



**FACULTAT DE BIOLOGIA**  
**DEPARTAMENT DE FISIOLOGIA**

**“HIPÒXIA HIPOBÀRICA**  
**INTERMITENT: APORTACIÓ PERIFÈRICA D’OXIGEN I**  
**INDICADORS DEL METABOLISME MUSCULAR”**

Memòria presentada per **Pere Panisello Tafalla** per optar al Grau de  
**Doctor per la Universitat de Barcelona**

Tesi realitzada sota la direcció del Dr. Ginés Viscor i Carrasco i del Dr. Joan Ramon Torrella i Guió del Departament de Fisiologia de Biologia. Adscrita al Departament de Fisiologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, programa Fisiologia (Bienni 2001-2003)

Ginés Viscor i Carrasco

Joan Ramon Torrella i Guió

Pere Panisello i Tafalla

Barcelona, 2006

## **4 RESULTATS**

---

---

*“La ciència és la forma  
estadísticament correcta  
d'explicar novel·les”.*

*Anònim.*



## Estadística

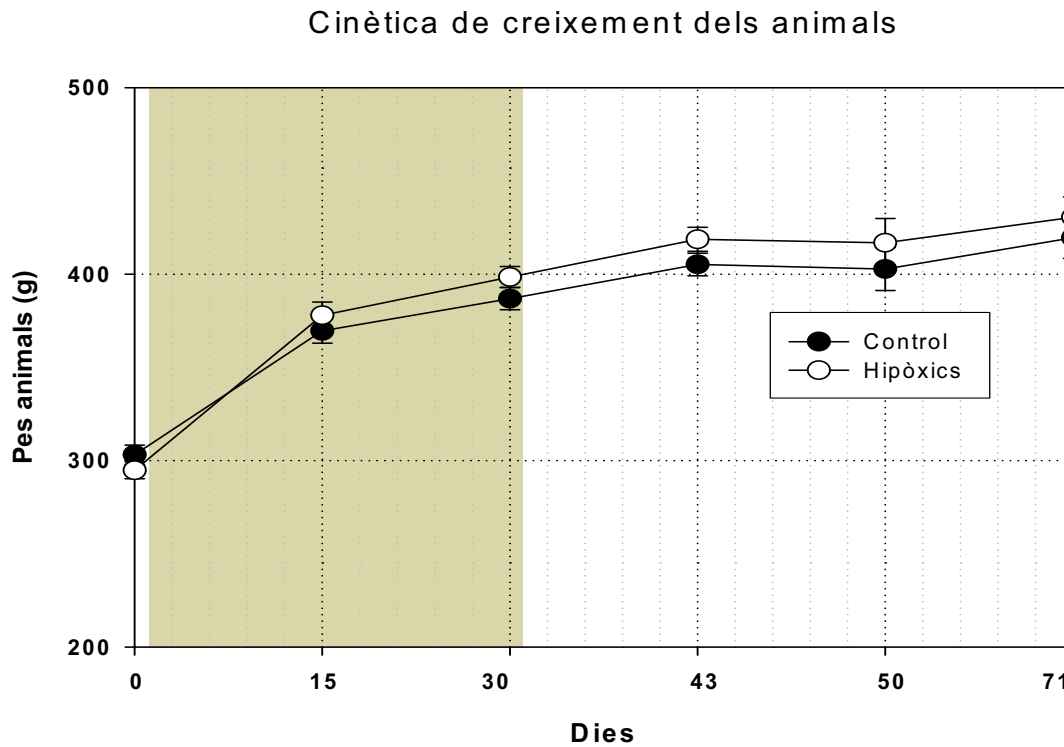
Els valors de tots els paràmetres són expressats com a mitjana aritmètica  $\pm$  error estàndard. Per a la prova de normalitat fou usat el test de Kolmogorov-Smirnov. Les comparacions entre els diferents grups experimentals i el control es van determinar mitjançant l'anàlisi de varianza (ANOVA) d'una via. S'emprà el mètode de Holm-Sidak de múltiples comparacions per determinar les possibles variacions entre els diferents grups. Quan es compararen valors percentuals en distribucions normals s'aplicà la transformació arcsinus segons Sokal i Rohlf (1981):  $\arcsin\sqrt{\frac{x}{100}}$ , prèviament a l'aplicació de l'anàlisi de varianza (ANOVA) d'una via. Tots els tests estadístics foren realitzats amb el software Sigma Stat (SPSS Science, USA), considerant diferències significatives als valors de  $P < 0,05$  (\*) però també indicant si  $P < 0,01$  amb \*\*.

En els paràmetres estudiats no s'han trobat diferències significatives entre els diferents grups control (Control 1, Control 2 i Control 3). Per la qual cosa, quan parlem de Control ens referirem al conjunt dels 3 grups control agrupats.

## Pesos de les mostres i dels animals

La figura 4.1 mostra la variació del **pes dels animals** control i tots els animals hipòxics, com un sol grup, al llarg dels 71 dies de l'experiment. Pot observar-se que la cinètica del creixement és molt similar en els dos grups d'animals estudiats no presentant diferències estadísticament significatives entre els pesos dels animals control i experimentals.

Tampoc detectem canvis estadísticament significatius entre els diferents grups d'estudi ni quan es comparen els pesos absoluts, ni quan es comparen els **pesos relatius** [(pes mostra/pes animal)  $\times$  100] dels cors i dels *tibialis anteriors* (Taula 4.1). El diafragma no es pesà (veure explicació en la secció 3.3.1 "Extracció dels músculs i emmagatzematge" pàg. 76) i, per tant, no es presenten dades.



**Figura 4.1. Pes corporal total** en el grup control (punts negres) i en l'hipòxic (punts blancs). En aquest cas s'ha considerat el grup hipòxic com un únic grup. L'eix horitzontal indica els dies d'experiment, sent el dia 1 el primer dia d'aclimatació i 71 el darrer del protocol experimental. La regió ombrejada indica els dies d'exposició a hipòxia hipobàrica intermitent per part dels animals experimentals.

Grups	Pesos Absoluts (g)			Pesos Relatius		
	Tibialis Anterior		Cor	Tibialis Anterior		Cor
	Dret	Esquerre		Dret	Esquerre	
<b>Control</b>	$0,795 \pm 1 \cdot 10^{-2}$	$0,808 \pm 2 \cdot 10^{-2}$	$1,295 \pm 9 \cdot 10^{-2}$	$0,197 \pm 2 \cdot 10^{-3}$	$0,199 \pm 4 \cdot 10^{-3}$	$0,320 \pm 9 \cdot 10^{-3}$
<b>Hipòxic</b>	$0,759 \pm 4 \cdot 10^{-2}$	$0,819 \pm 4 \cdot 10^{-2}$	$1,238 \pm 9 \cdot 10^{-2}$	$0,193 \pm 7 \cdot 10^{-3}$	$0,208 \pm 7 \cdot 10^{-3}$	$0,316 \pm 7 \cdot 10^{-3}$
<b>Post20<sub>d</sub></b>	$0,829 \pm 2 \cdot 10^{-2}$	$0,829 \pm 3 \cdot 10^{-2}$	$1,293 \pm 11 \cdot 10^{-2}$	$0,197 \pm 4 \cdot 10^{-3}$	$0,198 \pm 8 \cdot 10^{-3}$	$0,307 \pm 9 \cdot 10^{-3}$
<b>Post40<sub>d</sub></b>	$0,856 \pm 2 \cdot 10^{-2}$	$0,858 \pm 2 \cdot 10^{-2}$	$1,309 \pm 13 \cdot 10^{-2}$	$0,206 \pm 2 \cdot 10^{-3}$	$0,199 \pm 3 \cdot 10^{-3}$	$0,304 \pm 6 \cdot 10^{-3}$

**Taula 4.1. Pesos absoluts i relatius** [(pes mostra/pes animal) x 100] dels cors i *tibialis anteriors* dels diferents grups experimentals.

## Hematologia

En tots els paràmetres hematològics analitzats s'observà una tendència generalitzada que consistí en un augment dels valors en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> i una recuperació fins tornar a nivells equiparables al Control en el grup Post40<sub>d</sub>.

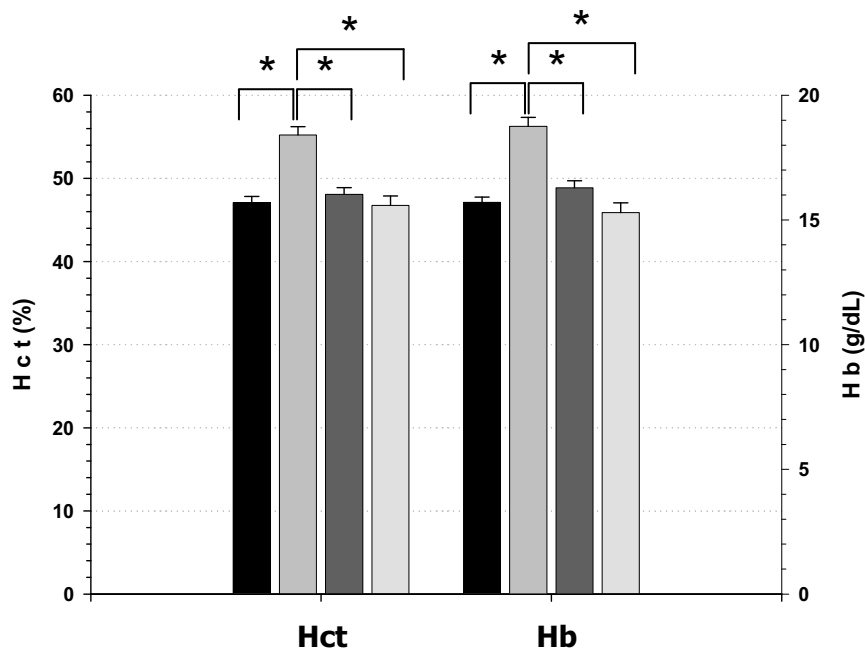
Detectàrem diferències significatives en la major part dels paràmetres analitzats. En MCV fou en l'únic paràmetre on les modificacions no foren significatives. En canvi, en el MCH es produí un augment significatiu en el grup Hipòxic respecte el Control i en el grup Hipòxic respecte el Post40<sub>d</sub>. En MCHC les diferències foren degudes a una disminució dels valors en el grup Post40<sub>d</sub> al comparar-lo amb els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> (Taula 4.2). Per a més detall del significat de cada paràmetre podeu consultar l'apartat 3.3.4 "*Processament hematològic*" pàg. 91.

Paràmetres \ Grups	Control	Hipòxic	Post20 <sub>d</sub>	Post40 <sub>d</sub>
<b>MCV</b>	53,5±0,43	55,2±0,37	53,9±0,50	54,9±0,85
<b>MCH</b>	17,8±0,12	18,7±0,15	18,3±0,09	17,5±0,38
<b>MCHC</b>	33,4±0,19	33,9±0,16	33,9±0,21	32,7±0,40

**Taula 4.2.** Paràmetres hematològics en els diferents grups utilitzats en l'estudi. Els valors són expressats com a mitja±desviació estàndard. MCV: Mean corpuscular volume (fL); MCH: Mean corpuscular hemoglobin (10<sup>-12</sup>g); MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL).

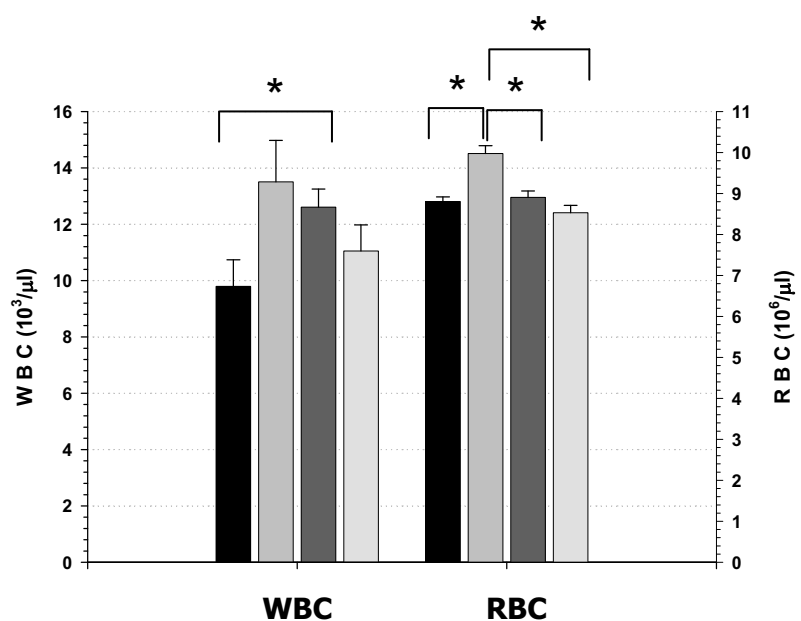
En els paràmetres hematòcrit (Hct) i concentració d'hemoglobina (Hb) observem una mateixa tendència: augment dels valors en el grup Hipòxic i recuperació dels nivells fins arribar als valors del Control en els altres grups (fig. 4.2). En ambdós casos es detecten diferències significatives al comparar el grup Hipòxic amb tots els altres (Control, Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>).

A l'analitzar les concentracions de les diferents sèries sanguínies (blanca, WBC, i vermella, RBC), es detectà una tendència similar (Fig. 4.3): increment de les concentracions en el grup Hipòxic per a després disminuir en els grups Post20<sub>d</sub> i arribar a valors semblants al Control en el Post40<sub>d</sub>. En la sèrie blanca (WBC) s'observen els canvis més acusats, malgrat això només detectem diferències significatives entre el grup Control i el Post20<sub>d</sub>. En la sèrie vermella totes les comparacions del grup Hipòxic amb els altres grups són estadísticament significatives.



**Figura 4.2.** Valors de l'hematòcrit (Hct) i de la concentració d'hemoglobina (Hb) obtinguda en els diferents grups experimentals.

**Figura 4.3.** Valors de la concentració de les cèl·lules sanguínies de la sèrie blanca (WBC) i de la concentració de les cèl·lules de la sèrie sanguínia vermella (RBC) obtinguda en els diferents grups experimentals.



Els resultats obtinguts en el nostre estudi a nivell muscular els dividim en dos grans blocs: resultats d'histoquímica i resultats de bioquímica.

## 4.1 HISTOQUÍMICA

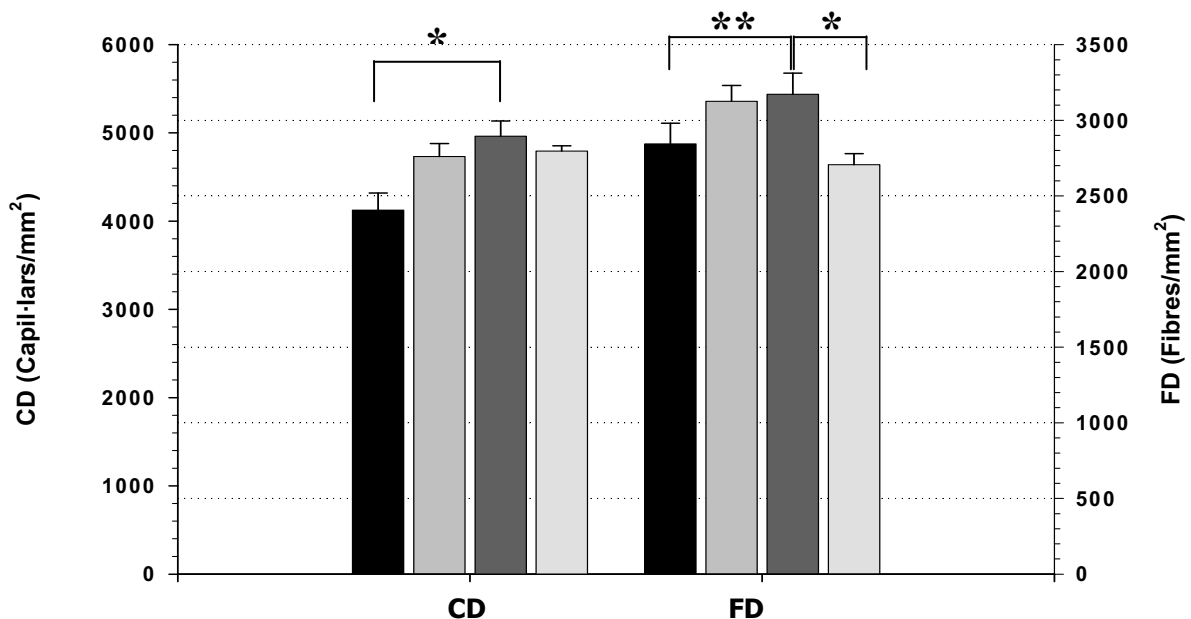
Agrupem els resultats d'histoquímica per mostres d'estudi: cor, diafragma i *tibialis anterior*.

### 4.1.1 MIOCARDI

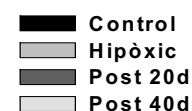
#### 4.1.1.1 Densitat capil·lar i densitat de fibres

Observem una tendència a l'alça en la **densitat capil·lar (CD)** i en la **densitat fibril·lar (FD)** al comparar el grup Control amb els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, i una recuperació dels valors en el grup Post40<sub>d</sub> (Fig. 4.4). Si ens fixem en la **CD**, malgrat els augments aproximats del 15% entre els grups Hipòxic, Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub> respecte el Control, només apareixen canvis estadísticament significatius entre el grup Control ( $4.124 \pm 194$  capil·lars/mm<sup>2</sup>) i el Post20<sub>d</sub> ( $4.962 \pm 171$  capil·lars/mm<sup>2</sup>).

Quant a la **FD**, els majors canvis estadístics ( $P < 0,01$ ) es produeixen entre el grup Control ( $2.844 \pm 137$  fibres/mm<sup>2</sup>) i el Post20<sub>d</sub> (que augmenta un 15 % respecte el Control) i entre el grup Post20<sub>d</sub> ( $3.171 \pm 105$  fibres/mm<sup>2</sup>) i el Post40<sub>d</sub> ( $2.751 \pm 70$  fibres/mm<sup>2</sup>) on hi ha una disminució del 19 %.



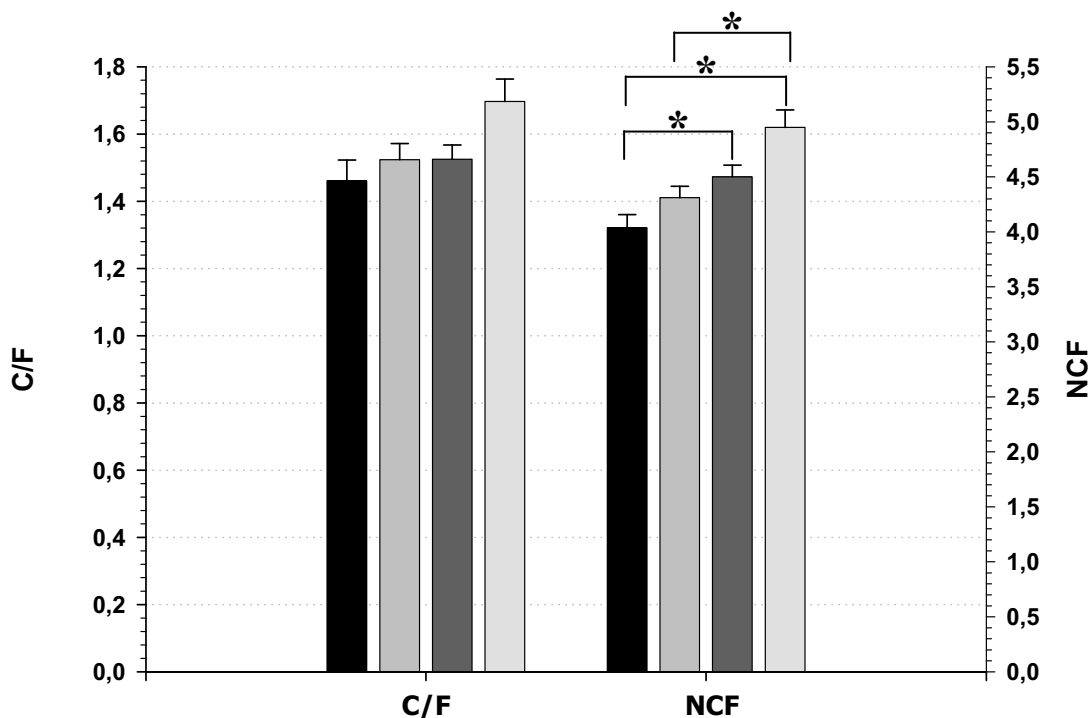
**Figura 4.4.** Gràfic amb les **densitats capil·lars (CD)** i **densitats fibril·lars (FD)** dels miocardis dels diferents grups experimentals.



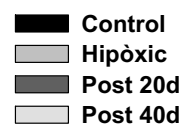


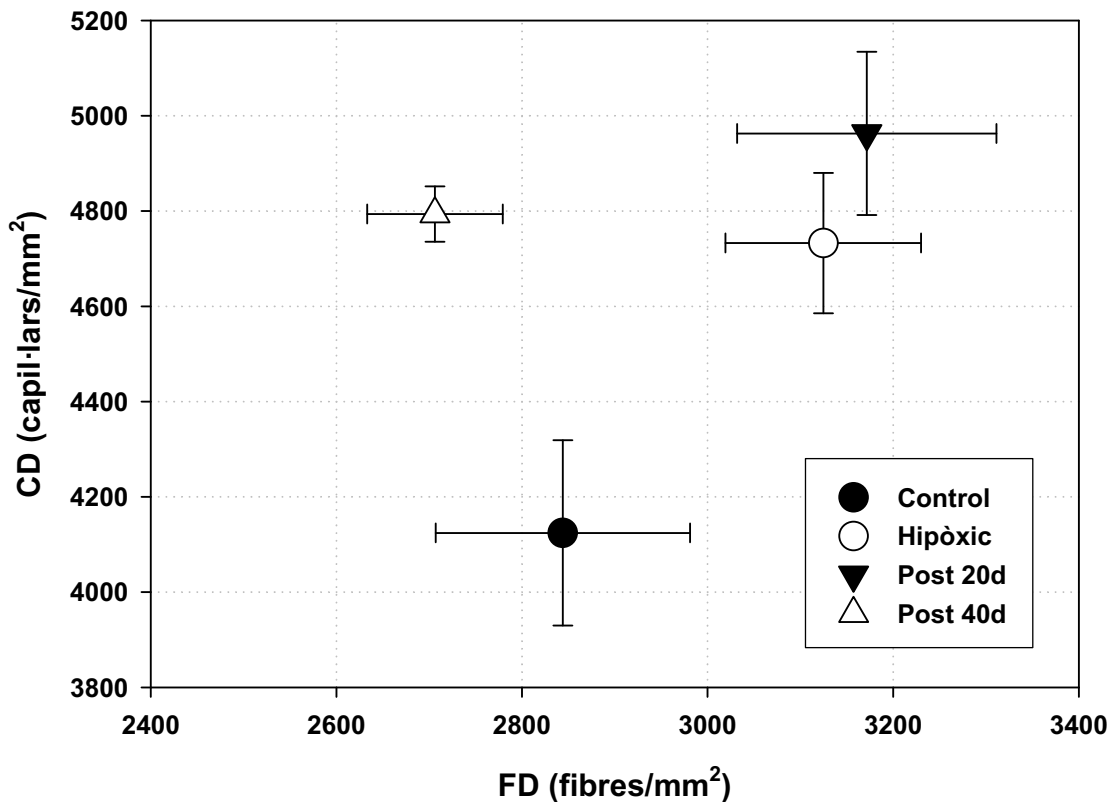
#### 4.1.1.2 C/F i NCF

En els paràmetres **CD/FD (C/F)** i **nombre de capil·lars en contacte amb cada fibra (NCF)** també observem un augment progressiu dels registres en els diferents grups experimentals (del 4% al 16 % en C/F i del 7% al 23% en el NCF), trobant els valors més alts en el Post40<sub>d</sub>:  $1,7 \pm 0,06$  en C/F i  $4,9 \pm 0,16$  en NCF (Fig. 4.5). En el C/F els canvis no són estadísticament significatius tot i l'increment de més del 16% entre el grup Control i Post40<sub>d</sub>. També podem apreciar una clara separació dels diferents grups quan relacionem les CD i les FD en una representació cartesiana (Fig. 4.6), observant una situació similar en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, i separats del Control i Post40<sub>d</sub>. En el paràmetre **NCF** observem diferències significatives entre els animals Control ( $4,0 \pm 0,12$ ) i el grup Post20<sub>d</sub> ( $4,5 \pm 0,10$ ), Control i Post40<sub>d</sub> ( $4,9 \pm 0,15$ ) i entre els animals Hipòxic ( $4,3 \pm 0,10$ ) i Post40<sub>d</sub>.



**Figura 4.5.** CD/FD (C/F) i nombre de capil·lars en contacte amb cada fibra (NCF) dels miocardis dels diferents grups estudiats.

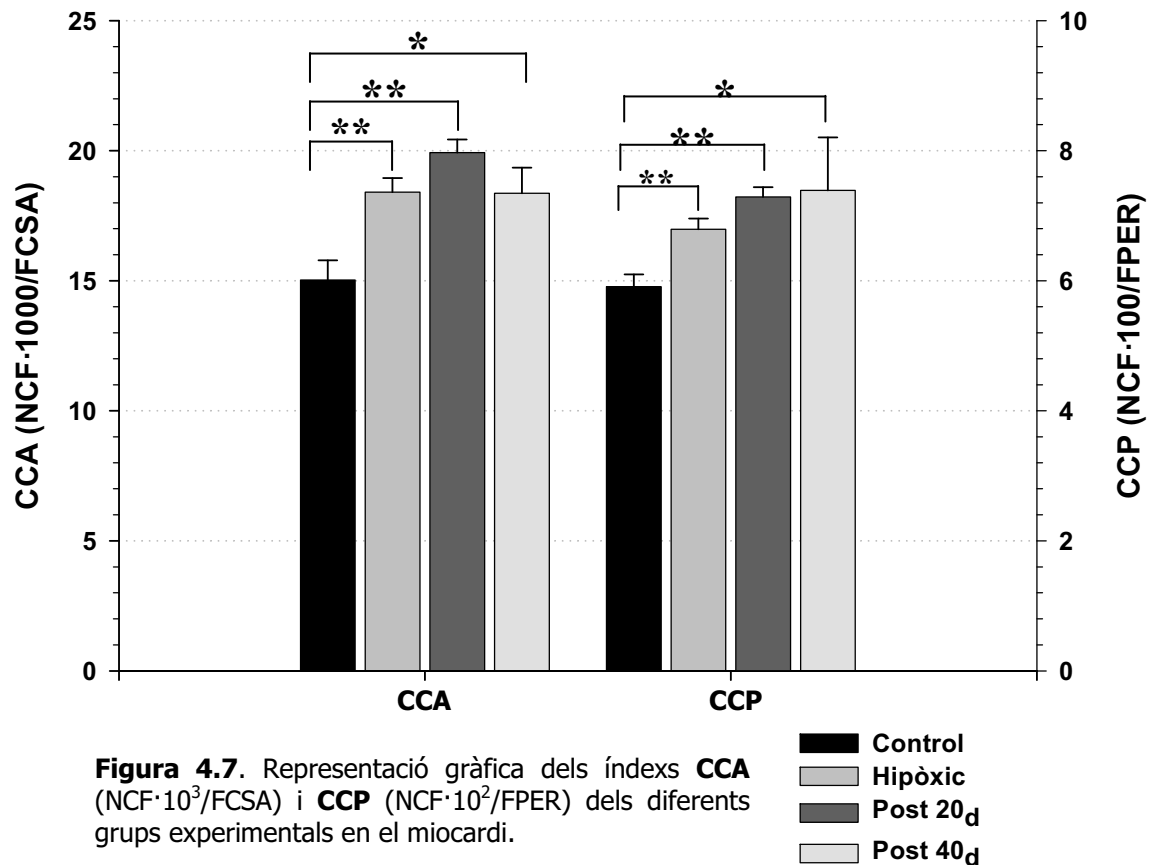




**Figura 4.6.** Representació cartesiana de les mitjanes CD en front FD dels miocardis estudiats.

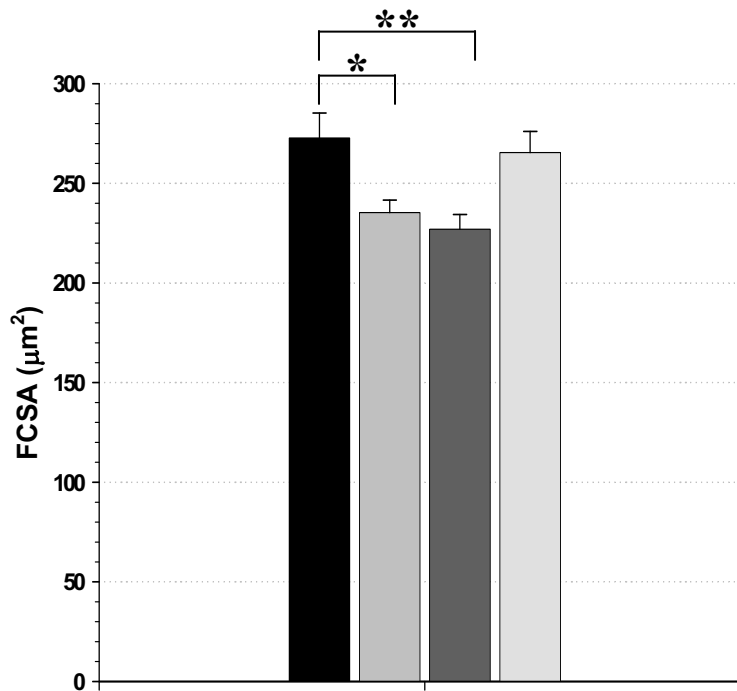
#### 4.1.1.3 CCA i CCP

En els índexs **CCA** ( $\text{NCF} \cdot 1000 / \text{FCSA}$ ) i **CCP** ( $\text{NCF} \cdot 100 / \text{FPER}$ ) observem comportaments similars (Fig. 4.7). En **CCA** trobem uns increments superiors al 22%, 32% i 22% en els grups Hipòxic, Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>, respectivament, en comparació amb el Control ( $15,0 \pm 0,8$ ), essent tots ells estadísticament significatius. En el **CCP** els augments que es produeixen són del 15%, 23% i 25%, respectivament. Com succeeix amb l'índex CCA, tots els canvis respecte al Control ( $5,9 \pm 0,56$ ) són estadísticament significatius. En aquest parell de paràmetres és on es detecten els majors canvis estadístics ( $P < 0,005$ ) dels estudis histoquímics en el miocardi.



#### 4.1.1.4 FCSA, FPER i MDD

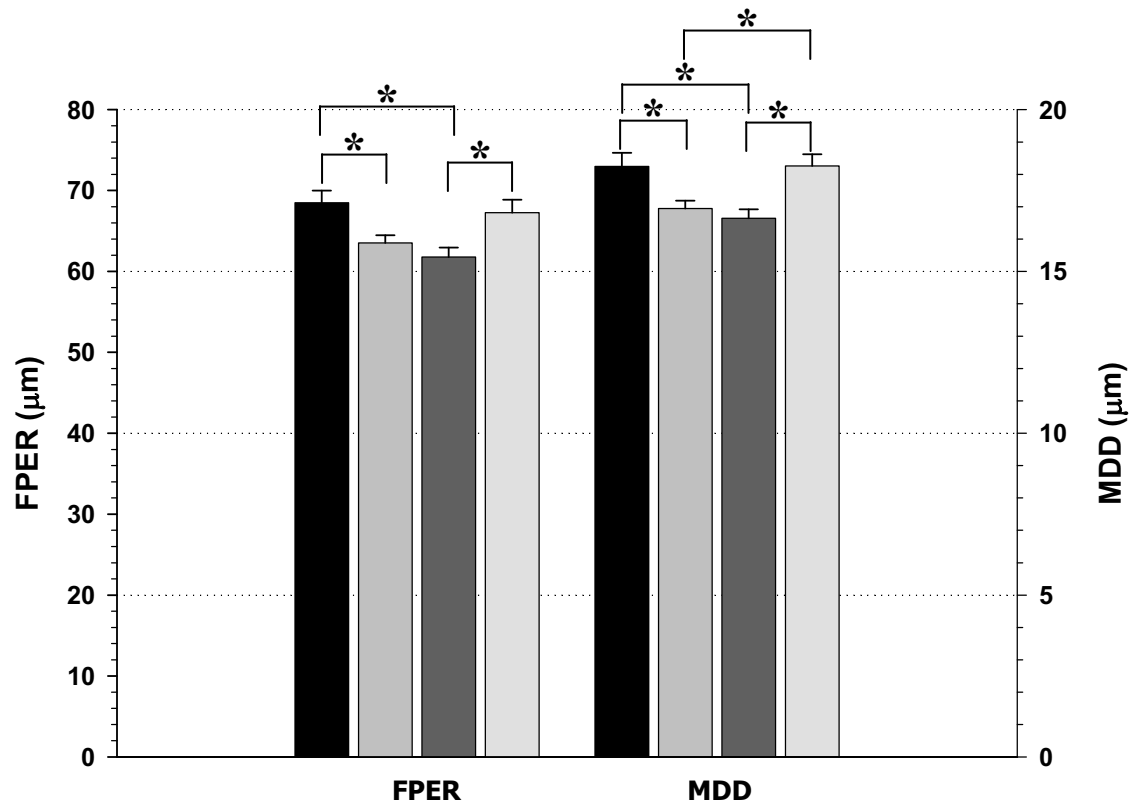
En els referents morfofuncionals detectem una tendència oposada a tots els paràmetres anteriors: disminució de la **secció transversal de l'àrea de la fibra (FCSA)**, del **perímetre de la fibra (FPER)** i de la **màxima distància de difusió (MDD)** en els grups Hipòxics i Post20<sub>d</sub>, i un augment o recuperació dels valors fins als nivells del Control del grup Post40<sub>d</sub> (Fig. 4.8 i 4.9). En la **FCSA** observem disminucions estadísticament significatives entre el grup Control ( $273 \pm 12 \mu\text{m}^2$ ) i els grups Hipòxic ( $235 \pm 6 \mu\text{m}^2$ ) i Post20<sub>d</sub> ( $227 \pm 7 \mu\text{m}^2$ ), però no es detecten diferències significatives entre el Control i el grup Post40<sub>d</sub>.



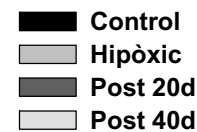
**Figura 4.8.** FCSA (àrea de la secció transversal de les fibres) del miocardi dels diferents grups experimentals.



Quant al **FPER** també trobem diferències significatives entre els grups acabats d'esmentar i també entre el grup Post20<sub>d</sub> i el Post40<sub>d</sub>. Respecte a la **MDD** de l'oxigen és on trobem canvis significatius més marcats, concretament entre el grup Control ( $18,2 \pm 0,42 \mu\text{m}$ ) i els grups Hipòxic ( $16,9 \pm 0,24 \mu\text{m}$ ) i Post20<sub>d</sub>, ( $16,6 \pm 0,27 \mu\text{m}$ ) i entre el grup Post40<sub>d</sub> ( $18,2 \pm 0,36 \mu\text{m}$ ) i els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>. Entre el grup Control i el Post40<sub>d</sub> no hi ha diferències significatives.



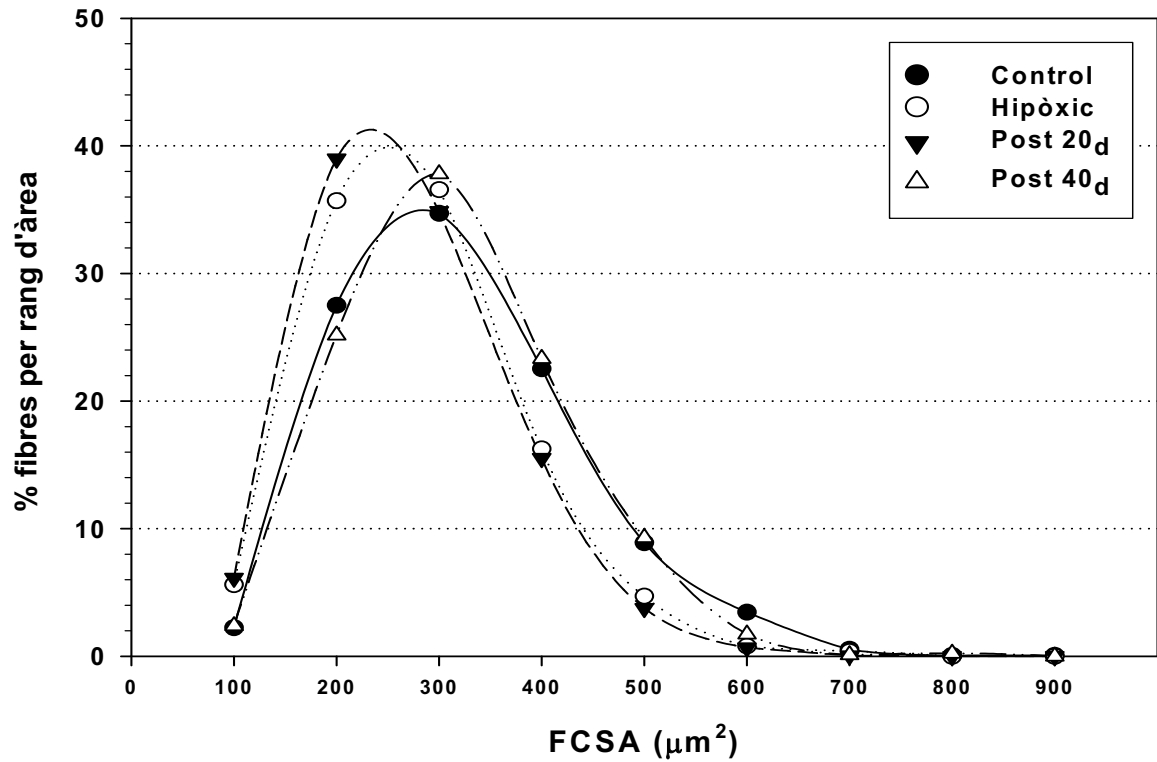
**Figura 4.9. FPER (Perímetre) i MDD (distància de difusió, expressats en µm) dels miocardis dels diferents animals experimentals.**



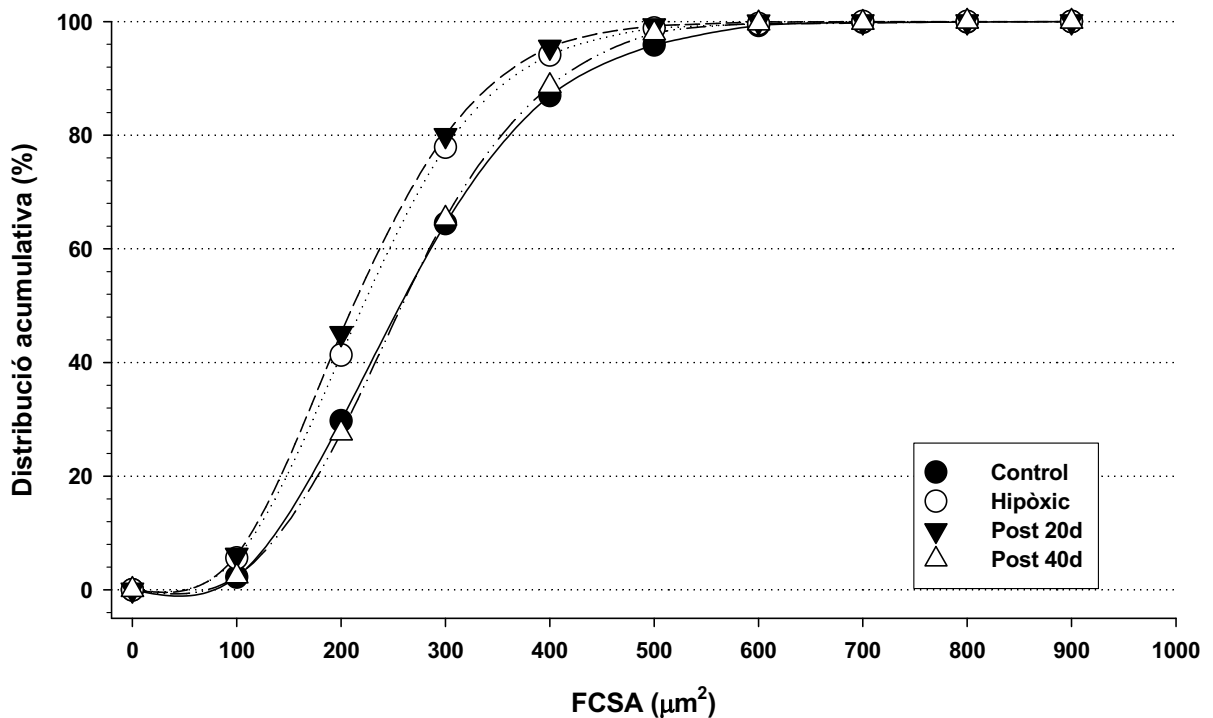
#### 4.1.1.5 Distributions

Es calcularen les corbes de distribució dels miocardis dels grups estudiats depenent del percentatge del nombre de fibres per a cada rang d'àrea en intervals de  $100 \mu\text{m}^2$  (Fig. 4.10). Podem apreciar 2 grups ben diferenciats. Per una banda trobem un comportament similar entre els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, amb majoria de fibres pròximes a les  $200 \mu\text{m}^2$  de FCSA. Mentre que els grups Control i Post40<sub>d</sub> tenen una distribució comparable, amb majoria de fibres amb FCSA al voltant de  $300 \mu\text{m}^2$ .

Es calcularen també els percentatges acumulatius per a cada rang de  $100 \mu\text{m}^2$  de FCSA. S'aprecià que els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, com succeïa anteriorment, tenen una distribució semblant. D'igual manera detectem una corba similar en els grups Control i Post40<sub>d</sub> (Fig. 4.11).



**Figura 4.10.** Percentatge per rang d'àrea en intervals de  $100 \mu\text{m}^2$  dels diferents grups dependent de l'àrea de la secció transversal de les fibra (FCSA) del miocardi.



**Figura 4.11.** Distribució acumulativa (%) per rang d'àrea en intervals de  $100 \mu\text{m}^2$  dels diferents grups analitzats dependent de l'àrea de la secció transversal de les fibres (FCSA) del miocardi.

#### 4.1.1.6 Shape Factor

Tots els canvis esmentats es produeixen sense modificar significativament la **morfologia de les fibres** (Taula 4.3), tot i que hi ha un cert augment (màxim del 3,6% entre el Control i el grup Post40<sub>d</sub>) del shape factor o esfericitat.

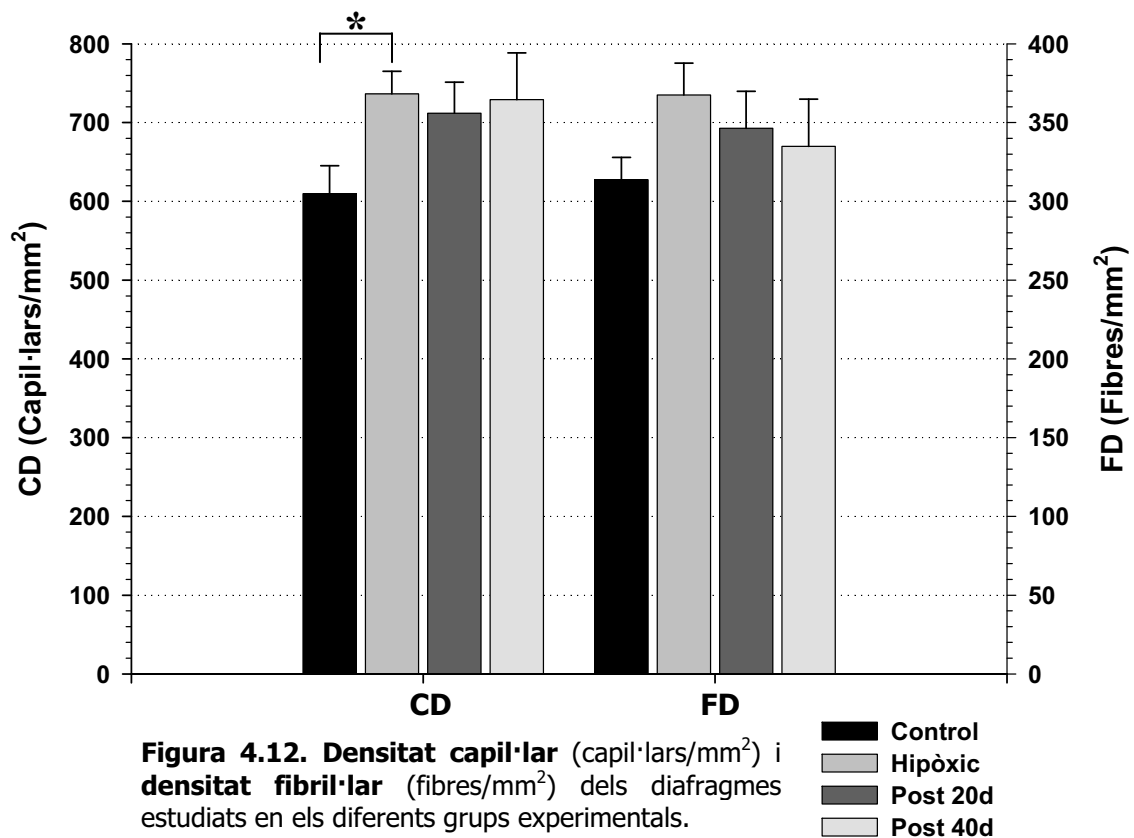
	Control	Hipòxic	Post20 <sub>d</sub>	Post40 <sub>d</sub>
Shape Factor	$0,713 \pm 4 \cdot 10^{-3}$	$0,714 \pm 4 \cdot 10^{-3}$	$0,728 \pm 7 \cdot 10^{-3}$	$0,739 \pm 8 \cdot 10^{-3}$

**Taula 4.3. Shape Factor** o morfologia de les fibres del miocardi dels diferents grups experimentals.

## 4.1.2 DIAFRAGMA

### 4.1.2.1 Densitat capil·lar i densitat de fibres

Malgrat la clara tendència d'augment de la **densitat capil·lar (CD)** i de la **densitat fibril·lar (FD)** en els grups hipòxics respecte el Control (alguns de fins al 20%, Fig. 4.12) l'únic canvi significatiu és en la CD entre els grups Control ( $609 \pm 35$  capil·lars/mm<sup>2</sup>) i Hipòxic ( $736 \pm 28$  capil·lars/mm<sup>2</sup>).

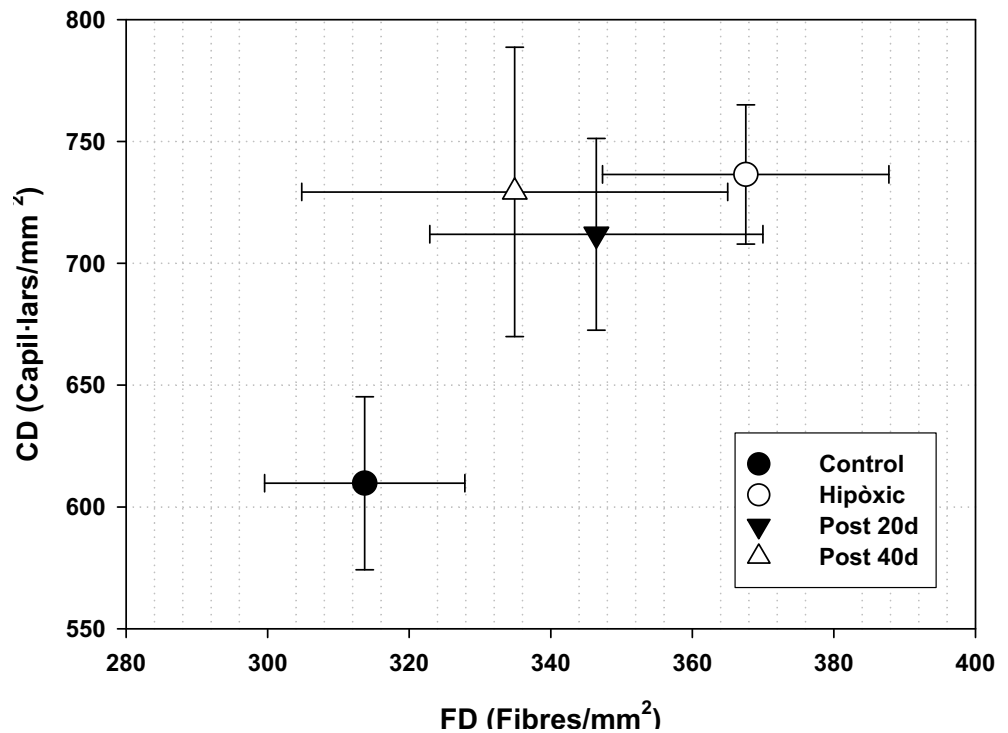


### 4.1.2.2. C/F i NCF

Referent a l'índex **C/F (CD/FD)** també trobem valors més elevats en els grups Hipòxic ( $2,02 \pm 0,06$ ), Post20<sub>d</sub> ( $2,08 \pm 0,07$ ) i Post40<sub>d</sub> ( $2,19 \pm 0,08$ ) respecte al Control ( $1,94 \pm 0,05$ ). Tot i aquests increments (màxim del 13% entre els animals Control i els Post40<sub>d</sub>) i la clara separació de tots els grups hipòxics respecte al control al confrontar gràficament la CD i la FD (Fig. 4.13), els canvis no són estadísticament significatius.



**Figura 4.13.** Valors mitjos de densitat capil·lar (CD) enfront densitat fibril·lar (FD) dels diaframes dels animals estudiats.



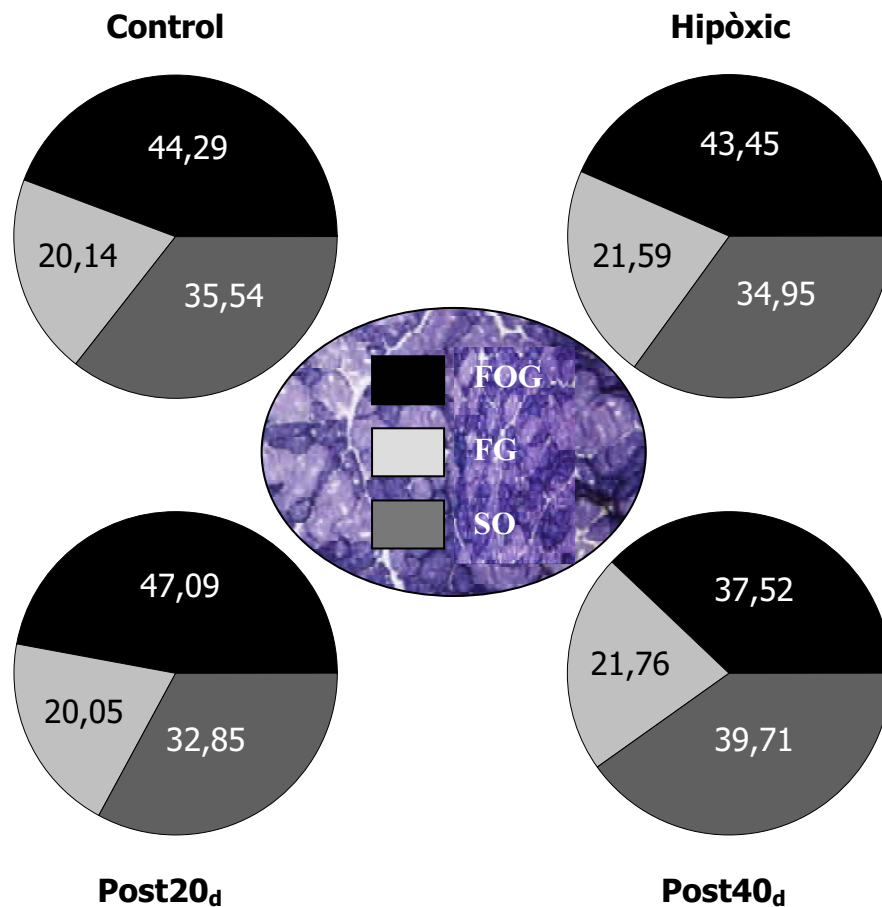
En el paràmetre **Nombre de Capil·lars en contacte amb cada Fibra (NCF)** observem la mateixa tendència en els diferents tipus de fibres musculars: un augment progressiu del nombre de capil·lars en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> (del 4% al 7%, depenent del tipus de fibra) i una petita disminució en el Post40<sub>d</sub>, però per sobre del Control (Taula 4.4). En cap dels casos els canvis són estadísticament significatius.

Tipus Fibres Grups	Tipus Fibres		
	FOG	FG	SO
Control	5,39±0,393	7,31±0,514	5,15±0,360
Hipòxic	5,80±0,484	7,74±0,823	5,34±0,389
Post20 <sub>d</sub>	5,73±0,304	7,87±0,799	5,44±0,385
Post40 <sub>d</sub>	5,53±0,371	7,62±0,574	5,25±0,272

**Taula 4.4. Nombre de capil·lars en contacte amb cada fibra (NCF)** agrupat per tipus de fibres i grups experimentals.

### 4.1.2.3 Tipologia de les fibres

Pel que fa a la **tipologia de les fibres**, observem que no hi ha canvis importants en el percentatge de fibres anaeròbiques (FG) en els diferents grups (Fig. 4.14). Quant a la proporció de les fibres oxidatives (FOG i SO) es troben modificacions remarcables. Es produeix un increment del nombre de fibres lentes (SO) en el grup Post40<sub>d</sub> i, en contraposició, una disminució del percentatge de les fibres ràpides i oxidatives (FOG) havent, en aquest últim cas, canvis estadísticament significatius (variació del 10%) entre el grup Post20<sub>d</sub> i el Post40<sub>d</sub>.



**Figura 4.14. Percentatges dels tipus de cada fibra** per a cada grup experimental en el DFG.  
**P<0,05 Post20<sub>d</sub> vs Post40<sub>d</sub> en les fibres FOG**

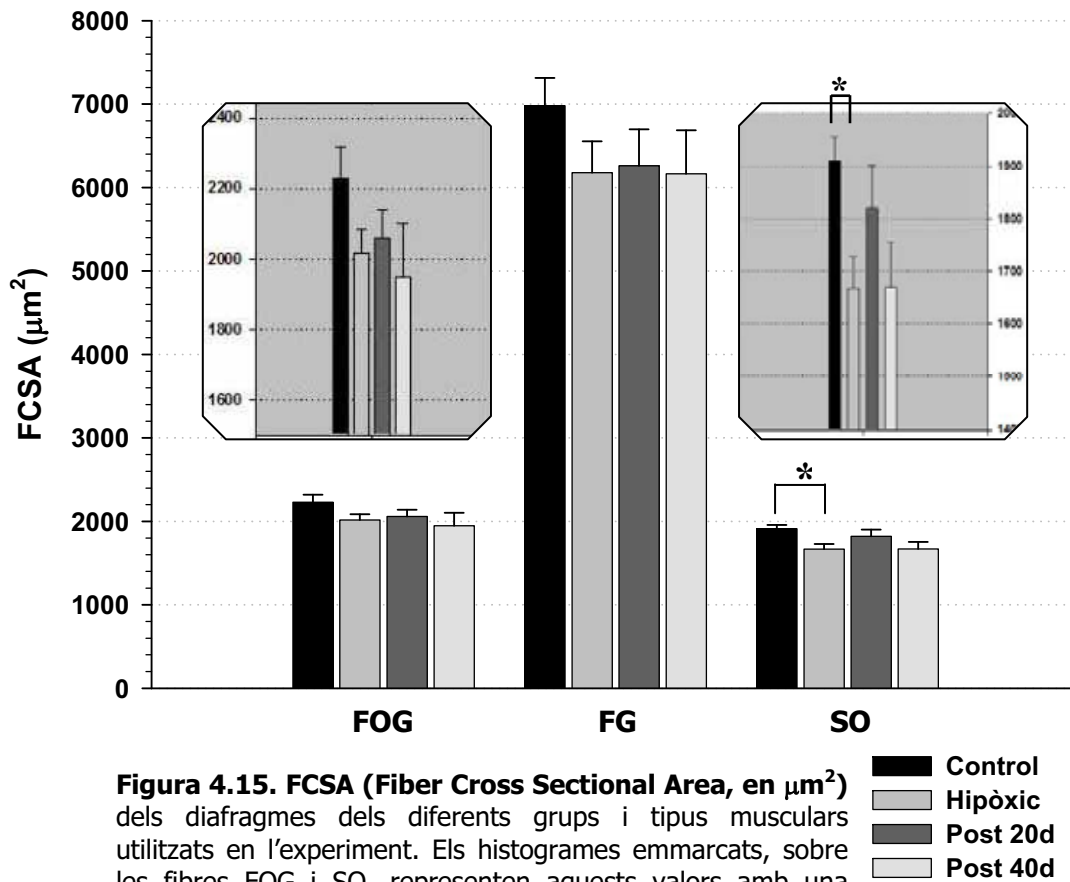
S'agruparen també les fibres per similitud de les seves propietats contràctils per observar possibles diferències en la velocitat de contracció. Així doncs, teníem en un grup les fibres ràpides (FOG+FG) i per l'altre les lentes (SO). Per altra banda també s'uniren les fibres amb característiques oxidatives similars. D'aquesta manera confrontàrem fibres oxidatives (FOG+SO) en vers fibres no oxidatives (FG). No es detectaren diferències significatives en cap de les comparacions realitzades: ni en les fibres ràpides vers les fibres lentes ni en les fibres oxidatives vers les fibres no oxidatives (Taula 4.5).

<b>GRUPS</b>	<b>FOG+FG (% fibres ràpides)</b>	<b>FOG+SO (% fibres oxidatives)</b>
<b>Control</b>	64,43	79,83
<b>Hipòxic</b>	64,05	78,40
<b>Post20<sub>d</sub></b>	67,14	79,94
<b>Post40<sub>d</sub></b>	59,28	77,23

**Taula 4.5. Valors percentuals (%)** a l'agrupar les fibres depenent, per una banda, de les seves propietats contràctils i, per l'altra, de les seves propietats oxidatives.

#### **4.1.2.4 FCSA, FPER i MDD**

Referent a l'àrea de la **secció transversal de les fibres (FCSA)** trobem una tendència a la baixa d'aquest paràmetre en tots els tipus cel·lulars (Fig. 4.15). En les fibres FOG detectem disminucions del 8% al 13%. En les fibres FG aquestes reduccions es troben al voltant de l'11% i en les fibres SO entre un 5% i un 13%. Malgrat aquestes variacions els únics canvis estadísticament significatius es troben entre el grup Control ( $1.911 \pm 45 \mu\text{m}^2$ ) i Hipòxic ( $1.667 \pm 60 \mu\text{m}^2$ ) de les fibres SO.



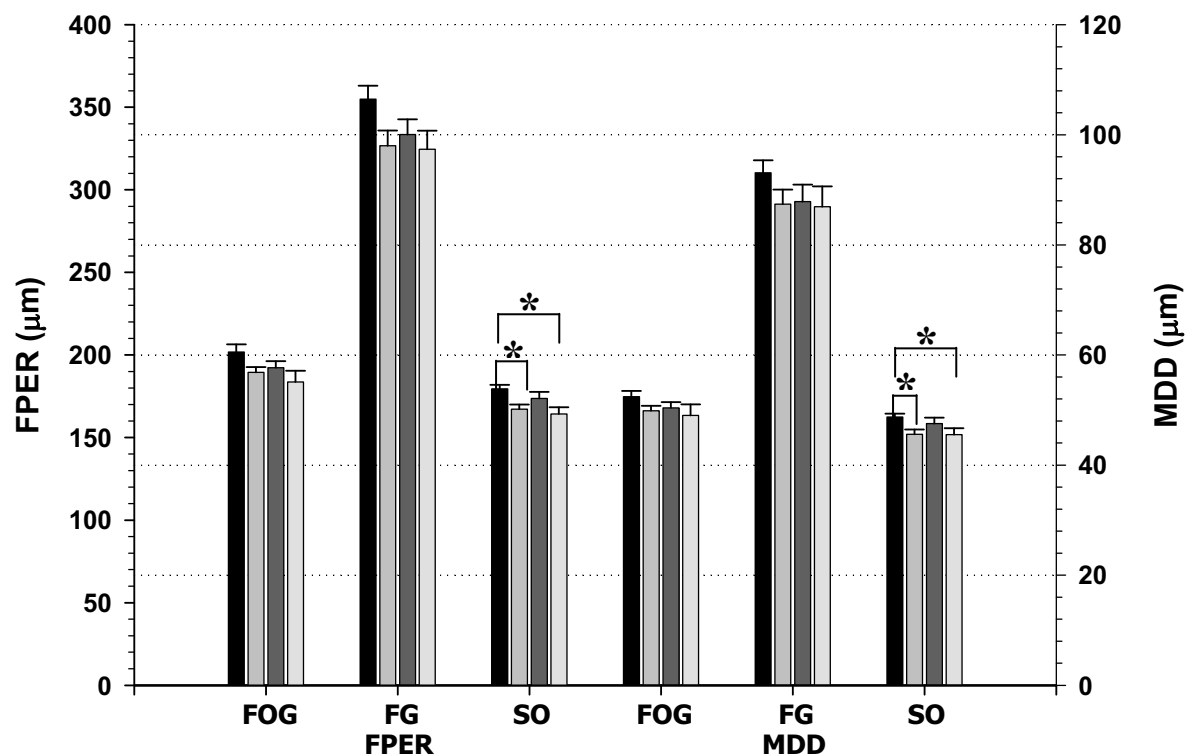
**Figura 4.15. FCSA (Fiber Cross Sectional Area, en  $\mu\text{m}^2$ )** dels diaframes dels diferents grups i tipus musculars utilitzats en l'experiment. Els histogrames emmarcats, sobre les fibres FOG i SO, representen aquests valors amb una escala ampliada.

■ Control  
 ■ Hipòxic  
 ■ Post 20d  
 ■ Post 40d

Pel que fa al **perímetre de les fibres (FPER)** trobem un comportament semblant a la FCSA: disminució de la longitud del perímetre en els grups hipòxics respecte al Control (Fig. 4.16). En les fibres FOG detectem un perímetre entre 5% i 9% menor. En les fibres FG els percentatges de disminució són molt similars i es situen entre un 6% i un 9%, mentre que en les fibres SO el perímetre es redueix entre un 3% i un 9%. De manera similar, com ja ha succeït anteriorment, els únics canvis estadísticament significatius s'han donat en el grup Hipòxic ( $167 \pm 3 \mu\text{m}$ ) i Post40<sub>d</sub> ( $164 \pm 4 \mu\text{m}$ ) respecte al Control ( $179 \pm 2 \mu\text{m}$ ) de les fibres SO.

Quant a la **màxima distància de difusió (MDD)** trobem en tots els tipus de fibra disminucions de la distància de difusió entre el 4% i el 8% (Fig. 4.16). Altre cop els únics canvis estadísticament significatius els trobem entre els

grups Hipòxic ( $45 \pm 0,8 \mu\text{m}$ ) i Post40<sub>d</sub> ( $45 \pm 1 \mu\text{m}$ ) respecte el Control ( $49 \pm 0,6 \mu\text{m}$ ) de les fibres SO.



**Figura 4.16. Perímetre (FPER) i distància de difusió (MDD) dels diferents grups d'animals experimentals i tipus de fibra muscular en el diafragma.**

■ Control  
 □ Hipòxic  
 ■ Post 20d  
 □ Post 40d

Degut a la diferència considerable de les mides dels diferents tipus de fibres i un cop coneixedors dels percentatges de cada tipus i de les FCSA per a cada grup i condició experimental, calcularem el percentatge de superfície sobre l'àrea total =  $\frac{(\% \text{ Fibra} \cdot \text{FCSA Fibra})}{\text{Àrea total}} \cdot 100$ , que ocupava cada tipus de fibra.

A l'igual que passava amb el tipus de fibra muscular, només observarem diferències significatives entre els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub> de les fibres FOG, és a dir, que per a la resta d'animals no varia la superfície ocupada per a cada tipus de fibra muscular (Taula 4.6).

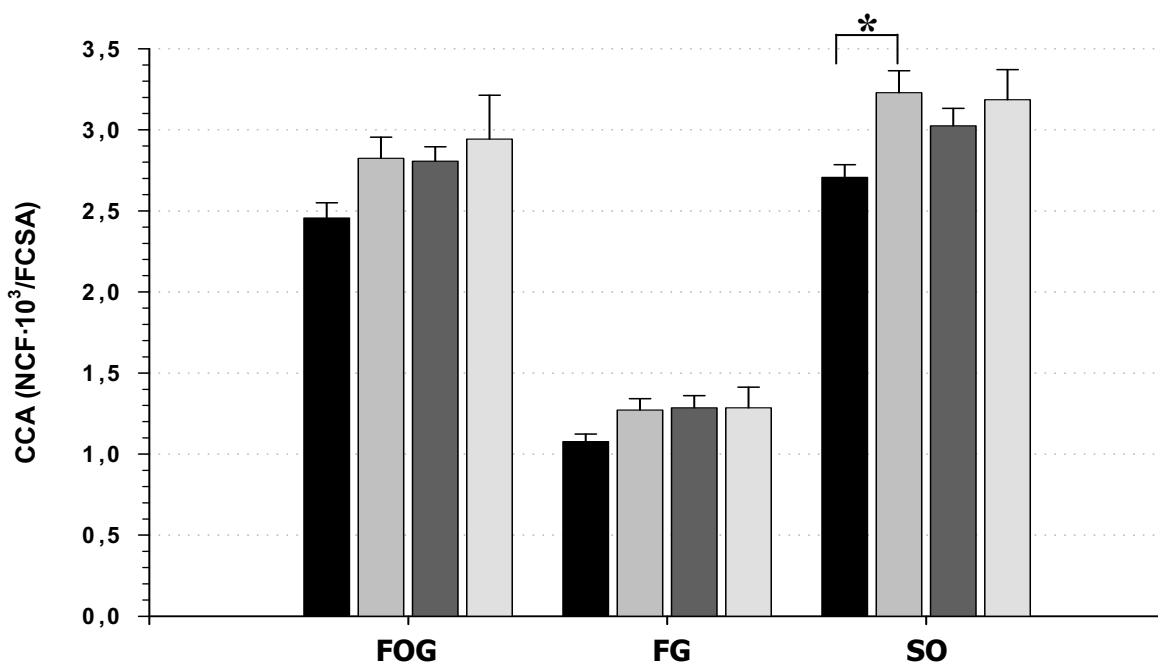
De manera anàloga a la Taula 4.5 (pàg. 116) també posteriorment s'agruparen les fibres depenent de les seves propietats contràctils (ràpides: FOG+FG) o de les seves característiques oxidatives (aeròbiques: FOG+SO). Amb aquestes agrupacions tampoc observem canvis estadísticament significatius.

	%FCSA			%FCSA	
	FOG	FG	SO	FOG+FG	FOG+SO
<b>Control</b>	32,08	45,74	22,19	77,81	54,26
<b>Hipòxic</b>	30,81	48,61	20,58	79,42	51,39
<b>Post20<sub>d</sub></b>	33,89	45,05	21,06	78,94	54,95
<b>Post40<sub>d</sub></b>	26,42	49,41	24,17	75,83	50,59

**Taula 4.6. Percentatges de superfície sobre l'àrea total** que ocupa cada tipus de fibra en els diferents grups d'animals i condicions experimentals. En les 2 últimes columnes de la dreta s'agrupen les fibres depenent de les seves propietats contràctils (FOG+FG) o de les seves característiques oxidatives (FOG+SO).  $P < 0,05$  Post20<sub>d</sub> vs Post40<sub>d</sub> en les fibres FOG.

#### 4.1.2.6 CCA i CCP

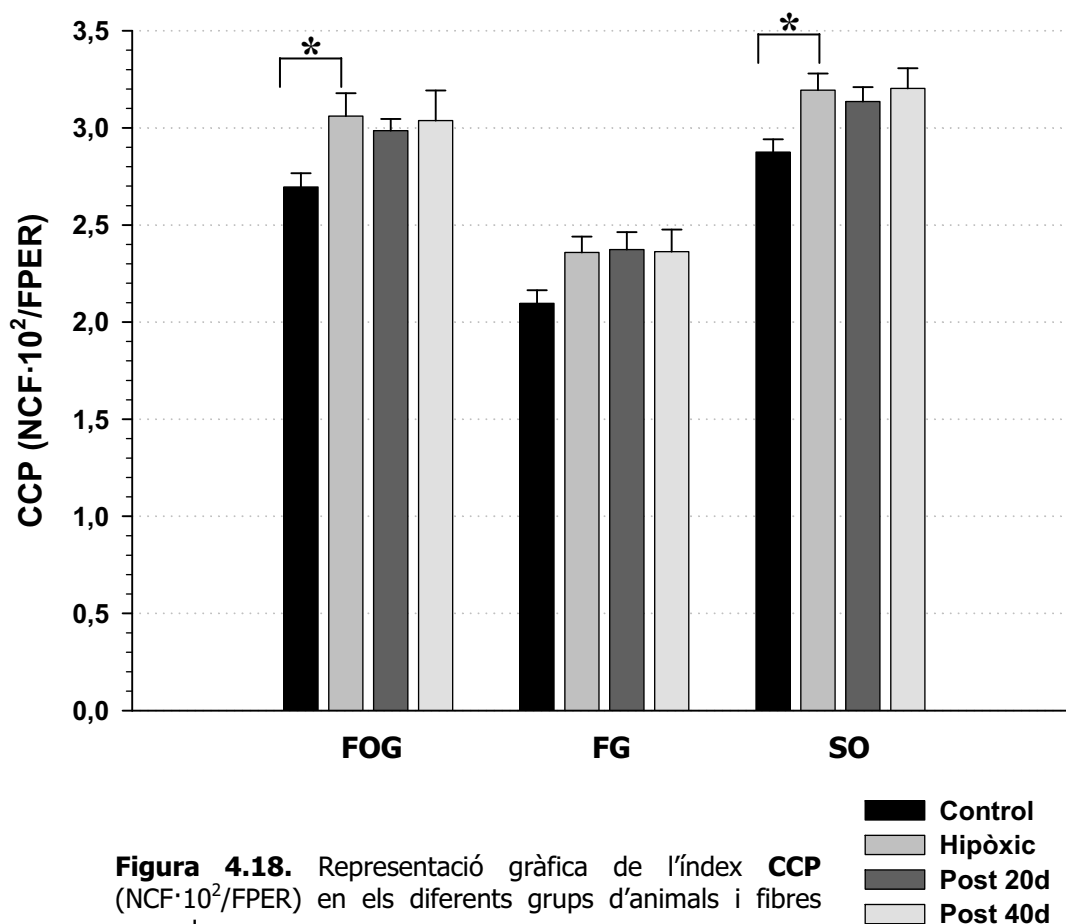
En l'índex **CCA** ( $NCF \cdot 10^3 / FCSA$ ) s'aprecien augments (del 12% al 19%) en els grups hipòxics (Hipòxic, Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>) respecte al Control en els 3 tipus de fibres musculars (Fig. 4.17), però l'únic increment estadísticament significatiu es dona entre els grup Control ( $2,7 \pm 0,08$ ) i Hipòxic ( $3,2 \pm 0,1$ ) de les fibres SO.



**Figura 4.17.** Representació gràfica de l'índex **CCA** ( $NCF \cdot 10^3 / FCSA$ ) en els diaframes dels diferents grups d'animals i fibres musculars.



Pel que fa a l'índex **CCP** ( $\text{NCF} \cdot 10^2 / \text{FPER}$ ) detectem una tendència similar a l'anterior (augment dels valors en el grups hipòxics respecte al control) però en percentatges d'augment inferior, en aquest cas del 9% al 14%, depenent dels grups (Fig. 4.18). Detectem canvis estadísticament significatius entre el grup Control i Hipòxic dels 2 tipus de fibres oxidatives: FOG (Control:  $2,7 \pm 0,08$  i Hipòxic:  $3,1 \pm 0,1$ ) i SO (Control:  $2,8 \pm 0,06$  i Hipòxic:  $3,2 \pm 0,08$ ).



**Figura 4.18.** Representació gràfica de l'índex **CCP** ( $\text{NCF} \cdot 10^2 / \text{FPER}$ ) en els diferents grups d'animals i fibres musculars.

#### 4.1.2.5 Shape Factor

En referència a la **morfologia** (Shape Factor) observem un lleuger augment (màxim del 3%) de l'esfericitat en tots els tipus de fibres hipòxiques quan es comparen amb el control, però sense que aquest sigui estadísticament significatiu (Taula 4.7).

	<b>FOG</b>	<b>FG</b>	<b>SO</b>
<b>Control</b>	0,68±0,04	0,69±0,05	0,74±0,01
<b>Hipòxic</b>	0,70±0,02	0,71±0,02	0,74±0,02
<b>Post20<sub>d</sub></b>	0,69±0,02	0,69±0,05	0,75±0,03
<b>Post40<sub>d</sub></b>	0,72±0,02	0,72±0,03	0,77±0,02

**Taula 4.7. Valors de morfologia (Shape Factor)** dels diferents grups d'animals i segons els diferents tipus de cèl·lules musculars.

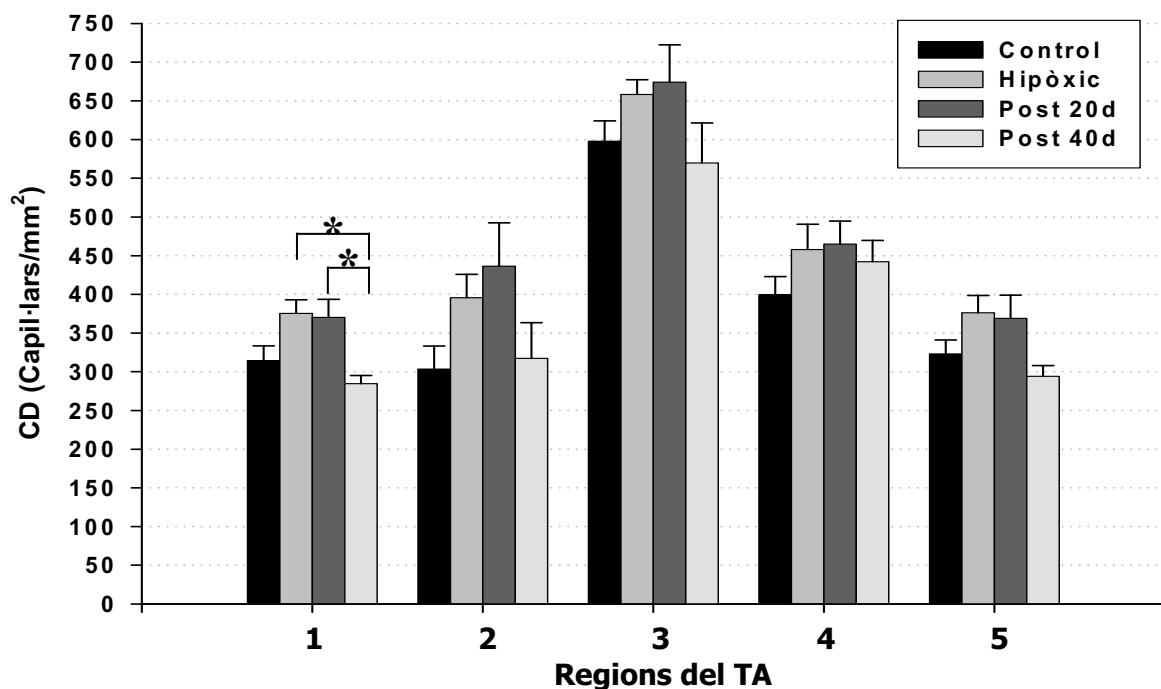


### 4.1.3 TIBIALIS ANTERIOR

En el *tibialis anterior* es van analitzar 5 camps o regions diferents (veure 3.2.1.3 "*Tibialis anterior*" pàg. 75). Els resultats obtinguts són mostrats per paràmetres d'estudi. Sovint, si els resultats obtinguts en els 5 camps són homogenis es fa un comentari general focalitzant l'interés en els camps on s'ha produït els canvis més remarcables. Si hi ha diferents modificacions en les regions es passaran a detallar individualment per camp o regió. Les comparacions sempre es fan entre els diferents grups d'estudi de la mateixa regió analitzada.

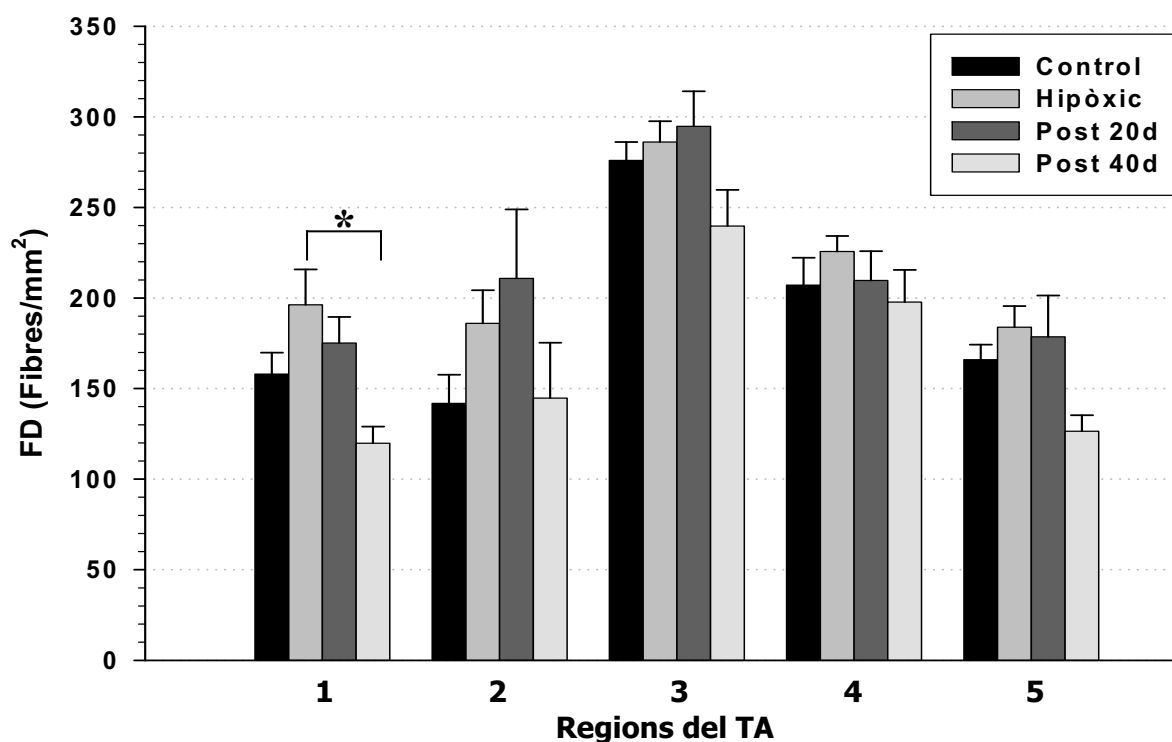
#### 4.1.3.1 Densitat capil·lar i densitat de fibres

Ens els 5 camps estudiats trobem un comportament similar en l'evolució de la **densitat capil·lar**,  $CD = \text{capil·lars/mm}^2$  (Fig. 4.19). Detectem un augment de la capil·larització en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, respecte al Control, entre un 10% i un 20% en totes les regions, a excepció de la zona 2 on el creixement és del 30% i el 44%, respectivament. En el grup Post20<sub>d</sub> observem una recuperació dels valors de capil·larització fins al nivell del grup Control, fins i tot per sota en la regió 1, 3 i 5. Els únics canvis estadísticament significatius es produeixen entre els grups Hipòxic ( $375 \pm 17$  capil·lars/mm<sup>2</sup>) i Post20<sub>d</sub> ( $370 \pm 23$  capil·lars/mm<sup>2</sup>) respecte al Post40<sub>d</sub> ( $284 \pm 11$  capil·lars/mm<sup>2</sup>) de la regió 1 del *tibialis anterior*.



**Figura 4.19.** Densitat capil·lar (capil·lars/mm<sup>2</sup>) de les 5 regions analitzades per a cada *tibialis anterior* en els 4 grups experimentals.

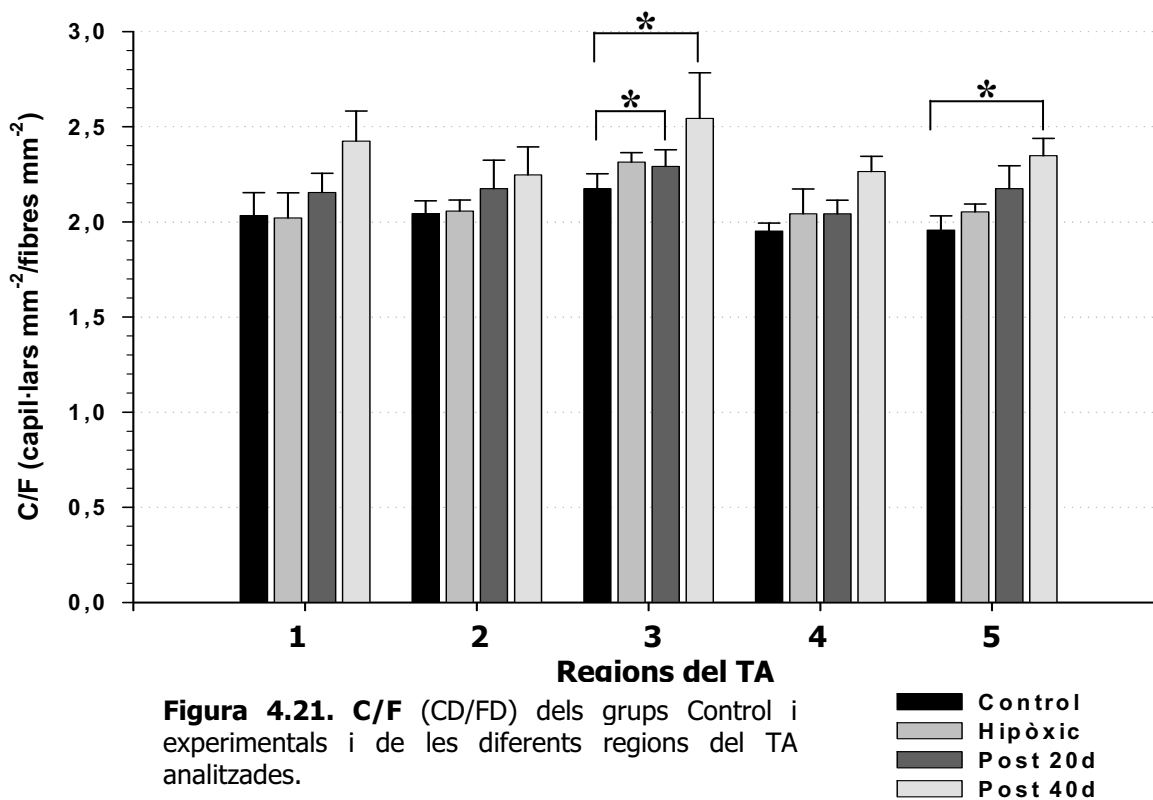
Respecte a la **densitat de fibres** (FD=fibres/mm<sup>2</sup>) observem una tendència similar a l'anterior (Fig. 4.20): augment del nombre de fibres en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, respecte al Control (entre un 4% i un 20%, a excepció de la regió 2 on el creixement és del 32% i 49%, respectivament), i una recuperació dels valors en el grup Post40<sub>d</sub> fins a valors, fins i tot per sota del grup Control en 4 de les 5 regions estudiades: 1, 3, 4 i 5. L'única diferència estadísticament significativa es produeix entre els grups Hipòxic (196±12 fibres/mm<sup>2</sup>) i Post40<sub>d</sub> (120±9 fibres/mm<sup>2</sup>) de la regió 1.



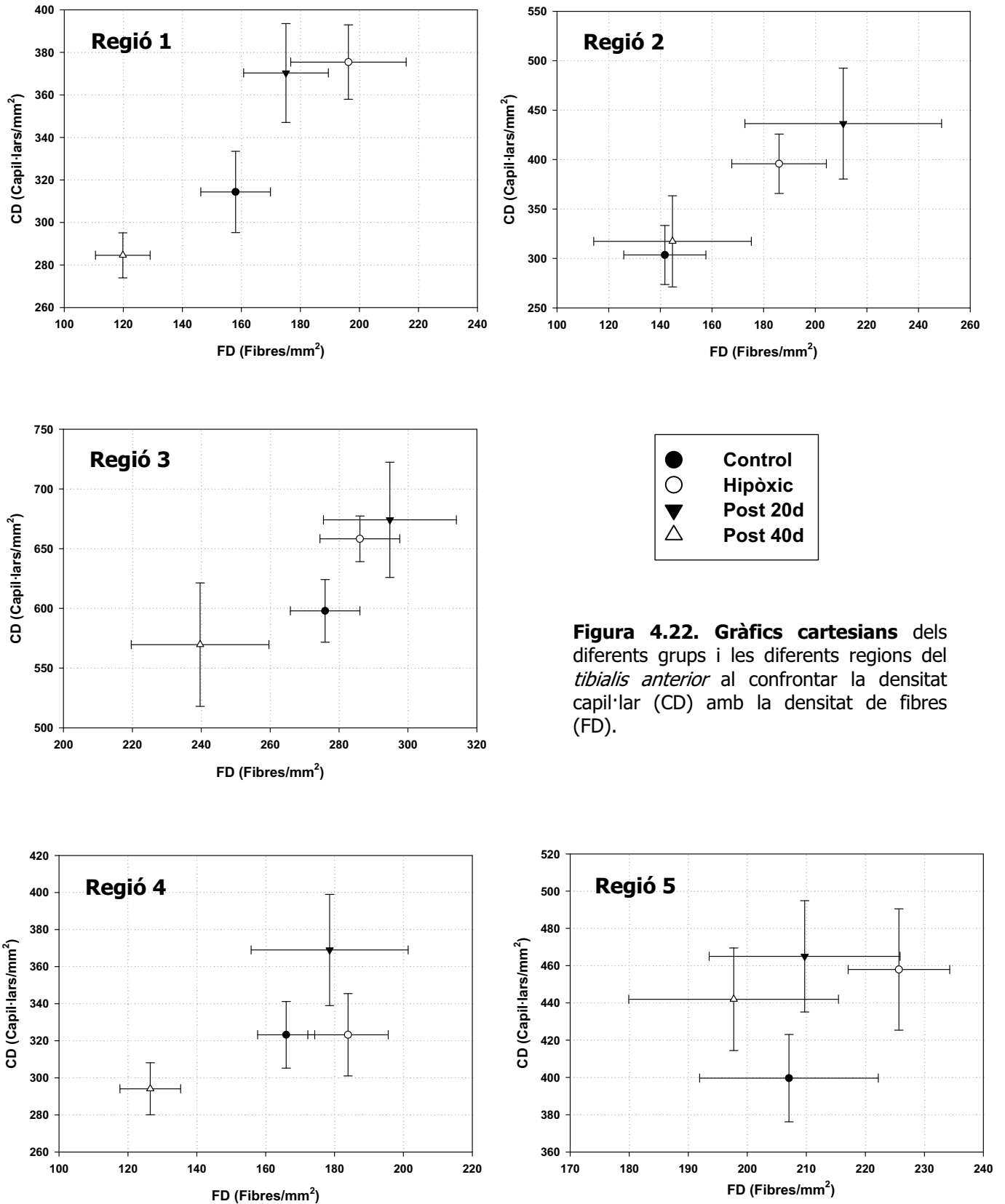
**Figura 4.20. Densitat fibril·lar** (fibres/mm<sup>2</sup>) de les 5 regions analitzades per a cada *tibialis anterior* en els diferents grups experimentals.

#### 4.1.3.2 C/F

En el quocient C/F (CD/FD=capil·lars·mm<sup>-2</sup>/fibres·mm<sup>-2</sup>) detectem una tendència a l'alça en tots els grups hipòxics quan es comparen amb el Control, essent el grup Post40<sub>d</sub> el que obté un major valor en totes les regions analitzades (Fig. 4.21). Aquests increments arriben a ser del 20% en determinades regions i comparacions però per terme mig són d'un 10%. Els increments estadísticament significatius els trobem en la regió 4 al comparar els grups Control (1,9±0,04) i Post20<sub>d</sub> (2,24±0,07) i Control i Post40<sub>d</sub> (2,26±0,08). I també entre el Control (1,9±0,07) i el Post40<sub>d</sub> (2,3±0,09) de la zona 5.



Es confrontaren en gràfics cartesianes les CD i les FD per a cada regió i per a cada grup experimental observant una distribució diferencial dels diferents animals en les diferents zones (Fig. 4.22). En totes les regions observem que els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> se situen en coordenades similars. En la regió 2 observem que els grups Control i Post40<sub>d</sub> adopten una situació quasi idèntica. Mentre que en les regions 1, 3 i 4, el grup Control es posiciona en una situació intermèdia entre el conjunt Hipòxic i Post20<sub>d</sub> i el grup Post40<sub>d</sub>. En la regió 5 el Control es diferencia de la resta dels grups hipòxics.



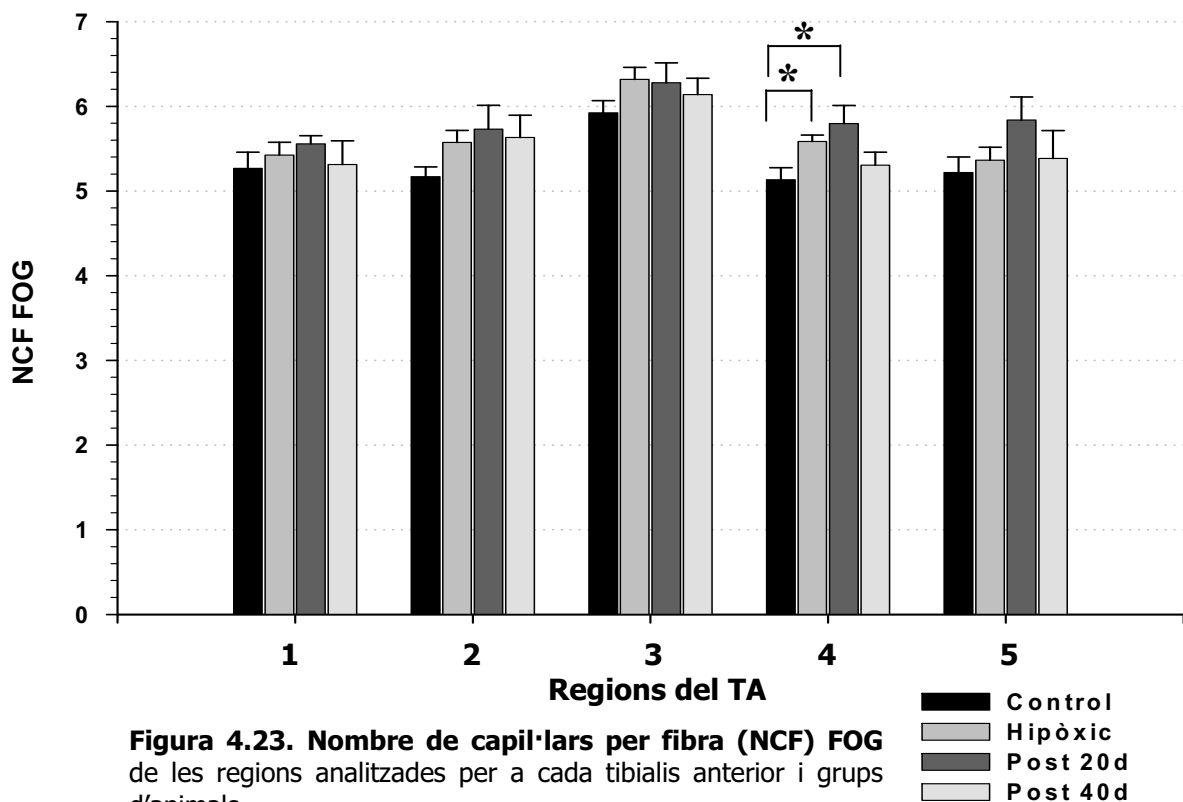
**Figura 4.22. Gràfics cartesianes** dels diferents grups i les diferents regions del *tibialis anterior* al confrontar la densitat capil·lar (CD) amb la densitat de fibres (FD).

### 4.1.3.3 NCF

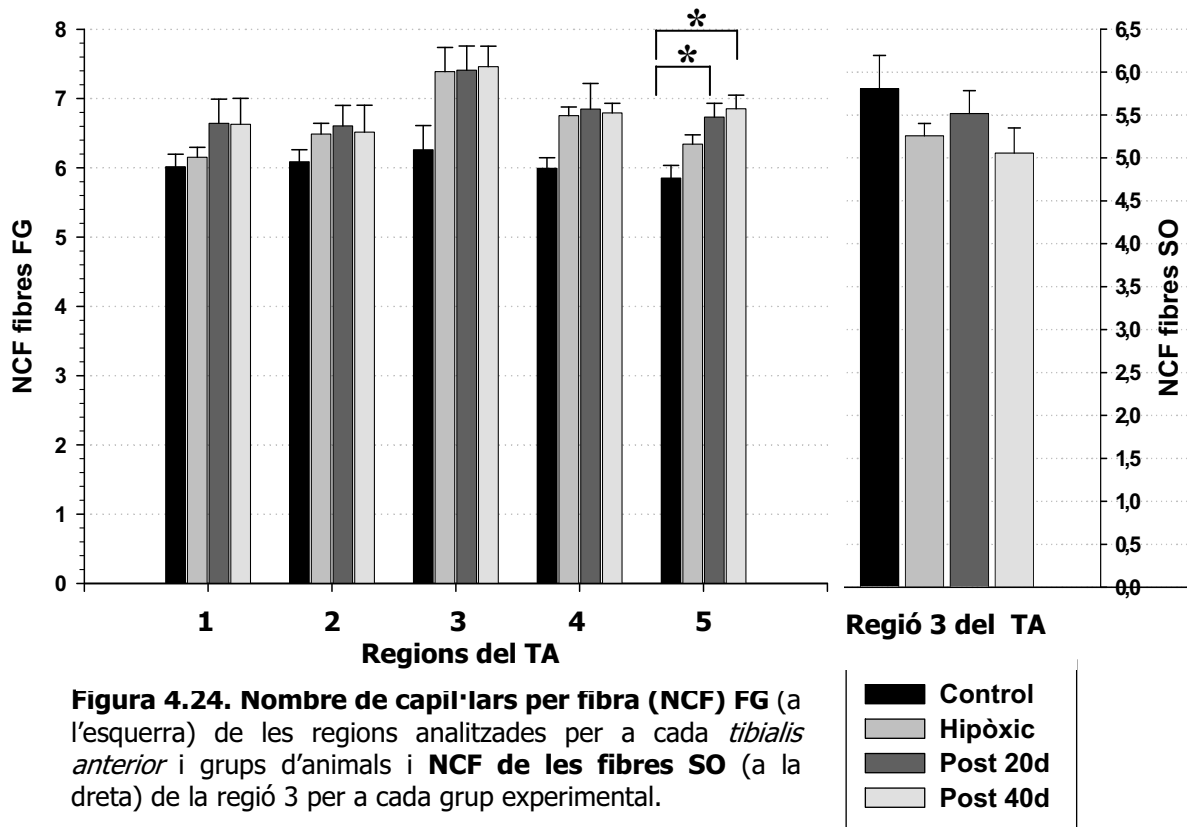
En aquest paràmetre hem de tenir en compte el nombre de capil·lars en contacte en cada un dels diferents tipus de fibra (FOG, FG i SO) i de la regió estudiada (1, 2, 3, 4 i 5).

En les fibres **FOG** trobem la mateixa tendència en totes les regions analitzades (Fig. 4.23). Un augment del NCF en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, entre el 3% i el 13%, i una recuperació del paràmetre en el grup Post40<sub>d</sub>, obtenint uns valors aproximats d'un 5% superiors als Control. Només es donen variacions estadísticament significatives entre els grups Control ( $5,13 \pm 0,14$ ) i Hipòxic ( $5,58 \pm 0,07$ ) i Control i Post20<sub>d</sub> ( $5,79 \pm 0,21$ ) de la regió 4.

Quant a les fibres **FG** el comportament és molt similar al de les fibres FOG (Fig. 4.24). Augment dels valors respecte al Control en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> (del 2% al 18%) i una estabilització en el Post40<sub>d</sub> (del 5% al 19%, respecte al Post20<sub>d</sub>) a excepció de la regió 3 i 5, on els valors del Post40<sub>d</sub> són superiors a tots els altre grups. Essent els augments entre Control ( $5,85 \pm 0,18$ ) i Post20<sub>d</sub> ( $6,73 \pm 0,19$ ) i Control i Post40<sub>d</sub> ( $6,85 \pm 0,19$ ) de la regió 5 estadísticament significatius.



En les fibres **SO**, que només trobem en la regió 3, hi ha una disminució esglaonada del NCF entre el Control i els grups Hipòxic, Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub> del 9%, 5% i 13%, respectivament (Fig. 4.24). Cap de les disminucions és estadísticament significativa.



**Figura 4.24.** Nombre de capil·lars per fibra (NCF) FG (a l'esquerra) de les regions analitzades per a cada *tibialis anterior* i grups d'animals i **NCF de les fibres SO** (a la dreta) de la regió 3 per a cada grup experimental.

#### 4.1.3.4 Tipologia de les fibres

En aquest cas s'estudiaren els diferents percentatges de cada tipus de fibra, per a cada regió i condició experimental (Fig. 4.25). En 4 dels 5 camps analitzats trobem únicament 2 tipus de fibres: FOG i FG, i només en el camp 3 també es detecten fibres tipus SO. Per la qual cosa, trobarem canvis oposats en els percentatges de les fibres FOG i FG dels camps 1, 2, 4 i 5.

##### *Camp 1:*

En les fibres **FOG** observem un augment en el percentatge d'aquestes en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, respecte al Control, del 7% i 8%, respectivament, i una recuperació dels valors fins aproximar-se al Control en el grup Post40<sub>d</sub> (Fig. 4.25). En les fibres **FG** detectem una reducció del percentatge d'aquestes en el

grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, respecte el Control, del 7% i 8%, respectivament. En el grup Post40<sub>d</sub> només trobem una variació del 3% respecte el Control. Havent-hi canvis estadísticament significatius entre el Control i el grups Hipòxic i el Control i el grup Post20<sub>d</sub> per ambdós tipus de fibra.

#### Camp2:

En aquesta regió, com en l'anterior, trobem un increment del percentatge de les fibres **FOG** en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, respecte al Control, del 2% i 7% respectivament (Fig. 4.25). En canvi, en el grup Post40<sub>d</sub> observem uns percentatges més baixos (8%) que els valors Control. Quant a les fibres **FG** la tendència és a la inversa: disminucions dels percentatges, comparats amb el Control, en el grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> d'un 2% i 7% respectivament, i una recuperació dels valors en el grup Post40<sub>d</sub> fins a percentatges un 8% superior al Control. En les fibres FG els canvis observats no són estadísticament significatius. Les diferències entre el grup Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>, d'un 15% en ambdós tipus de fibres, són estadísticament significatives.

#### Camp 3:

En aquesta regió és en la única zona del *tibialis anterior* on hi ha els 3 tipus diferents de fibres musculars (FOG, FG i SO).

Troblem un augment del percentatge de fibres **FOG**, respecte al Control, en els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub> del 3% i 6%, respectivament. En el grup Hipòxic la variació és inferior a l'1%. En les fibres **FG** detectem en el grup Hipòxic un percentatge similar al Control. En el Post20<sub>d</sub> hi ha una petita davallada de l'1% dels valors i finalment, en el Post40<sub>d</sub> detectem un increment respecte al Control d'un 2%. Respecte les fibres **SO** observem una davallada progressiva del 2% al 8% en els grups Hipòxic, Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>, respectivament i en comparació amb el Control. Cap dels canvis produïts en els tres tipus de fibres són estadísticament significatius.

*Camp 4:*

En les fibres **FOG** detectem un increment en el percentatge d'aquestes fibres en els grups experimentals: Hipòxic i Post40<sub>d</sub> del 3% i 2% respectivament, en comparació amb el Control. Pel que fa a les fibres **FG**, com era d'esperar, trobem petites disminucions en els grups següents respecte el Control: Hipòxic (3%) i Post40<sub>d</sub> (2%). En el grup Post20<sub>d</sub> no observem diferències en cap dels dos tipus de fibra, així com que cap dels canvis detectats, ni en FOG ni en FG, són estadísticament significatius.

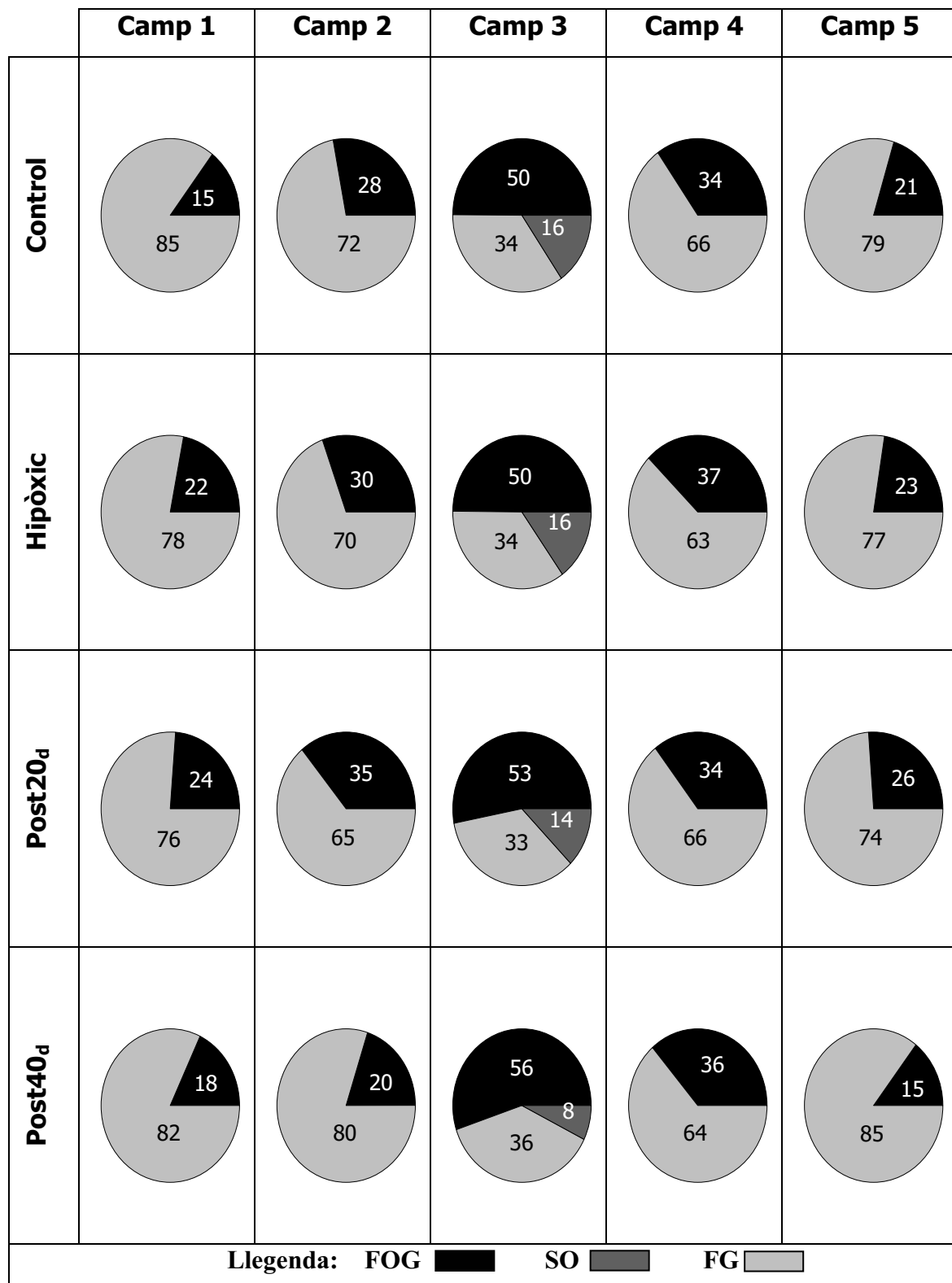
*Camp 5:*

En aquesta zona trobem un increment del percentatge de les fibres **FOG**, respecte el Control, dels grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> del 2% i 5%, respectivament. En canvi, en el grup Post40<sub>d</sub> observem uns percentatges encara més baixos (6%) que els valors Control. En les fibres **FG** la tendència és a la inversa: disminucions dels percentatges, comparats amb el Control, en el grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> d'un 2% i 5%, respectivament, i una recuperació dels valors en el grup Post40<sub>d</sub> fins a percentatges un 6% superior al Control. No són estadísticament significatives cap de les variacions detectades en els dos tipus de fibres.

En general, a l'observar les 5 regions es constata que es produeix una tendència a l'augmentar el percentatge de les fibres oxidatives en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> i una davallada dels valors en el grup Post40<sub>d</sub> fins arribar a valors del nivell del Control o fins i tot per sota en les regions 2, 3 i 5.

En la regió 4 l'evolució de l'efecte de la hipòxia no està tan linealitzat i són més erràtics els canvis en els percentatges de les seves fibres.





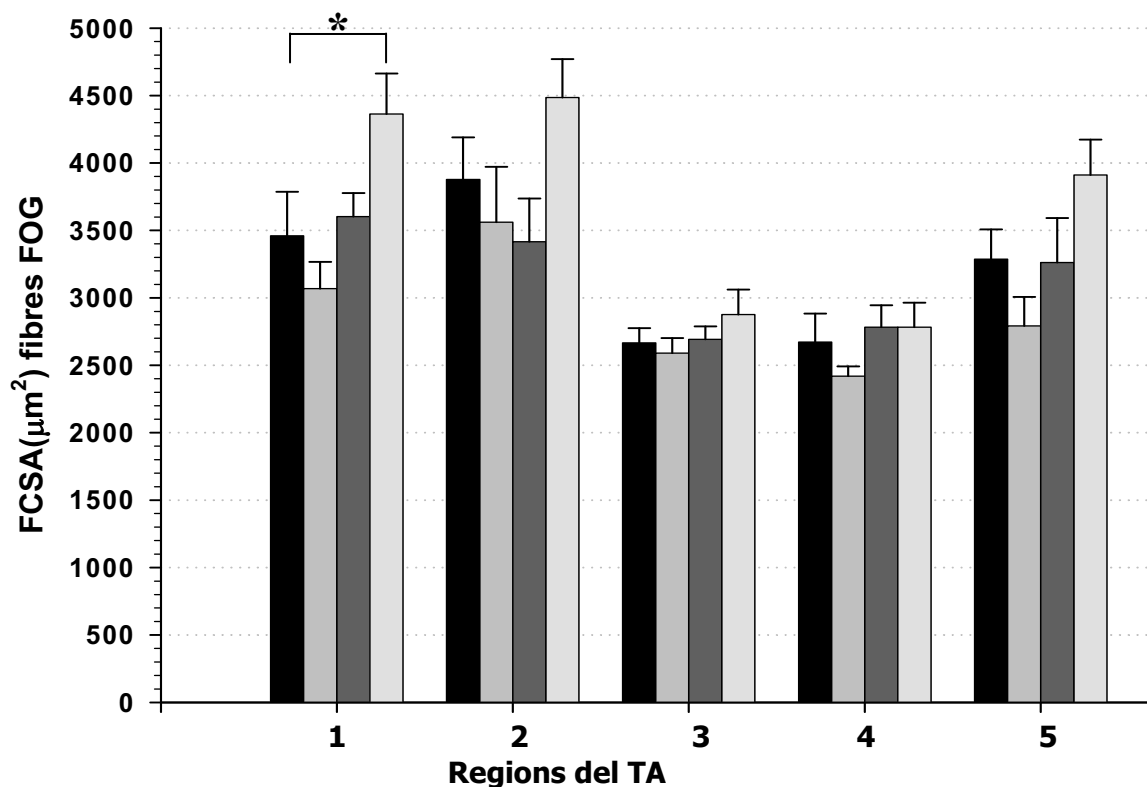
**Figura 4.25. Tipologia de les fibres** dels diferents grups experimentals i regions d'estudi del *tibialis anterior*. Els valors indiquen %.

**P<0,05** en el camp 1: Control vs Hipòxic i Control vs Post20<sub>d</sub>. Camp 2: Post20<sub>d</sub> vs Post40<sub>d</sub>.  
En els altres camps no es detecten diferències significatives.

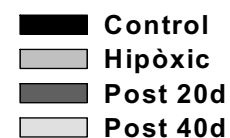
Recordem (veure apartat 3.3.2.4 "*Mesures i paràmetres morfomètrics*" pàg. 82) que quan parlem d'àrea ens referim a la superfície de la secció transversal de la fibra muscular (FCSA).

*Camp 1:*

En aquesta regió detectem la mateixa evolució en la FCSA en les fibres FOG (Fig. 4.26) i FG (Fig. 4.27). En tots dos tipus de fibres observem una disminució de l'àrea de l'11% en el grup Hipòxic respecte al Control, una recuperació de la mida en el grup Post20<sub>d</sub>, fins a situar-se en valors pròxims al Control, i finalment, unes superfícies majors en el grup Post40<sub>d</sub> (26% en les fibres FOG i 32% en les FG) respecte el Control. En les fibres FOG la variació entre el grup Hipòxic i Post40<sub>d</sub> és estadísticament significativa. Per altra banda, en les fibres FG totes les comparacions amb el grup Post40<sub>d</sub> (Control, Hipòxic i Post20<sub>d</sub>) són també estadísticament significatives.

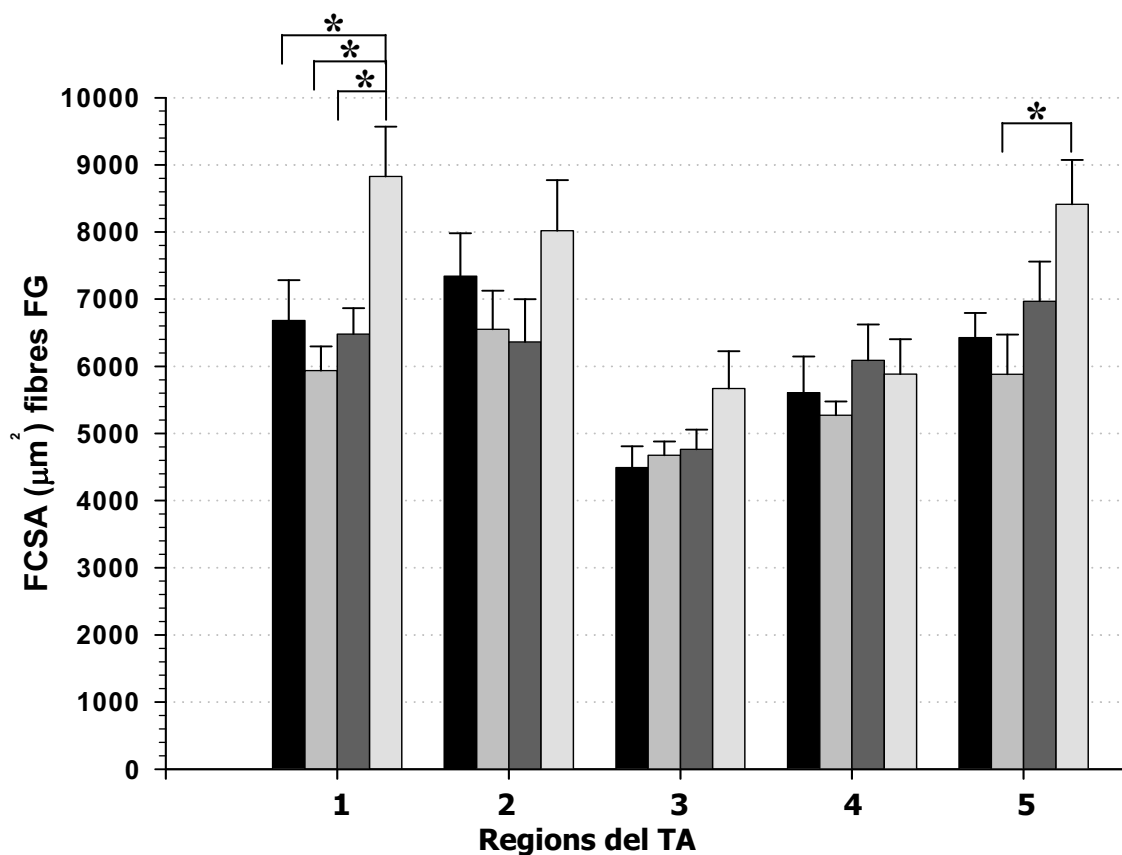


**Figura 4.26.** FCSA (àrees en  $\mu\text{m}^2$ ) de les fibres FOG dels grups experimentals i de les regions analitzades del *tibialis anterior*.

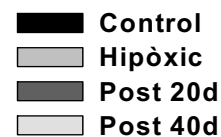


*Camp 2:*

Com ja ha passat amb el camp anterior trobem que els dos tipus de fibres musculars que existeixen en aquest regió (FOG i FG) tornen a tenir tendències idèntiques (Fig. 4.27 i 4.27). Sempre respecte al Control, observem unes disminucions de les àrees en els grups Hipòxic (8% en FOG i 11% en FG) i Post20<sub>d</sub> (12% en FOG i 13% en FG) i un increment dels valors en el grup Post40<sub>d</sub> fins arribar a nivells superiors al Control (16% en FOG i 9% en FG). Cap dels canvis detectats són estadísticament significatius.



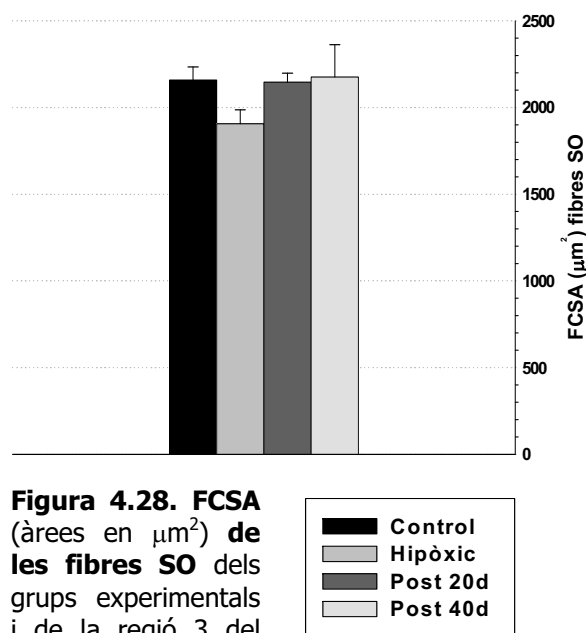
**Figura 4.27.** FCSA (àrees en  $\mu\text{m}^2$ ) de les fibres FG dels grups experimentals i de les regions analitzades del *tibialis anterior*.



*Camp 3:*

En les fibres **FOG** d'aquesta zona observem unes disminucions molt minses del grup Hipòxic (1%) i Post20<sub>d</sub> (3%), respecte el Control, i un augment de la superfície en el Post40<sub>d</sub> fins a nivells superiors (8%) al Control (Fig. 4.26 i 4.27). Cap d'aquests canvis són estadísticament significatius. Quant a les fibres

**FG**, trobem un augment progressiu de la mida en tots els grups respecte el Control: Hipòxic 4%, Post20<sub>d</sub> 6% i Post40<sub>d</sub> 26%, però cap dels increments és estadísticament significatiu. Respecte les fibres **SO** notem una disminució de la superfície en el grup Hipòxic de l'11%. Però després, en els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub> els valors tornen al nivell del Control, amb variacions inferiors a l'1% en ambdós grups (Fig. 4.28). No es detecten canvis estadísticament significatius.



**Figura 4.28. FCSA** (àrees en  $\mu\text{m}^2$ ) **de les fibres SO** dels grups experimentals i de la regió 3 del *tibialis anterior*.

*Camp 4:*

En aquesta regió observem que les fibres **FOG** del grup Hipòxic mostren una disminució del 10% en la seva àrea, respecte el Control. En canvi, el grup Post20<sub>d</sub> té un augment del 4% en la mida i el grup Post40<sub>d</sub> no presenta variacions comparat amb el Control (Fig. 4.26). Pel que fa a les fibres **FG** detectem un comportament desigual a les fibres anteriors (Fig. 4.27). Observem una disminució del 6% en el grup Hipòxic, però en canvi es produeix un augment en els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub> (6% i 9%, respectivament), sempre comparat amb el Control. Cap de les modificacions són estadísticament significatives.

*Camp 5:*

En primer lloc, en les fibres **FOG** observem una disminució de l'àrea del 15% en el grup Hipòxic (Fig. 4.26). En el grup Post20<sub>d</sub> els valors es recuperen respecte a l'Hipòxic i es situen al mateix nivell que el Control. Finalment, el grup Post40<sub>d</sub> té un augment d'un 15% en la seva superfície, en comparació amb el Control. Referent a les fibres **FG** també trobem (com ja passava en les fibres FOG) una disminució de l'àrea (Fig. 4.27), en aquest cas de l'ordre del 8%, respecte el Control. En els dos altres grups (Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>) detectem un augment en la mida de les fibres del 8% i 30% respectivament, en comparació amb el Control. La variació d'un 38% entre el grup Hipòxic i el Post40<sub>d</sub> és estadísticament significativa.

Malgrat que a simple vista ja s'observava que el TA era un múscul eminentment anaeròbic (alts percentatges de fibres FG junt a alts valors de FCSA), a l'igual que en el DFG també calculàrem la superfície relativa de cada tipus de fibra respecte a l'àrea total. Addicionalment, com abans, també agrupàrem les fibres depenent de les seves característiques contràctils i del metabolisme oxidatiu. Recordem que el càlcul del % de superfície de cada tipus de fibra sobre el total ve donat per:  $(\frac{(\% \text{ Fibra} \cdot \text{FCSA Fibra})}{\text{Àrea total}}) \cdot 100$  que ocupava cada tipus de fibra, però en el conjunt de tots els camps (Taula 4.8). En aquests resultats s'unificaren tots els camps per tal de poder-se simplificar i discutir en els apartats bioquímics, ja que allí es considera tot el múscul sense considerar els tipus de fibres.

	%FCSA			%FCSA	
	FOG	FG	SO	FOG+FG	FOG+SO
<b>Control</b>	17,30	81,37	1,33	98,67	18,63
<b>Hipòxic</b>	19,41	79,31	1,28	98,72	20,69
<b>Post20<sub>d</sub></b>	20,90	77,97	1,13	98,87	22,03
<b>Post40<sub>d</sub></b>	15,39	84,07	0,55	99,45	15,93

**Taula 4.8: Percentatges de superfície sobre l'àrea total** que ocupa cada tipus de fibra en els diferents grups d'animals i condicions experimentals. En les 2 últimes columnes de la dreta s'agrupen les fibres depenent de les seves propietats contràctils (fibres ràpides: FOG+FG) o de les seves característiques oxidatives (fibres oxidatives: FOG+SO).

No observarem diferències significatives en les dimensions de cap dels tipus de fibres, és a dir, que per a cada conjunt d'animals no varia la superfície per a cada un dels tipus de fibra muscular, encara que s'observa un petit augment de l'àrea total de les fibres FOG i del conjunt oxidatiu en els grups Post20<sub>d</sub>.

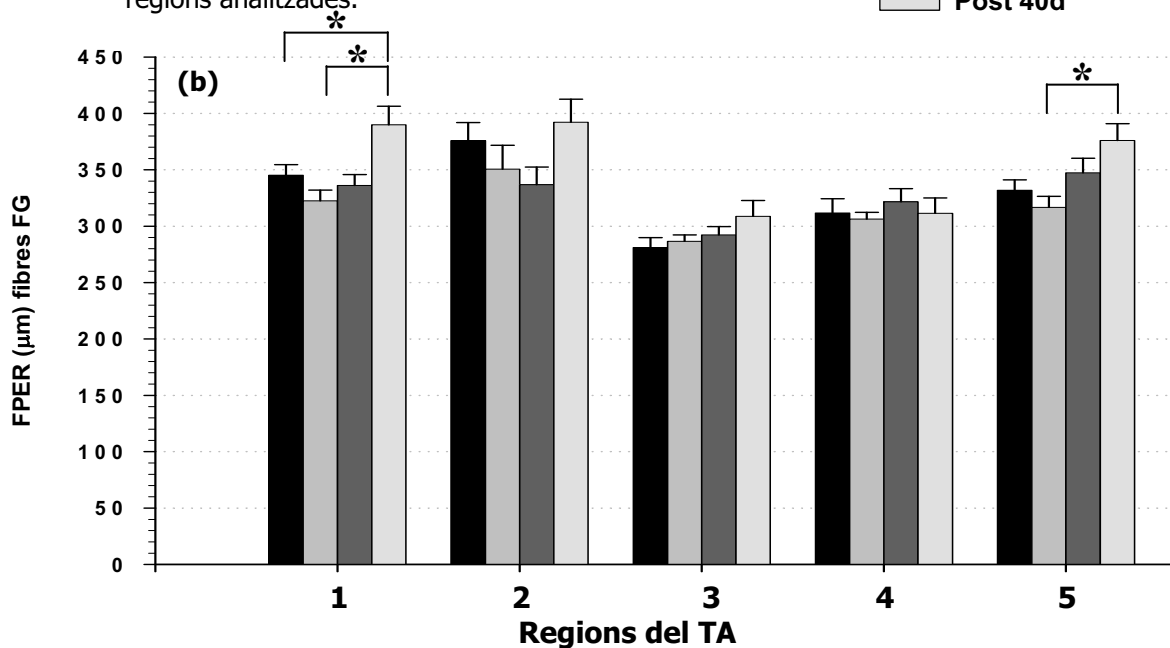
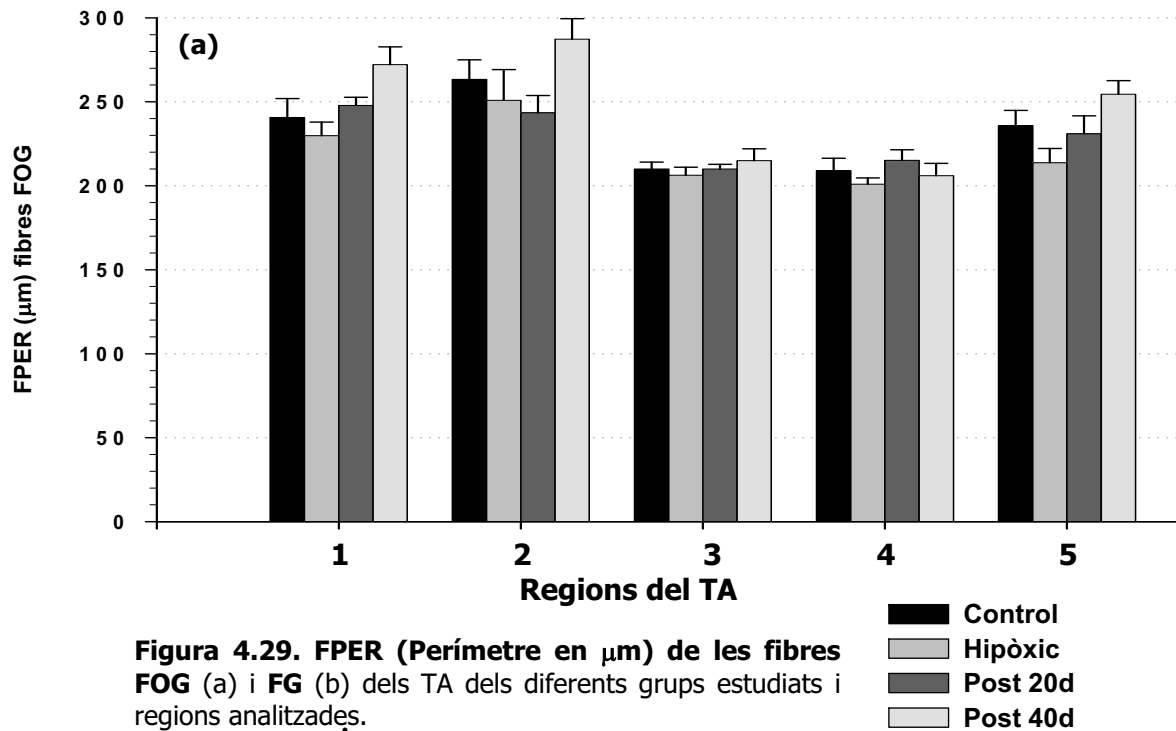
Posteriorment s'agruparen les fibres depenent de les seves propietats contràctils (ràpides: FOG+FG) o de les seves característiques oxidatives (aeròbiques: FOG+SO). Amb aquestes agrupacions tampoc observem canvis estadísticament significatius.

#### **4.1.3.6 FPER i MDD**

##### *Camp 1:*

Com ja passava en l'àrea, també hi ha reduccions en el FPER (Fig. 4.29) i en la MDD (Fig. 4.30) del grup Hipòxic d'ambdós tipus de fibra (5% en el perímetre i 3% en la distància de difusió de les fibres FOG i 7% en el FPER i 5% en la MDD de les FG). En el grup Post20<sub>d</sub> els valors augmenten fins a situar-se, en el cas de les fibres FOG, un 3% per sobre del Control en el FPER i MDD (Fig. 4.29a i 4.30a). En les fibres FG el creixement de les fibres del grup Post20<sub>d</sub> no és suficient per arribar als nivells del Control i es queda en aquest cas per sota dels nivells inicials, un 3% en el perímetre i un 1% en la distància (Fig. 4.29b i 4.30b). Les fibres FOG del grup Post40<sub>d</sub>, tant el FPER com la MDD, són un 13% major que el Control. En les fibres FG el creixement és similar i augmenta el FPER un 13% i la MDD un 15%.

En les fibres FOG no trobem cap diferència significativa en el perímetre, però sí en la distància de difusió entre els grups Hipòxic i Post40<sub>d</sub> (Fig. 4.30a). En el cas de les fibres FG, les variacions que es produeixen en el perímetre entre els grups Hipòxic i Post40<sub>d</sub> i entre els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>, són estadísticament significatives (Fig. 4.29b). En el cas de la distància de difusió l'únic canvi estadísticament significatiu és entre el grup Hipòxic i el Post40<sub>d</sub> (Fig. 4.30b).



*Camp 2:*

Observem que les fibres FOG i FG tenen un comportament molt similar en aquesta regió (Fig. 4.29 i 4.30). En ambdós tipus de fibres es produeix una disminució del perímetre i la distància de difusió en el grup Hipòxic (5% en el FPER i MDD de les fibres FOG i 7% en el FPER i 6% en la MDD de les FG). En el grup Post20<sub>d</sub> els valors disminueixen encara més (8% en el perímetre i 7% en la distància de difusió en les fibres FOG i 10% en el perímetre i 7% en la distància de difusió en les FG) per a després augmentar els valors dels paràmetres en el grup Post40<sub>d</sub>, un 9% en el perímetre i un 7% en la distància de difusió en les fibres FOG (Fig. 4.29a i 4.30a) i un 4% en el perímetre i en la distància de difusió en les FG (Fig. 4.29b i 4.30b).

No detectem canvis estadísticament significatius en cap cas ni en cap dels diferents tipus de fibres.

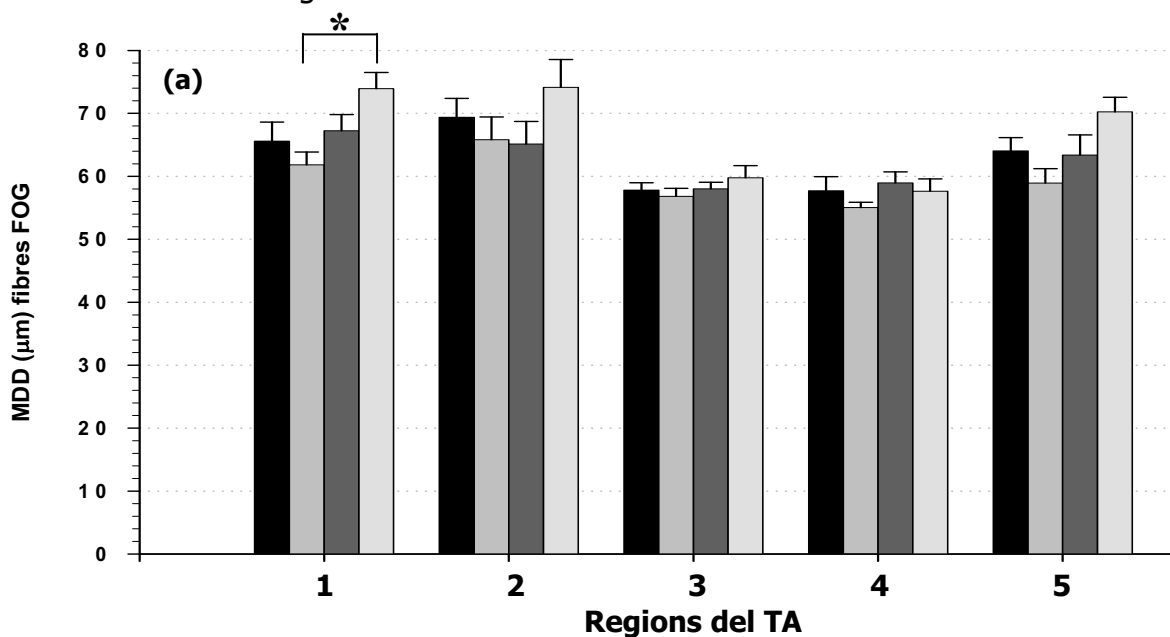
*Camp 3:*

En aquesta zona quasi no trobem variacions (Fig. 4.29a, 4.30a i 4.31) en el perímetre i en la distància de difusió de les fibres oxidatives (FOG i SO). En les fibres FOG els majors canvis es produeixen al disminuir el 2% el perímetre en el grup Hipòxic i augmentar el mateix percentatge en el Post40<sub>d</sub> (Fig. 4.29a). En la distància de difusió (Fig. 4.30a) els canvis percentuals en aquests grups són els mateixos, un 2%. Pel que fa al grup Post20<sub>d</sub> obtenim uns valors, tant de FPER com de MDD, al mateix nivell que el Control. En les fibres SO es produeix una disminució del perímetre i de la distància de difusió en ambdós casos d'un 6% en el grup Hipòxic. Posteriorment, els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub> mostren valors comparables al Control, per als dos paràmetres (Fig. 4.30a). Pel que fa a les fibres anaeròbiques (FG) detectem un augment progressiu del perímetre i de la distància de difusió en els diferents grups (Hipòxic: 2% per al perímetre i distància de difusió, Post20<sub>d</sub>: 4% per al perímetre i 3% per a la distància de difusió i Post40<sub>d</sub>: 9% referent al perímetre i 12% pel que fa a la distància). En cap dels tres tipus de fibres i entre els diferents grups hi ha canvis estadísticament significatius.

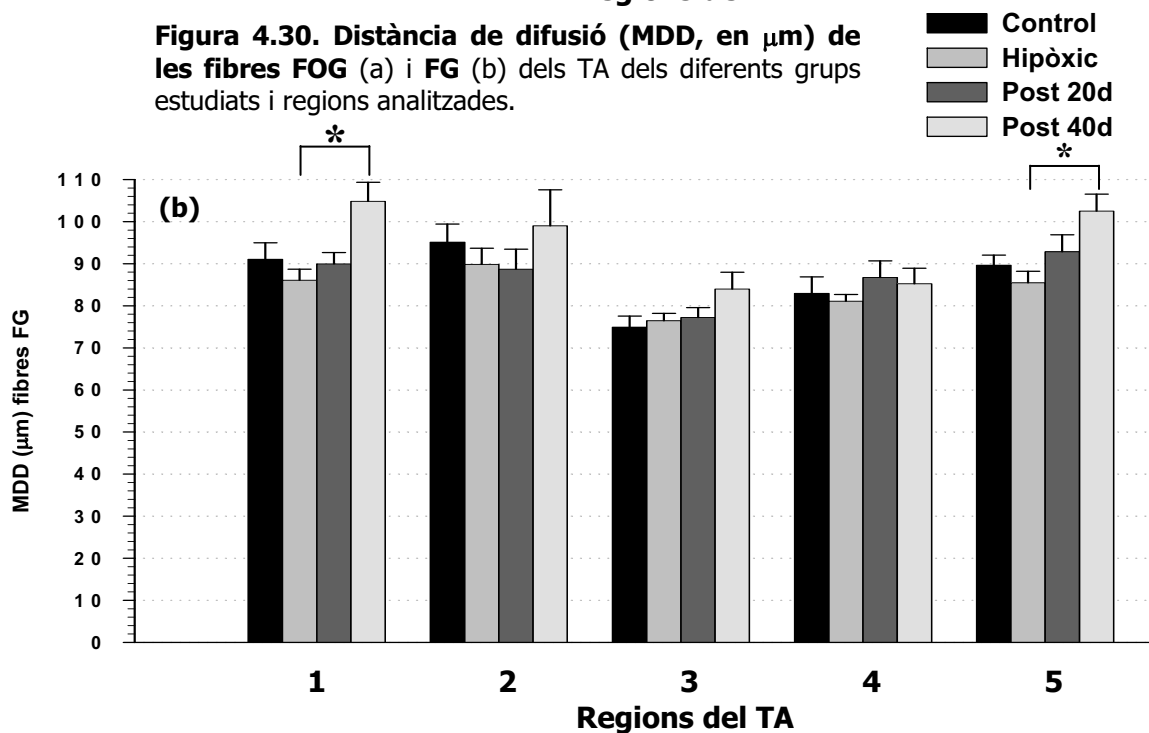


*Camp 4:*

Les fibres FOG i FG tenen una evolució del perímetre (Fig. 4.29) i distància de difusió (Fig. 4.30) molt semblant en aquesta regió. Es produeix una reducció dels valors en el grup Hipòxic (4% en el perímetre i 5% en la distància de difusió de les fibres FOG i 2% en el perímetre i distància de les FG), un augment en el grup Post20<sub>d</sub> fins a nivells superiors al Control (3% en el perímetre d'ambdós tipus de fibres i 2% en la distància de difusió de les FOG i 5% en les FG) i finalment una estabilitat i tornada als valors inicials del Control en el grup Post40<sub>d</sub>. Aquestes petites variacions no representen canvis estadísticament significatius.



**Figura 4.30. Distància de difusió (MDD, en μm) de les fibres FOG (a) i FG (b) dels TA dels diferents grups estudiats i regions analitzades.**

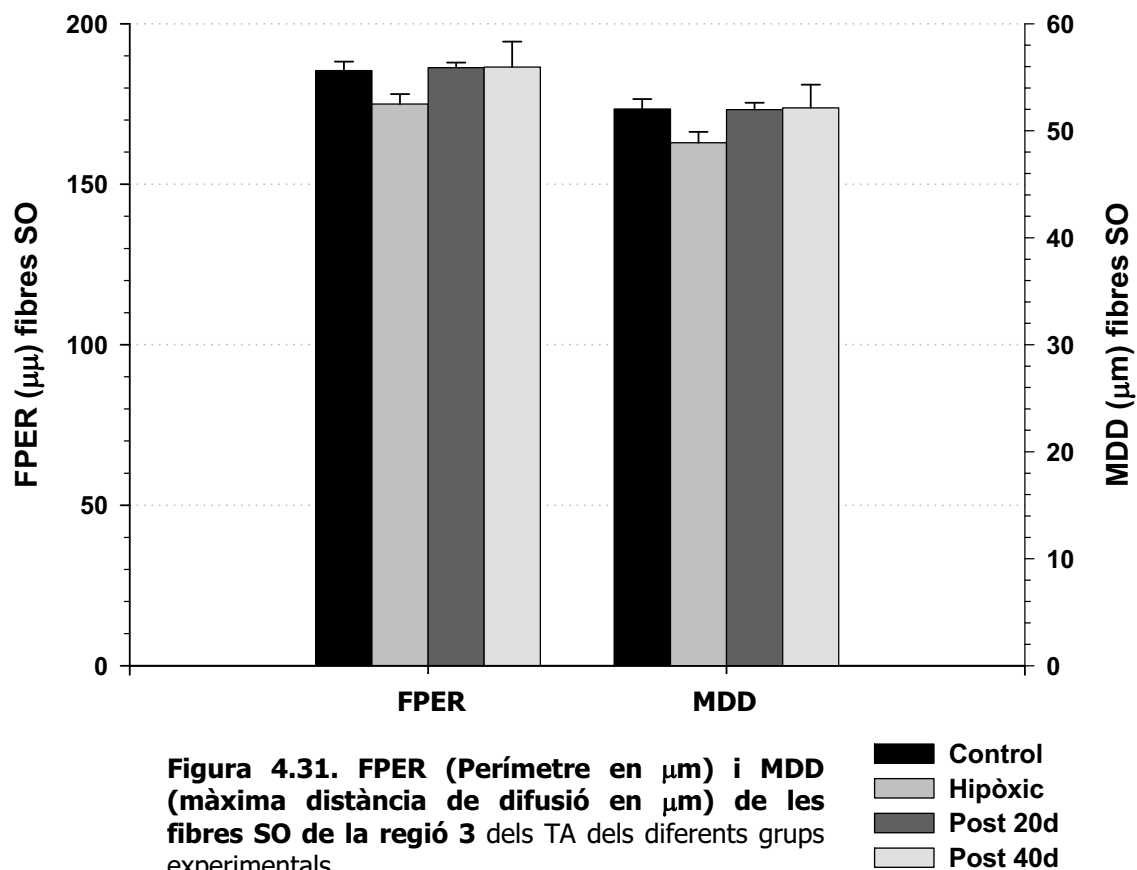


■ Control  
 ■ Hipòxic  
 ■ Post 20d  
 ■ Post 40d

*Camp 5:*

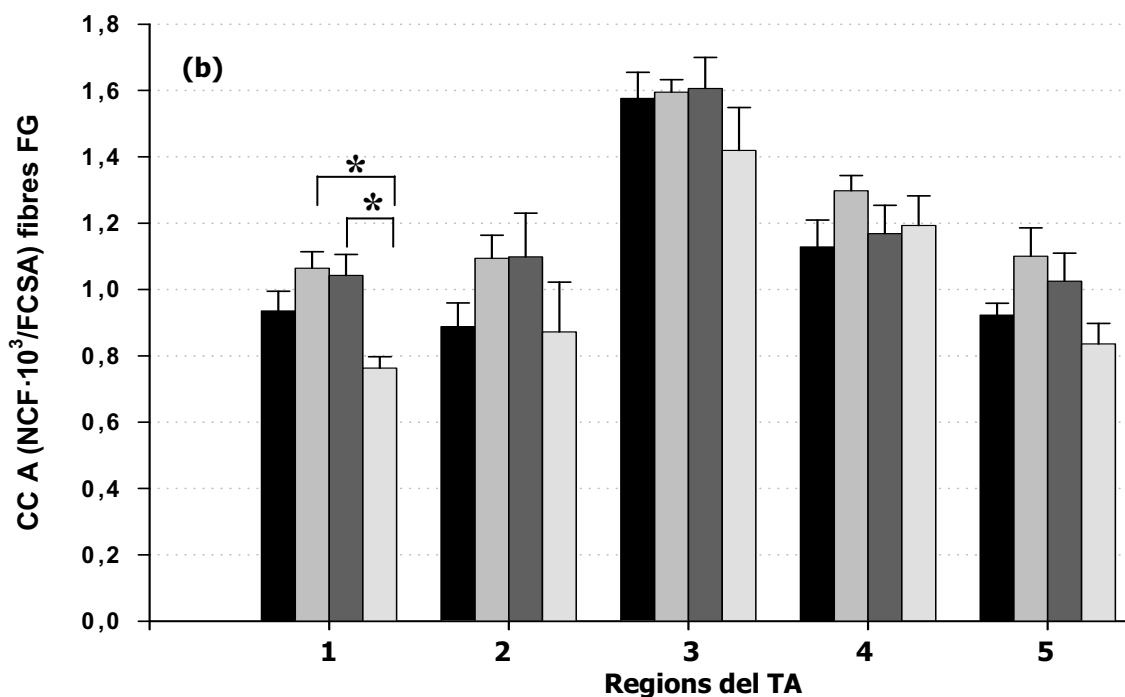
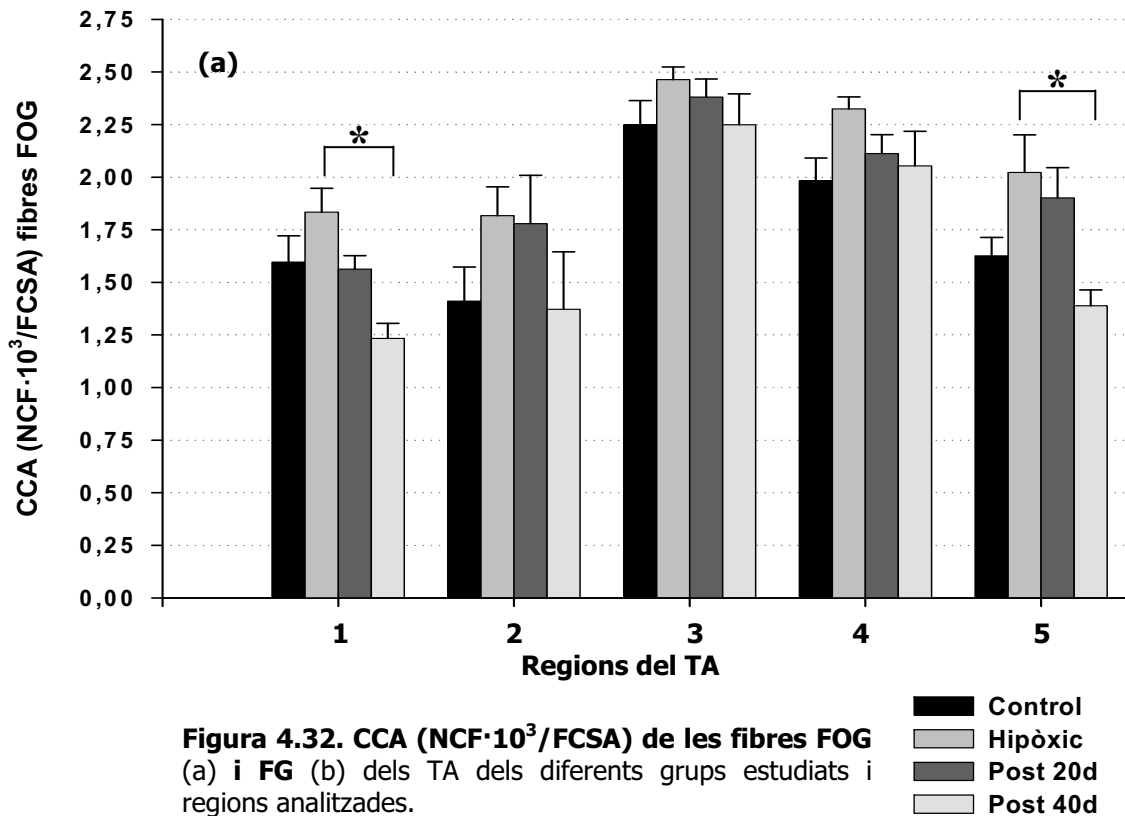
En aquest cas també observem tendències similars en les fibres FOG i FG. En el grup Hipòxic detectem reduccions dels perímetres (10% en FOG i 5% en FG) i de la distància de difusió (8% en FOG i també 5% en FG). En els grups posteriors els valors van augmentant, situant-se el FPER i la MDD del grup Post20<sub>d</sub> de les fibres FOG al mateix nivell que el Control (variacions d'un 2% en el perímetre i un 1% en la distància de difusió, Fig. 4.29a i 4.30a). Les fibres FG del grup Post20<sub>d</sub> tenen un FPER i una MDD major (5% i 4%, respectivament) que el Control (Fig. 4.29b i 4.30b).

En el Post40<sub>d</sub>, en ambdós tipus de fibres, els perímetres i distàncies de difusió són majors que el Control (8% en el perímetre i 10% en la distància de difusió en les fibres FOG i 13% en el perímetre i 14% en la distància de difusió de les FG). Només les diferències de perímetres i distàncies de difusió entre els grups Hipòxic i Post40<sub>d</sub> de les fibres FG són estadísticament significatives.



#### 4.1.3.7 CCA i CCP

Globalment els índexs **CCA** ( $\text{NCF} \cdot 1000 / \text{FCSA}$ ) i **CCP** ( $\text{NCF} \cdot 100 / \text{FPER}$ ) es comporten de manera similar en els tres tipus de fibra muscular i camps estudiats (Fig. 4.32, 4.33 i 4.34). A grans trets observem que hi ha en el grup Hipòxic un augment dels valors de **CCA** (increments de 10% a 29% en les



fibres FOG, una mitjana de 15% en les FG i un 16% en SO) i també increments en **CCP** (augments de 8% a 20% en FOG, de 5% a 20% en FG i un 8% en SO). En el Post20<sub>d</sub> els valors, tant de CCA com de CCP, tendeixen a aproximar-se als nivells del Control i en el grup Post40<sub>d</sub> els índexs se situen a l'altura del Control o fins i tot amb valors inferiors.

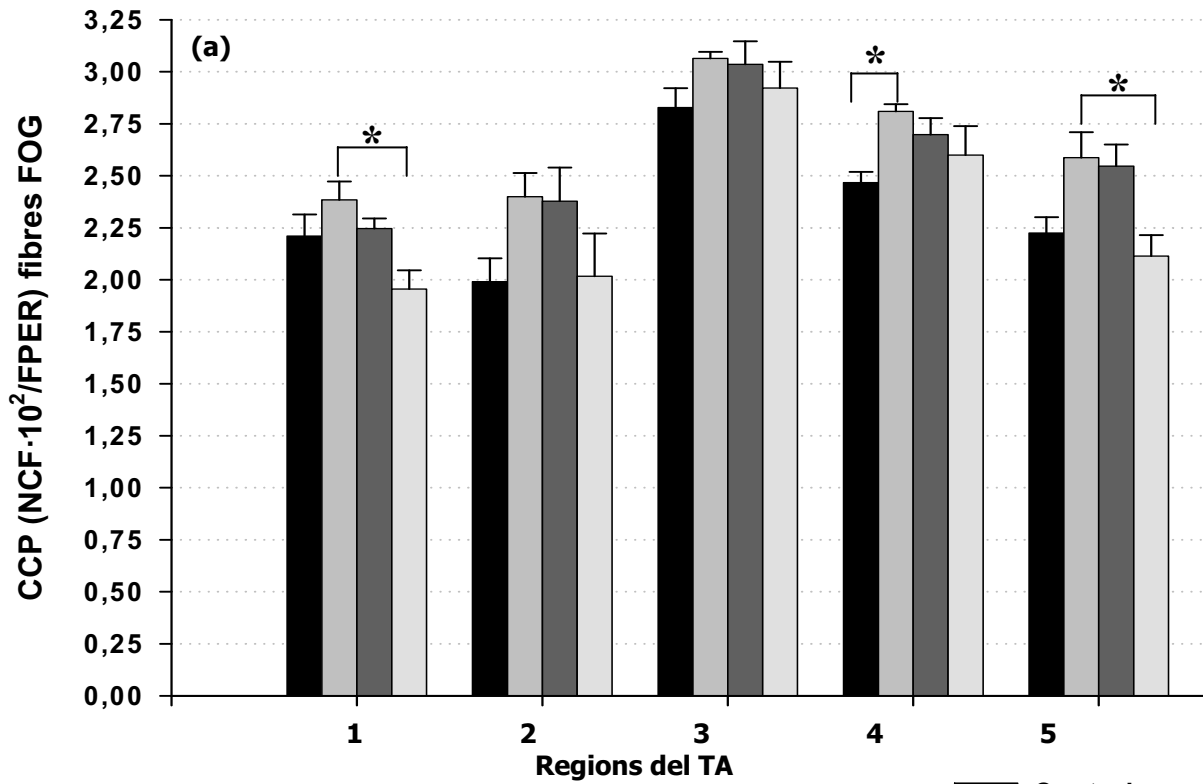
#### *Camp 1:*

L'índex **CCA** mostra un comportament idèntic en les fibres FOG i FG d'aquesta regió (Fig. 4.32). En el grup Hipòxic observem augments dels valors respecte el Control (15% en FOG i 14% en FG). En el grup Post20<sub>d</sub> els valors disminueixen respecte a l'Hipòxic i en el Post40<sub>d</sub> els valors continuen baixant fins situar-se per sota del Control (23% en les fibres FOG i 18% en les FG). En les fibres FOG trobem diferències significatives al comparar els grups Hipòxic i Post40<sub>d</sub> i en les fibres FG entre els grups Hipòxic i Post40<sub>d</sub> i entre els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>.

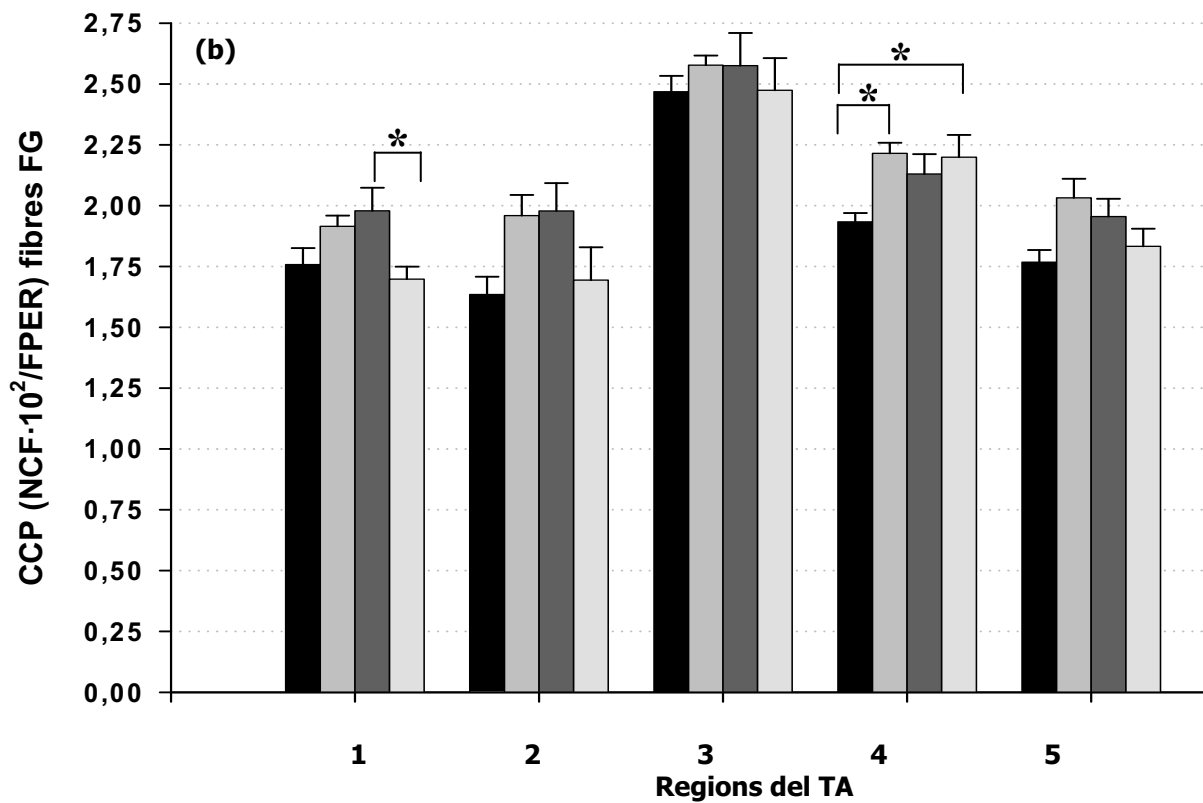
En el quocient **CCP** de les fibres FOG (Fig. 4.33) detectem una evolució com l'anterior: augment del grup Hipòxic (8%), davallada dels resultats en el grup Post20<sub>d</sub> fins situar-se en un nivell lleugerament superior al Control i finalment, en el grup Post40<sub>d</sub> uns valors 12% inferiors al Control, sent aquesta disminució estadísticament significativa. Pel que fa a les fibres FG (Fig. 4.33) observem un augment progressiu del CCP en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> (9% i 13% respectivament) i una forta depressió de l'índex Post40<sub>d</sub> fins assolir un valors 4% inferiors al Control. Obtenim canvis estadísticament significatius entre els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>.

#### *Camp 2:*

En les fibres **FOG** i **FG** observem uns augments similars dels valors en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> dels paràmetres **CCA** (29% i 26%, respectivament en les fibres FOG i 26% en ambdós grups d'FG, Fig. 4.32) i **CCP** (20% i 19%, respectivament en les FOG i 20% en ambdós casos d'FG, Fig. 4.33). En el grup Post40<sub>d</sub> els valors, tant de CCA com de CCP en les fibres FOG i FG, disminueixen respecte als anteriors fins a situar-se a uns nivells similars als Control. En aquests paràmetres no detectem canvis estadísticament significatius en aquesta regió.

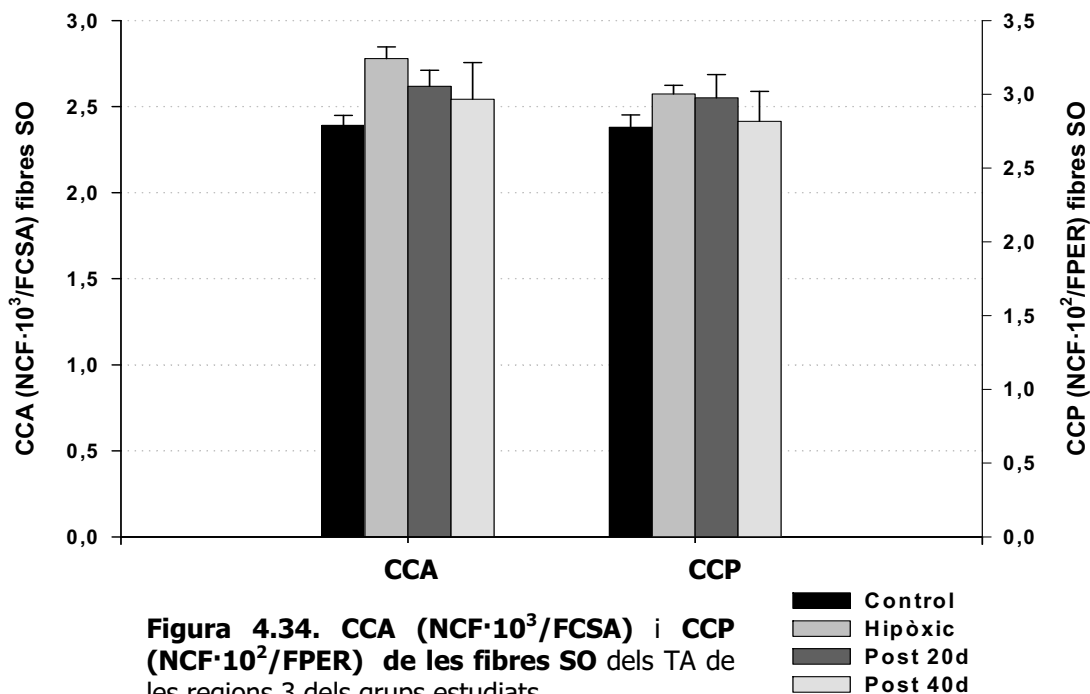


**Figura 4.33. CCP (NCF·10<sup>2</sup>/FPER) de les fibres FOG (a) i FG (b) dels TA dels diferents grups estudiats i regions analitzades.**



*Camp 3:*

En les fibres oxidatives (FOG, Fig. 4.32a i 4.33a, i SO, Fig. 4.34) observem els valors màxims dels paràmetres CCA i CCP en el grup Hipòxic (CCA: augment del 10% en les fibres FOG i 16% en les SO, respecte el Control; CCP: increment del 8%, respecte el Control, en ambdós tipus de fibra). En el grup Post20<sub>d</sub> els valors de CCA i CCP disminueixen, respecte el grup Hipòxic, i en el Post40<sub>d</sub> els valors disminueixen encara més, apropant-se a nivell del Control. En el quocient CCA observem diferències estadísticament significatives al comparar els grups Control i Hipòxic de les fibres SO (Fig. 4.34). En les fibres anaeròbiques (FG) notem en els grups Hipòxic i Post20<sub>d</sub> un lleuger increment del mateix percentatge en CCA (1%, Fig. 4.32 b) i CCP (4%, Fig. 4.33b). En el grup Post40<sub>d</sub> l'índex CCA disminueix el valor un 10% per sota del Control, mentre que aquest grup en el quocient CCP torna als valors del Control. En les fibres FG no observem cap canvi estadísticament significatiu entre els grups.



*Camp 4:*

En el grup Hipòxic les fibres FOG presenten un increment dels paràmetres CCA (17%, Fig. 4.32a) i CCP (14%, Fig. 4.33a), per a després disminuir progressivament en el grup Post20<sub>d</sub> (6% en CCA i 9% en CCP) i Post40<sub>d</sub> (4% en CCA i 5% en CCP). Pel que fa a les fibres FG (Fig. 4.32b i 4.33b) en el grup Hipòxic també hi ha un augment considerable dels paràmetres CCA i CCP (15% en ambdós índexs). En el grup Post20<sub>d</sub> detectem una davallada dels valors respecte l'Hipòxic però superior al Control en un 4% en CCA i en un 10% en CCP. Finalment, en el grup Post40<sub>d</sub> es produeix un lleuger augment sobre l'anterior i els valors obtinguts són majors que el Control en un 6% en CCA i en un 14% en CCP. Només en el paràmetre CCP trobem diferències estadísticament significatives al comparar les fibres FOG dels grups Control ( $2,4 \pm 0,05$ ) i Hipòxic ( $2,8 \pm 0,03$ ) i en les fibres FG al comparar els grup Control ( $1,9 \pm 0,03$ ) amb l'Hipòxic ( $2,2 \pm 0,04$ ) i el Control amb el Post40<sub>d</sub> ( $2,2 \pm 0,09$ ).

*Camp 5:*

Observem la mateixa evolució per a ambdós índexs (CCA, Fig. 4.32 i CCP, Fig. 4.33) i ambdós tipus de fibra (FOG i FG): augments dels valors en el grup Hipòxic i posteriorment una davallada dels resultats en els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub>, situant-se en el darrer cas, i en la majoria dels casos, per sota el nivell del Control.

En els grups Hipòxic hi ha uns augments respecte al Control del 15 al 24% (CCA: 24 % en les fibres FOG i 19% en les FG; CCP: 16% en FOG i 15% en FG). En els grups Post20<sub>d</sub> obtenim uns valors inferiors al Hipòxic però superiors al Control (CCA: 17% en les fibres FOG i 11% en les FG; CCP: 14% en FOG i 11% en FG). Per acabar, en el grup Post40<sub>d</sub> els valors són inferiors als anteriors grups i fins i tot per sota del Control (CCA: reducció del 15% en FOG i del 10% en FG; CCP: disminució del 5% en FOG i un augment del 4% en les FG). En les fibres FOG trobem diferències estadísticament significatives al comparar el CCA i CCP dels grups Hipòxic i Post40<sub>d</sub>.

#### 4.1.3.8 Shape Factor

En general diem que en els grups hipòxics l'índex Shape Factor (que indica esfereïtat de les fibres musculars) augmenta molt poc respecte al Control (Taula 4.9), la qual cosa indica que la seva morfologia es torna lleugerament més esfèrica. Concretant amb més detall observem que els canvis d'aquest índex que es produeixen en les fibres **FOG** van d'un 0,26% al 2,80%. En les fibres **FG** la mínima variació és d'un 0,28% i la màxima d'un 6%, però estant la majoria dels canvis al voltant del 2%. Finalment, en les fibres **SO** els canvis es donen al voltant de l'1% i el 2%. Cap de les petites variacions observades són estadísticament significatives.

Regió	Tipus Fibra	Control	Hipòxic	Post20 <sub>d</sub>	Post40 <sub>d</sub>
1	<b>FOG</b>	0,739 ± 0,017	0,724 ± 0,011	0,730 ± 0,013	0,735 ± 0,019
	<b>FG</b>	0,699 ± 0,016	0,712 ± 0,009	0,713 ± 0,008	0,722 ± 0,008
2	<b>FOG</b>	0,698 ± 0,010	0,707 ± 0,023	0,713 ± 0,017	0,688 ± 0,030
	<b>FG</b>	0,646 ± 0,016	0,674 ± 0,022	0,691 ± 0,021	0,649 ± 0,035
3	<b>FOG</b>	0,756 ± 0,012	0,758 ± 0,011	0,760 ± 0,011	0,770 ± 0,010
	<b>FG</b>	0,710 ± 0,017	0,712 ± 0,013	0,697 ± 0,016	0,738 ± 0,016
	<b>SO</b>	0,784 ± 0,011	0,777 ± 0,011	0,772 ± 0,015	0,777 ± 0,018
4	<b>FOG</b>	0,758 ± 0,007	0,748 ± 0,010	0,752 ± 0,021	0,779 ± 0,005
	<b>FG</b>	0,706 ± 0,014	0,702 ± 0,012	0,722 ± 0,015	0,746 ± 0,009
5	<b>FOG</b>	0,738 ± 0,011	0,758 ± 0,006	0,747 ± 0,011	0,755 ± 0,012
	<b>FG</b>	0,729 ± 0,013	0,726 ± 0,009	0,710 ± 0,014	0,741 ± 0,012

**Taula 4.9.** Valors de **Shape Factor** classificats depenent dels grups experimentals, tipus de fibra i regió estudiada.



## 4.2 BIOQUÍMICA

A diferència dels resultats mostrats en l'apartat 4.1 "*Resultats Histoquímica*" pàg. 105, on s'han agrupat per musculatura, en aquest cas ho fem per paràmetres analitzats (LDH, CS, mioglobina i proteïnes totals). Tots els resultats són referits respecte al pes del teixit humit, però per evitar repeticions només assenyalarem que són per teixit.

### 4.2.1 Activitat enzimàtica LDH

L'activitat LDH es mesurà també en les 3 mostres analitzades: miocardi, diafragma i *tibialis anterior*.

#### a) Miocardi

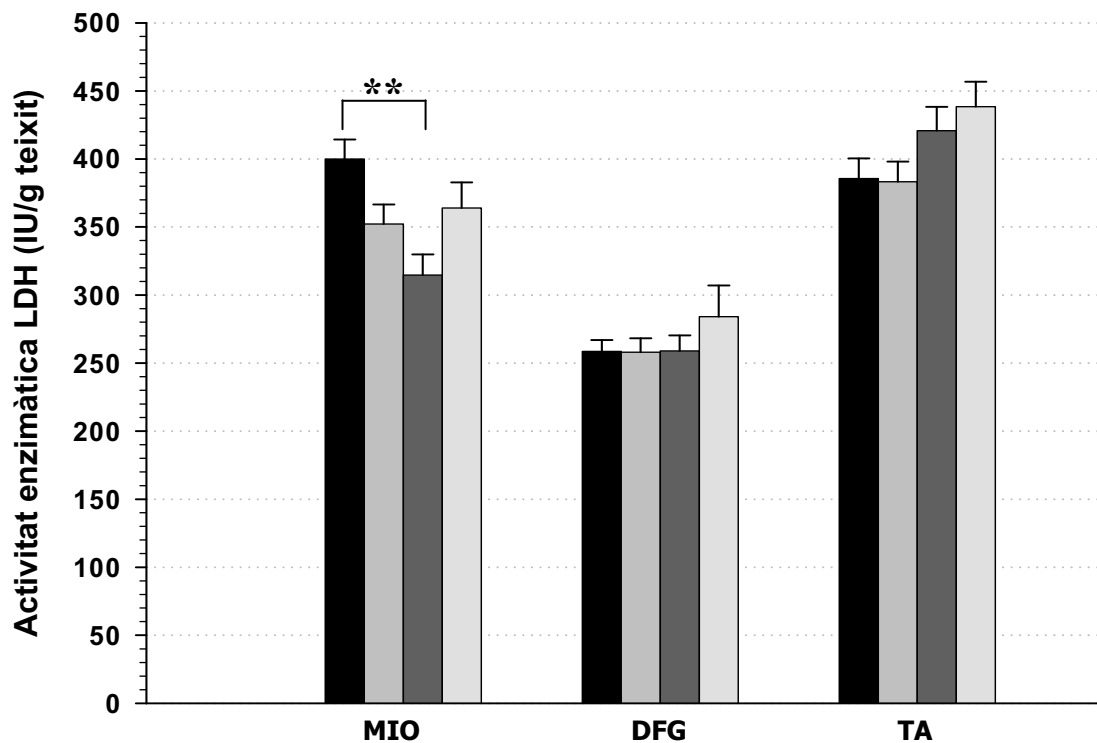
Apreciem una clara reducció de l'activitat LDH en els cors dels animals exposats a hipòxia hipobàrica intermitent (12% grup Hipòxic, 21% grup Post20<sub>d</sub> i 9% grup Post40<sub>d</sub>) quan els comparem amb els animals Control (Fig. 4.35). Però només trobem diferències estadísticament significatives ( $P < 0,01$ ) entre el grup Control ( $400 \pm 14$  IU/g teixit) i el Post20<sub>d</sub> ( $315 \pm 15$  IU/g teixit).

#### b) Diafragma

En aquest múscul no hi ha quasi variació entre els grups Control, Hipòxic i Post20<sub>d</sub>, tots 3 tenen valors de 258 IU/g teixit humit (Fig. 4.35). En el grup Post40<sub>d</sub> ( $284 \pm 23$  IU/g teixit) encara que hi hagi un increment de l'activitat enzimàtica del 10% respecte als altres 3 grups l'augment no és estadísticament significatiu.

#### c) Tibialis anterior

En aquest cas observem un increment en l'activitat LDH dels grups Post20<sub>d</sub> (9%) i Post40<sub>d</sub> (14%) en comparació amb el Control ( $385 \pm 14$  IU/g teixit). En canvi, en el grup Hipòxic detectem uns valors similars al Control, solament inferior un 1% (Fig. 4.35). En cap dels casos les modificacions que es produeixen són estadísticament significatives.



**Figura 4.35. Activitat enzimàtica LDH (IU/g teixit)** de les diferents mostres i grups experimentals. MIO, miocardi; DFG, diafragma; TA, *tibialis anterior*.

Control  
 Hipòxic  
 Post 20d  
 Post 40d

## 4.2.2 Activitat enzimàtica CS

### a) Miocardi

El grup Hipòxic ( $90 \pm 4,5$  IU/g teixit) presenta una lleugera disminució del 3% de l'activitat CS respecte el Control ( $92 \pm 3,9$  IU/g teixit). En els grups Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub> els valors es recuperen i obtenim valors per sobre del Control un 6% ( $98 \pm 4,6$  IU/g teixit) i un 17% ( $108 \pm 6,5$  IU/g teixit), respectivament (Fig. 4.36). Cap de les variacions observades són estadísticament significatives.

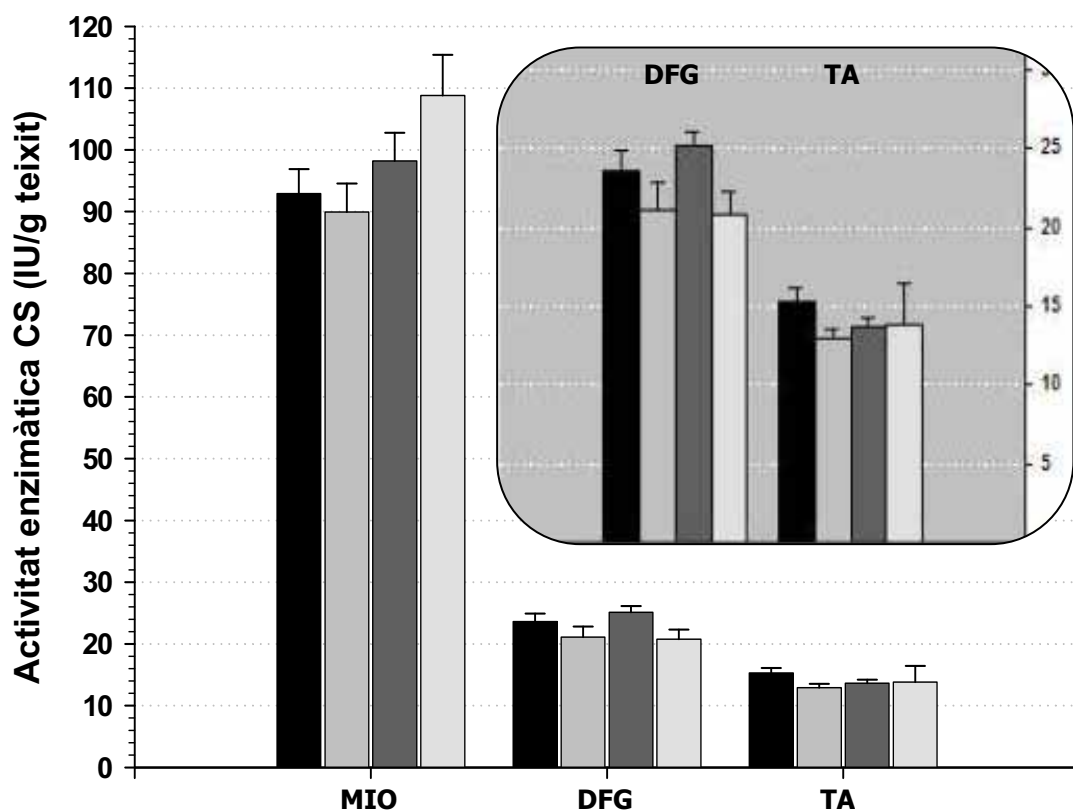
### b) Diafragma

En aquest múscul els resultats obtinguts són oscil·lants (Fig. 4.36). En un principi tenim que el grup Hipòxic presenta una reducció de l'11% dels valors respecte el Control ( $24 \pm 1,3$  IU/g teixit). En el grup Post20<sub>d</sub> ( $25 \pm 1,0$  IU/g teixit) l'activitat enzimàtica augmenta respecte el Control un 6% i un 17% sobre

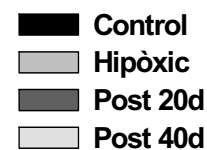
l'Hipòxic. Finalment, en el grup Post40<sub>d</sub> ( $21 \pm 1,5$  IU/g teixit) observem una davallada del 12% per sota els valors Control. No detectem canvis estadísticament significatius en aquest múscul.

### c) Tibialis anterior

En el grup Hipòxic ( $13 \pm 0,6$  IU/g teixit) observem uns valors 16% més baixos respecte el Control (Fig. 4.36). Es detecten valors a l'alça respecte el grup Hipòxic en els altres dos grups: Post20<sub>d</sub> i Post40<sub>d</sub> ( $14 \pm 0,5$  i  $14 \pm 2,0$  IU/g teixit, respectivament), però sense arribar als valors inicials del Control ( $15 \pm 0,8$  IU/g teixit). No trobem modificacions estadísticament significatives.



**Figura 4.36. Activitat enzimàtica CS (IU/g teixit)** de les diferents mostres i grups experimentals. El requadre sobre els histogrames DFG i TA representa una ampliació de l'escala d'aquests. MIO, miocardi; DFG, diafragma; TA, *tibialis anterior*.



### 4.2.3 Índex d'activitat LDH/CS

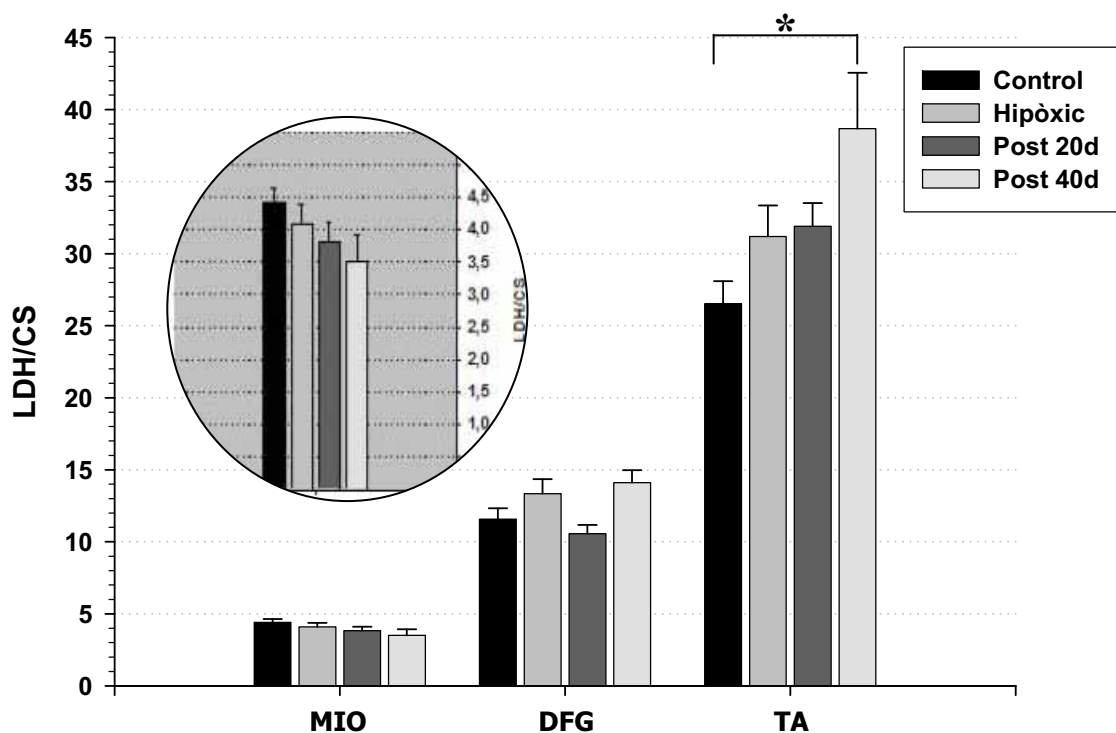
Calculem també els quocients de les activitats enzimàtiques LDH i CS (Fig. 4.37) com a indicador que relaciona el metabolisme anaeròbic i l'aeròbic.

#### a) Miocardi

Observem un descens gradual de l'índex en els diferents grups experimentals (Hipòxic:  $4,09 \pm 0,28$ , Post20<sub>d</sub>:  $3,82 \pm 0,28$  i Post40<sub>d</sub>:  $3,52 \pm 0,41$ ) si els comparem amb el grup Control ( $4,42 \pm 0,22$ ). Malgrat haver una diferència màxima d'un 20% entre el Control i el Post40<sub>d</sub>, cap de les modificacions són estadísticament significatives.

#### b) Diafragma

En aquest cas detectem un augment dels valors en el grup Hipòxic del 15% respecte el Control ( $11,57 \pm 0,75$ ). En el grup Post20<sub>d</sub> ( $10,55 \pm 0,61$ ) els índexs disminueixen fins a situar-se per sota del grup Control i en el grup Post40<sub>d</sub> els quocients tornen a augmentar fins a un 22% per sobre del Control. No hi ha canvis estadísticament significatius.

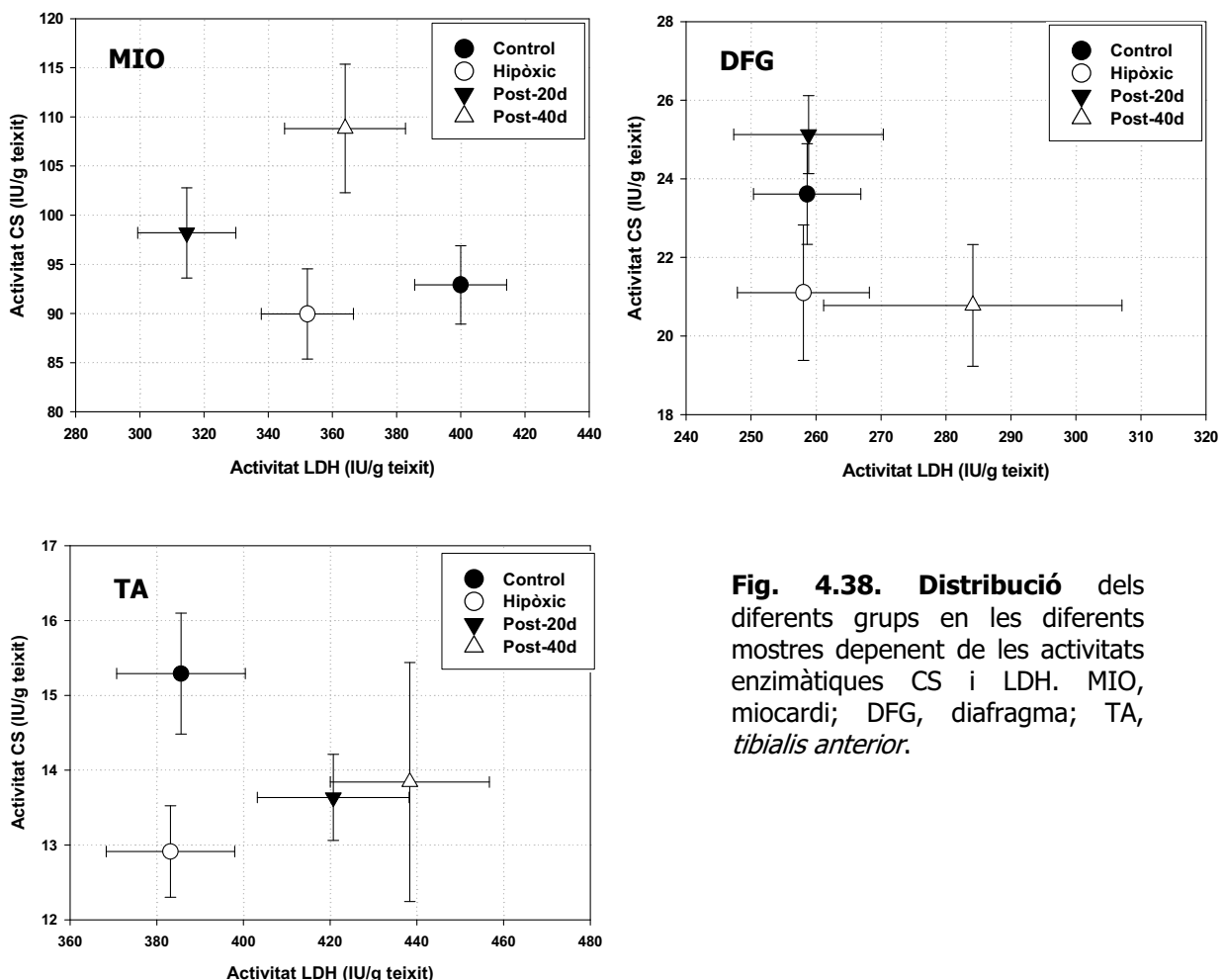


**Figura 4.37.** Relació de les activitats enzimàtiques **LDH/CS** en les diferents mostres i grups experimentals. L'histograma de l'interior de la circumferència representa una ampliació de l'escala dels valors del MIO. MIO, miocardi; DFG, diafragma; TA, *tibialis anterior*.

### c) Tibialis anterior

En aquest múscul trobem augments progressius del 18% al 46%, en tots els grups experimentals (Hipòxic:  $31,20 \pm 2,63$ , Post20<sub>d</sub>:  $31,90 \pm 1,61$  i Post40<sub>d</sub>:  $38,68 \pm 3,87$ ), si els comparem amb el Control ( $26,52 \pm 1,56$ ). La diferència de valors entre el grup Control i el grup Post40<sub>d</sub> és estadísticament significativa.

S'enfrontaren les activitats enzimàtiques de LDH vers CS en representacions cartesianes per tal de poder comparar la seva distribució (Fig. 4.38). S'observa una disposició diferencial dels animals depenent dels grups i de la mostra d'estudi, les possibles raons es comenten en l'apartat de Discussió.



**Fig. 4.38.** Distribució dels diferents grups en les diferents mostres depenent de les activitats enzimàtiques CS i LDH. MIO, miocardi; DFG, diafragma; TA, *tibialis anterior*.

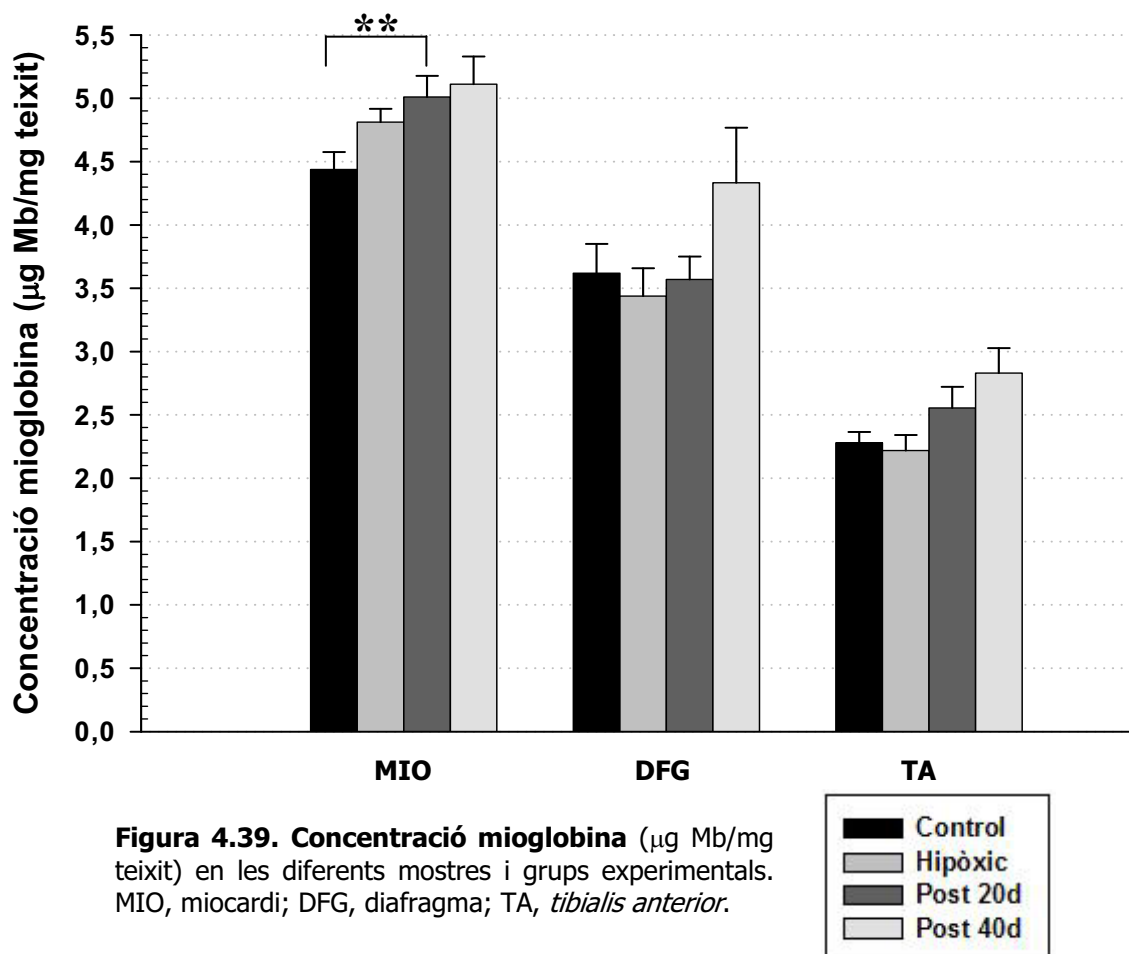
#### 4.2.4 Concentració de mioglobina (Mb)

##### a) Miocardi

En el múscul cardíac observem un increment en la concentració de mioglobina en el miocardi dels animals experimentals (Hipòxic: 8%, Post20<sub>d</sub>: 13% i Post40<sub>d</sub>: 15%) en comparació amb el grup Control  $4,4 \pm 0,14 \mu\text{g Mb/mg teixit}$ . Tot i així, els únics canvis estadísticament significatius es produeixen entre el grup Control i el grup Post20<sub>d</sub> ( $P < 0,01$ ) com podem apreciar en la Fig. 4.39.

##### b) Diafragma

En el múscul respiratori detectem en un inici una petita davallada dels valors de mioglobina intramuscular en els grups Hipòxic, 5%, i Post20<sub>d</sub>, 1% (Fig. 4.39). En canvi, en el grup Post40<sub>d</sub> trobem un augment important (20%) en la concentració de mioglobina respecte al Control ( $3,6 \pm 0,23 \mu\text{g Mb/mg teixit}$ ). Malgrat aquest considerable increment el canvi no és estadísticament significatiu.



#### **d) Tibialis anterior**

En aquest cas es posa de manifest una clara tendència a l'alça (Fig. 4.39) en la concentració d'aquesta globina al comparar-se amb el grup Control ( $2,3 \pm 0,08$   $\mu\text{g Mb/mg}$  teixit). Malgrat els augments considerables en el grup Post20<sub>d</sub> (12%) i sobretot en el Post40<sub>d</sub> (24%), aquests increments no són estadísticament significatius.

### **4.2.5 Concentració de proteïnes totals**

En general observem comportaments desiguals depenent de la mostra analitzada (Fig. 4.40).

#### **a) Miocardi**

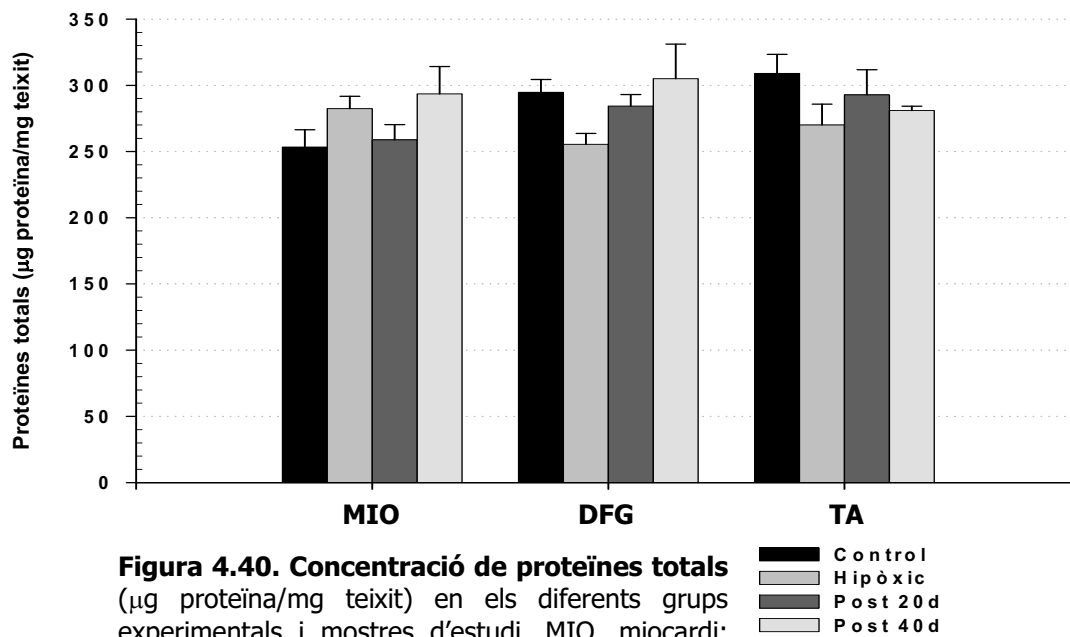
En el grup Hipòxic detectem un augment de l'11% respecte el Control ( $253 \pm 14$   $\mu\text{g proteïna/mg}$  teixit). En el grup Post20<sub>d</sub> hi ha una davallada dels valors si prenem com a referència el grup Hipòxic ( $282 \pm 9$   $\mu\text{g proteïna/mg}$  teixit), però superiors en un 2% respecte el Control. Finalment, en el grup Post40<sub>d</sub> ( $293 \pm 20$   $\mu\text{g proteïna/mg}$  teixit) trobem un increment del 15% al comparar-los amb els valors de concentració de proteïnes totals del Control (Fig. 4.40). Cap de les modificacions esmentades són estadísticament significatives.

#### **b) Diafragma**

Observem una disminució del 13% en la concentració del grup Hipòxic, respecte el Control ( $295 \pm 10$   $\mu\text{g proteïna/mg}$  teixit). En els altres grups (Post 20<sub>d</sub> i Post 40<sub>d</sub>) obtenim concentracions superiors a l'Hipòxic, però mentre que el Post20<sub>d</sub> és un 3% inferior al Control, aquest es veu superat amb el mateix percentatge pel grup Post40<sub>d</sub> ( $305 \pm 26$   $\mu\text{g proteïna/mg}$  teixit). No es detecten canvis estadísticament significatius.

### c) *Tibialis anterior*

En aquest múscul trobem concentracions proteiques inferiors al Control ( $309 \pm 14 \mu\text{g proteïna/mg teixit}$ ) en tots els grups experimentals, essent la major diferència en el grup Hipòxic (13%) i la menor en el Post20<sub>d</sub> (5%). El grup Post40<sub>d</sub> ( $280 \pm 3 \mu\text{g proteïna/mg teixit}$ ) se situa en una posició intermèdia: un 9% per sota. Tampoc en aquest múscul es troben alteracions estadísticament significatives.



**Figura 4.40. Concentració de proteïnes totals** ( $\mu\text{g proteïna/mg teixit}$ ) en els diferents grups experimentals i mostres d'estudi. MIO, miocardi; DFG, diafragma; TA, *tibialis anterior*.