J. Appl. Physiol.* 77:493-501 (1994).
- * SCHIAFFINO, S. y REGGIANI, C.: "Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance". *Physiol. Rev.* 76:371-423 (1996).
- * SCHIFF, U.: "Eine neue Reihe organischer Diamine". *Justus Leibigs Annin Chem.* 140:92-95 (1866).
- * SCHIPPEL, K. y REISSIG, D.: "Zur feinstruktur des Muskel-sehnenüberganges". *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* 78:235-255 (1968).
- * SCHMALBRUCH, H.: "Die quergestreiften muskelfasern des menschen". *Ergebn. Anat. Entwickl. Gesch.* 43:1-75 (1970).
- * SCHMALBRUCH, H.: "Satellite cells of the rat muscles as studied by freeze-fracturing". *Anat. Rec.* 191:371-376 (1978).
- * SCHMALBRUCH, H. y HELLHAMMER, U.: "The number of satellite celles in normal human muscle". *Anat. Rec.* 185:279-288 (1976).
- * SCHMALBRUCH, H. y HELLHAMMER, U.: "The number of nuclei in adult rat muscles with special reference to satellite cells". *Anat. Rec.* 189:169-176 (1977).
- * SCHRÖDER, J.M., KEMME, P.T. y SCHOLZ, L.: "The fine structure of denervated and reinnervated muscle spindles: morphometric study of intrafusar muscle fibers". *Acta Neuropathol.* 46:95-106 (1979).
- * SCHULTZ, E.: "A quantitative study of the satellite cell population in postnatal mouse lumbrical muscle". *Anat. Rec.* 180:589-596 (1974).
- * SCHULTZ, E.: "Fine structure of satellite cells in growing skeletal muscle". *Am. J. Anat.* 147:49-70 (1976).
- * SCHULTZ, E.: "A quantitative study of satellite cells in regenerated soleus and extensor digitorum longus muscles". *Anat. Rec.* 208:501-506 (1984).
- * SCHULTZ, E. y Cols.: "Survival of satellite cells in whole muscle transplants". *Anat. Rec.* 222:12-17 (1988).
- * SCHULTZ, G.A. y KARLSSON, U.: *En Técnicas en microscopía electrónica en biología.* Santander. R.G. Ed. Aguilar pp.666 (1968).
- * SEMENOFF, W.E.: "Mikrochemische Bestimmung der Aktivität der Succinodehydrase in den Organen der Rana temporaria". *Zeit. Zellf.* 22:305 (1935).
- * SHAFIQ, S.A., GORYCKI, M.A. y MAURO, A.: "Mitosis during postnatal growth in skeletal and cardiac muscle of the rat". *J. Anat.* 103:135-141 (1968).
- * SHAFIQ, S.A. y cols.: "Fine structure of fiber types in normal human muscle". *Anat. Rec.* 156:283 (1966).
- * SHAFIQ, S.A. y cols.: "Fine structure of aging skeletal muscle". *En: Aging and Cell Structure.* pp. 333-346. Ed. J.E. Johnson. New York (1981).
- * SHEAR, C.R. y GOLDSPINK, G.: "Structural and physiological changes associated with the growth of avian fast and slow muscle". *J. Morphol.* 135:351-372 (1971).
- * SHOTTON, D.M.: "Quantitative freeze-fracture electron microscopy of dystrophic muscle membranes". *J. Neurol. Sc.* 57:161 (1982).
- * SHRIVER, J.W.: "The structure of myosin and its role in energy transduction in muscle". *Biochem. Cell Biol.* 64:265-276 (1986).
- * SIECK, G.C. y PRAKASH, Y.S.: "Morphological adaptations of neuromuscular junctions depend on

- fiber type". *Can. J. Appl. Physiol.* 22:197-230 (1997).
- * SILLAU, A.H. y BANCHERO, N.: "Skeletal muscle fiber size and capillarity". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 158:288-291 (1978).
- * SINACORE, D.R. y COLS.: "Type II fiber activation with electrical stimulation: a preliminary report". *Phys. Ther.* 70:416-422 (1990).
- * SIPILA, S. y COLS.: "Effects of strength and endurance training on muscle fibre characteristics in elderly women". *Clin. Physiol.* 17:459-474 (1997).
- * SISSONS, H.A.: "Anatomy of the motor unit". In: *Disorders of voluntary muscle* (Walton, J.N. ed.) pp. 1-16, Churchill: London (1969).
- * SJÖDIN, B.: "Lactate dehydrogenase in human skeletal muscle". *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 436:5-32 (1976).
- * SJOGAARD, G.: "Capillary supply and cross-sectional area of slow and fast twitch muscle fibres in man". *Histochem.* 76:547-555 (1982).
- * SJOGAARD, G.: "Water and electrolyte fluxes during exercise and their relation to muscle fatigue". *Acta Physiol. Scand.* 128:129-136 (1986).
- * SJOGAARD, G.: "Muscle energy metabolism and electrolyte shifts during low-level prolonged static contraction in man". *Acta. Physiol. Scand.* 134:181-187 (1988).
- * SJOGAARD, G. y McCOMAS, A.J.: "Role of interstitial potassium". *Adv. Exp. Med. Biol.* 384:69-80 (1995).
- * SJÖSTRÖM, M. y SQUIRE, J.: "Fine structure of the A-band in cryo-sections. The structure of the A-band in ultra-thin cryo-sections negatively stained". *J. Mol. Biol.* 109:49 (1977).
- * SJÖSTRÖM, M., ÅNGQUIST, K.A. y RAIS, O.: "Intermittent claudication and muscle fiber fine structure: Correlation between clinical and morphological data". *Ultrastruc. Pathol.* 1:309-326 (1980).
- * SJÖSTRÖM, M. y cols.: "Z- and M-band appearance in different histochemically defined types of human skeletal muscle fibers". *J. Histochem. Cytochem.* 30:1-11 (1982a).
- * SJÖSTRÖM, M., FRIDÉN, J. y EKBLÖM, B.: "Fine structural details of muscle fibres after fibre type specific glycogen depletion". *Histochemistry* 76:425-438 (1982b).
- * SJÖSTRÖM, M. y cols.: "Human skeletal muscle metabolism and morphology after temporary incomplete ischemia". *Eur. J. Clin. Invest.* 12:69-79 (1982c).
- * SJÖSTRÖM, M., FRIDÉN, J. y EKBLÖM, B.: "Endurance, what is it?. Muscle morphology after an extremely long distance run". *Acta. Physiol. Scand.* 130:513-520 (1987).
- * SJÖSTRÖM, M., JOHANSSON, C. y LORENTZON, R.: "Muscle pathomorphology in m. quadriceps of marathon runners. Early signs of strain disease or functional adaptation?". *Acta Physiol. Scand.* 132:537-542 (1988).
- * SKUBISHAK, L.: "Distribution of myosin heads on the surface of vertebrate skeletal muscle thick filaments". *Biofizika* 41:695-703 (1996).
- * SMERDU, V. y cols.: "Type Iix myosin heavy chain transcripts are expressed in type Iib fibers of human skeletal muscle". *Am J. Physiol.* 267 (Cell Physiol. 36):C1723-1728 (1994).
- * SNOW, M.H.: "Myogenic cell formation in regenerating rat skeletal muscle injured by mincing. I. A fine structural study". *Anat. Rec.* 188:181-199 (1977a).
- * SNOW, M.H.: "Myogenic cell formation in regenerating rat skeletal muscle injured by mincing. II. An autoradiographic study". *Anat. Rec.* 188:200-218 (1977b).
- * SNOW, M.H.: "A quantitative ultrastructural analysis of satellite cells in denervated fast and slow muscles of the mouse". *Anat. Rec.* 207:593-604 (1983).
- * SOSA, H. y cols.: "Ultrastructure of skeletal muscle fibers studied by a plunge quick freezing method: myofilament lengths". *Biophys. J.* 67:283-292 (1994).

- * SPAMER, C. y PETTE, D.: "Activities of malate dehydrogenase, 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase and fructose-1,6-diphosphatase with regard to metabolic subpopulations of fast- and slow-twitch fibres in rabbit muscles". *Histochem.* 60:9-19 (1979).
- * SPAMER, C. y PETTE, D.: "Activity patterns of phosphofructokinase, glyceraldehydophosphate, dehydrogenase, lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase in microdissected fast and slow fibres from rabbit psoas and soleus muscle". *Histochem.* 52:201-216 (1977).
- * SPECTOR, S.A. y cols.: "Muscle architecture and force-velocity characteristics of cat soleus and medial gastrocnemius: implications for motor control". *J. Neurophysiol.* 44:951-960 (1980).
- * SPURWAY, N.C.: "Interrrelationship between myosin-based and metabolism-based classifications of skeletal muscle fibre". *J. Histochem. Cytochem.* 29:87-88 (1981).
- * STARON, R.S.: "Human skeletal muscle fiber types: delineation, development and distribution". *Can. J. Appl. Physiol.* 22:307-327 (1997).
- * STARON, R.S., HIKIDA, R.S. y HAGERMAN, F.C.: "Reevaluation of human muscle fast-twitch subtypes: evidence for a continuum". *Histochem.* 78:33-39 (1983).
- * STARON, R.S. y cols.: "Human skeletal muscle fiber type adaptability to various workloads". *J. Histochem. Cytochem.* 32:146-152 (1984).
- * STARR, R., ALMOND, R. y OFFER, G.: "Location of C-protein, H-protein and X-protein in rabbit skeletal muscle". *J. Muscle Res. Cell Motil.* (1985).
- * STEIN, J.M. y PADYKULA, H.A.: "Histochemical classification of individual skeletal muscle fibres of the rat". *Am. J. Anat.* 110:103 (1962).
- * STEPHENS, H.R. y cols.: "Collagen types in neuromuscular diseases". *J. Neurol. Sc.* 53:45-62 (1982).
- * STICKLAND, N.C.: "The arrangement of muscle fibres and tendons in two muscles used for growth studies". *J. Anat.* 136:175-179 (1983).
- * STICKLAND, N.C. y GOLDSPIK, A.: "A possible indicator muscle for the fibre content and growth characteristics of porcine muscle". *Anim. Prod.* 16:135-146 (1973).
- * STICKLAND, N.C. y HANDEL, S.E.: "The numbers and types of muscle fibers in large and small breeds of pigs". *J. Anat.* 147:181-189 (1986).
- * STOCKDALE, F.E.: "Myogenic cell lineages". *Dev. Biol.* 154:284-298 (1992).
- * STRAUB, F.B.: "Actin" in *Studies Inst. Med. Chem. Univ. Szeged.* 2:3 (1942).
- * STUDITSKI, A.N., SEENE, T.P. y UMNOVA, M.M.: "Ultrastructural alterations in red muscle fibers of rat musculus quadriceps femoris during high motor activity". *Бюллетень Эк. Москв.* 10:492-494 (1985).
- * SUGIURA, T. y cols.: "Myosin heavy chain isoform transition in ageing fast and slow muscles of the rat". *Acta Physiol. Scand.* 144:419-423 (1992).
- * SUKHOVA, Z.I. y cols.: "The characteristics of the skeletal muscle fibers of the m. vastus lateralis in highly qualified skaters (A morphometric analysis)". *Arkh. Anat. Gistol. Embriol.* 100:59-64 (1991).
- * SUOMINEN, H., KIISKINEN, A. y HEIKKINEN, E.: "Effects of physical training on metabolism of connective tissues in young mice". *Act. Physiol. Scand.* 108:17-22 (1980).
- * SZCZESMA, D. y FAJER, P.G.: "The tropomyosin domain is flexible and disordered in reconstituted thin filaments". *Biochemistry* 34:3614-3620 (1995).
- * SZENT-GYÖRGI, A.: "Discussion". *Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged* 1:67-71 (1941-42).
- * SZENT-GYÖRGI, A.: "Chemical physiology of contraction in body and heart muscle". *Academic Press, N.Y.* (1953).
- * TAAFFE, D.R. y COLS.: "Comparative effects of high- and low-intensity resistance training in thigh muscle strength, fiber area, and tissue studies". *J. Anat.* 136:175-179 (1983).

- composition in elderly women". *Cin. Physiol.* 16:381-392 (1996).
- * TABARY, J.C. y cols.: "Physiological and structural changes in the cat's soleus muscle due to immobilization and different lengths by plaster casts". *J. Physiol.* 224:331-244 (1972).
- * TAKEKURA, H., KASUGA, N. y YOSHIOKA, T.: "Influences of sarcomere length and selective elimination of myosin filaments on the localization and orientation of triads in rat muscle fibres". *J. Muscle Res. Cell Motil.* 17:235-242 (1996).
- * TAKEKURA, H., SUN, X. y FRANZINI-ARMSTRONG, C.: "Development of the excitation-contraction coupling apparatus in skeletal muscle: peripheral and internal calcium release units are formed sequentially". *J. Muscle Res. Cell Motil.* 15:102-118 (1994).
- * TAKEMORI, S.; YAMAGUCHI, M. y UMAZUME, Y.: "Physiological significance of viscoelastic structures in myoplasm". *Adv. Biophys.* 33: 151-157 (1996).
- * TAMAKI, T. y cols.: "Morphological and biochemical evidence of muscle hyperplasia follows weight-lifting exercise in rats". *Am. J. Physiol.* 273:246-256 (1997).
- * TARDIEU, C., TABARY, J.C. y DE LA TOUR, E.H.: "Is sarcomere number adaptation different in young and in grown up animals". *Proc. Int. Congr. Physiol. Sci.*, 27th, vol 13. Paris (1977).
- * TARDIEU, C. y cols.: "Adaptation of sarcomere numbers to the length imposed on the muscle". *Adv. Physiol. Sci.* 24:99-114 (1981).
- * TAYLOR, A.W., THAYER, R. y RAO, S.: "Human skeletal muscle glycogen synthetase activities with exercise and training". *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 50:411-415 (1972).
- * TAYLOR, E.W.: "Mechanism of actomyosin ATPase and the problem of muscular contraction". *Crit. Rev. Biochem.* 6:103-164 (1979).
- * TAYLOR, L.D. y BANDMAN, E.: "Distribution of fast myosin heavy chain isoforms in thick filaments of developing chicken pectoral muscle". *J. Cell Biol.* 108:533-542 (1989).
- * TELLO, J.F.: "Génesis de las terminaciones nerviosas motrices y sensitivas. I. En el sistema locomotor de los vertebrados superiores. Histogénesis muscular". *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 15:101-199 (1917).
- * TESCH, A. y KARLSSON, J.: "Muscle fiber types and size in trained and untrained muscles of elite athletes". *J. Appl. Physiol.* 59:1716-1720 (1985).
- * TESCH, P.A.; THORSSON, A. y FUJITSUKA, N.: "Creatine phosphate in fiber types of skeletal muscle before and after exhaustive exercise". *J. Appl. Physiol.* 66:1756-1759 (1989).
- * THOMAS, D.D. y cols.: "Submillisecond rotational dynamics of spin-labeled myosin heads in myofibrils". *Biophys. J.* 32:873-890 (1980).
- * THOMAS, R.C.: "Electrogenic sodium pump in nerve and muscle cells". *Physiol. Rev.* 52:563-594 (1972).
- * THORNELL, L.E., ERIKSSON, A. y EDSTRÖM, L.: "Intermediate filaments in human myopathies". In "Cell and Muscle Motility". Vol. 4, Ed. Dowben, R.M. y Shay, J.W. pp. 84-136. N.Y.: Plenum (1983).
- * THORNELL, L.E. y cols.: "Development of fiber types in human fetal muscle. An immunocytochemical study". *J. Neurol. Sciences* 66:107-115 (1984).
- * THORSTENSSON, A. y cols.: "Muscle strength and fiber composition in athletes and sedentary men". *Med. Sci. Sports* 9:26-30 (1977).
- * TIEGS, O.W.: "A study by degeneration methods of the innervations of the muscles of a lizard (Egernia)". *J. Anat.* 66:300-323 (1932).
- * TILTON, R.G., KILO, C. y WILLIAMSON, J.R.: "Pericyte-endothelial relationships in cardiac and skeletal muscle capillaries". *Microvasc. Res.* 18:325-335 (1979).
- * TOKUYASU, K.T., DUTTON, A.H. y SINGER, S.J.: "Immunoelectron microscopic studies of desmin (skeletal) localization and intermediate filament organization in chicken skeletal muscle". *J. Cell Biol.* 96:1727 (1983).

- * TSUGORKA, A.; RÍOS, E. y BLATTER, L.A.: "Imaging elementary events of calcium release in skeletal muscle cells". *Science* 269:1723-1726 (1995).
- * TURTO, H., LINDY, S. y HALME, J.: "Protocollagen proline hydroxylase activity in work-induced hypertrophy of rat muscle". *Am. J. Physiol.* 226:63-65 (1974).
- * ULLRICK, V.C. y cols.: "Fine structure of the vertebrate Z-disc". *J. Mol. Biol.* 115:61-74 (1977).
- * VANDEKERCKHOVE, J., BUGAISKY, G. y BUCKINGHAM, M.: "Simultaneous expression of skeletal muscle and heart actin proteins in various striated muscle tissues and cells". *J. Biol. Chem.* 261:1838-1843 (1986).
- * VANDEKERCKHOVE, J. y WEBER, K.: "The complete amino acid sequence of actins from bovine aorta, bovine heart, bovine fast skeletal muscle and rabbit slow skeletal muscle". *Differentiation* 14:123-133 (1997).
- * VAUGHAN, K.T. y cols.: "Molecular cloning of chicken myosin-binding protein (MyBP)H (86-kDa protein) reveals extensive homology with MyBP-C (C-protein) with conserved immunoglobulin C2 and fibronectin type III motifs". *J. Biol. Chem.* 268:3670-3676 (1993).
- * VENABLE, J.H.: "Morphology of the cells of normal, testosterone deprived and testosterone stimulated levator ani muscle". *Am. J. Anat.* 119:271-302 (1966).
- * VENABLE, J.H. y GOGGESHALL.: *En Técnicas en microscopía electrónica en biología*. Santander, R. G. ed. Aguilar pp.666 (1968).
- * VERATTI, E.: "Ricerca sulle fine struttura della fibra muscolare striata". *Mem. Reale Inst. Lombardo* 19:87 (1902).
- * VIGOREAUX, J.O.: "The muscle Z band: lessons in stress management". *J. Muscle Res. Cell Motil.* 15:237-255 (1994).
- * VILLALÓN, J.M. y LÓPEZ DE REGO, J.: "Fuerza muscular". *Selección* 2:24-30 (1989).
- * VIRU, M.: "Differences in effects of various training regimens on metabolism of skeletal muscle". *J. Sports Med. Phys. Fitness* 34:217-227 (1994).
- * VLLESTAD, N.K.; BLOM, P.C. y GRNNERD, O.: "Resynthesis of glycogen indifferent muscle fibre types after prolonged exhaustive exercise in man". *Acta Physiol. Scand.* 137:15-21 (1989).
- * WACHSTEIN, Y. y MEISEL, E.: "The distribution of demonstrable succinic dehydrogenase and of mitochondria in tongue and skeletal muscle". *J. Biochem. Cytol.* 1:483 (1955).
- * WAERHAUG, O. y KORNELIUSSEN, H.: "Morphological types of motor nerve terminals in rat hindlimb muscles, possibly innervating different muscle fiber types". *Z. Anat. Entw. Gesch.* 144:237-247 (1974).
- * WAGNER, R.: "Neue Untersuchungen über den Bau und die Endigung der Nerven und die Struktur der Ganglien". Verlag Leopold Voss, Leipzig, (1847).
- * WAKAYAMA, Y. y cols.: "Quantitative ultrastructural study of muscle satellite cells in Duchenne dystrophy". *Neurology.* 29:401-407 (1979).
- * WAKAYAMA, Y. y cols.: "Ultrastructural localization of alpha 1-syntrophin and neuronal nitric oxide synthase in normal skeletal myofiber, and their relation to each other and to dystrophin". *Acta Neuropathol. Berl.* 94:455-464 (1997).
- * WANG, K. y WRIGHT, J.: "Architecture of the sarcomere matrix of skeletal muscle: immunoelectron microscopic evidence that suggests a set of parallel inextensible nebulin filaments anchored at the Z line". *J. Cell Biol.* 107:2199-2112 (1988).
- * WANG, N. y cols.: "Muscle fiber types of women after resistance training-qualitative ultrastructure and enzyme activity". *Pflugers Arch.* 424:494-502 (1993).
- * WANG, Y.C. y RUBENSTEIN, P.A.: "Splicing of two alternative exon pairs in beta-tropomyosin pre-mRNA is independently controlled during myogenesis". *J. Biol. Chem.* 267:12004-12010 (1992).

- * WATSON, M.: *En Técnicas de microscopía electrónica en biología*. Santander, R.G. ed. Aguilar pp. 666 (1968).
- * WATSON, M.L.: "Further observations on the nuclear envelope of the animal cell". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 6:147 (1959).
- * WEEDS, A.G.: "Myosin: polymorfism and promiscuity". *Nature* 274:417-418 (1978).
- * WEIBEL, E.R.: "Stereological methods". Vol. I: *Practical methods for biological morphometry*. Acad. Press. London. New York. Toronto (1979).
- * WEIBEL, E.R., KISTLER, G. y SCHERLE, W.: "Practical stereological methods for morphometric cytology". *J. Cell Biol.* 30:23-30 (1966).
- * WEISMANN, A.: "Über das Wachsen der quergestreiften Muskeln nach Beobachtungen am Frosch". *Z. Rat. Med.* 10:263-284 (1861)
- * WHALEN, R.G.: "Contractile protein isozymes in muscle development: the embryonic phenotype". In: *Plasticity of Muscle*, editado por D. Pette. New York: de Gruyter, p.177-191 (1980).
- * WHALEN, R.G. y cols.: "Three myosin heavy-chain isozymes appear sequentially in rat muscle development". *Nature Lond.* 292:805-809 (1981).
- * WIDDOWSON, E.M.: "Harmony of growth". *Lancet*, i. 901-905 (1970).
- * WIGMORE, P. y cols.: "The parallel and paradoxically perpendicular orientation of myoblasts on artificial grooved surfaces". *J. Anat.* 187:241-242 (1995).
- * WIGMORE, P.M. y DUNGLISON, G.F.: "Clones of myoblasts fuse randomly with different fibre type in fetal mammalian muscle". *Proceedings of Keystone Symposia on Molecular Biology of Muscle Development.* 39 (1997).
- * WILLIAMS, P.E. y cols.: "The importance of stretch and contractile activity in the prevention of connective tissue accumulation in muscle". *J. Anat.* 158:109-114 (1988).
- * WILLIAMS, P.E. y GOLDSPINK, G.: "Longitudinal growth of striated muscle fibres". *J. Cell. Sci.* 9:751-767 (1971).
- * WILLIAMS, P.E. y GOLDSPINK, G.: "Changes in sarcomere length and physiological properties in immobilized muscle". *J. Anat.* 127:459-468 (1978).
- * WILLIAMS, P.E. y GOLDSPINK, G.: "Connective tissue changes in immobilised muscle". *J. Anat.* 138:343-350 (1984).
- * WILLIAMS, P.L. y WARWICK, R.: *Gray anatomía*. Ed. Salvat S.A. Barcelona (España) (1985).
- * YABLONKA-REUVENI, Z.: "Development and postnatal regulation of adult myoblasts". *Microsc. Res. Tech.* 30:366-380 (1995).
- * YAFFE, D. y SAXEL, O.: "Serial passaging and differentiation of myogenic cells isolated from dystrophic mouse muscle". *Nature* 270:725-727 (1977).
- * YAMAGUCHI, M. y cols.: "Fine structure of wide and narrow vertebrate muscle Z-lines: A proposed model and computer simulation of Z-line architecture". *J. Mol. Biol.* 184:621-644 (1985).
- * YAMAKI, T, BAEZ, S. y ORKIN, L.R.: "Microvasculature in open cremaster muscle of mouse". *Microcirculation I*, editado por J. Grayson y W. Zingg. New York: Plenum, p. 402-403 (1976).
- * YOUNG, R.B., GOLL, D.E. y STROMER, M.H.: "Isolation of myosin synthesizing polysomes from cultures of embryonic chicken myoblasts before fusion". *Dev. Biol.* 47:123-135 (1975).
- * ZAJAC, F.E.: "Muscle and tendon: properties, models, scaling, and application to biomechanics and motor control". *Crit. Rev. Biomed. Eng.* 17:359-411 (1989).
- * ZHANG, Y. y SHAFIQ, S.A.: "A freeze-fracture study of postembryonic differentiation of latissimus dorsi muscles of the chicken". *J. Morphol.* 183:145-153 (1985).
- * ZWEIFEACH, B.W. y METZ, D.B.: "Selective distribution of blood through the terminal vascular bed of mesenteric structures and skeletal muscle". *Angiology.* 6:282-289 (1955).

