

# Estudio de la recuperación de la capacidad para generar tensión en músculo sartorio aislado de sapo *Bufo marinus*, después de fatigas por sacudidas simples y por tétanos

JOSE CARLOS GIRALDO T, M.D.  
Magister en Fisiología. Profesor Asistente. Programa Ciencias del Deporte y la Recreación. Facultad de Ciencias de la Salud. U.T.P.

LUIS MARIA BORRERO, M.D.  
Profesor Titular. Facultad de Salud. Universidad del Valle.

## Resumen

*Para estudiar comparativamente el curso de la recuperación tras fatigas por sacudidas simples (FSS) y por tétanos (FTT) periódicos, se diseñaron procedimientos para producir fatigas de grado y curso temporal similares y para construir curvas de recuperación de la capacidad de generar fuerza con tres indicadores (3IND): sacudida simple (SS), Tétanos (TT) y sacudida simple intercalada tras TT (SSI), asociando datos de varios músculos, cada uno de los cuales sólo se contraía tres veces durante recuperaciones de 2 horas. Las condiciones de fatiga se obtuvieron seleccionando las frecuencias de contracción en FSS y en FTT (con TT de 1 segundo a 80 Hz) de manera que fueran iguales las  $t$  (constantes de tiempo, Tau) de la fase exponencial de las fatigas. Las curvas de recuperación surgieron de un diseño que asignaba al azar tiempos de ejecución, tipos de contracción y secuencias experimentales. Las recuperaciones (Rec) siempre parciales, cumplieron las normas  $RecFSS > RecFTT$  (diferencia en los mecanismos?),  $RecSS > RecSSI > RecTT$  y  $tRecSS < (tRecSSI > tRecTT)$  que confirman y amplían hallazgos previos del laboratorio con métodos convencionales. Las curvas de RecSS obtenidas con el diseño de este estudio y con el tradicional (SS repetidas durante recuperación) fueron casi idénticas tras FSS por una parte y tras FTT por otra, pero mayores tras FSS; estos hallazgos garantizan la validez de los dos métodos de estudio.*

**PALABRAS CLAVES:** Fatiga muscular, Recuperación, Calcio.

**Recibido para publicación:** 06-03-2002  
**Aceptado para publicación:** 10-05-2002

## Introducción

**S**e considera la fatiga muscular como una falla en la generación de la fuerza requerida<sup>(1)</sup> o como la declinación de la fuerza con relación con la generada cuando precede un estado de reposo<sup>(2)</sup>. Dicho proceso es complejo, ya que múltiples factores están involucrados y la importancia de cada uno depende del tipo de fibra muscular que se contrae, así como de la intensidad, del tipo y de la duración de la actividad contráctil, al igual que de los grados individuales de capacidad física<sup>(3)</sup>. La fatiga muscular local se caracteriza como un proceso en el cual ocurre una disminución de la Tensión pico, además de una reducción en la capacidad de sostener fuerza, en la velocidad de relajación del músculo y en la velocidad de desarrollo de tensión entre otros. Funcionalmente, la recuperación se considera un proceso opuesto a la fatiga y por éso puede ser usada como un criterio de persistencia de esta última. En ella, las funciones cardiovasculares, metabólicas y contráctiles retornan a sus valores de reposo después de terminar un trabajo.

En el laboratorio de músculo de la Universidad del Valle se ha considerado que uno de los mecanismos capaces de explicar tanto la fatiga como la recuperación muscular local puede ser el atrapamiento del  $Ca^{2+}$  en sitios de la fibra de donde no puede ser rápidamente liberado. Los hallazgos de numerosos experimentos han demostrado que la caída de la tensión pico durante la fatiga consta de una primera etapa en que la tensión decrece muy lentamente, a la cual se ha denominado "meseta" o mejor fase de caída lineal de la tensión (CLT)<sup>(4)</sup>, y de una segunda etapa en que la caída de la tensión sigue una curva muy regular, aproximadamente representada por una exponencial simple, con una constante de tiempo Tau, y que tiende asintóticamente a un valor  $b \approx 0$ . La ecuación para fatiga por tétanos periódicos (FTT)<sup>(5)</sup> es:

$$T\% = (100-b).exp(-kt) + b = (100-b)exp(-t/Tau) + b$$

en donde T% es la tensión pico de las contracciones isométricas sucesivas, expresada como % de la máxima desarrollada durante la fatiga,  $k=1/Tau$ , y b el valor asintótico hacia el cual tiende la tensión.

En 1975 Sánchez<sup>(6)</sup> presentó una descripción similar para la FSS, reportando además que el comportamiento de la recuperación temprana (5-6 min) también se ajusta a una exponencial simple, en este caso creciente. Se halló igualmente que el grado de recuperación depende del tipo de contracción causante de la fatiga, siendo mayor después de FSS que de FTT de grados comparables<sup>(7, 8, 9)</sup>.

Fitts y Holloszy<sup>(10)</sup> encontraron al estudiar músculos sartorios de Rana pipiens que durante la recuperación después de la fatiga por SS, la TSS retornó a lo normal en dos fases. La inicial es una fase rápida (15 seg) con un gran aumento de la TSS y con un ascenso rápido de la concentración de ATP, lo cual sugiere que la concentración de ATP es un factor limitante de la recuperación de la fuerza. La segunda es una fase lenta de la recuperación, donde la TSS retorna al valor normal después de los 50 min y muestra una correlación inversa con la concentración de lactato muscular. En dicho estudio tanto la TSS como la TTT retornaron hacia sus valores normales sobre los 30 min, lo que pudo obedecer a la frecuencia de estimulación fatigante (30/min ó 0.5 Hz durante 15 min). En nuestros ensayos usando sartorio de sapo Bufo marinus y tras FSS a 0.7 Hz, la TSS no ha retornado a los valores previos incluso después de 2 horas de recuperación y la experiencia general en este laboratorio es de recuperaciones tempranas parciales y más lentas, tras fatigas con esquemas de estimulación diversos. Se ha señalado anteriormente que la recuperación depende del tipo de esquema productor de fatiga que se use. En el laboratorio de músculo de la Universidad del Valle se han venido utilizando estímulos periódicos y contracciones isométricas; así, las fatigas por SS y por TT son de curso temporal similar en su forma, pero se desarrollan con velocidades diferentes y con ellas cambia el grado de la recuperación. La distinción entre los dos tipos de fatiga se ha encarado en términos del índice de movilización de  $Ca^{++}$  (IMCA), que es un reflejo de la velocidad promedio de liberación de  $Ca^{++}$  durante la fatiga, y depende de la frecuencia de contracción, del tipo de contracción (SS ó TT) y del grado de modificación establecido por el uso de

potenciadores o inhibidores.

En el Laboratorio, trabajando con el sapo Bufo marinus y usando el método tradicional de exploración en el cual se provocan contracciones repetidas durante la recuperación, se encuentra que la recuperación temprana (Rtem) del músculo aislado evoluciona en unos 6-8 minutos y la tensión llega hasta el 50-60% de la tensión control (Tc), pero en este estado los músculos son incapaces de sostener la tensión pico en TT o en SS repetidas, lo que se evidencia por la caída rápida de la tensión pico<sup>(11, 12)</sup>.

La recuperación tardía (Rtar) en el sapo, parece tomar unas 2 horas a temperatura ambiente, juzgada por una T cercana a la Tc y por ausencia de una caída rápida en refatiga<sup>(13)</sup>. La Rtem de la SS es más rápida y amplia que la del TT, además la Rtem de la SS y del TT es mayor tras FSS que después de FTT<sup>(6, 8, 9)</sup>.

De otro lado, se conoce que la relación  $IMCAss/IMCA_{TT}$  parece mantenerse más o menos constante a lo largo de la fatiga<sup>(4)</sup>; sin embargo, se desconoce si existen diferencias en el comportamiento de la recuperación tras FSS y FTT cuando estas fatigas sean producidas con IMCAS realmente comparables, pues de hecho los estudios mencionados se han realizado con valores de IMCA diferentes para FSS y FTT, asegurando solamente la igualdad de la Tensión de la SS% al final de la fatiga (Tssff%) en los dos tipos de ésta, pero no la igualdad de los procesos fatigantes. Si el IMCA fuera el mismo en la FSS y en la FTT, la situación de los dos músculos al final de la fatiga sería mucho más comparable que en trabajos de éste y de otros laboratorios sobre el tema, con la consecuencia de que diferencias en la magnitud y/o el curso de la recuperación se convierten en indicadores de diferencias reales entre FSS y FTT, de igual grado y duración y acaso dan pie para iniciar el estudio de la articulación entre los procesos que respaldan fatiga y recuperación.

Con respecto al curso temporal de la recuperación, existen en la literatura bastantes medidas disponibles, pero en general aparte de que son susceptibles de la objeción formulada en el párrafo precedente, cada una de las curvas individuales ha sido hecha, con SS o TT repetidos a intervalos del orden de 30 segundos, que aplicados a músculos frescos son claramente fatigantes. En el presente estudio se pretendió suprimir este posible defecto y para ello se intentó obtener curvas promedio a base de numerosos experimentos, cada

uno de los cuales sólo contribuyera con uno o dos puntos a la curva.

## *Materiales y Métodos*

*Animales:* En esta investigación se utilizaron músculos sartorios aislados de sapos Bufo marinus obtenidos periódicamente en grupos pequeños (8 a 10) en la zona rural del municipio de Pereira, capturados de su ambiente natural y mantenidos en cautiverio en un medio húmedo, proporcionándoles por sonda gástrica, como alimento, suspensiones acuosas de músculo esquelético vacuno, producidas mediante una licuadora.

*Diseción y aislamiento del músculo:* El músculo se aísla del animal, previa destrucción del sistema nervioso central. En seguida se procede a amarrar laminillas de plata para fijación, en el extremo distal sobre el tendón y en el proximal sobre el músculo. A continuación y colocando los miembros inferiores del sapo en extensión y abducción de 90°, se mide la distancia entre los puntos de fijación a las laminillas, que representa la "longitud activa" del músculo in situ y será mencionada en adelante "longitud entre nudos". Se aísla el músculo y se coloca en solución Ringer-Tris, manteniendo la longitud entre nudos medida in situ. Luego se procede a pesar los músculos con sus laminillas en una balanza de torsión Roller Smith, previo secado con papel Whatman y se realiza el montaje. Una vez terminado el experimento se cortan los músculos a la altura de los nudos y, previo secado similar al primero, se pesan los muñones con sus respectivas laminillas. Este dato, sustraído del obtenido inicialmente, suministra el peso de la región del músculo que generó tensión y permite calcular la sección transversal media del músculo y con ella la fuerza/unidad de sección generada en TT. La composición de la solución Ringer-Tris, en mM/L fué: NaCl 115, KCl 2.5, CaCl<sub>2</sub> 2.0, Tris Base 10. Al conjunto se añadió D-Tubocurarina (Tucurín R, Squibb) 0.3 mg/l para evitar activación por vía neural.

*Montaje experimental:* Los músculos son colocados dentro de cámaras de vidrio dispuestas verticalmente, para que realicen dentro de ellas contracciones isométricas periódicas. Para tal fin se asegura la placa de fijación del extremo distal del músculo a un transductor de fuerza Grass (modelo FT10C ó FT03C) montado sobre una cremallera que permite hacer finos

desplazamientos verticales, y la del extremo proximal de dicho músculo a un vástago de acero inoxidable (previamente vaselinado), el cual forma parte del dispositivo que cierra el extremo inferior de la cámara. La cámara recibe cuatro electrodos estimulantes, separados del compartimento principal por sectores llenos con Agar-Tris, para obstaculizar la difusión de productos de reacción en los electrodos. El músculo queda sometido a corrientes de un solo sentido y paralelas a su eje longitudinal. Una cánula introduce a la parte inferior de la cámara solución de Ringer-Tris, para irrigación del músculo durante el experimento en flujo continuo y estable, cercano a 0.05 ml/min producido por una bomba peristáltica. La solución se aireó antes de bombearla, por medio de un aireador de acuario en la serie B; en la serie C se reemplazó el aire por oxígeno a la presión atmosférica (unos 671 mmHg en promedio). El nivel de la solución se mantuvo estable por succión en el extremo superior de la cámara. En cada experimento se montaron los dos sartorios de un sapo en instalaciones similares y las dos cámaras se sumergieron en un baño cuya temperatura se mantenía constante a 25.0±0.15 grados centígrados mediante circulación del agua de un baño de temperatura constante (Refrigerated Constant Temperature Circulator VWR-1155).

*Estimulación y registro:* Se utilizaron ondas cuadradas aisladas de 2ms de duración para proveer SS o trenes de ellas con frecuencia de 80Hz, sostenidos durante 1 segundo y seguidos para obtener TT y un pulso aislado después del tren, para generar una SS intercalada (SSi), que en el presente trabajo ocurría 5.8 seg después del comienzo del tétanos precedente. En los experimentos de FTT se produjo una SSi después de cada TT cuyo número de orden fuera múltiplo de 3. En consecuencia, la fatiga y la recuperación de la capacidad de generar fuerza fueron seguidas a base de mediciones relativas al TT y a la SSi y en general se ha procurado que las comparaciones entre FSS y FTT se hagan a base de medidas sobre SS y SSi respectivamente. Los estimuladores estaban asociados a un osciloscopio de rayos catódicos Leader, para hacer monitoría de los estímulos y a una unidad de aislamiento de estímulos conectada a su vez a un selector externo que permite estimular a voluntad cualquiera de los dos músculos. Las tensiones generadas por el músculo en las contracciones isométricas provocada por la estimulación, se convirtieron en señales eléctricas mediante un transductor de fuerza Grass y fueron registradas sobre papel por un

polígrafo Grass Model 7, el cual además de registrar la respuesta del músculo (SS ó TT), registra la derivada de la velocidad de desarrollo de fuerza y de relajación. En el presente trabajo se estimuló siempre con voltajes supramáximos y se usó una frecuencia de contracción de 0.7 Hz en la FSS y de 0.11 Hz en la FTT (intervalos de 1.43 seg y 9 seg respectivamente).

Las medidas del grado de fatiga se hicieron utilizando la tensión pico de la SS en la FSS; para las FTT, cada tercera contracción habrá una SSI con retardo fijo con respecto al comienzo del tétanos precedente. Lo anterior se justifica por cuanto durante la fase exponencial de la fatiga las curvas semilog de TTT% y TSSI% vs t son paralelas (por tanto tienen igual Tau) y sus ordenadas son casi idénticas<sup>(9, 14)</sup>. El proceso fatigante se mantuvo hasta que la tensión pico de la SS llegó a un 20% de la tensión control (Tc), a partir de lo cual no se prolongó la fatiga.

La recuperación de la capacidad contráctil se exploró ante todo midiendo la tensión pico desarrollada en contracciones aisladas, sean SS (y se habla entonces de "recuperación de la SS") ó TT ("recuperación del TT" y en la mayoría de los casos de "recuperación de la SSI"). El número y ubicación temporal de estas contracciones cambiaron en las diversas series de experimentos desarrollados. Los datos de tensión en SS, TT y SSI durante fatiga y recuperación se expresaron como porcentajes del correspondiente máximo.

*Diseño experimental y series de experimentos:* La experiencia de nuestro laboratorio ha mostrado que los dos sartorios de un sapo tienen comportamiento cuantitativo bastante similar en cuanto a la fatiga y que, en contraste, hay apreciables variaciones cuantitativas entre sapos individuales. De allí la tendencia al uso de experimentos pareados, en los que se atiende a las diferencias de comportamiento de los músculos homólogos asociadas con una diferencia específica entre los tratamientos (por lo demás idénticos) administrados a los dos músculos.

El trabajo experimental se organizó entonces en cuatro series de ensayos como sigue:

A) Una serie inicial A, que consistió en ensayos preliminares destinados a elegir y ajustar el detalle de los procedimientos que pareciera deseable estandarizar. Desarrollando esta serie se evidenció

que con el uso de las frecuencias de contracción calculadas a base de los IMCA, se obtenían curvas de FSS y FTT con Tau comparables.

B) Una serie B en la cual tanto la FSS como la FTT se produjeron con las frecuencias ya mencionadas y, para evitar la realización de estímulos repetidos durante la recuperación, se construyó la curva de recuperación agrupando puntos obtenidos independientemente y ubicados en diferentes "tiempos de recuperación" (tR) en experimentos separados. Se admitió que la perturbación de la curva global sería mínima si en cada recuperación no se obtenían más de dos puntos, separados por un intervalo de 7 minutos o más; en consecuencia, cada músculo podía suministrar un dato de recuperación temprana (R.tem) y un dato tardío (R.tar) y se elaboró un diseño básico que aparece en la tabla 1. Nótese que en los experimentos 1-5 se estimuló la producción de una SS temprana y un tétanos tardío y, que en los experimentos 6-10 se hace algo similar, utilizando los mismos tiempos pero obteniendo ahora de cada músculo un TT temprano y una SS tardía. Se buscó cubrir tRtem y tRtar con medidas tanto más espaciadas cuanto más tardía fuera su realización: 0.5, 1, 2, 4 y 6 min para tRtem; 8, 16, 32, 64 y 128 min para tRtar.

C) En la serie C, en la cual se mantuvieron los procedimientos utilizados en la serie B, pero se introdujeron cambios químicos en el medio en que ocurría la contracción. En consecuencia se realizaron 10 experimentos, similares a los de la serie B en cuanto a distribución temporal, tipo de fatiga y manejo; pero con tiempos moderadamente diferentes, para cubrir puntos intermedios de la curva de recuperación y cuyos detalles se muestran en la tabla 2. Los cambios químicos consistieron en:

\* La realización de una sangría al sapo usado en cada experimento y heparinización de la sangre colectada, con el fin de obtener plasma por centrifugación a 2500 rpm; dicho plasma se adiciona a la solución Ringer que perfunde las cámaras. Se remeda así la adición de suero fetal de cordero, usado rutinariamente por Westerblad y Allen en sus experimentos de fatiga en fibra aislada.

\* Burbujeo de oxígeno puro (en vez del aire usado en la serie B) en la solución de RingerTris inmedia-

**Tabla 1. Asignaciones para el desarrollo de la serie B**

Exp N°	Recuperación temprana		Recuperación tardía		N° Orden ejecución
	tRtem(min)	Tipo contrac.	tRtar(min)	Tipo contrac.	
1	0.5	SS	32	TT	2°
2	1.0	SS	8	TT	3°
3	2.0	SS	128	TT	7°
4	4.0	SS	64	TT	1°
5	6.0	SS	16	TT	4°
6	0.5	TT	32	SS	8°
7	1.0	TT	8	SS	9°
8	2.0	TT	128	SS	5°
9	4.0	TT	64	SS	6°
10	6.0	TT	16	SS	10°

tamente antes de su paso por la bomba peristáltica y prevención de su escape antes de llegar a la cámara de estimulación. Se combatirían así defectos de oxigenación del músculo por limitaciones en la difusión de Oxígeno.

\* Adición a la solución Ringer, de glucosa a una concentración de 55,5 mM (añadiendo 10 gr/p de la misma a la solución antes mencionada).

\* Con el fin de prevenir una posible despolarización causada por empobrecimiento de Ca<sup>++</sup> en el interior del músculo, se adicionó igualmente a la solución Ringer, sulfato de magnesio (SO<sub>4</sub>Mg) para una concentración final de Mg 2 mM (Bezanilla, 1972; Hille, 1992).

D) La serie D comprendió un grupo de experimentos realizados después de las series B y C y orientados a obtener curvas de recuperación en las condiciones generales de los experimentos de este estudio, pero empleando el método tradicional de hacer estímulos múltiples durante la recuperación de cada músculo. En cada experimento un músculo desarrollaba FSS y otro FTT, ambos hasta una Tsffp= 20%. La recuperación se siguió mediante SS en 6 experimentos, donde cada músculo suministraba datos de recuperación a los tR de 30s, 60s y luego con intervalos de 60s hasta el final de la Rtem (360s), continuando con datos a los 480s, 960s y luego con intervalos de 960 hasta los 5760s, para terminar con una medición a los 7200s (120 min). Las curvas de recuperación se construyeron con los promedios de los datos homólogos correspondientes a cada valor de tR.

**Tabla 2. Asignaciones para el desarrollo de la serie C**

Exp N°	Recuperación temprana		Recuperación tardía		N° Orden ejecución
	tRtem(min)	Tipo contrac.	tRtar(min)	Tipo contrac.	
1	0.75	SS	24	TT	1°
2	1.5	SS	120	TT	3°
3	3.0	SS	72	TT	4°
4	5.0	SS	48	TT	5°
5	8.0	SS	96	TT	9°
6	0.75	TT	24	SS	6°
7	1.5	TT	120	SS	10°
8	3.0	TT	72	SS	8°
9	5.0	TT	48	SS	2°
10	8.0	TT	96	SS	7°

*Tratamiento de datos:* En las gráficas de polígrafo se midieron tensiones pico y velocidades máximas de desarrollo de fuerza y de relajación y ello se hizo para cada décima contracción en FSS, para cada tercer TT con su Ssi en FTT y, en todas las contracciones provocadas durante la recuperación. Las medidas se realizaron con lupas provistas de escala con divisiones de 0.1 mm, que permiten lecturas con precisión de ±0.03 mm. Con la mira de reconocer relaciones cuantitativas entre variables se construyeron gráficas con escalas lineales o logarítmicas, a las cuales se ajustaron por mínimos cuadrados rectas, exponenciales simples o polinomios (prefiriendo los de bajo grado).

Los análisis estadísticos se hicieron usando un paquete de programas diseñado por el Dr Hans W Dahners (HWD) y los ajustes de polinomios usando el programa Sigma Plot. Las técnicas esenciales se aplicaron tomando p<0.05 como límite de significancia y fueron: prueba "t" para comparación de promedios; correlación y regresión lineales; ajuste de polinomios y regresión polinómica y, finalmente, comparaciones de regresiones no lineales por ANOVA.

## Resultados

A) *Curvas de recuperación en las series B y C:* Para la serie B, se encontró que la recuperación temprana de la SS tras FSS alcanza un máximo del 80% dentro de los 5 minutos iniciales, para luego mostrar una tendencia a la caída, mientras la recuperación del TT sólo alcanza

un 30% de la tensión control y no varía apreciablemente en el tiempo.

Referente a las recuperaciones tras FTT, a diferencia de la anterior, se observó un comportamiento con tendencia a la recuperación en forma lenta y poco marcada, pero bastante comparable en su forma, tanto en el caso de la SS como del TT, siendo ésta última de menor magnitud que la primera, la cual alcanza valores cercanos al 50% sobre el 8° minuto.

El curso temporal de las TSS y TTT durante las 2 horas siguientes a la FSS, mostró una tendencia a la recuperación ya mencionada, a la cual sigue después del 8° minuto una caída durante el resto de las dos horas de observación, manifestada también por los valores promedio de T inicial en las refatigas producidas a los 130 y 160 minutos. La recuperación del TT permanece deprimida a lo largo de todo el curso de la observación y tan solo alcanza un 30% de su valor control.

Tras la FTT la recuperación de la SS sigue siendo mayor que la del TT, pero ambas son de menor magnitud que las mostradas en la recuperación tras FSS. Es más: tras FSS, la SSi muestra mayor tendencia a la recuperación que el TT pero menor que la SS, comportamiento éste que también se presenta tras la FTT, sólo que en éste último es de menor proporción y con tendencia a mayor paralelismo entre la recuperación de la SSi y la del TT.

Las tendencias grandes de recuperación de la SS y del TT tras los dos tipos de fatiga en la serie B, corresponden cualitativamente a lo observado con anterioridad en este laboratorio<sup>(6, 7, 15)</sup> que por cierto no se detalla mayormente en la literatura sobre el tema.

Dado que la dispersión de los datos de recuperación en la serie B es grande, se imponía una replicación del diseño y éste es el sentido de la serie C. De allí, la realización de la serie C, bajo tratamiento algo diferente. Algunos aspectos merecen atención: la recuperación temprana del TT tras FSS muestra una tendencia a la recuperación cercana a la obtenida con la SS, sin embargo sólo estuvo demarcada por un valor o registro correspondiente a los 5 minutos de recuperación, que no necesariamente representa la tendencia general. Por el contrario, tras la FTT la SS muestra una tendencia muy similar a la observada tras FSS, con una TTT que se recupera y luego tiende a caer después del 5° minuto.

El comportamiento general de la recuperación de la SS tras FSS es bastante similar en ambas series y muestra una caída tardía, que parece englobar los valores promedio de la primera sacudida de las dos refatigas; mientras que la recuperación del TT después de FSS, no parece mostrar diferencias cualitativas importantes entre las series B y C. Tras la FTT, y a diferencia de la anterior, la SS en la serie C muestra mayor tendencia a la recuperación temprana (67% de la Tc) hacia el 8° minuto, comparada con el 42% obtenido en la serie B mientras que el TT muestra una tendencia a recuperarse tardíamente.

De otro lado la SSi tras FSS en la serie C, se recupera alcanzando un máximo del 68% a los 10 minutos (54% en la serie B), muy comparable con el valor alcanzado por la SS en la misma serie. Tras FTT la SSi tiene un comportamiento muy paralelo al observado para la recuperación del TT, con una clara tendencia al aumento en la fase tardía, contrastando claramente con el observado para la serie B.

Como los Tau de FSS de las series B y C no mostraron diferencias significativas entre ellos, lo que nos indicaba que ambas fatigas poseían características comparables, cabía agrupar valores de recuperación como una manera de descubrir tendencias dominantes. Otro tanto ocurrió para las FTT de las mismas series. La figura 1 muestra el curso de las tensiones pico en SS, SSi y TT, tras FSS, calculado por regresión polinómica sobre el conjunto de datos de las dos series. La SS muestra recuperación gradual de la T pico, con un máximo de 66% a los 8 minutos, pero con una tendencia definida a la caída tardía; mientras que la

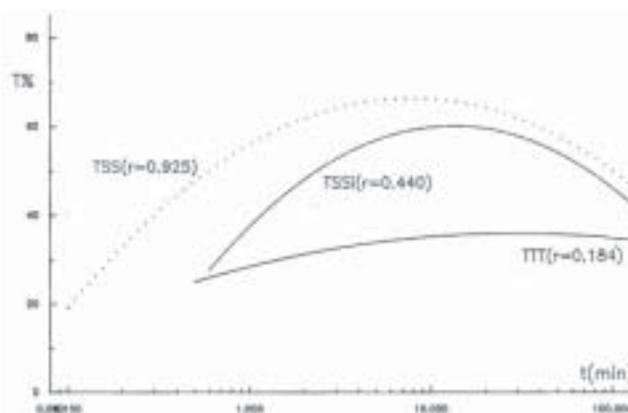


Fig. 1. Recuperación de SS, SSi y TT después de FSS (Series B y C combinadas);

$r_{ssB} = 0.955$   $r_{ssC} = 0.913$   $r_{ssB} = 0.748$   $r_{ssC} = 0.350$   $r_{TTB} = 0.322$   $r_{TTC} = 0.182$

Nota: Regresiones de segundo orden. RECFS2BC

SSi conserva valores intermedios entre los de la recuperación de la SS y del TT ( $r=0.440$ ). El TT ( $r=0.184$ ) se mantiene deprimido y tan sólo alcanza aproximadamente un 35% de recuperación máxima a los 50 minutos, para luego caer ligeramente en la fase tardía; la pobre correlación parece deberse a la gran dispersión de puntos a lo largo de la recuperación.

En contraste, tras la FTT, la recuperación de la SS (figura 2) muestra una clara tendencia a una TSS mayor (52.5%) que la TSSi pero inferior a la observada tras FSS (66%); la SSi y el TT se recuperan apreciable pero lentamente con marcado paralelismo.

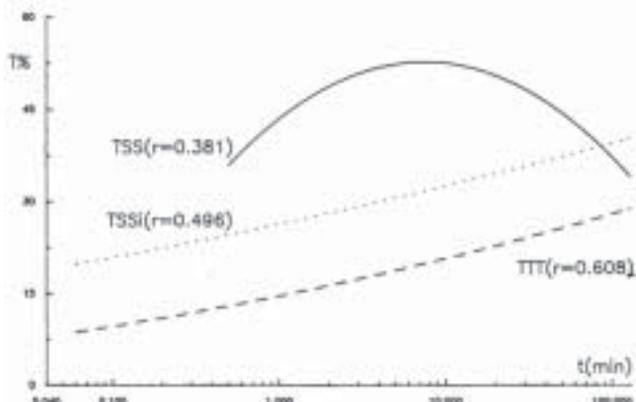


Fig. 2. Recuperación de SS, SSi y TT después de FTT (Series B y C);  $r_{ssB} = 0.675$   $r_{ssC} = 0.603$   $r_{ssB} = 0.613$   $r_{ssC} = 0.786$   $r_{TTB} = 0.472$   $r_{TTC} = 0.828$ . RECFT2BC

B) *Curvas de recuperación en la serie D:* Como en ella la recuperación del músculo fue explorada con pulsos aislados aplicados a intervalos de 1 min en la fase temprana y de 16 min en la fase tardía ( $n=6$ ), los datos fueron agrupados con sus homólogos en cuanto a tR, para así obtener los valores promedios y construir las curvas con éstos. Se observa que en la fase temprana y tras FSS la curva sigue un comportamiento sugestivo

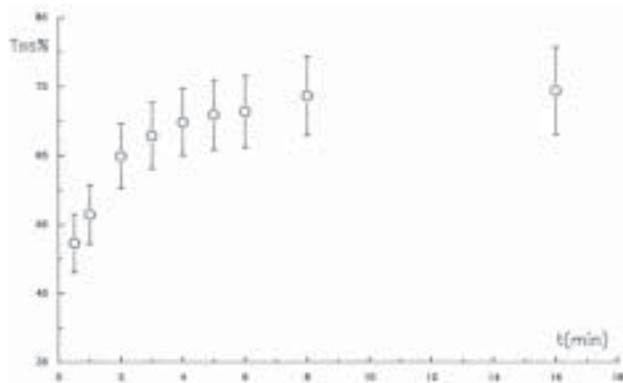


Fig. 3. Recuperación temprana de TSS después de FSS hasta el 20%. Cada músculo suministra un dato para cada tiempo de recuperación. Los valores en las ordenadas son  $TSS\bar{X} \pm EEM$ ;  $n=6$ . Serie D. PRSFSD.GRA

de una exponencial creciente (figura 3), alcanzando el máximo de TSSX a los 16 min, comportamiento muy similar al obtenido tras FTT (figura 4), sólo que los valores de T% en el primer caso superan a los obtenidos en el último.

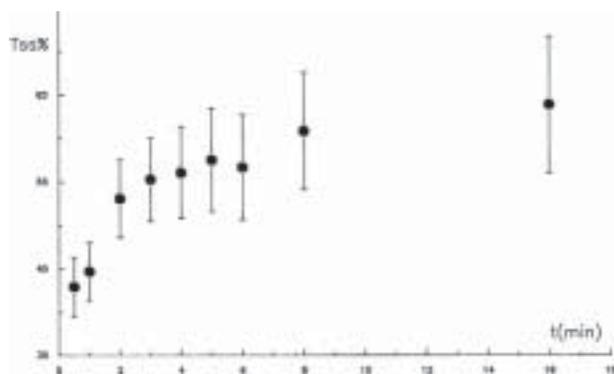


Fig. 4. Recuperación temprana de TSS después de FSS hasta el 20%. Cada músculo suministra un dato para cada tiempo de recuperación. Los valores en las ordenadas son  $TSS\bar{X} \pm EEM$ ;  $n=6$ . Serie D. PRSFSD.GRA

El comportamiento completo a lo largo de las 2 hs de recuperación exploradas muestra una clara tendencia a la caída tardía de la TSS% después de ambos tipos de fatiga (figuras 5 y 6), caída esta que al parecer es exponencial. Los valores promedio  $\pm$  EEM de la TSS% tras FSS superan a los obtenidos a lo largo de la recuperación tras FTT, pero no sabemos si difieren significativamente. Si ello es así, quizá sería una indicación de que los dos tipos de fatiga tienen diferencia(s) capaces de manifestarse en la recuperación.

Establecer si dicho comportamiento se mantiene para ambas fases (temprana y tardía) sería un objetivo de futura exploración. Se vuelve interesante entonces comparar las últimas curvas mencionadas con las obtenidas tras las series B y C. Usando escala logarítmica de tiempo para la comparación, en la gráfica de TSS% tras FSS (figura 7) se encuentra un comportamiento bastante similar en ambas curvas de regresión (con un  $r=0.891$  para la serie B+C y  $r=0.976$  para la serie D), donde la línea de regresión de la primera queda comprendida dentro del área circunscrita por los valores promedio  $\pm$  EEM de la serie D y por tanto, dada la dispersión de los datos, las curvas de B+C y de la serie D no difieren mayormente entre ellas. En el caso de la FTT (figura 8) la tendencia es similar para la fase temprana y sólo parcialmente para la fase tardía, pese a que la  $r=0.381$  (series B+C) es menor que la obtenida en la serie D ( $r=0.933$ ).

## Discusión

El objetivo principal del presente trabajo era doble: por una parte, obtener curvas del curso temporal de la recuperación de la capacidad para generar tensión después de FSS y de FTT, esquivando procederes fatigantes durante la recuperación misma y por otra parte, comparar entre ellas las recuperaciones después de fatigas de los tipos mencionados, que cumplieran además las condiciones de ser comparables en cuanto a grado y a curso temporal del proceso fatigante. Nuestros experimentos cumplen lo relativo al grado y al hecho de que el curso de la fase exponencial de la fatiga, caracterizada por "tau", no difieren significativamente entre FSS y FTT. Esperábamos encontrar además en el curso del trabajo hechos orientadores en relación con los mecanismos de fatiga y recuperación y en particular con el posible papel del Ca<sup>++</sup>, en cuyo estudio ha estado interesado el Laboratorio de Músculo de la Universidad del Valle.

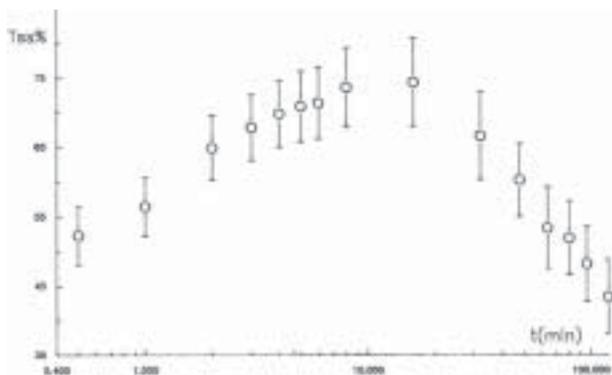


Fig. 5. Recuperación de la TSS después de FSS hasta el 20%. Cada músculo suministra un dato para cada tiempo de recuperación. Los valores en las ordenadas son  $TSS\bar{x}\pm EEM$ ; n=6. Serie D. PRSFSDLog.GRA

La no existencia de diferencias significativas entre los valores de Tau del decrecimiento de TSS obtenidos para los dos tipos de fatiga en las series B y C, permitió unificar estas dos series en cuanto a la fatiga se refiere, llevándonos a intentar reunir en un solo grupo para cada tipo de contracción los valores de T pico % obtenidos durante la recuperación que sigue a cada tipo de fatiga, para así estudiar su comportamiento temporal.

En las curvas de recuperación de las figuras con escala logarítmica en el eje de los tiempos, se buscó detallar el curso temprano de la recuperación y comprimir el sector tardío, permitiendo así una visión de conjunto en una sola gráfica. Usando escala lineal para los tiempos, la visión del comportamiento de la recupe-

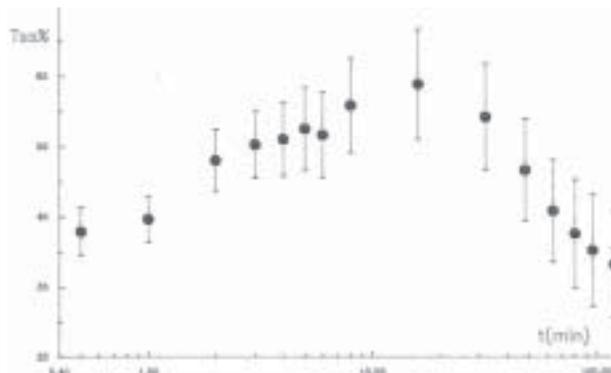


Fig. 6. Recuperación de la TSS después de FTT hasta el 20%. Cada músculo suministra un dato para cada tiempo de recuperación. Los valores en las ordenadas son  $TSS\bar{x}\pm EEM$ ; n=6. Serie D. PRSFTLog.GRA

ración de la T% toma otro aspecto y se definen dos tendencias o fases en dicha recuperación; ésto nos llevó a calcular regresiones polinómicas separadamente para las dos fases de las recuperaciones que siguen a los dos tipos de fatiga: en la fase inicial de recuperación rápida, la T% llega a su máximo sobre el 8º minuto, momento en que la TSS% supera a la de Tsi % y ésta a la de TTT% para el mismo tipo de fatiga; y en la fase de recuperación lenta la TSS muestra una tendencia a la caída tardía tras ambos tipos de fatiga, mientras para la Ssi y el TT se observa una tendencia hacia la recuperación tardía, siendo acusado el paralelismo entre éstas dos últimas tras FTT, inclusive cuando se utilizó la escala logarítmica de tiempo (figura 2). Por lo tanto, las curvas de recuperación de la T% en SS, TT y Ssi, de las series B y C mostraron un ascenso rápido visualizado también a través de escalas lineares de tiempo, y fue consistente el hallazgo de  $TSS > TSSi > TTT$  para las fases temprana y tardía (excepto tras FTT, en esta última). Estos hallazgos, discrepan claramente de los observados en otros trabajos de nuestro laboratorio, lo que puede deberse en parte al rango de tR cubiertos por estos últimos (5 a 6 minutos en la mayoría de ellos), a la variabilidad en la recuperación y al uso en nuestro estudio de fatigas con valores de Tau marcadamente diferentes de los usados antes.

La observación de menores recuperaciones después de FTT que tras FSS, que también ha sido la regla en el laboratorio; se cumple en nuestro caso con la excepción de la recuperación de SS tras FTT en la serie C.

Las diferencias observables entre el comportamiento de los tres indicadores durante la recuperación merecen un comentario separado, que comience por recordar el hecho de que con base en la similitud de

las curvas de Tau, tanto las curvas de la fase de caída lineal de la tensión (CLT) como las de la caída exponencial (Tau) (ambas vs frecuencia de contracción), se pudo postular que la SS individual es menos fatigante que el TT de 1 seg de duración y de frecuencia 80 Hz; la proporción de esos efectos es de 4 a 1 a favor del TT y parece atribuible a la magnitud de la movilización de Ca asociada.

En el curso de la fatiga la reducción gradual del Ca liberado durante el TT parece ser la causa de los TT picudos, interpretados por Schneider (16) y por Rios<sup>(17)</sup> como fruto de la inactivación de canales y de empobrecimiento en Ca<sup>++</sup> por parte del RS y que nosotros visualizamos como dependiente, al menos en parte, del surgimiento de gradientes transitorios de Ca<sup>++</sup> en el RS, asociados a cada liberación del ión. A causa de ellos se va reduciendo la diferencia de la liberación de Ca a medida que la fatiga progresa, con lo que las tensiones pico de SS y de TT se vuelven muy semejantes y la capacidad de suma de contracciones en el TT se pierde<sup>(15)</sup>, como consecuencia de lo cual cualquier retorno de Ca<sup>++</sup> al RS debe traducirse en el aumento (es decir recuperación) de la SS y poco o nada del TT, característica efectivamente dominante en las fases tempranas de la recuperación en nuestros experimentos.

Westerblad y Allen<sup>(18)</sup> han destacado el incremento de [Ca<sup>++</sup>]<sub>i</sub> en reposo durante la fatiga, el cual muy probablemente pudiera estar presente al final de ella en nuestros experimentos. Esto provocaría una activación marcada del bombeo de Ca en el RS y daría cuenta de la existencia de una fase temprana de recuperación rápida, evidenciable por la SS, pero limitada en el tiempo por la inactivación de la liberación generada durante la fase de fatiga y lentamente revertida en la etapa de recuperación. El hecho de que la recuperación de la TTT sea más tardía que la de la SS era de esperar, dado que supone adicionalmente una disponibilidad de Ca en RS capaz de respaldar el sostenimiento del TT. Finalmente, si la generación de una SSI deprime al TT, es de esperar que la producción de TT picudos (comparable en términos de Ca<sup>++</sup> movilizado) deprima a la SSI subsiguiente que, por su parte, debería ser potenciada por el TT (potenciación posttetánica). Estas acciones parecen capaces de combinarse a lo largo de la fase exponencial de la FTT, generando TT con dos picos o con picos tardíos predominantes de los cuales se observó un caso en recuperación. Este conjunto complejo de influencias podría ser la base de fenóme-

nos regularmente observados en nuestros experimentos, como la magnitud de la SSI, intermedia entre las de la SS y el TT en el curso de la recuperación (figuras 1 y 2), y de cambios en el comportamiento, como la diferencia de cursos del TT y la SSI asociada en las recuperaciones de las series B y C. Cabe todavía señalar que no hemos incluido en lo que precede a otros factores que pudieran hacer efectos semejantes y a veces complejos, como el ión H<sup>+</sup> que puede deprimir la generación de F y posiblemente acaso afectar el curso de la recuperación, o como el ión lactato, capaz cuando menos de potenciar la contracción.

Fitts<sup>(19)</sup> presenta el curso temporal de la recuperación del sartorio de *Rana pipiens* en términos que resumen lo comunmente aceptado: observó ascensos rápidos de la T pico % en los primeros 15 seg (fase rápida) que alcanzaban hasta un 80% de la Tc, con tendencia hacia la recuperación total sobre los 50 min; todo esto bajo condiciones de fatiga anaeróbica y con intervalos de estimulación de 2 seg. Pese a que dichos intervalos de estimulación no difieren grandemente de los usados en nuestro trabajo (1.43 seg), los valores de recuperación obtenidos en el estudio de Fitts son mayores que los nuestros y la recuperación mucho más rápida y con tendencia a ser total. A diferencia de los hallazgos de Fitts, nosotros encontramos que la TSS máx en recuperación se obtuvo a los 8 minutos, para luego comenzar a declinar con velocidad lentamente creciente, mientras que la Ssi y el TT mostraban en general una tendencia a la recuperación paulatina de la T%, pero sin alcanzar el valor de control, incluso después de dos horas de recuperación.

En nuestro laboratorio se ha observado consistentemente a lo largo de años que, después de fatigas de curso más rápido que el de las del presente trabajo, la recuperación de cualquiera de los tres indicadores usuales tras FSS y FTT tiene un máximo del orden de 50% hacia los 5-6 min y luego decrece ligeramente, pero no se había seguido el proceso durante largo tiempo, aún cuando había datos de recuperaciones de TSS cercanas al 100% al cabo de 2 horas del fin de fatiga. Es posible que en nuestro caso la maquinaria contráctil sufriera algún daño durante la fatiga; sin embargo, ello debería ser manifiesto desde el comienzo de la recuperación y no después de 8 minutos puesto que se sabe que factores metabólicos como ATP, Cr-P, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, entre otros, retornan a sus concentraciones normales en los primeros 5 min de recuperación, por

lo cual no explicarían la tendencia a la caída tardía de la recuperación.

Reconocemos que la  $T_{ff}=20\%$  alcanzada en nuestros experimentos es bastante baja y que la hipoxia y la distorsión metabólica local deben ser grandes. Hay evidencia de que la actividad muscular intensa se asocia con aumento del recambio proteico muscular y el fenómeno tiende a interpretarse como fruto de activación de proteasas asociada a la elevación durable de la  $[Ca^{++}]_i$  durante la fatiga, cosa que podría, si no comprometer la estructura contráctil misma, sí su función de generación de fuerza. Resulta por lo demás muy extraño que ésto vaya a acentuarse cuando la distorsión química debe estar casi corregida. La observación sobre recuperación con dos fases, hecha para la SS, se corroboró con la serie D, en la cual cada músculo aportó datos para todos los puntos de la curva: la tendencia casi lineal de las dos ramas de las curvas, asociada con el carácter semilog de la representación, dice de su carácter cercano a exponenciales. Ambas fases de recuperación enunciadas son claramente observables tras FSS y FTT (figuras 5 y 6).

Las líneas de regresión de 2º orden calculadas para las series B y C tras ambos tipos de fatiga (figuras 7 y 8), se mantienen durante las dos horas de recuperación y caen dentro de la banda de valores promedio±EEM de la serie D. La coincidencia es tal que, pese a los pocos datos (n=21) disponibles y a su dispersión, las curvas de las series B+C y las obtenidas con estímulos múltiples coinciden en revelar el mismo comportamiento. Por lo tanto, nuestro intento de construir por puntos estas curvas de recuperación (series B y C) operó bien, más aún si vemos que los ajustes

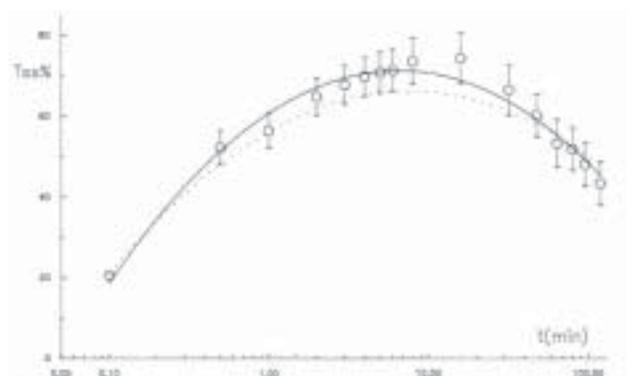


Fig. 7. Recuperación de la TSS después de FSS hasta el 20%. Líneas de regresión de 2º orden: en puntado (n=20, r=0.891) series B+C, donde cada experimento aporta un punto a la curva; en continua (n=6, r=0.976) serie D, donde cada experimento contribuye a todos los puntos de la curva, representados como promedio ±EEM. RSFSLBCD.GRA

polinómicos de 2º orden son bastante buenos. La correspondencia de las curvas mencionadas indica también que, para la TSS, no se produce fatiga de magnitud reconocible cuando se sigue la recuperación a base de SS repetidas cada 30 segundos, que ha sido el protocolo usual en nuestro laboratorio<sup>(6, 8, 9, 20)</sup>.

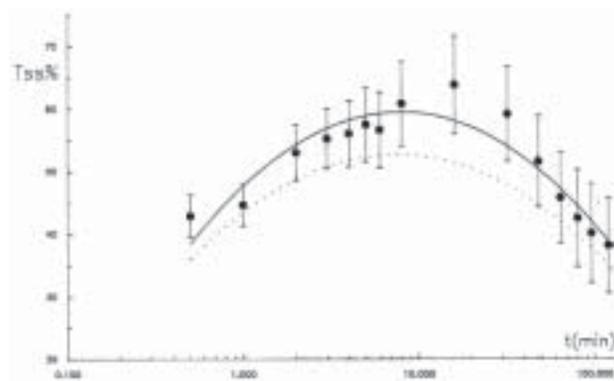


Fig. 8. Recuperación de la TSS después de FTT hasta el 20%. Líneas de regresión de 2º orden: en puntado (n=20, r=0.381) series B+C, donde cada experimento aporta un punto a la curva; en continua (n=6, r=0.933) serie D, en que cada experimento contribuye a todos los puntos de la curva, representados como promedio ±EEM. RSFTLBCD.GRA

## Conclusiones

El objetivo central del estudio:

- 1) Se trataba de obtener FSS y FTT de grado y curso temporalmente semejantes, para comparar sus curvas de recuperación juzgadas con los tres indicadores SS, TT y SI en condiciones que minimizan el desarrollo de fatiga dentro de la propia recuperación. Este objetivo se consiguió en cuanto a que el Tau de la fase exponencial de la fatiga por una parte, y la  $T_{ff}\%$  de SS ó SI por la otra, no difirieron entre ellas significativamente, como efectivamente ocurrió en las series B, C y D consideradas separadamente.
- 2) La similitud de fatigas se obtuvo manipulando las frecuencias de contracción en los dos procesos y manteniendo constantes la frecuencia (80 Hz) y duración (1 seg) del tren tetanizante.
- 3) El intento de construir curvas de recuperación con datos de varios músculos, cada uno de los cuales sólo contribuye con dos puntos resultó viable pero fuertemente limitado porque la variabilidad de fatiga y recuperación es elevada y el carácter no lineal de la recuperación limita el tratamiento estadístico de los resultados.

En relación con la recuperación:

- 4) La recuperación de la TSS sigue cursos temporales de forma similar tras FSS y FTT, pero el grado de

recuperación es mayor después de la primera. El máximo de recuperación se alcanza casi siempre hacia el final de la fase rápida o sea cerca del 8º minuto.

- 5) La recuperación de la TSS, TSSI y la TTT después de los dos tipos de fatiga cursan en dos fases claramente establecidas: una primera fase con recuperación rápida de la T y la condición TSS>TSSI>TTT, a más de que los valores pico tras FSS superan a los obtenidos tras FTT; y una segunda fase con tendencia a caída lenta y tardía de la TSS y con recuperación tardía de las tensiones de SSI y de TT tras ambos tipos de fatigas.
- 6) Se encontró una gran coincidencia entre las curvas de recuperación de TSS construídas por puntos y

las obtenidas por el método tradicional, o sea con estímulos repetidos sobre un mismo músculo (figuras 7 y 8). El primer método resulta dispendioso por la variabilidad de los datos. El presente estudio muestra la confiabilidad del método tradicional para la exploración de la recuperación de la TSS%.

- 7) La recuperación de la TSS tras FSS es mayor y más rápida que la observada tras FTT, mientras que la Ssi muestra valores intermedios entre la TSS y la TTT para cada tipo de fatiga. Es claro que la TSSI y la TTT tienen comportamiento similar demostrado a través del análisis de varianza y observable en las figuras 1 y 2.

## Referencias bibliográficas

- 1) Edwards R.H.T. Human muscle function and fatigue. En: "Human Muscle Fatigue: Physiological Mechanisms". London: Pitman, 1981; pag 1-18 (Ciba Found Symp 82).
- 2) Bigland-Ritchie B., Woods J.J. Changes in muscle contractile properties and neural control during human muscular fatigue. *Muscle Nerve* 1984; 7:691-699.
- 3) Fitts R.H., D.H. Kim., F.A. Witzmann. The development of fatigue during high intensity and endurance exercise. En: "Exercise in Health and Disease", editado por F.J.Nagle and H.J.Montoye. Thomas Springfield, IL:1981; 118-135.
- 4) Herrera V.E. Estudio de la etapa de caída inicial de tensión en fatiga de sartorio aislado de Bufo marinus. *Tesis de Magister en Fisiología*. Universidad del Valle. 1995.
- 5) Aljure E.F., L.M.Borrero. The evolution of fatigue associated with isometric contraction in toad sartorius. *J Physiol* 1968; 194:289-303.
- 6) Sanchez M.E. Fatiga y recuperación temprana en músculo esquelético, efectos de la modalidad de estimulación sobre sacudidas simples y tétanos. *Tesis de Magister en Fisiología*. Universidad del Valle. 1975.
- 7) Ramirez R. Efectos de la estimulación periódica sobre la fuerza generada y su curso temporal en músculo esquelético. *Tesis de Magister en Fisiología*. Universidad del Valle. 1975.
- 8) Llano M.I. Efectos del Ca<sup>++</sup> extracelular sobre el curso temporal de la fuerza máxima generada en sacudida simple durante la fatiga y recuperación temprana en músculo completo. *Tesis de Magister en Fisiología*. Universidad del Valle. 1976.
- 9) Romero, M. Calcio extracelular, fatiga por tetanización periódica y recuperación de la sacudida simple en músculo esquelético. *Tesis de Magister en Fisiología*. Universidad del Valle. 1977.
- 10) Fitts R.H., J.O.Holloszy. Lactate and contractile force in frog muscle during development of fatigue and recovery. *Am J Physiol* 1976; 231:430-433.
- 11) Canaval G.E. Curso temporal de la tensión pico generada en sacudidas simples periódicas por músculo sartorio parcialmente recuperado después de una fase de fatiga. *Tesis de Magister en Fisiología*. Universidad del Valle. 1982.
- 12) Canaval G.E., Dahners H.W., Aljure E.F., Borrero L.M. Curso temporal de la segunda fatiga en músculos sartorios parcialmente recuperados de una fatiga previa. XV Congreso Nal. ACCB, Medellín. 1980.
- 13) Quiñonez J., Borrero L.M. Comparación de fatigas por sacudidas simples (FSS) y por tétanos periódicos (FTT) en músculos sartorios aislados de Bufo marinus. XXIII Congr. Asoc.Col.C.Biol. Sta. Marta. 1988.
- 14) Aljure E.F., Borrero L.M., Dahners H.W., Llano M.I., Romero M., Sánchez M.E. Comparación de efectos de la concentración extracelular de Calcio sobre fatiga y recuperación asociadas a estimulación periódica tetanizante y por pulsos aislados. XII Congreso Nal ACCB, Santa Marta; resumen publicado en Acta Med. Valle. 9(2):67; 1978.
- 15) Aljure E.F., Sanchez M.E., Ramirez R., Borrero L.M. Posibles cambios en la evolución del Estado Activo de Músculos Esqueléticos Fatigados. IX Congreso Nal. ACCB, Pasto, 1974. Extracto publicado en Acta Med. Valle. 6:57, 1975.
- 16) Schneider M.F., B.J Simon & G. Szucs. Depletion of calcium from Sarcoplasmic Reticulum during calcium release in frog skeletal muscle. *J Physiol* 1987; 392:167-192.
- 17) Rios E., Pizarro G. Voltage sensor of excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Physiol Reviews* 1991; 71(3):849-908.
- 18) Allen D.G., J.A. Lee & H. Westerblad. Intracellular calcium and tension during fatigue in isolated single muscle fibers from Xenopus laevis. *J Physiol Lond.*1989; 415:433-458.
- 19) Fitts R.H., J.O. Holloszy. Effects of fatigue and recovery on contractile properties of frog muscle. *J Appl Physiol* 1978; 45(6):899-902.
- 20) Rojas J., Canaval G.E., Borrero L.M., Dahners H.W., Aljure E.F. Curvas de fatiga y recuperación y patrón de estimulación en músculos sartorios aislados. XVI Congreso Nal ACCB, Cúcuta; 1981.