



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

TESIS DOCTORAL

***Estudio anatómico, histoquímico e
inmunohistoquímico de la musculatura transversa
espinal profunda en el equino***

DOCTORANDO:

MV-Esp-Mag. José Alberto García Liñeiro

DIRECTOR:

Prof. Dr. Guillermo Grazzioti

ÁREA DEL CONOCIMIENTO:

Anatomía funcional y biomecánica del equino.

LUGARES DE REALIZACIÓN

Cátedra de Anatomía y Cátedra de Salud y Producción Equina

**Facultad de Ciencias Veterinarias
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

ÍNDICE

1- Dedicatorias.....	pág. 3
2- Agradecimientos.....	pág. 4
3- Resumen.....	pág. 5
4- Abstract.....	pág. 11
5- Introducción.....	pág. 17
6- Estado actual del conocimiento.....	pág.22
7- Objetivos.....	pág. 27
8- Hipótesis.....	pág. 28
9- Materiales y métodos.....	pág. 29
10- Análisis estadístico	pág. 34
11- Resultados	pág. 35
12- Discusión.....	pág. 65
13- Conclusión.....	pág. 87
14- Material producido durante el desarrollo de esta tesis.....	pág. 90
15- Bibliografía.....	pág. 91
16- Apéndice.....	pág. 97
17- Figuras y sus referencias.....	pág. 99

1- DEDICATORIAS

A mis adorados abuelos gallegos, María, Gerónimo, Dolores y Manuel, inmigrantes luchadores que creyeron en sus sueños, y los hicieron realidad con su esfuerzo y amor...,

A mis amados padres, Beatriz y José, trabajadores incansables, quienes me dieron amor, dedicación y todo lo que pudieron para que pueda lograr mis sueños, y celebran desde el Cielo, este momento tan importante en mi vida...

2- AGRADECIMIENTOS

-Quiero agradecer en **primer lugar**, al **Prof. Dr. Guillermo Grazzioti**, Profesor de esta Casa de estudios y un gran investigador, por haber aceptado ser mi Director de Tesis y haber tenido conmigo una generosidad científica y calidad humana pocas veces vista, permitiéndome llegar a esta instancia. Deseo dejar bien en claro que su dirección y presencia en esta investigación, fue primordial.

-Quiero agradecer al **Sr. Carlos Victorica**, quien con gran conocimiento, precisión y eficiencia colaboró activamente en la elaboración de los preparados anatómicos,

- Quiero agradecer al **Prof. Dr. Daniel Lombardo**, Profesor de la Cátedra de Histología de nuestra Facultad, quien me ha permitido usar sus instalaciones para el desarrollo de mi Tesis, así como también, la posibilidad de pasantías de perfeccionamiento,

-Quiero agradecer a los **Sres. Evaluadores de esta tesis**, que sin conocerlos aun, me ayudaron muchísimo con sus críticas y opiniones, para llegar su finalización.

-Quiero agradecer a nuestra **Universidad de Buenos Aires**, y por ende a nuestra **Argentina**, por haberme dado una **educación pública de excelencia y no arancelada en el grado y de posgrado**.

- Por último, a mi familia..., mis hijos, (quienes me alentaban sabiendo cuán importante para mí era terminar con mi Doctorado) y **en especial a mi mujer Gabriela** por su apoyo incondicional...

3- RESUMEN

La musculatura epiaxial es definida por la innervación muscular dada por las ramas dorsales de los nervios espinales. Esta musculatura está involucrada en movimientos rotacionales alrededor de los ejes transversales (extensión), vertical (lateralidad) y longitudinal (giro de una vértebra en relación con la vértebra contigua). Además, estos músculos contrarrestan movimientos pasivos inducidos por fuerzas gravitacionales e inerciales y movimientos activos generados por músculos antagonistas (músculos abdominales) o transmitidos al tronco desde los miembros pelvianos.

El músculo transversoespinal tiene una parte profunda representada por el músculo multifido, cuyas inserciones caudales se realizan en procesos mamilares lumbares, transversos torácicos y articulares cervicales, para alcanzar cranealmente la lámina (fascículos más cortos y profundos) o el proceso espinoso (fascículos más largos), pasando a través de una o más metámeras. La metámera es definida como el segmento comprendido entre dos mitades de vértebras sucesivas, y comprende un segmento de hueso dividido (dos vértebras sucesivas), un segmento muscular y el nervio segmentario. Los fascículos del músculo multifido están innervados por las ramas dorsales del nervio espinal perteneciente a la metámera de su inserción craneal.

El segmento de movilidad vertebral (SMV) está anatómicamente formado por dos vértebras adyacentes y las estructuras de tejidos blandos interpuestas, constituyendo un concepto muy importante en el estudio realizado. Si bien el rango de movimiento de cada SMV es pequeño, no es uniforme en toda la columna tóracolumbar, y el exceso de movimiento es conocido como causa frecuente de osteoartropatías en el caballo deportivo. Además fue documentada una relación entre patologías de columna y áreas de sección transversa del músculo multifido asimétricas, en el caballo y en el humano, donde el músculo tiene funciones de estabilizador del SMV.

El presente estudio fue diseñado teniendo en cuenta la importancia del músculo multifido en la postura y dinámica de la columna del equino, su relación con patologías osteoarticulares, y la escasa documentación acerca de la estructura y función de este complejo muscular.

Utilizando cadáveres de 11 equinos de raza Silla Argentino se obtuvieron en las vértebras T4, T9, T12, T17, y L3 los fascículos dimetaméricos (R), trimetaméricos (3M), y tetrametaméricos (4M) de los músculos multifidos, diseccionando desde la

inserción craneal en el proceso espinoso hacia la inserción caudal adyacente al proceso transverso. Adicionalmente se obtuvieron todos los fascículos insertados en el proceso espinoso T4, dado el interés funcional que motivó el hallazgo en el primer animal estudiado, de la existencia de fascículos que exceden en su extensión la longitud de cinco metámeras. Además fueron obtenidos los fascículos correspondientes a los músculos sacrocaudal dorsal lateral (SCDla) y medial (SCDme) En los músculos obtenidos se midió, mediante un calibre, la longitud entre origen e inserción; posteriormente, con el objeto de estudiar el diseño arquitectónico del músculo, los segmentos musculares fueron colocados en una solución de formalina al 10% en agua durante 30 días, y luego inmersos en una solución de ácido nítrico al 20% durante 5 días, enjuagados con agua corriente y solución difosfato, y conservados en solución de formalina al 6% hasta análisis. Para estudiar su arquitectura, en los músculos se realizó una disección roma de los fascículos musculares, con la ayuda de lupa de luz auto portante. Se midió mediante un calibre la longitud existente entre las hojas de aponeurosis que dan inserción a los fascículos; seguidamente se midió la longitud de al menos 10 fascículos por músculo. Los valores obtenidos por calibre fueron normalizados (LFN) de acuerdo a la longitud del sarcómero utilizando la ecuación: $(LF \times lso/lsm)$ donde LF corresponde a la longitud medida por calibre, lsm corresponde al promedio de los sarcómeros medidos y lso corresponde a la longitud óptima de los sarcómeros del equino (2,80 μm). El valor de lsm fue obtenido como promedio, luego de medir la longitud de los sarcómeros de 10 fibras de cada músculo estudiado. Los datos obtenidos de la longitud del espacio entre las hojas de aponeurosis y la longitud de las fibras, fueron llevados a una escala de 10X. En un papel milimetrado, se representó con dos líneas paralelas, a las aponeurosis, y entre ambas se ubicó una línea a escala representando la longitud del fascículo muscular; seguidamente mediante un goniómetro se midió el ángulo formado entre las líneas que representaron al fascículo y la aponeurosis, determinando de manera indirecta el ángulo de pinación de inserción muscular, cuyo coseno fue utilizado en la ecuación que determina la sección fisiológica transversa del músculo (PCSA). Con posterioridad al registro de estos datos, en cada músculo se realizó la separación de las fibras musculares del componente de conectivo fibroso que forman el tendón/aponeurosis, el epimisio y tabiques de perimisio. Seguidamente se pesaron por separado, en balanza de precisión ($\geq 0,001g$), el tejido conectivo y el tejido muscular, para obtener la masa de conectivo y masa de músculo (Mm). Los registros mencionados (LFN, ángulo de pinación, Mm) fueron utilizados

para obtener los siguientes parámetros: PCSA expresada en cm^2 , fuerza máxima ($F_{\text{máx}}$) expresada en N, velocidad máxima de contracción ($V_{\text{máx}}$) expresada en m/seg y potencia (P), expresada en W.

Los músculos considerados se componen de un porcentaje diverso de fibras de tipo I, IIA y IIX y teniendo en cuenta que la velocidad de contracción de cada tipo de fibra varía significativamente en cada músculo para los valores de $V_{\text{máx}}$ se consideró el área relativa (AR) presente de cada tipo de fibra en cada músculo.

A partir de los mismos cadáveres utilizados para los estudios macroscópicos, del lado izquierdo, se obtuvieron las muestras para hacer el estudio inmunohistoquímico para identificar los tipos de fibras musculares presentes en cada músculo. Las muestras musculares 1,5x0, 5x0, 5cm fueron cubiertas con polvo de talco y sumergidas en nitrógeno líquido durante 40", y luego almacenadas hasta análisis a 80°C en freezer. A partir de ellas, cortes seriados de 10 μm de espesor realizados en crióstato a -25°C fueron montados en portaobjetos tratados con solución de polilisina al 1%. Los cortes seriados obtenidos fueron utilizados para la demostración de la actividad de la enzima miosina-adenosina-trifosfatasa (mATPasa) en preincubaciones ácidas y básicas, Con el objeto de identificar el metabolismo fibrilar predominante, los cortes seriados de los distintos músculos fueron teñidos por las técnicas de nicotinamida adenina dinucleótido tetrazolium reductasa (NADH-TR) y α glicerilfosfato dehidrogenasa (α GPD). Otros cortes seriados fueron incubados con anticuerpos monoclonales (AcMo) contra isoformas de cadena pesada de miosina, utilizando el método de avidina-biotina peroxidasa indirecta. En otro corte de la misma serie, la identificación de los capilares sanguíneos que irrigan cada fibra, se realizó mediante la tinción endotelial usando el mismo protocolo de inmunohistoquímica, empleando lectina 1:30, que tiñe específicamente el endotelio. Seguidamente se capturaron imágenes del mismo campo de cada una de las reacciones realizadas, a partir de las cuales se identificaron los tipos de fibras (analizando los resultados de las reacciones de mATPasa de preincubación ácida, básica, NADH-TR; GPD y AcMo) y se determinó, en las reacciones de mATPasa de preincubación ácida el área de sección transversa de cada fibra (CSA) y a partir de este dato, el área ocupada por cada tipo de fibra (área relativa, AR), el área absoluta de cada fibra (AA), el porcentaje del tipo de fibra, el metabolismo predominante mediante la densidad óptica (DO) en las reacciones de NADH-TR y α GPD, y el índice de difusión capilar (IDC). Los valores de los parámetros estudiados relativos a la estructura y funcionalidad de los músculos, AR y AA fueron analizados mediante análisis de

varianza en un diseño en bloques completamente al azar en los cuales los animales fueron tomados como bloques ($p \leq 0,05$), con comparaciones *a posteriori* mediante la prueba de Bonferroni (parámetros funcionales) y Tukey (AR y AA) ($p \leq 0,05$).

El diseño arquitectónico de los músculos multifidus mostró que se compone de fascículos alojados entre 3 hojas de tejido conectivo fibroso que actúa como tendón o aponeurosis ordenadas en paralelo, uniendo procesos mamilares o transversos con el proceso espinoso correspondiente al punto de inserción craneal en los segmentos de movilidad vertebral (T4, T9, T12, T17, L3). Se confirmó que los fascículos más profundos y ventrales tienen una extensión dimetamérica (multífido dimetamérico o rotador largo) y se extienden en la columna torácica y lumbar. El SMV cranealmente indicado por la vértebra T4 contiene fascículos que se extienden entre 2 y 8 metámeras, mientras que los SMV que corresponden a las vértebras T9, T12, T17 y L3 contienen fascículos que se extienden entre 2 y 4 metámeras. Los músculos SCDla y SCDme también tienen una estructura similar, aunque se extienden a través de diversas metámeras desde las primeras vértebras caudales hasta el proceso espinoso de la IV vértebra lumbar y la III sacra respectivamente. Los valores de longitud de fibra normalizada se ordenaron significativamente en forma decreciente desde SCDla, SCDme, 7MT4, 8MT4, 3MT4, 6MT4, 4MT9, 4MT17, 4MT4, 4MT12, RT4, 3MT9, 3MT17, RT9, 3MT12, RT12, 3ML3, 4ML3, RT17 a RL3. Los valores de PCSA se ordenaron significativamente de manera decreciente desde 3ML3, 3MT12, 3MT17, 4ML3, 4MT17, 4MT12, 4MT9, SCDme, SCDla, 3MT9, 4MT4, RT12, RT17, 6MT4, 7MT4, RT9, RT4, RL3, 3MT4 a 8MT4. Los valores de $V_{m\acute{a}x}$ se ordenaron significativamente en forma decreciente desde SCDla, 4MT17, 7MT4, 8MT4, 4MT9, 3MT4, 4MT12, SCDme, 3MT9, 3MT17, 6MT4, RT12, RT4, 3MT12, 4MT4, 4ML3, 3ML3, RT17, RT9 a RL3. Los valores de Mm se ordenaron significativamente en forma decreciente desde SCDla, SCDme, 7MT4, 4MT17, 4MT9, 3ML3, 4MT12, 6MT4, 3MT12, 4MT4, 3MT17, 3MT9, 4ML3, 3MT4, RT12, RT4, 8MT4, RT9, RT17, a RL3. Las fibras de tipo I y IIA fueron identificadas en todos los músculos estudiados, mientras que la expresión fenotípica de las fibras IIX sólo estuvo presente en algunos músculos. No existió diferencia significativa en relación a las AR ocupadas por las fibras I, IIA y IIX en los músculos estudiados. Considerando las AR ocupadas por los distintos tipos de fibras de los fascículos insertados en cada SMV estudiado, el AR de las fibras de tipo I fue significativamente más elevado en el SMV T4.

Los resultados obtenidos en cuanto a la extensión metamérica de los fascículos multífidos acuerdan parcialmente con la bibliografía existente, ya que se ha encontrado fascículos que se extienden entre 2 y 8 metámeras en el SMV T4. En el resto de los SMV encontramos fascículos que se extienden entre 2 y 4 metámeras, mientras que la bibliografía indica la existencia de fascículos entre 1 y 5 metámeras para toda la columna tóracolumbar. Dentro del contexto indicado por la bibliografía que fundamenta que el músculo longísimus actúa constituyendo una plataforma tóracolumbar que transmite los impulsos pelvianos a la región torácica craneal (interescapular), oponiéndose al peso de la cabeza y cuello. Es probable que los largos fascículos (5-8 metámeras) insertados en el SMV T4 encontrados en este estudio probablemente indiquen que actúen como agonistas de los músculos longísimus y espinal, oponiéndose a la flexión torácica craneal que ocurre cuando la cabeza y cuello descienden. La acción de extensión de estos largos multifidos se encuentra fundamentada en los valores incrementados de LFN y los valores decrecientes de PCSA presentes en estos músculos, indicadores de alta capacidad de acortamiento y baja capacidad de generar fuerza isométrica. El AR de las fibras de tipo I en esta región se explica en que los músculos utilizan preferentemente fibras de tipo I durante acortamientos a velocidad lenta ya que estas fibras son más eficientes en el uso de energía durante este tipo de movimientos. Además, el diseño estructural (en este caso con incremento de la longitud de las fibras) es un factor más potente en determinar la función muscular que las características bioquímicas (tipo de fibra). En contraste, los valores incrementados de PCSA y disminuidos de LFN en 3MT9, 3MT17, 3MT12, 3ML3 y 4ML3 aumentan la capacidad de generar fuerza isométrica, neutralizando movimientos excesivos en estos SMV, los cuales están relacionados a un incremento en la rotación en los ejes vertical y axial entre T9-T14, y al incremento de rotación a eje transversal en T17 (flexión) y región lumbosacra (extensión).

Los músculos 3MT12, 3MT17, 3ML3, 4MT12 y 4MT17 con altos valores de PCSA consolidan la plataforma tóracolumbar. También hay que destacar el ordenamiento de los valores de PCSA de los músculos RL3, RT4-RT9 y RT17-RT12 en acuerdo con la movilidad de los SMV involucrados, sugiriendo una acción antigravitacional heterogénea y compleja.

El ordenamiento significativo de los valores de $V_{m\acute{a}x}$ muestra para algunos músculos un ordenamiento prácticamente inverso al ordenamiento de los valores significativos de PCSA. Sin embargo es de destacar que para algunos músculos el ordenamiento de los

valores de ambos parámetros los encuentra en sitios parecidos, lo cual indicaría una función dual.

La longitud de los músculos multifidus (de acuerdo a las metámeras que atraviesan) parece ser independientes de la LFN y del Mm, sugiriendo una inervación cronológica diferente y diversa función.

La mayor capacidad antigravitatoria observada en los músculos 3M (>PCSA) se corresponde con su presencia en los más móviles SMV. Los valores de PCSA en el SMV L3 son consistentes con los altos valores de extensión en el segmento lumbosacro. El SCDla tiene las características estructurales y bioquímicas de un músculo longissimus, y probablemente por su largo tendón y su extensión atravesando el espacio lumbosacro, contribuya a la extensión de la articulación lumbosacra. El SCDme tiene una estructura que le otorga mayor capacidad de generación de fuerza isométrica, y por su inserción en el sacro probablemente contribuya a la estabilidad de la columna sacra; además inmunohistoquímicamente tiene un elevado valor de AR de las fibras de tipo I con gran área absoluta de las mismas de las misma, haciéndolo especialmente apto para esta acción estabilizadora.

Los hallazgos de este estudio con fascículos de multifidus de diferente longitud empaquetados en aponeurosis comunes indican una capacidad sinérgica intersegmentaria y adaptativa, permitiendo un mejor control de la estabilidad intervertebral. Los fascículos insertados en un determinado proceso espinoso están inervados por un mismo nervio espinal; sin embargo esto no significa una función homogénea, ya que cada fascículo puede actuar como un compartimiento neuromuscular, otorgando un torque particular, aún en una misma articulación.

Estos resultados sugieren que las características estructurales de los músculos multifidus son significativamente diferentes de acuerdo al SMV considerado.

Puede concluirse que los músculos multifidus del equino en la región toracolumbar, son homogéneos inmunohistoquímicamente, con importantes variaciones estructurales que tienen importante significado funcional de acuerdo a los parámetros de PCSA y V_{máx}.

PALABRAS CLAVES

Equinos, músculo multifidus, tipo de fibra muscular, columna

4- ABSTRACT

Epiaxial musculature is defined by muscle innervation of spinal nerves dorsal branches. This musculature is involved in rotational movements around the transverse axis (extension), vertical (side) and longitudinal (rotation of a vertebra in relation to the adjacent vertebra). In addition, these muscles working against passive motions induced by gravitational and inertial forces and active movements generated by antagonist muscles (abdominal muscles) or transmitted to the trunk from the pelvic members.

Transversoespinal muscle has a deep part represented by muscle multifidus with caudal attachment in thoracic, lumbar and transverse mamillary processes and cervical joint, and cranially shorter and deep fascicles on the spinous process and longer fascicles passing through one or more metameres. Metamere is defined as the segment between two halves of successive vertebrae, and includes a segment of bone split (two successive vertebrae, a muscle segment and the segmental nerve.) Multifidus muscle fascicles are innervated by the dorsal branches the spinal nerve, which belongs to the metamere of its cranial insertion.

Two adjacent vertebrae anatomically form the segment of spinal mobility (SMV), and soft tissue structures filed, forming a very important concept in the study. While the range of motion of each SMV is small, it is not uniform in the entire thoracolumbar column, and the excess movement is known as a frequent cause of osteoarthropathies in the sport horse. A relationship between column pathologies and asymmetrical areas of transverse section of the multifidus, the horse and the human muscle, where the muscle has functions of the SMV stabilizer was also documented.

The present study was designed considering the importance of muscle multifidus in posture and dynamics of the column of the horse, its relationship with osteoarticular pathologies, and poor documentation about the structure and function of this muscle complex.

By studying 11 Silla Argentina bred sport horses postmortem di-metameres (R), tri metameres (3 M), and tetra metameres (4 M) multifidus fascicles, were obtained in T4, T9, T12, T17, and L3 vertebrae dissecting muscles from the cranial insertion in the spinous process toward the adjacent transverse process caudal insertion. In addition, fascicles inserted into the spinous process T4 were obtained, considering functional interest in relation the existence of fascicles longer than five metameras in extension in

the first studied animal. Sacrocaudal dorsal lateral (SCDla) and medial (SCDme) muscle fascicles were also obtained. Then, muscle lengths were measured with a gauge, between origin and insertion. Subsequently, in order to study the architectural structure of the muscle, the muscle segments were placed in a solution of formalin 10% in water for 30 days, and then immersed in a solution of nitric acid 20% for 5 days. After this, they were rinsed with running water and diphosphate solution, and preserved in formalin solution 6% up the moment of analysis. Muscles fascicles were blunt dissected with the help of self-supporting light Magnifier in order to study its architecture. Aponeurosis, which provides insertion to the fascicles, was measured with a gauge existing length among the layers. The length of at least 10 fascicles was then measured by muscle. GA values were normalized (LFN) according to the length of the sarcomere using the equation: $(LF \text{ Iso}/x)$. LF as length measured by gauge, lsm corresponds to the average of the measured sarcomeres and Iso corresponds to the optimal length of the sarcomeres in the equine (2.80 μm) the value of lsm was obtained as average then measure the length of the sarcomeres of 10 each muscle fibers studied. Values obtained from the length of the space between the layers of aponeurosis and the length of the fibers, were taken to a scale of 10 X. On linear graph paper, aponeurosis was represented with two lines parallel and between them stood in a line scale representing the length of the muscle fascicle. Then, angle between the lines representing the fascicle and the aponeurosis was indirectly measured with goniometer in order to determinate the pination angles of muscle insertion.

Cosine values were used in the equation that determines the physiological transverse section of muscle (PCSA). Subsequent to the registration of these data, muscle fibres separation of the connective fibrous component, tendon/aponeurosis, epimysio and perimysium was performed in each muscle. Then connective tissue and muscle tissue were separately weighed in a precision balance ($\geq 0,001\text{g}$), in order to obtain the connective and muscle mass (Mm). The above records (LFN, pination angle, Mm) were used to obtain the following parameters: PCSA expressed in cm^2 , maximum force (Fmax) expressed in N, maximum speed of contraction (Vmax) expressed in m/sec and power (P), expressed in W.

Muscles are composed of a different type I, IIA, and IIX fiber percentage and considering that speed contraction of each type of fiber varies significantly in each muscle, the relative area (AR) present in each type of fiber in every muscle were considered in order to obtain Vmax values.

From the same cadaveric preparations used to macroscopic studies, on the left side, the samples were obtained to make the immunohistochemical study to identify the types of muscle fibers present in each muscle. Muscle samples 1, 5 x 0, 5 x 0, 5 cm were covered with talcum powder and submerged in liquid nitrogen for 40 ", and then stored until analysis at 80 ° C in freezer. From them, serial cuts of 10 µm thick made in cryostat at - 25 ° C, and were mounted on slides treated with polilisina solution 1%. The obtained serial cuts were used for the demonstration of the activity of the enzyme myosin-adenosine-triphosphatase (mATPasa) in acid and basic preincubaciones, with the aim of identifying predominantly fibrillar metabolism. Serial cuts of different muscles were stained by nicotinamide adenine dinucleotide tetrazolium reductase (NADH-TR) and α glicerilfosfate dehydrogenase (α GPF) technique. Other serial cuts were incubated with monoclonal antibody (AcMo) against myosin heavy chain isoforms, using the avidin-biotin indirect peroxidase method. The identification of blood capillaries supplying each fiber, was performed by staining endothelial using the same protocol for immunohistochemistry, using lectin 1:30, which specifically stains endothelial in another samples of the same series. After this, images of the same field of each reactions were captured in order to identify fibers types (analyzing mATPasa acid, basic preincubation, NADH-TR; GPD reactions) and the mATPasa acid preincubation reactions o area of cross-section of each fiber (CSA) and from this data. The area occupied by each type of fibre (relative area, AR), the absolute area of each fiber (AA), the percentage of the type of fibre, metabolism predominantly via the optical density (OD) in the reactions of α -GPD and NADH-TR, and the rate of capillary diffusion (IDC) was determinated too. The values of the parameters relating to the structure and function of muscles, AR and AA were analyzed by analysis of variance in a design in completely randomized blocks in which the animals were taken as blocks ($p \leq 0.05$), with comparacions *ex post* by the Bonferroni (functional parameters) and Tukey (AR and AA) test ($p \leq 0.05$).

The architectural design of the multifidus muscles showed fascicles hosted between 3 sheets of fibrous connective tissue that acts such as tendon and aponeurosis arranged in parallel, joining mamillary or transverse processes with the spinous process corresponding to the point of cranial insertion in the segments of spinal mobility (T4, L3, T9, T12, and T17).

Deeper and ventral fascicles dimetameric extension (dimetameric multifidus or long Rotator) and extension in the thoracic and lumbar spine was confirmed. The SMV

superiorly indicated by the vertebrae T4 contains fascicles ranging between 2 and 8 metameris, while the SMV which correspond to the T9, T12, T17 and L3 vertebrae containing fascicles ranged between 2 and 4 metameris. SCDla and SCDme muscles also have a similar structure, although extend through various metameris from the first caudal vertebrae to the spinous process of the fourth lumbar vertebra and sacral III respectively the values of standard fiber length ordered significantly consecutively from SCDla SCDme, 7MT4, 8MT4, 3MT4, 6MT4, 4MT9, 4MT17, 4MT4, 4MT12, RT4, 3MT9, 3MT17, RT9, 3MT12, RT12, 3 3 ML, 4ML 3, RT17 RL3. The values of PCSA ordered significantly decreasing way from 3ML 3, 3MT12, 3MT17, 4ML 3, 4MT17, 4MT12, 4MT9, SCDme, SCDla, 3MT9, 4MT4, RT12, RT17, 6MT4, 7MT4, RT9, RT4, RL3, 3MT4 to 8MT4. The Vmax values were significantly ordered consecutively from SCDla, 4MT17, 7MT4, 8MT4, 4MT9, 3MT4, 4MT12, SCDme, 3MT9, 3MT17, 6MT4, RT12, RT4, 3MT12, 4MT4, 4 3 ML, 3ML 3, RT17, RT9 to RL3. The values of Mm ordered significantly consecutively from SCDla, 7MT4, 4MT17, 4MT9, and SCDme 3ML 3, 4MT12, 6MT4, 3MT12, 4MT4, 3MT17, 3MT9, 4ML 3, 3MT4, RT12, RT4, 8MT4, RT9 RT17, RL3. Type I and IIA fibers were identified in all muscles studied, while the phenotypic expression of the IIX fibers was only present in some muscles. There was no significant difference in relation to the AR occupied by I, IIA, and IIX fibers in the muscles studied. Whereas the AR occupied by different types of fibres of the fascicles inserted in each studied SMV, the AR of type I fibers was significantly more elevated in the T4 SMV.

The results obtained in terms of extension of the fascicles multifidus metameris agree partially with the literature. Considering the results of this thesis, it had been found issues ranging between 2 and 8 metameris in SMV T4. In the rest of the SMV found issues ranging between 2 and 4 metameris, while the literature suggests the existence Of fascicles between 1 and 5 metameris to the entire thoracolumbar spine. Bibliography mentions longissimus muscle action as thoracolumbar platform transmitting pelvic impulses to the thoracic cranial (interescapular), region in relation to the weight of the head and neck. Probably long fascicles (5-8 metameris) inserted into the SMV T4., found in this study indicate that they act as agonists of the longissimus muscle and spinal opposed to the cranial thoracic flexion that occurs when the head and neck are descended.

The action of these long multifidus extension is based on the increased values of LFN and the declining values of PCSA present in these muscles, indicators of high capacity

of shortening and low ability to generate force isometric. Fibers AR type I in this region is explained considering muscles action, because preferably type I fibers during contraction at low speed are more efficient in the use of energy during this type of movements. In addition, structural design (in this case with increase in the length of the fibers) is a powerful factor in determining muscle function that the biochemical characteristics (fiber type). In contrast, increased values PCSA and LFN in 3MT9, 3MT17, 3MT12, 3 3 ML and 4ML 3 increase the capacity to generate isometric force, neutralizing excessive movements in these SMV, which are related to an increase in rotation on the axis vertical and axial between T9-T14, and the increase of rotation to transaxle T17 (flexion) and region lumbosacral (extension).

3MT12, 3MT17, 3 3 ML, 4MT12 and 4MT17 muscles with high values of PCSA consolidate thoracolumbar platform. It should also be noted muscles RL3, RT4-RT9 and RT12-RT17 PCSA values order in agreement with the mobility of the involved SMV, suggesting an antigravity action heterogeneous and complex.

Vmax order values shows for some muscles a system practically reverse the ordering of the significant values of the PCSA. However, it is noteworthy that some muscles to the ordering of the values of both parameters were found in similar sites, which would indicate a dual function.

The length of the multifidus muscles (according to the metamere extension) appear to be independent of the LFN with the Mm, suggesting a different chronological innervation and different function.

Gravitating capacity observed in the muscles 3M (> PCSA) corresponds to presence in the higher movements SMV. The PCSA in SMV L3 values are consistent with the high values of extension in the lumbosacral segment.

The SCDla has the structural and biochemical characteristics of a muscle longissimus, and probably by its long tendon and its extension across the lumbosacral area, contribute to the extension of the lumbosacral joint. The SCDme has a structure that gives you greater isometric force generation capacity, and its insertion in the sacrum probably contribute to stability of the sacral spine; also inmunohistoquímicamente has a high value of AR fibres of type I with great absolute in the same area, making it especially suitable for this stabilizing action.

The findings of this study with different length multifidus packaged into common aponeurosis fascicles indicate a synergistic intersegmentary capacity and adaptive, allowing better control of intervertebral stability. Inserted fascicles inserted into a

spinous process are innervated by a same spinal nerve; however, this does not mean a homogeneous function, since each fascicle can act as a Chamber neuromuscular, giving particular tork, even in the same joint.

These results suggest that the structural characteristics of the multifidus muscles are significantly different according to the considered SMV.

It can be concluded that multifidus muscles of the equine thoracolumbar region, are histochemical homogenous, with significant structural changes that have important functional significance according to parameters of PCSA and Vmax.

KEY WORDS

Equine, multifidus m, fiber muscles type, spine

5- INTRODUCCIÓN

Las patologías de la región tóracolumbar, expresadas clínicamente como dolor de lomo, de común diagnóstico en la clínica equina de caballos deportivos, requieren un detallado conocimiento de la anatomía normal, para explicar la fisiopatología, pronóstico y tratamiento de estas afecciones.

La anatomía de la región tóracolumbar del equino de acuerdo con *Barone (1989)* y *Nickel y col. (1985)*, tiene características diferenciales con respecto a otras especies, las cuales están alineadas y complementan a otras del aparato locomotor, el cual ha evolucionado para lograr una especial aptitud para cumplir funciones estáticas y dinámicas muy eficientes en cuanto a capacidades para permanecer en estación, o marchas prolongadas al paso, trote, galope o salto.

La columna vertebral forma parte del aparato locomotor, contribuyendo además al sostenimiento de las vísceras y a la protección de la médula espinal. Las características óseas varían a lo largo de las regiones para adaptarse a su función, las estructuras ligamentosas otorgan estabilidad, mientras que los músculos intervienen en los complejos movimientos articulares de las articulaciones intercentrales e interneurales, contribuyendo además a la absorción de presiones y a la cohesión de la estructura vertebral, actuando en algunos casos como verdaderos medios de unión elásticos, dada la plasticidad del tejido muscular. La propiocepción y la nocicepción son importantes funciones neurológicas que desempeñan las articulaciones vertebrales.

Diversos autores describen la anatomía del equino en la región tóracolumbar, en forma predominantemente descriptiva *Martin, (1914)*; *Nickel y col., (1985)*, descriptiva-funcional-evolutiva *Barone, (1989)*; *Grassé, (1971)*, o con orientación hacia la aplicación clínica *Haussler y col., (1997)*; *Haussler, (1999)*; *Denoix, (1999)*; *Mc Gowan y col., (2007)*.

A partir de esta documentación, pueden sintetizarse las siguientes características regionales: en la región lumbar existen procesos transversos largos y aplanados, los cuales típicamente se articulan en esta especie en caudal de la región (L4-S1) y procesos articulares con una orientación radial. En la región torácica, procesos espinosos torácicos muy altos, especialmente en la región interescapular (T2-T8), vértebra anticlinal en el nivel T16, y la existencia de una vértebra diafragmática muy poco evidente (sin diferenciación clara en la orientación de las superficies articulares entre los

procesos articulares craneales y caudales), se encuentra en relación con la falta de flexión pronunciada durante la marcha a nivel de esta vértebra en esta especie. A su vez, las diversas marchas requieren una correcta posición de la cabeza, la cual junto con el cuello representa el 10% del peso corporal *Zsoldos y col., (2010)*, repercutiendo en craneal de la región tóraco-lumbar *Denoix, (1999)*; *Robert y col., (2001)*.

El sacro forma una pieza única de cinco vértebras, integrando una sólida unidad de contención con el ala del ilion, en una articulación de tipos fibroso y sinovial, que puede evolucionar a una articulación cartilaginosa o a una sinostosis *Barone, (1989)*, todo consolidado por un importante y extenso aparato ligamentoso que relacionan al sacro con las últimas vértebras lumbares, el ala y cuerpos del ilion e isquion ventralmente. Esta sólida organización tiene por objeto transferir las fuerzas de propulsión desde el miembro pelviano a la columna vertebral.

La fórmula vertebral considerada normal, corresponde a C7, T18, L6, S5, Ca 15-21. Sin embargo, no es infrecuente encontrar variaciones en la región tóracolumbar y variaciones en el ángulo entre procesos espinosos entre L6-S1 o L5-L6; aunque el 70% de los individuos completan 11 vértebras entre las regiones sacra y lumbar. El 30% restante presenta 5 vértebras lumbares *Stubbs y col., (2006)*.

El disco intervertebral se compone de un anillo fibroso, con capas concéntricas de fibras insertadas a 60°, lo cual asegura estabilidad contra los movimientos rotacionales y un núcleo central gelatinoso, rudimentario en la región tóracolumbar, lo cual está en relación directa con menor movilidad en la región.

Los procesos espinosos están muy bien desarrollados en la región tóracolumbar, sirviendo de brazo de palanca a la principal musculatura epiaxial que produce movimientos de rotación en tres ejes, transversal (extensión), vertical (lateralidad) y axial (derecha e izquierda). La longitud de los procesos espinosos y el ángulo que forman con el arco vertebral, varía en los distintos niveles y va a tener importancia en la acción muscular. Incrementan su longitud desde el segmento T2 al T12, y se inclinan caudalmente hasta el nivel T15, mostrando anticlinia en el nivel T16, para cambiar la dirección hacia craneal en las regiones torácicas caudales y lumbares. Finalmente en la región sacra vuelve a cambiarse la dirección hacia caudal; un incremento del espacio entre los procesos espinosos L5-L6 y L6-S1 es necesario para evitar una superposición durante la extensión. Las variaciones en el ángulo de orientación de los procesos espinosos se relaciona con distintas acciones musculares episomáticas, principalmente de los músculos espinal y longísimus.

La orientación de los procesos articulares en la región torácica craneal al segmento T16 es horizontal a un plano dorsal, permitiendo movimientos principales de lateralidad y rotación. La región torácica caudal y lumbar presenta procesos articulares con superficies orientadas verticalmente, hacia la línea media en forma envolvente, permitiendo principalmente movimientos de flexión y extensión. Los movimientos regionales y totales de la columna vertebral se deben a efectos acumulativos de los pequeños movimientos de los segmentos vertebrales.

Los procesos transversos sirven a inserciones musculares y ligamentosas para mantener la cohesión vertebral, y evitar las rotaciones mencionadas en grado excesivo. Es característica en el equino la existencia de articulaciones sinoviales entre los procesos transversos de las 2-3 últimas vértebras lumbares y L6-S1. Estas articulaciones permiten transmitir fuerzas de propulsión del miembro pelviano a la columna y evitar movimientos de rotación excesiva en la región.

Los principales ligamentos que cohesionan los segmentos de la columna son los ligamentos longitudinal dorsal y ventral, interespinoso, supraespinoso, y ligamentos amarillos. Una alta relación elastina-colágeno facilita la acumulación de energía potencial en la columna vertebral. Los ligamentos intertransversarios lumbares limitan la rotación y la flexión lateral.

Resumiendo, la musculatura episomática, innervada por ramas dorsales de nervios espinales interviene en movimientos de rotación de la columna y a su vez evitando excesos en los mismos. De acuerdo con *Schilling and Carrier (2009)* ella contrarresta movimientos pasivos inducidos por fuerzas gravitacionales e inerciales, y movimientos activos producidos por músculos antagonistas o transmitidos al tronco por los músculos extrínsecos de los miembros pelvianos. La musculatura hiposomática, innervada por las ramas ventrales de los nervios espinales interviene en la flexión y lateralidad de la columna, *Barone, (1989); Nickel y col.(1985); van Weeren, (2009)*.

A esta altura, y antes de continuar con la descripción de los músculos, conviene aclarar que se denominará a la relación de los músculos con el esqueleto, inserciones musculares, sin diferenciar entre origen e inserción, ya que debido a la complejidad de la estructura, control nervioso y acción muscular, dos o más inserciones de un músculo pueden resultar menos móviles (origen) o más móviles (inserción), de acuerdo a las necesidades fisiológicas *Barone, (1989); Higham y col., (2011); Monti y col., (2001)*.

La musculatura episomática en la región tóracolumbar incluye un músculo superficial muy voluminoso, el erector espinal, el cual se compone de tres músculos,

iliocostal, longissimus y espinal ubicados de lateral a medial respectivamente *Barone, (1989); Delp y col., (2001)*. En el caballo, estos tres músculos se hallan bien fusionados en la región torácica postdiafragmática y lumbar, y toma su principal inserción caudal en la cresta ilíaca del ilion y en los ángulos adyacentes de este hueso; los fascículos que se insertan en la cresta mediana del sacro son menos numerosos. La fascia tóracolumbar cubre al m. erector y así indirectamente le da inserción en procesos espinosos. Las inserciones craneales se hacen en procesos transversos lumbares y costillas para el ilocostal; procesos espinosos mediante la aponeurosis de revestimiento, procesos transversos, procesos mamilares y costillas para el longissimus, y superficies laterales de los procesos espinosos para el músculo espinal.

También la musculatura episomática incluye al músculo trasverso espinal, que tiene como inserciones procesos mamilares y transversos en la región tóracolumbar y procesos espinosos. Una parte superficial, el semiespinal tóracolumbar no está diferenciado en el equino y se halla fusionado al músculo espinal *Barone, (1989)*.

El músculo trasverso espinal tiene una parte profunda muy importante, representada por el músculo multífido, el cual tiene como inserciones caudales procesos mamilares lumbares, transversos torácicos y articulares en la región cervical. Los fascículos, fibrosos en sus extremos y carnosos en el centro, cubiertos de una aponeurosis de revestimiento, se dirigen cranealmente y hacia medial para insertarse en las caras laterales de los procesos espinosos de vértebras craneales, después de haber atravesado entre una *Stubbs y col., (2006)* y seis metámeras *Nickel y col. (1985)*, existiendo variaciones entre estos valores extremos *Mc Gowan y col. (2007); Barone, (1989)*. La metámera es un concepto embriológico y comprende al segmento extendido entre la mitad caudal del cuerpo de una vértebra y la mitad craneal del cuerpo de la vértebra siguiente, incluyendo a los tejidos blandos ubicados en el. Los músculos rotadores largos son fascículos cortos, pertenecientes al complejo multífido, difícilmente aislables en el equino, que se extienden de procesos transversos o mamilares a la base de procesos espinales de una vértebra craneal después de atravesar dos metámeras. Algunos autores *Barone, (1989); Nickel y col., (1985)* los denominan rotadores largos, mientras que otros los incluyen dentro de los músculos multifidos *Stubbs y col., (2006), Mc Gowan y col., (2007)*.

Un concepto importante a tener en cuenta es la definición de segmento de movimiento vertebral (SMV), el cual está anatómicamente compuesto por dos vértebras adyacentes y las estructuras interpuestas de tejidos blandos *Haussler, (1999)*. El rango de

movimiento en cada segmento es escaso, pero la sumatoria de todos los segmentos es considerable. Durante los movimientos en el SMV de rotación en sus tres ejes: axial (derecha o izquierda), vertical (lateroflexión, derecha o izquierda) y transversal (flexión-extensión) se considera a la vértebra craneal desplazándose sobre un punto fijo (vértebra caudal). El centro de rotación (CR) se ubica en el centro de la vértebra caudal, el cual se desplaza dorsalmente durante la extensión, y ventral y caudalmente, acercándose al disco intervertebral durante la flexión *Denoix, (1999)*.

Los movimientos de flexión tienen su menor amplitud en los extremos de las regiones torácica (T2-T9) y lumbar (L2-L5) y la mayor entre T1-T2; T17-L1 y lumbosacra (LS). En cuanto a la extensión la menor amplitud de extensión también se da entre (T2-T9) y (L2-L5). La mayor amplitud se da en la región LS, seguida en la región (T14-T18). Los movimientos de lateroflexión y rotación tienen mayor amplitud entre los segmentos (T9-T14, y más precisamente entre T11-T13) de acuerdo con *Denoix (1999)*, *Townsend y Leach (1984)*, *Townsend y col. (1986)* y *van Weeren (2009)*. En la región lumbar estos movimientos son casi inexistentes, al igual que entre los segmentos (T2-T9) debido a la fijación de las costillas al esternón y a la longitud de los procesos espinosos, aunque se incrementan durante la flexión del cuello *Denoix, (1999)*. *Slijper (1946)* sostiene que durante el galope o ambladura en el equino, la movilidad prácticamente queda reducida a la región lumbosacra, y que en la ambladura la columna es sometida a movimientos rotatorios.

6- ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO SOBRE LA TEMÁTICA DE ESTA INVESTIGACIÓN

Si bien a la musculatura profunda (m. multífido) se le ha prestado escasa atención en las patologías de la región tóracolumbar en equino, *Mc Gowan y col. (2007)* han documentado en equinos trotadores y pura sangre de carrera la importancia de investigar sobre las características anatómicas de esta musculatura epiaxial, corta, profunda, ya que se la considera en el hombre *Macintosh y Bogduk, (1986)* y el cerdo *Kaigle y col., (1995)* y en el equino *van Weeren y col., (2010)* estabilizadora de la columna, evitando una rotación anormal durante la contracción de músculos antagonistas como los oblicuos abdominales.

Precisamente esta musculatura corta profunda, tendría decisiva acción para evitar movimientos exagerados que pueden ser agentes de noxas en procesos articulares, espinosos y disco intervertebral. En el hombre se han descrito además variaciones en la sección transversal (CSA) del músculo multífido, disminución en la CSA de las fibras de tipo II, y alteraciones morfológicas en las fibras de tipo I. *Stubbs y col. (2011)* documentándose también la existencia de patologías osteoarticulares y dolor tóracolumbar con asimetrías y atrofias del músculo multífido en el equino. *Grassé (1971)* sostiene que los fascículos más cortos del músculo multífido actúan evitando la flexión contralateral, es decir que actuarían como verdaderos medios de unión aprovechando la plasticidad del tejido muscular, adaptándose en este caso mediante la utilización de fibras musculares resistentes a la fatiga (fibras de tipo I y IIA). Estas evidencias en el hombre, cerdo y equino sugieren que la musculatura epiaxial profunda, poco estudiada hasta el presente en el equino, actuaría manteniendo la neutralidad en el SMV durante las actividades de extensión de la musculatura epiaxial superficial (*longissimus* y espinal) y flexión de la musculatura hiposomática (músculos psoas y abdominales) *van Weeren, (2009)*.

Los procesos espinosos deben ser considerados como palancas que transmiten la fuerza generada por músculos y ligamentos a los cuerpos vertebrales. *Slijper (1946)* en una extensa tesis, documenta la importancia del ángulo que forma la inserción de la musculatura epiaxial en el proceso espinoso de las vértebras, indicando que la eficiencia de la acción muscular se incrementa cuando el valor del ángulo se aproxima a 90°. Esto permite lograr el máximo efecto con la menor longitud del proceso espinoso.

Desde el punto de vista de la patología, se ha revelado en el hombre que las determinaciones ultrasonográficas de la CSA del músculo multífido es un indicador fehaciente de patologías de la región tóracolumbar, evidenciando disminución de la CSA como resultado del dolor dorsal y a su vez predisponer a la recurrencia del dolor.

Recientemente *Stubbs y col. (2006)*, *Mc Gowan y col. (2007)*, *Stubbs y col 2011*, *van Weeren y col. (2010)* y *Clayton y col. (2012)* integrando un mismo equipo de trabajo y siguiendo la misma línea de investigación, han documentado en el equino la importancia del músculo multífido como estabilizador del SMV; probablemente el m. multífido sea activado para contrarrestar los momentos de flexión, y rotación de la columna vertebral, producidos por la contracción concéntrica de los músculos hipoaxiales (abdominales y sublumbar), que tienden a flexionar y doblar la columna vertebral durante los ejercicios dinámicos *van Weeren, (2009)*. En resumen este músculo contrarrestaría movimientos pasivos inducidos por fuerzas gravitacionales e inerciales producidas por músculos antagonistas o transmitidas al tronco por el impulso de los miembros pelvianos *Schilling y Carrier, (2009)*.

Crook y col. (2008) comparan la arquitectura de determinados músculos del miembro pelviano de las razas Árabe y Cuarto de milla (Quarter horse), encontrando diferencias en la masa muscular, pero no en la longitud de las fibras y el ángulo de pinación de inserción de las fibras del músculo en su interior. Sin embargo, ninguno de estos autores realiza un estudio de la arquitectura y de las características de las fibras musculares para investigar acerca de la capacidad funcional del músculo. Solamente *Payne y col. (2005a y b)* incluyen en sus estudios de arquitectura muscular los tipos de fibras, pero simplifican atribuyendo a los músculos una composición predominante de fibras IIA, lo cual le resta fortaleza a sus conclusiones, ya que ha sido muy bien documentado que el músculo esquelético de equino presenta los tipos puros de fibras I, IIA y IIX (*Rivero y col., (1996)*; *Eizema y col. (2003)*).

La locomoción es el resultado de la integración de múltiples estructuras activas y pasivas. Los músculos actúan acortándose o enlongándose, produciendo o absorbiendo energía haciendo un trabajo mecánico. En otros casos pueden hacer mínimo trabajo, pero pueden acumular suficiente energía elástica que ayuda a estabilizar o a retornar a una articulación (*Higham y col., (2011)*); estas cualidades estarán directamente relacionadas con el diseño arquitectónico del músculo (*Burkholder y col., (1994)*; *Kearns y col., (2002)*). De acuerdo con *Meyer y Lieber (2011)*, la matriz extracelular está involucrada en la macroestructura del músculo, organizando las fibras, los fascículos e

integrando la estructura muscular con aponeurosis y tendones. Además la matriz extracelular tiene una función esencial en la transducción mecánica y en la transmisión de fuerza lateral (*Monti y col., (2001)* desde la fibra al tendón y viceversa. El estiramiento mecánico y la elasticidad de la matriz extracelular es crítica para el cumplimiento de su función y debe ser lo suficientemente rígida para sostener la carga de contracción y lo suficientemente elástica para prevenir el laceramiento bajo las fuerzas intervinientes. Estas propiedades cambian con la edad y enfermedades.

El poder de un músculo que se expresa en generar movimiento/s o sostén, depende en primera medida de la masa muscular; pero al considerar la masa muscular no solo se está hablando de la magnitud de su peso, sino que es necesario considerar la arquitectura del músculo y sus características bioquímicas dadas por el tipo de fibras que lo componen.

El estudio de la arquitectura muscular, es decir, la longitud y ordenamiento de sus fibras es una importante determinante de su función (*Felder y col., (2005); Eng y col., (2008)*). Por ejemplo, la longitud óptima indica el rango donde el músculo puede generar fuerza activa; la relación entre masa muscular y longitud de fibra indica la máxima capacidad de generar fuerza, es decir el área de sección fisiológica del músculo (PCSA) *Delp y col., (2001); Felder y col., (2005)*, mientras que la longitud de las fibras y su ángulo de pinación son características determinantes en la velocidad de acortamiento de un músculo *Burkholder y col., (1994); Felder y col., (2005)*. La mayor velocidad de contracción del músculo va a estar relacionada con la mayor longitud de las fibras y con un ordenamiento paralelo (sarcómeros en serie). En cambio, la producción de fuerza isométrica, en la que no hay acortamiento, se relaciona con fibras cortas *Kearns y col., (2002)*. Por otra parte ha sido documentado que las características de las fibras musculares que componen un músculo, constituyen un indicador fehaciente acerca de la función muscular, ya sea de su capacidad para realizar contracciones isométricas o de acortamiento, con variable resistencia a la fatiga *Monti y col., (2001); Roy e Ishihara, (1997)*. La documentación de *Eng y col. (2008)* concluye claramente que las características arquitectónicas de un músculo constituyen el más grande predictor de la función muscular, ya sea antigravitatoria o no antigravitatoria. Cuando en un músculo coinciden características de arquitectura y bioquímicas, es decir, fibras largas y rápidas (acción no antigravitatoria), o fibras cortas y lentas (acción antigravitatoria), se incrementa la eficiencia del músculo *Kearns y col., (2002)*. Sin embargo, pueden existir incongruencias entre diseño arquitectónico y tipo de fibras (ej.

fibras largas, paralelas, de contracción lenta) que reflejan variabilidad de requerimientos funcionales dentro de un músculo simple *Graziotti y col., (2004)*, especialmente cuando cruzan múltiples articulaciones *Eng y col., (2008)* o indican adaptabilidad funcional evolutiva *Graziotti y col., (2012)*. Resumiendo, la documentación de *Eng y col. (2008)* respalda que, considerando a ambas, las características de las fibras musculares (tipo de fibra y características metabólicas) y la arquitectura (masa muscular, longitud de fibras y ángulo de pinación) puede predecirse la capacidad de un músculo para producir fuerza máxima ($F_{\text{máx}}$), poder o potencia, excursión y la velocidad máxima de acortamiento ($V_{\text{máx}}$). Una característica arquitectónica importante la constituye la relación entre la longitud de fibras normalizada (LFN) y la longitud del músculo normalizada (LMN), indicando que el incremento de esta relación disminuye la capacidad de generar fuerza isométrica (PCSA) y se incrementa la capacidad de excursión o acortamiento. Asimismo, si la relación entre la longitud de fibras /masa muscular decrece, significa que un mayor número de fibras cortas van a estar empaquetadas dentro del músculo, incrementando la masa muscular y consecuentemente la PCSA, utilizando la elasticidad de elementos conectivos del músculo para almacenar energía e incrementar la eficiencia del movimiento *Meyer y Lieber, (2011)*.

Además, en otro orden, el análisis de las fibras musculares puede ser un indicador de patología neuromuscular, indicadas por agrupamientos anormales de los tipos de fibras en los fascículos, atrofas, modificaciones angulares, y alteraciones metabólicas *Valentine y col., (2000)*.

No existe documentación en el equino acerca de las características del diseño arquitectónico y de las fibras musculares, tales como área relativa (AR) y área absoluta (AA) del músculo trasverso espinal profundo, integrado en el equino por los músculos multífido y probablemente rotador largo, tanto en animales sanos o con patologías segmentarias de la región tóracolumbar. Su conocimiento puede contribuir a explicar la funcionalidad en los distintos SMV, y los valores normales que podrán ser utilizados como herramienta para interpretar las fisiopatologías regionales, orientar diagnósticos y pronósticos y evaluar tratamientos.

Con respecto al tipo de fibras musculares, ha sido muy bien documentado *Eizema y col. (2003)*, *Rivero y col. (1996)* mediante hibridación *in situ*, electroforesis y anticuerpos monoclonales específicos contra las isoformas de cadena pesada de miosina, que el músculo esquelético del equino posee tres isoformas de cadena pesada I, IIa y IIx, que da lugar a los tipos puros de fibras I, IIa y IIx y al tipo híbrido IIxa

principalmente estas últimas expresadas en animales en crecimiento o en músculo no entrenado. Recientemente, *Hyytiäinen y col. (2014)* han documentado el porcentaje de fibras de tipo I, IIa y IIX en el músculo multífido de equino de distinta longitud, aunque sin especificar los sitios de muestra en relación a los SMV, ni determinado sus características estructurales y parámetros funcionales.

Teniendo en cuenta los conocimientos actuales de acuerdo a la bibliografía existente en relación a la anatomía normal del músculo multífido en el equino y su probable relación con patologías toracolumbares, se establecen los objetivos de este estudio.

7- OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

. Realizar un estudio anatómico detallado del conjunto de músculos trasverso espinales profundos del equino en la región tóracolumbar, en animales sin patologías del aparato locomotor, con el fin último de aplicarlo a la interpretación de los movimientos de la columna tóracolumbar y a la clínica equina.

OBJETIVOS PARTICULARES

- . Describir la anatomía normal macroscópica del músculo multífido en el equino.
- . Determinar fehacientemente la existencia del músculo rotador largo del equino en la región tóracolumbar.
- . Establecer los ángulos de inserción de los músculos multífido y rotador largo en los procesos espinosos y su relación con la eficiencia de función en segmentos de la columna tóracolumbar variables funcionalmente.
- . Determinar el diseño arquitectónico de los músculos multífido y rotador largo en segmentos de la columna tóracolumbar variables funcionalmente.
- . Determinar las características de las fibras de los músculos multífido y rotador largo, tales como: porcentajes de tipos de fibras, áreas de sección transversal en regiones variables funcionalmente de la columna tóracolumbar.
- . Determinar la densidad capilar y densidad de fibras musculares en regiones variables funcionalmente.
- . Establecer los valores de los parámetros que indican la funcionalidad muscular (PCSA, F_{máx}, V_{máx} y potencia), de la musculatura trasverso espinal profunda en los segmentos de la columna tóracolumbar variables funcionalmente.

8- HIPÓTESIS

“La musculatura trasverso espinal profunda del equino, varía en sus características anatómicas en diversas regiones funcionales de la columna tóracolumbar, para adaptarse a su función isométrica estabilizadora durante la rotación sobre los ejes vertical, transversal y longitudinal del segmento de movimiento vertebral”

9- MATERIALES Y MÉTODOS

9. a Anatomía macroscópica

En 11 cadáveres de equinos, raza Silla argentino, con un rango de edad 11-15 años, llegados a la cátedra de Anatomía de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires, con no más de 24hs de muertos sin antecedentes de lesiones del aparato locomotor, se obtuvo la columna tóracolumbar realizando secciones transversales a la altura de la articulación entre la 6ª y 7ª vértebras cervicales en craneal y a la altura de los cuerpos de ambos huesos ilion en caudal. Una sección paramediana se realizó por un plano que pasó por el cuello de las costillas y los procesos transversos lumbares. Las piezas obtenidas fueron sumergidas durante 72 hs en una solución de formalina al 10% para preservar la longitud fisiológica de los músculos durante la fijación, de acuerdo con *Lieber y Fridén (2000)*. Posteriormente, del lado derecho, se realizó una cuidadosa disección de la musculatura trasverso-espinal profunda, en cada uno de los SMV (T1–S5).

En cada metámera y para cada músculo, se tomaron los ángulos de inserción formado por el cruce entre las líneas dadas por el eje del proceso espinoso y la dirección del músculo desde su origen hasta su inserción en el proceso espinoso, de acuerdo a *Slijper (1946) (Fig. 2)*. La medición fue realizada mediante un goniómetro, cuya línea 0 se ubicó sobre el eje del proceso espinoso; la intercepción de la línea de acción del músculo, trazada entre sus inserciones craneal y caudal con la línea 0 del goniómetro, indicó el ángulo de inserción (Fig. 2).

En las vértebras T4, T9, T12, T17, y L3 se obtuvieron los fascículos dimetaméricos (R), trimetaméricos (3M), y tetrametaméricos (4M), siguiendo el método de *Stubbs y col. (2006)*, diseccionando desde la inserción craneal en el proceso espinoso hacia la inserción caudal adyacente al proceso transverso. Adicionalmente se obtuvieron todos los fascículos insertados en el proceso espinoso T4, dado el interés funcional que motivó el hallazgo en el primer animal estudiado, de la existencia de fascículos que exceden en su extensión la longitud de cinco metámeras. En los músculos obtenidos se midió, mediante un calibre, la longitud entre origen e inserción; posteriormente, con el objeto de estudiar el diseño arquitectónico del músculo, de acuerdo con *Hermansson (1997)*, *Delp y col. (2001)* y *Sharir y col. (2006)* los segmentos musculares fueron colocados en una solución de formalina al 10% en agua durante 30 días; seguidamente

fueron tratados mediante un primer enjuague con agua corriente por goteo durante 1 hora, luego un segundo enjuague en solución de buffer fosfato salino (PBS) a pH 7,2 durante 1 hora y luego inmersos en una solución de ácido nítrico al 20% , durante 5 días, con control diario para evitar una digestión excesiva; cuando los fascículos pudieron visualizarse y separarse con instrumental romo, los músculos fueron enjuagados en agua corriente durante 4 días mediante goteo constante, nuevamente enjuagados en PBS y finalmente colocados en una solución de formalina al 6%, hasta análisis. Para estudiar su arquitectura, los músculos fueron extraídos de la solución de formol, enjuagados durante 10 minutos en agua corriente y secados a temperatura de laboratorio durante 30 minutos para lograr una deshidratación uniforme. En los músculos así tratados se realizó una disección roma de los fascículos musculares, con la ayuda de lupa de luz autoportante, y se identificaron las hojas de aponeurosis paralelas entre las cuales se insertan los fascículos. Se midió mediante un calibre la longitud existente entre las hojas de aponeurosis que dan inserción a los fascículos; seguidamente se midió la longitud de al menos 10 fascículos por músculo, asumiendo que la longitud de las fibras musculares es un 5% menor que la longitud de los fascículos Roy y col., (1984). Con el objeto de precisar la longitud de las fibras, los valores obtenidos por calibre fueron normalizados (LFN) de acuerdo a la longitud del sarcómero utilizando la ecuación: $(LF \times Iso/lsm)$ de acuerdo con Felder y col. (2005), donde LF corresponde a la longitud medida por calibre, Iso corresponde a la longitud óptima de los sarcómeros del equino ($2,80 \mu m$) de acuerdo con Marx y col. (2006) y lsm corresponde al promedio de los sarcómeros medidos. El valor de lsm fue obtenido como promedio, luego de medir la longitud de los sarcómeros de 10 fibras de cada músculo estudiado, a partir de imágenes digitales 1000X en formato TIFF de 150 pixeles utilizando el analizador de imágenes Scion versión β de uso libre. Los mismos valores obtenidos de la longitud de sarcómeros fueron utilizados para obtener la longitud normalizada del músculo (LMN), siguiendo a Kellis y col. (2012). Los datos obtenidos de la longitud del espacio entre las hojas de aponeurosis y la longitud de las fibras, fueron llevados a una escala de 10X. En un papel milimetrado, se representó con dos líneas paralelas, a las aponeurosis, y entre ambas se ubicó una línea a escala representando la longitud del fascículo muscular; seguidamente mediante un goniómetro se midió el ángulo formado entre las líneas que representaron al fascículo y la aponeurosis, determinando de manera indirecta el ángulo de pinación de inserción muscular, cuyo coseno fue utilizado en la ecuación que determina la PCSA.

Con posterioridad al registro de estos datos, en cada músculo se realizó mediante el uso de lupa de luz portante, pinza de mano izquierda y bisturí, la separación de las fibras musculares del componente de conectivo fibroso que forman el tendón/aponeurosis, el epimisio y tabiques de perimisio. Seguidamente se pesaron por separado, en balanza de precisión ($\geq 0,001\text{g}$), el tejido conectivo y el tejido muscular, para obtener la masa de conectivo y masa de músculo (Mm). Los registros mencionados (LFN, ángulo de pinación, Mm) fueron utilizados para obtener los siguientes parámetros, de acuerdo con *Payne y col. (2005a)*:

. Área de sección fisiológica del músculo (PCSA) expresada en $\text{cm}^2 = \text{VM} \times \cos / \text{LFN}$, donde cos es el coseno del ángulo de pinación de inserción de las fibras musculares, VM: volumen muscular, LFN: longitud de fibra normalizada.

. Volumen muscular (VM) expresado en $\text{cm}^3 = \text{Mm} / \rho$, donde ρ es densidad del músculo esquelético: $1,06\text{gcm}^{-3}$ *Lieber y Ward, (2011)*.

. Fuerza máxima (Fmáx), expresada en newton (N) = $\text{PCSA} \times \text{estrés isométrico máximo}$, donde estrés isométrico máximo: $22,5 \text{ Ncm}^{-2}$. El factor $22,5 \text{ Ncm}^{-2}$ indica el estrés isométrico máximo del músculo esquelético de vertebrados de acuerdo con *Lieber y Ward (2011)*.

. Velocidad máxima de contracción (Vmáx) = $0,33 \times \text{LFN/s}$ para las fibras de tipo I, $1,33 \times \text{LFN/s}$ para las fibras de tipo IIA y $3,20 \times \text{LFN/s}$ para las fibras de tipo IIX (*Rome y col 1990*), donde LFN es igual a la longitud de la fibra normalizada. Los valores mencionados son tomados a 15°C , incrementándose a un valor cinco veces mayor a 37°C *Payne y col., (2005a)*.

Como los músculos considerados probablemente se componen de un porcentaje diverso de fibras de tipo I, IIA y IIX (*Eizema y col., 2003; Rivero y col., 1996*) teniendo en cuenta la velocidad de contracción de acuerdo con *Rome y col. (1990)* y *Payne y col (2005a)* y la proporción que ocupa el área total de cada tipo de fibra en cada músculo (área relativa, AR) determinada en este experimento, la Vmáx se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

Velocidad máxima (Vmáx): $(5) \times (\text{AR tipo I}) \times (0,33) \times (\text{LFN/s}) + (5) \times (\text{AR tipo IIA}) \times (1,33) \times (\text{LFN/s}) + (5) \times (\text{AR tipo IIX}) \times (3,20) \times (\text{LFN/s})$. LFN es expresada en metros.

. Poder o potencia del músculo expresado en vatios (W): $\text{Vmáx} \times \text{Fmáx} / 10$ *Payne y col., (2005a)*.

Con el objeto de determinar el momento de palanca máximo (**r**) de los músculos de interés, una de las preparaciones fue colocada sobre una superficie plana,

obteniéndose fotografías digitales con una cámara ubicada lateralmente en el mismo plano dorsal de las vértebras, cuidadosamente determinado instrumentalmente mediante un nivel, en forma seriada de caudal a craneal. En cada toma fotográfica, se hizo foco central en los músculos que se insertan en cada SMV de interés. Posteriormente, utilizando las fotografías digitales en formato TIFF en resolución de 150 pixeles mediante el analizador de imágenes Scion versión β de uso libre, se trazó la línea de acción del músculo de interés, a partir de la cual se trazó la perpendicular que une esta línea con el centro de rotación durante la extensión de la vértebra *Denoix, (1999)*, y se midió la longitud del momento, de acuerdo con *Williams y col. (2008)*. A partir de este dato, fue calculado el momento de fuerza de cada músculo sobre su articulación (M), de acuerdo con la ecuación propuesta por *Williams y col. (2008)*, $M: F_{\text{máx}} \times r$.

9. b Inmunohistoquímica

A partir de los mismos cadáveres utilizados para los estudios macroscópicos, del lado izquierdo, se obtuvieron las muestras para hacer el estudio inmunohistoquímico. Muestras del centro del vientre muscular de 1,5 x 0,5 x 0,5cm fueron obtenidas de los músculos multífidos 3M y 4M y rotadores correspondientes a las metámeras de especial interés funcional (T4, T9, T12, T17, L3), de acuerdo a lo mencionado en la documentación citada en la introducción. Adicionalmente se decidió a medida que se avanzó en el estudio, tomar muestras musculares de los multífidos de más de 4M insertados en T4, debido a su presencia no indicada en la bibliografía y al especial interés funcional de la región interescapular, así como de los multífidos insertados en el último proceso espinoso lumbar (L5 o L6), y de los músculos sacrocaudal dorsal lateral (SCDla) y sacrocaudal dorsal medial (SCDme), debido a la importancia de la extensión en la región lumbosacra. Las muestras musculares fueron cubiertas con polvo de talco y sumergidas en nitrógeno líquido durante 40", y luego almacenadas hasta análisis a -80°C en freezer. A partir de ellas, cortes seriados de 10 μm de espesor realizados en criostato a -25°C fueron montados en portaobjetos tratados con solución de polilisina al 1%. Los cortes seriados obtenidos fueron utilizados para la demostración de la actividad de la enzima miosina-adenosina-trifosfatasa (mATPasa) en preincubaciones ácidas y básicas, según el protocolo de *Nwoye y col. (1982)* que modifica el método de *Brooke y Kaiser (1970)*. Con el objeto de identificar el metabolismo fibrilar predominante, cortes seriados de los distintos músculos fueron teñidos por las técnicas de nicotinamida

adenina dinucleótido tetrazolium reductasa (NADH-TR) y α glicerilfosfato dehidrogenasa (α GPD), de acuerdo al método de *Dubowitz (1985)*.

Otros cortes seriados fueron incubados con anticuerpos monoclonales (AcMo) contra isoformas de cadena pesada de miosina, utilizando el método de avidina-biotina peroxidasa indirecta, de acuerdo al protocolo indicado en *Graziotti y col. (2012)*. Su especificidad se indica en la tabla 1.

Tabla 1: AcMo contra isoformas de cadena pesada de miosina (MCP) y su especificidad en el equino *Rivero y col., (1996)*.

AcMo	I	Ila	Ilx
BA- F8 1:10	+	—	—
A.474 1:10	—	+	±
BF-35 1: 10	+	+	—

En otro corte de la misma serie, la identificación de los capilares sanguíneos que irrigan cada fibra, se realizó mediante la tinción endotelial usando el mismo protocolo de inmunohistoquímica, empleando lectina 1:30, que tiñe específicamente el endotelio (GSL I- Isolectin B4 biotinilada, Vector Laboratories B-1205). Seguidamente se capturaron imágenes del mismo campo de cada una de las reacciones realizadas, usando el software Motic plus 2.0, a partir de las cuales se identificaron los tipos de fibras (analizando los resultados de las reacciones de mATPasa de preincubación ácida, básica, NADH-TR; GPD y AcMo) y se determinó, en las reacciones de mATPasa de preincubación ácida el área de sección transversa de cada fibra (CSA) mediante el uso del software Scion image version β , y a partir de este dato, el área ocupada por cada tipo de fibra (área relativa, AR), el área absoluta de cada fibra (AA), el porcentaje del tipo de fibra, el metabolismo predominante mediante la densidad óptica (DO) en las reacciones de NADH-TR y α GPD (Tabla 3), la densidad capilar (DC), la densidad de fibras (DF) y el índice de difusión capilar (IDC), según las siguientes ecuaciones: **DC** (C/mm^2), **DF** (F/mm^2), y **IDC** ($FD/CD/mm^2$), de acuerdo con *Rietbroeck y col. (2007)*.

(Los AcMo utilizados fueron producidos por el Department of Biological Science, Developmental Studies Hybridoma Bank of the IOWA University, USA. y han sido adquiridos con fines de investigación y se hallaban disponibles en el Área de Anatomía Fac. Cs. Veterinarias de la UBA donde se desarrolló el proyecto. Los mismos fueron adquiridos (con financiamiento de los proyectos UBACYT V-803, UBACYT20020100100994 BA de las programaciones 2006-2009 y 2011-2014 respectivamente, y también fue parte del financiamiento el proyecto UBACYT 20020130100046BA del período 2014-2017),

10- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los valores de los parámetros estudiados relativos a la estructura y funcionalidad de los músculos fueron analizados mediante análisis de varianza en un diseño en bloques completamente al azar en los cuales los animales fueron tomados como bloques ($p \leq 0,05$). Como variable explicadora se utilizó primero el concepto de músculo y luego el concepto de región. Luego de la prueba de análisis de varianza (ANOVA) se recurrió a la prueba de Bonferroni para realizar las comparaciones "*a posteriori*" ($p \leq 0,05$). Los valores de las AR y AA de los tipos de fibras fueron analizados en un análisis de varianza en un diseño en bloques completamente al azar en los cuales los animales fueron tomados como bloques ($p \leq 0,05$). Las diferencias subsecuentes fueron analizadas mediante el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

11- RESULTADOS

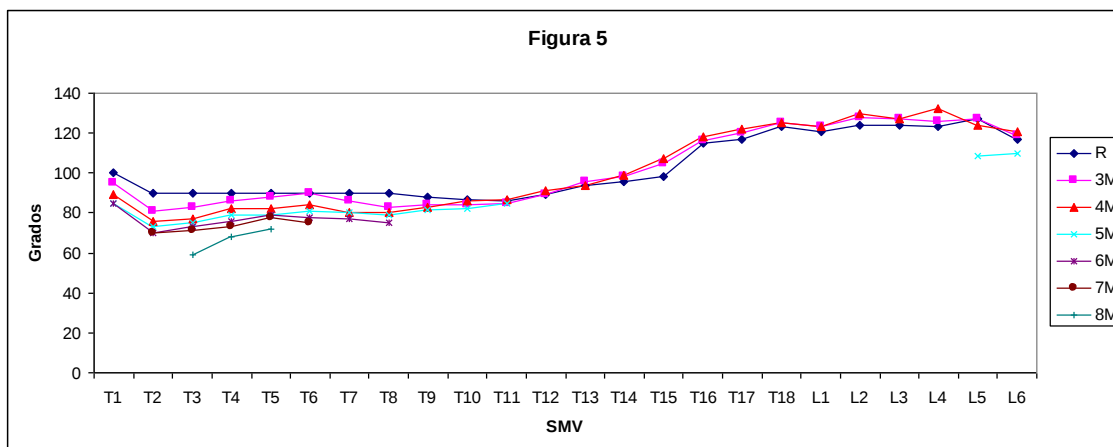
11. a Anatomía macroscópica

La disección de los músculos multífidos a lo largo de la columna tóracolumbar mostró que todos los fascículos presentan un diseño arquitectónico compuesto por tres hojas de tejido conectivo fibroso que actúa como tendón o aponeurosis dispuestas en forma paralela (Fig. 6), ordenadas de la superficie a la profundidad (desde el tabique más medial de la fascia lumbodorsal hacia el plano óseo), uniendo procesos mamilares o transversos con el proceso espinoso de la vértebra que corresponde a su inserción craneal (Fig. 3 y 7). Los fascículos más profundos y ventrales, corresponden al m. rotador largo, cuyo hallazgo hemos confirmado en la totalidad de las regiones torácica y lumbar (Fig. 4a). El estudio arquitectónico propuesto y realizado en los segmentos T4, T9, T12, T17, L3 mostró que los planos aponeuróticos mencionados anteriormente se disponen en forma paralela a una distancia uniforme de 3mm. Entre dos planos de aponeurosis paralelos se ubican los fascículos de fibras musculares (Fig. 6), cuyas longitudes nominales y normalizadas a la longitud del sarcómero (LFN) se indican en la tabla 13. El ángulo de pinación de las fibras, medido entre sus inserciones en los planos de aponeurosis paralelos varía entre 46° y 10°, variando de acuerdo al segmento considerado, mostrando los músculos rotadores tener mayor ángulo de pinación (Tabla 5). Debe destacarse que un importante y novedoso hallazgo consistió en que el músculo multífido presenta fascículos que antes de insertarse en el proceso espinoso de los segmentos torácicos, atravesaron desde su origen, en procesos transversos: ocho metámeras (8M), siete metámeras (7M), seis metámeras (6M), además de los más comunes de cinco metámeras (5M), cuatro metámeras (4M), tres metámeras (3M), dos metámeras (R, rotador largo) (Fig. 7. Tabla 13). Observando los hallazgos previos, los fascículos 8M se insertaron en T3 - T5; los fascículos 7M en T2-T6; los fascículos 6M en T1-T8; los fascículos 5M en T1-T11. El resto de los fascículos se extienden en toda la región tóracolumbar (Tabla 13). En un único animal encontramos fascículos asimilables a un rotador corto, originándose e insertándose dentro de la misma metámera (T3-T4), del lado derecho (Fig. 4b).

Los valores correspondientes a los ángulos de inserción en los procesos espinosos se presentan en la figura 5. Debe notarse la distribución del R, el cual alcanzó en la región entre T2 y T9 valores de 90°. Los restantes fascículos incrementaron su

acercamiento a 90° entre T2 y T14; asimismo pudo observarse que el acercamiento a los 90° del valor del ángulo de inserción fue progresivo desde los fascículos 8M a los fascículos 3M (Fig. 2 y 5). Los fascículos 3M y 4M aproximaron el ángulo de inserción a 90° entre los segmentos T10 y T14.

Figura 5: Valores de los ángulos de inserción de los músculos estudiados en el proceso espinoso correspondiente.



El nivel de inserción de los músculos multifidos en relación a la longitud de los procesos espinosos se mantiene constante. En las regiones lumbar y torácica caudal, la inserción ocupa toda la longitud del proceso espinoso, mientras que a partir del crecimiento de los procesos espinosos que alcanza su máximo en la región interescapular, la inserción se efectúa en la mitad ventral del proceso (Fig. 2, 3 y 7).

Asimismo se identificaron dos fuertes fascículos musculares que toman inserción en la región caudal y se dirigen cranealmente paralelos a la línea media, correspondiendo a los músculos episomáticos SCDme y SCDla. El SCDme ocupa el dorso de la cola en el plano mediano, y sus fibras se dirigen de lateral a medial, y termina insertándose en el proceso espinoso del tercer segmento sacro (no atraviesa el espacio lumbosacro), mientras que el SCDla, es un músculo de gran masa (Tabla 25), el cual se origina en la región caudal mediante tendones que se originan en la línea media, engrosándose a medida que se alcanza la región sacra. El músculo termina en un tendón que se fusiona a una fuerte aponeurosis que se extiende cranealmente y atraviesa el espacio lumbosacro, para insertarse en el proceso espinoso de la vértebra lumbar (L3-L4) (Fig. 8). En las tablas 5, 13 y 25, se expresan detalles de los valores de ángulos de pinación, longitud de fibras normalizadas (LFN) y de masa muscular (Mm).

Con respecto a la región lumbosacro, se realizó la disección en cinco individuos y en dos de ellos se comprobó la existencia de 5 vértebras lumbares. Los valores de los ángulos en el espacio lumbosacro se muestran en la tabla 2: los valores positivos indican el desplazamiento del proceso espinoso hacia craneal y los valores negativos el desplazamiento del proceso espinoso hacia caudal.

Tabla 2: Ángulos (A) de divergencia en los espacios lumbosacro (LS) y entre las dos últimas vértebras lumbares (VL), VI (L).

Animal	Vért. Lumbares	Á LS	Á VL-VI L
1	6	(+8°L) (-15°S)	
2	5	(+30°L) (-25°S)	
3	5	(+23°L) (-19°S)	
4	6	(+15°L) (-28°S)	
5	5		(+8° VL) (-11° VI L)

11. b Anatomía microscópica

Se ha puesto en evidencia lo siguiente:

- . El pH de preincubación ácida más adecuado, oscila entre 4,2 y 4,3. (Tabla 3. Fig. 1a y 1b).
- . El pH de preincubación básica más adecuado oscila entre 10,3 y 10,4 (Tabla 3. Fig. 1a).
- . No se observan diferencias en cuanto a la optimización de pH de preincubación para los músculos analizados rotadores y multífidos en distintas metámeras de la columna toracolumbar.

Tabla 3: Intensidad de tinciones obtenidas en las reacciones de mATPasa de preincubación ácida y básica, AcMo, NADH-TR, y α GPD en los músculos rotador y multífido de la región toracolumbar del equino, indicadas por las DO obtenidas.

Fibras	mATPasa pH 4,23	DO _A	mATPasa pH10,3	DO _B	BA- F8	A.474	BF- 35	NADH	DO _{NADH}	DO _{GPD}
I	++++	126,02	—	81,68	++	—	+	++++	190,29	156,53
IIA	—	99,63	+++	226,94		++	++	++	127,87	161,60
IIX	+++	118,31	++++	237,84	—	+	—	—	120,43	162,57

La intensidad de tinción fue medida digitalmente mediante la utilización del analizador de imágenes Scion image versión β , indicada por el promedio de las densidades ópticas (DO_A) y (DO_B), para las reacciones de preincubación ácida y básica respectivamente de mATPasa, (DO_{NADH}) para la reacción de NADH-TR y (DO_{GPD}) para la reacción de α GPD.

La intensidad de tinción para los AcMo fue considerada visualmente como positiva (++), negativa (-) o intermedia (+).

Tabla 4: Valores máximos y mínimos para cada valor promedio de DO_A , DO_B , DO_{NADH} y $DO_{\alpha GPD}$ obtenidos según se indica en tabla 3.

Fibras	Rango DO_A	Rango DO_B	Rango DO_{NADH}	Rango DO_{GPD}
I	114,19-154,8	74,75-87,64	171,82-220,02	124,5-152,5
IIA	90,1-108,14	216,49-236,13	115,14-152,96	145,99-178,22
IIX	112,84-35,22	229,23-240,49	101,96-145,92	150,45-174,03

De acuerdo en lo sintetizado en las tablas 1, 3 y 4 se diferenciaron tres tipos de fibras puras - tipo I, (portadoras de isoforma de miosina β o lenta)
- tipo IIA, (portadoras de isoforma de miosina IIA)
- tipo IIX (portadora de isoforma de miosina IIX) (Fig. 1a y 1b).

La diferenciación entre los distintos tipos se realiza comparando las reacciones mATPasa de preincubación ácida y básica, y puede confirmarse por el uso combinado de los AcMo indicados. La combinación con la reacción de mATPasa y las indicadoras de metabolismo contribuyen a determinar el tipo con exactitud. Los valores de DO_{NADH} y DO_{GPD} son prácticamente opuestos, ya que indican el metabolismo predominante en la fibra, aeróbico o anaeróbico respectivamente (Fig. 1a y 1b. Tablas 3 y 4).

Tabla 5: Valores del coseno de los ángulos de inserción de las fibras musculares de los músculos estudiados.

Músculo	Ang (cos)
RT4	0,965
3MT4	0,927
6MT4	0,956
8MT4	0,96
RT9	0,93
3MT9	0,939
4MT9	0,961
RT12	0,898
3MT12	0,857
4MT12	0,963
RT17	0,848
3MT17	0,857
4MT17	0,857
RL3	0,82
3ML3	0,92
4ML3	0,906
SCDLa	0,984
SCDme	0,981

11. c Áreas relativas de los tipos de fibras

Los valores de AR de los músculos estudiados se hallan descritos por tipos de fibras I, IIA y IIX en las tablas 6 y 7 y en las figuras 9 a 13.

No se observaron diferencias significativas en el AR entre los tipos de fibras en los músculos estudiados. Cuando se analizaron los valores de AR de los tipos de fibras de acuerdo a los músculos insertados en cada SMV, se observaron diferencias significativas para las fibras de tipo I, de acuerdo a los siguientes ordenamientos:

SMV T4=SMVT9; SMV T4 > SMV T12=SMV T17= SMV L3; SMV T9= SMV T12=SMV T17= SMV L3.

Tabla 6: Valores de áreas relativas ocupadas por los tipos de fibra I (ARI) y IIA (AR IIA) y los porcentajes de cada tipo. Para disminuir el número de datos presentados y por no representar valores importantes, no se presentan los datos correspondientes al tipo IIX. En aquellos casos en que las AR y los porcentajes no completan la unidad, la diferencia debe computarse como pertenecientes a las fibras de tipo IIX.

Músculo	ARI	ARIIA	% Tipo I	% Tipo IIA
RT4	0,548	0,413	0,6724	0,3275
3MT4	0,532	0,467	0,601	0,398
4MT4	0,6112	0,386	0,645	0,354
7M T4*	0,6701	0,3298	0,514	0,485
8M T4*	0,6016	0,3983	0,5	0,5
RT9	0,539	0,4034	0,541	0,409
3MT9	0,47	0,465	0,416	0,524
4MT9	0,5425	0,293	0,496	0,337
RT12	0,397	0,469	0,401	0,47
3MT12	0,468	0,404	0,447	0,43
4MT12*	0,443	0,44	0,421	0,458
RT17	0,442	0,415	0,43	0,421
3MT17	0,456	0,378	0,42	0,402
4MT17	0,403	0,315	0,461	0,303
RL3*	0,438	0,462	0,382	0,515
3ML3	0,4541	0,479	0,452	0,476
4 ML3	0,481	0,353	0,463	0,367
3ML5	0,7135	0,2864	0,6699	0,33
4ML5*	0,2119	0,3754	0,32	0,44
3ML6	0,329	0,4839	0,2857	0,492
4ML6*	0,5594	0,4405	0,4687	0,5313
SCDla	0,372	0,512		
SCDme	0,902	0,097		

En la tabla 6 puede observarse la importancia de considerar el AR con respecto al valor del porcentaje de fibras. En los músculos indicados con un asterisco existe una relación inversa entre AR y porcentaje. El AR permite una valoración más objetiva de la función muscular.

Tabla 7: Valores medios del AR de las fibras de tipo I, en la totalidad de músculos que se insertan en cada SMV. Superíndices idénticos sin diferencia significativa ($p \leq 0,05$), EE, error estándar.

SMV	AR Tipo I	EE
L3	0,43 ^a	0,03
T12	0,44 ^a	0,03
T17	0,44 ^a	0,03
T9	0,48 ^{ab}	0,03
T4	0,58 ^b	0,02

Figuras 9 - 13: Indican los valores promedios de la AR de los tipos de fibra I, fibra IIA y fibra IIX, en cada metámera para cada músculo rotador y multífido, utilizados para el cálculo de la V_{máx}.

Figura 9

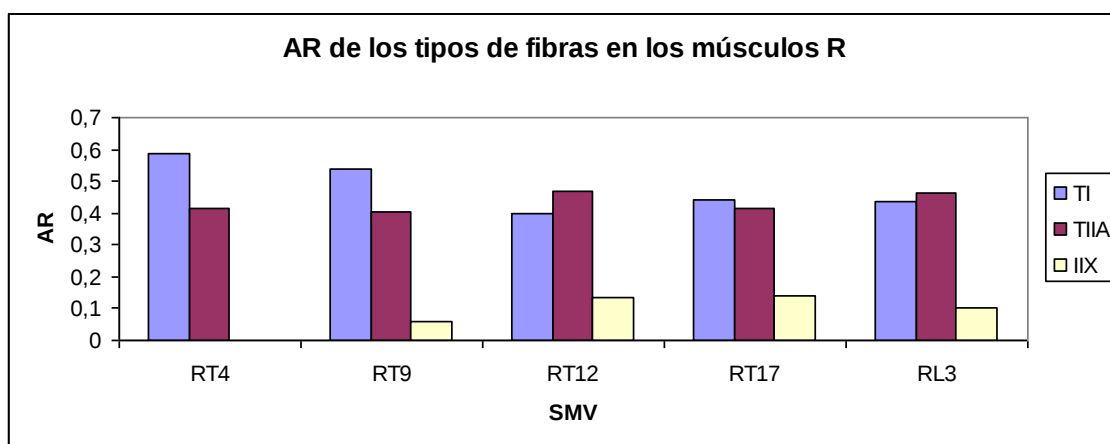


Figura 10

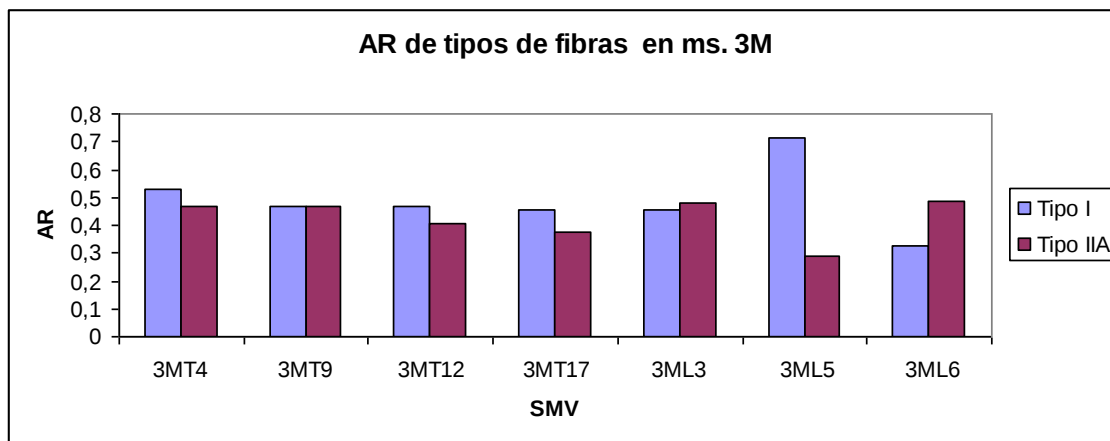


Figura 11

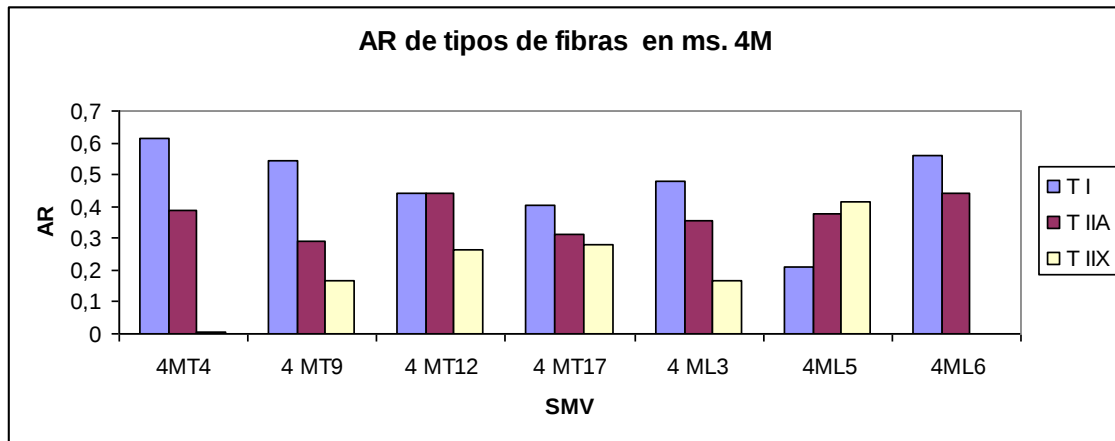


Figura 12

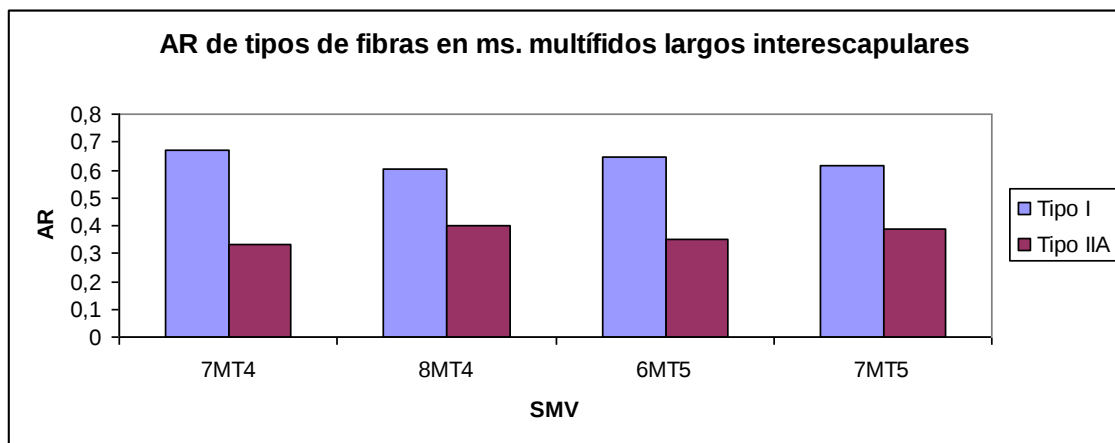
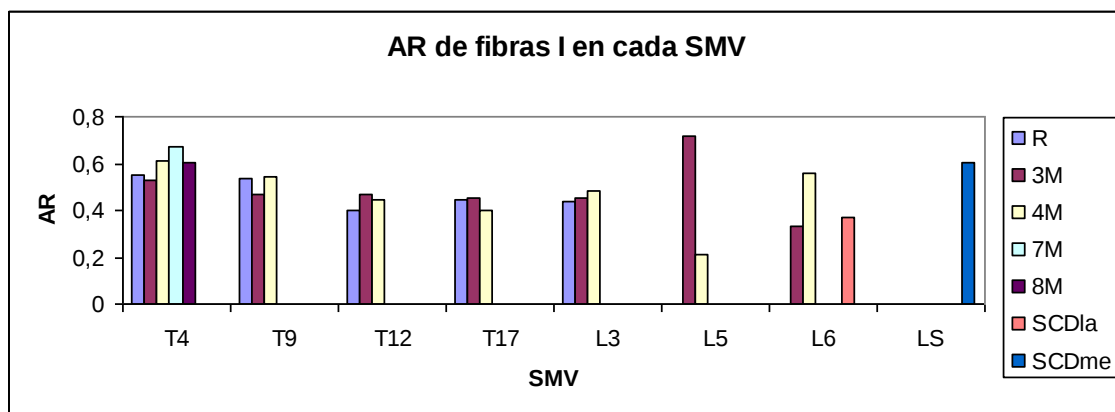


Figura 13: Distribución de las AR de las fibras de tipo I en las distintas metámeras, de acuerdo a la extensión del músculo multífido correspondiente. Se observa la mayor existencia de AR de fibras de tipo I en los multífidos de 7MT4 y 8MT4, así como el 3M en L5 y en el SCDme (Región lumbosacra, LS).



11. d Áreas absolutas de los tipos de fibras

Los valores promedio de las AA de los tipos de fibras I y IIA en los distintos SMV se presentan en la tabla 8. Los valores medios del AA de las fibras de tipo I no presentaron diferencias significativas. Las diferencias significativas en los valores de AA de los tipos de fibra IIA y IIX se indican en las tablas 9 y 10.

Las figuras 14 -18 indican los valores de AA de los tipos I, IIA y IIX de acuerdo a los distintos SMV, comparando los ms. rotadores, multífidos, SCDla, SCDme con el m. glúteo medio (GM). (Valores promedio en μm^2).

Tabla 8: Se indican los valores promedio de AA (μm^2), de las fibras de tipo I y IIA pertenecientes a los músculos que se insertan en las vértebras torácicas T4-T17, L3-L6, y a los músculos SCDla y SCDme. Los valores del músculo glúteo medio (GM) son indicados a modo comparativo.

Fibra	T4	T9	T12	T17	L3	L5	L6	SCDme	SCDla	GM
I	4832,34	5481,71	5649,87	4559,67	5968	4219	7031,79	9631,23	3977,07	5116,27
IIA	6052,79	4656,6	5406,1	4234,9	4520,38	3595,45	4414,18	3495,89	4728,19	4453,44

Tabla 9: Se indican los valores medios del AA (μm^2) de las fibras de tipo IIA en los músculos estudiados. Superíndices idénticos sin diferencia significativa ($p \leq 0,05$), EE, error estándar.

Músculo	AA IIA (μm^2)	EE
4MT4	7139,39 ^a	539,66
RT12	6370,79 ^{ab}	623,14
4MT9	6213,10 ^{abc}	623,14
RT4	6088,70 ^{abc}	482,68
3MT4	6030,12 ^{abc}	539,66
RT9	5833,88 ^{abc}	623,14
4ML3	5496,11 ^{abc}	763,19
3MT12	5336,95 ^{abc}	482,68
3ML3	5173,37 ^{abc}	539,66
RT17	5169,58 ^{abc}	482,18
RL3	5048,42 ^{abc}	539,66
4MT12	4863,41 ^{abc}	482,68
3MT17	4630,04 ^{abc}	482,68
GM	4453,44 ^{abc}	623,14
4MT17	3522,55 ^{bc}	763,19
3MT9	3290,37 ^c	763,19

Tabla 10: Se indican los valores medios del AA (μm^2) de las fibras de tipo IIX en los músculos estudiados. Superíndices idénticos sin diferencia significativa ($p \leq 0,05$), EE error estándar.

Músculo	AA IIX (μm^2)	EE
RT9	9763,19 ^a	1252,47
RT12	6384,77 ^{ab}	723,11
4MT9	6145,28 ^{ab}	723,11
3MT12	5848,99 ^{ab}	560,12
4ML3	5623,44 ^b	885,63
RT17	5399,97 ^b	626,63
3MT17	4869,40 ^b	560,12
4MT12	4858,53 ^b	626,23
RL3	4679,11 ^b	723,11
3ML3	4581,17 ^b	885,63
4MT17	3624,03 ^b	885,63
3MT9	2849,05 ^b	1252,47

Figura 14: AA (μm^2) de fibras I y IIA de los músculos estudiados, insertados en los SMV T4, T9, T12, T17, L3, L5, L6 y de los músculos SCDme y SCDla. El músculo GM fue tomado como control. Puede observarse el incremento en los valores pertenecientes a los músculos SCDme y a los músculos insertados en la vértebra L6.

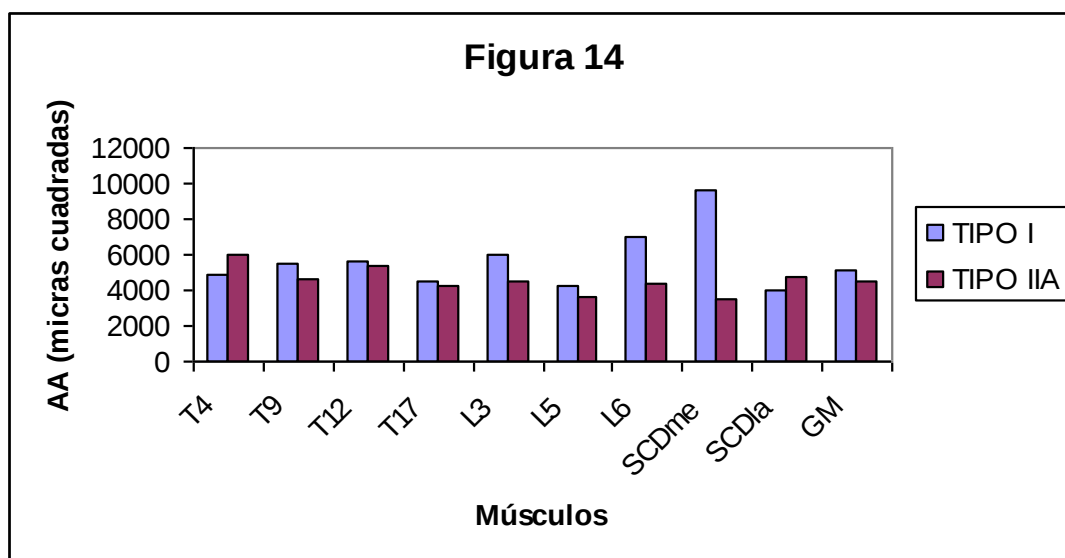
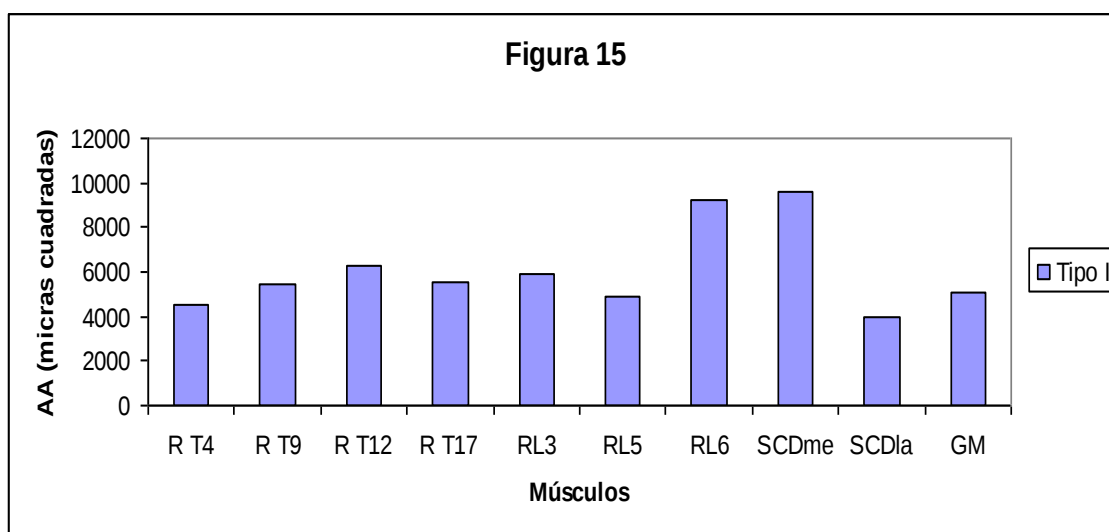


Figura 15: Valores de las áreas absolutas AA de las fibras de tipo I pertenecientes a los músculos rotadores que se insertan en los SMV de interés. Se incluyen a los músculos RL6, SCDme, SCDla (Región LS) y GM (Control). Áreas expresadas en μm^2 .



Puede observarse con respecto a la figura anterior como se incrementa el valor del AA de las fibras en L6, cuando se discrimina por músculo rotador. Áreas expresadas en μm^2

Figura 16: Valores de las áreas absolutas (AA) de las fibras de tipo I pertenecientes a los músculos 3M que se insertan en los SMV de interés. Áreas expresadas en μm^2 .

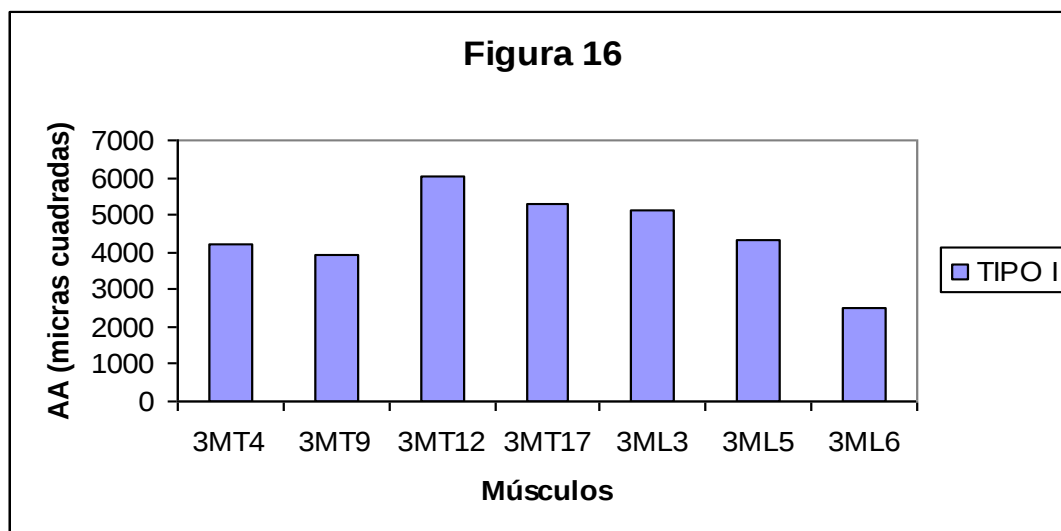


Figura 17: Valores de las áreas absolutas (AA) de las fibras de tipo I pertenecientes a los músculos 4M que se insertan en los SMV de interés. Áreas expresadas en μm^2 .

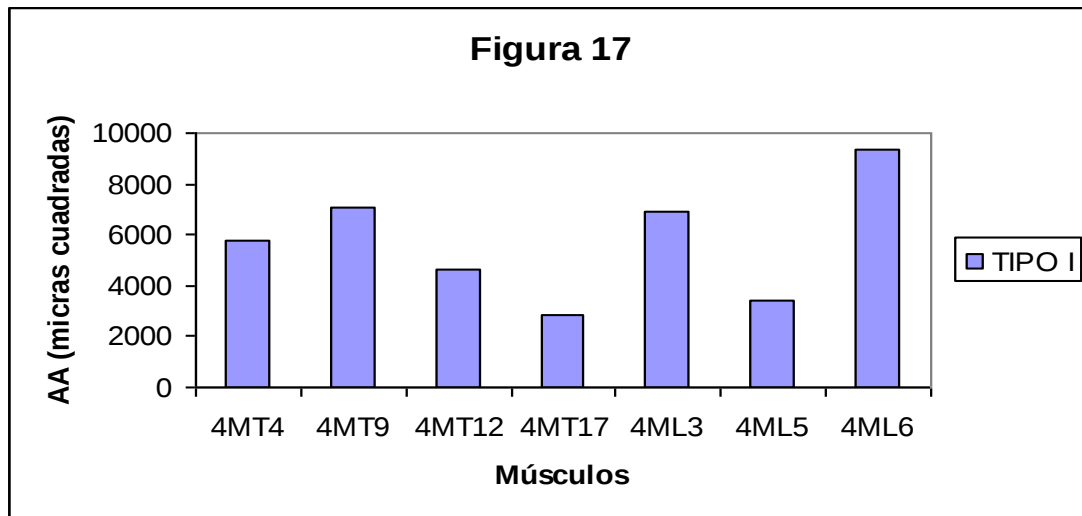
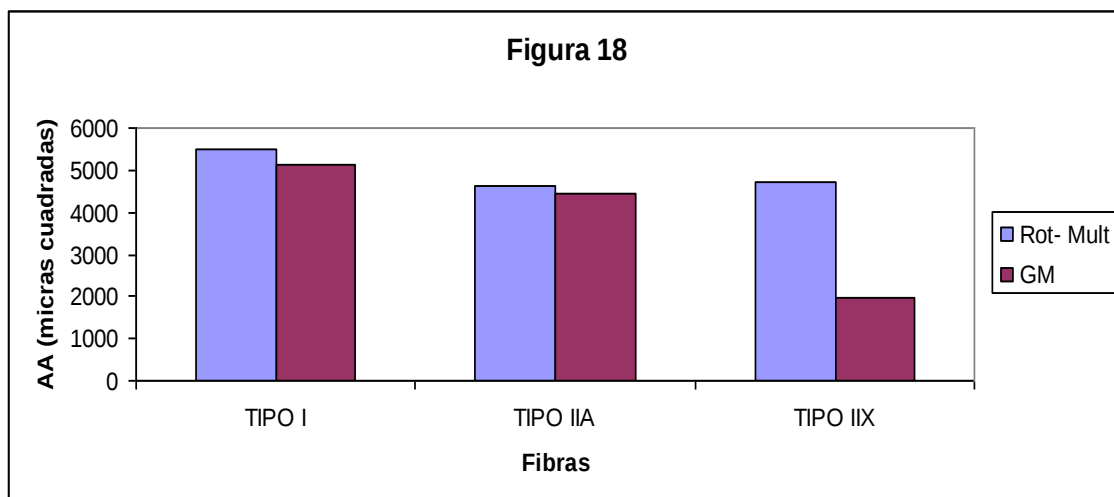


Figura 18: Valores absolutos del área de las fibras de tipo I, IIA y IIX considerados los promedios de las fibras de todos los músculos estudiados en todos los SMV. Se observa el mayor valor promedio de las fibras de tipo I con respecto a las fibras de tipo IIA y IIX. Valores en m. glúteo medio (GM) tomados como control de comparación. Áreas expresadas en μm^2 .



11. e Estudio de capilarización de los músculos

Los parámetros de capilarización se muestran en la tabla 11 y figuras 19 a 22.

Tabla 11: Índice de difusión capilar (IDC), densidad capilar (DC), densidad de fibras (DF), relación capilar fibra (RCF). Los valores de DC y DF han sido divididos x 10000 y RCF x 100 para poder ser graficados en escala junto a los valores del IDC. Los parámetros de irrigación capilar están referidos a un área de 1 mm². Los datos se hallan graficados en las figuras 19 a 22. Valores medios descriptivos.

Músculos	IDC	DC	DF	RCF
RT4	0,045	0,05288	0,0106	0,049
RT9	0,06	0,041092	0,0093	0,045
RT12	0,05	0,053	0,013	0,039
RT17	0,06	0,0532	0,013	0,039
RL3	0,044	0,040	0,0092	0,046
RL5	0,34	0,053	0,016	0,032
RL6	0,07	0,049	0,010	0,046
3MT4	0,043	0,046	0,0095	0,049
3MT9	0,05	0,0567	0,017	0,033
3MT12	0,046	0,049	0,011	0,042
3MT17	0,052	0,0527	0,0126	0,04
3ML3	0,043	0,0648	0,015	0,046
3ML5	0,05	0,047	0,011	0,039
3ML6	0,07	0,0539	0,0188	0,028
4MT4	0,04	0,054	0,011	0,048
4MT9	0,063	0,041	0,0099	0,041
4MT12	0,062	0,054	0,0157	0,038
4MT17	0,037	0,0679	0,0181	0,038
4ML3	0,055	0,0552	0,012	0,046
4ML5	0,07	0,0434	0,0122	0,035
4ML6	0,05	0,0429	0,0093	0,045
SCDla	0,07	0,057089	0,016	0,035
SCDme	0,05	0,04485	0,0098	0,045

Figura 19: Valores medios de los índices IDC, DC y valores promedio de área de sección CSA promedio (CSA PROM) de todos los tipos de fibra en cada músculo. Músculos R, 3M, 4M, SCDla y SCDme; CSA PROM indica los valores del área de sección promedio de los tres tipos de fibras. T y L indican las vértebras torácicas y lumbares respectivamente. Los parámetros de irrigación capilar están referidos a un área de 1 mm². Ver tabla 11

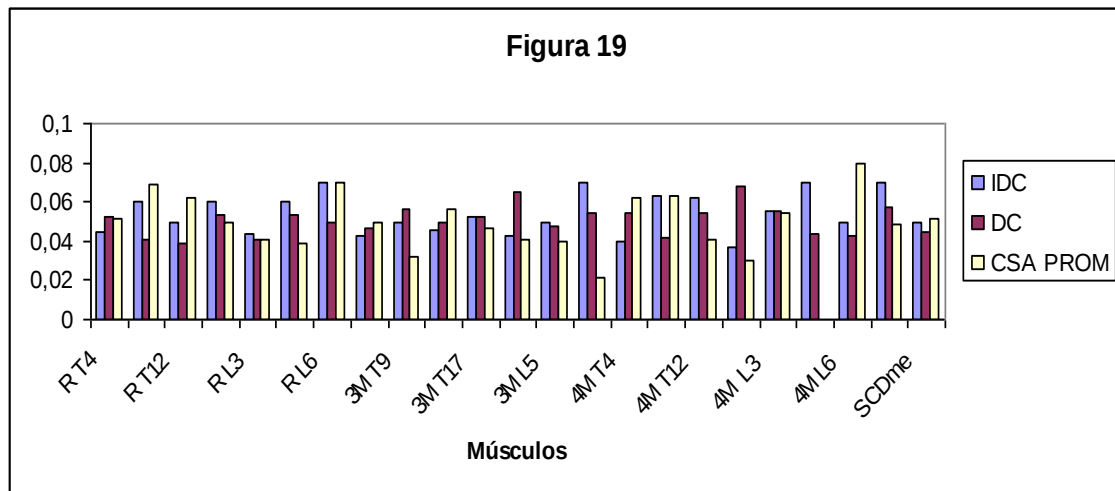


Figura 20: Valores medios de los índices IDC, DC y valores de CSA tipo I en cada músculo. Los parámetros de irrigación capilar están referidos a un área de 1 mm². Ver tabla 11

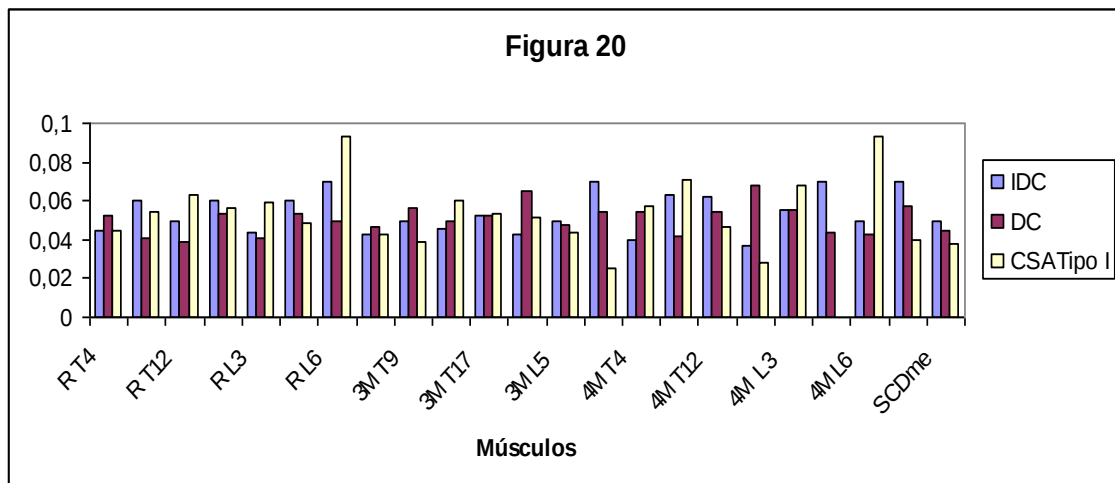


Figura 21: Se expresan los valores medios de IDC, DC y CSA Tipo IIA en cada músculo. Los parámetros de irrigación capilar están referidos a un área de 1 mm².

Ver tabla 11.

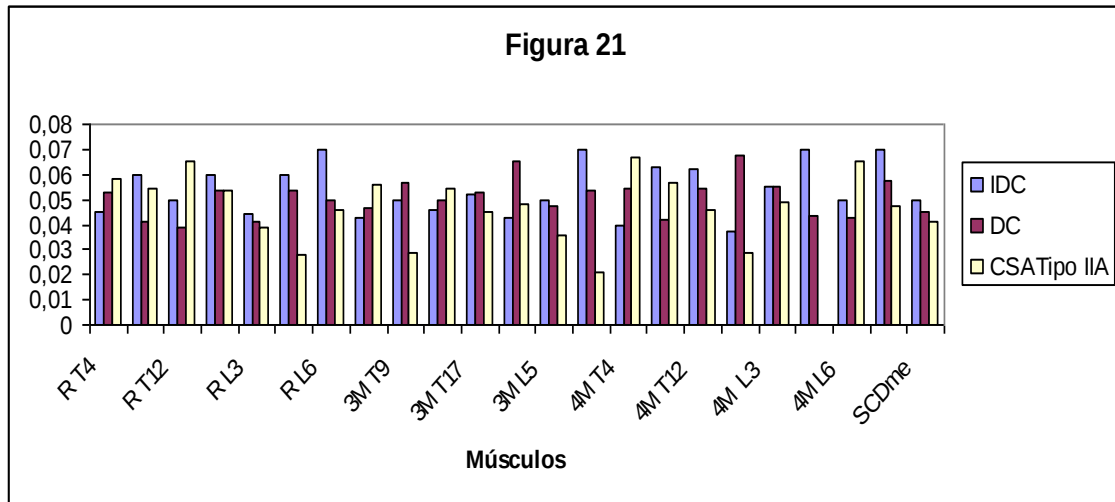
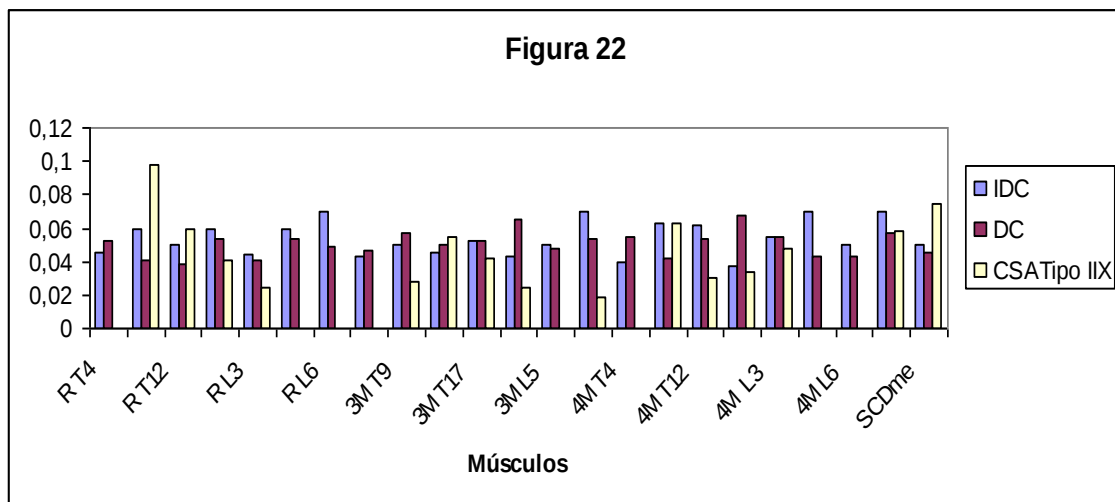


Figura 22: Valores medios de los índices de IDC, DC y valores de CSA Tipo IIX en cada músculo. Los parámetros de irrigación capilar están referidos a un área de 1 mm².

Ver tabla 11.



Las figuras 19-22 muestran como los valores de IDC, están influenciados por la DC y la CSA.

11. f Características estructurales y parámetros funcionales

Las características estructurales tales como masa muscular (Mm), coseno del ángulo de pinación, LFN y AR de fibras tipo I, IIA y IIX y los parámetros funcionales que derivan de los mismos, área de sección transversa fisiológica (PCSA), fuerza máxima generada por el músculo ($F_{\max}$), velocidad máxima ($V_{\max}$), potencia, momento muscular (r), y momento articular (M), se presentan en las tablas 12 a 26, por músculo y por SMV con la significación estadística, y descriptivamente en las figuras 23 a 42.

Tabla 12: Valores promedio del AR (ARI, ARIIA, ARIIX) de cada tipo de fibra y el coseno del ángulo de pinación en los músculos SCDme, SCDla, rotadores y multífidos de acuerdo a la vértebra en que se insertan y al número de metámeras que atraviesan.

Músculo	AR I	AR IIA	AR IIX
RT4	0,548	0,413	-
3MT4	0,532	0,467	-
6MT4	0,647	0,353	-
8MT4	0,60	0,39	-
RT9	0,539	0,403	0,058
3MT9	0,47	0,465	0,065
4MT9	0,542	0,293	0,164
RT12	0,397	0,469	0,134
3MT12	0,468	0,404	0,128
4MT12	0,443	0,44	0,117
RT17	0,442	0,415	0,143
3MT17	0,456	0,378	0,166
4MT17	0,403	0,315	0,282
RL3	0,438	0,462	0,1
3ML3	0,454	0,479	0,067
4ML3	0,481	0,353	0,166
SCDLa	0,372	0,512	0,115
SCDme	0,902	0,097	

Tabla 13: Valores de LFN indicadas en cm, de los músculos estudiados, las inserciones y el número de metámeras que abarca cada uno de ellos. Superíndices idénticos no indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$). EE, error estándar.

Músculo	Inserciones	Metámeras	LFN (cm)	EE
Sedla	C5-L3	13	4,25 ⁱ	0,18
SCDme	C5-S3	7	3,19 ^a	0,14
7MT4	T4-T11	7	2,84 ^a	0,14
8MT4	T4-T12	8	2,63 ^{ab}	0,18
3MT4	T4-T7	3	1,95 ^{bc}	0,13
6MT4	T4-T10	6	1,60 ^{cd}	0,13
4MT9	T9-T13	4	1,58 ^{cde}	0,13
4MT17	T17-L3	4	1,52 ^{def}	0,13
4MT4	T4-T8	4	1,40 ^{defg}	0,14
4MT12	T12-T16	4	1,28 ^{defgh}	0,13
RT4	T4-T6	2	1,18 ^{defgh}	0,13
3MT9	T9-T12	3	1,07 ^{defgh}	0,13
3MT17	T17-L2	3	0,95 ^{defgh}	0,13
RT9	T9-T11	2	0,90 ^{efgh}	0,13
3MT12	T12-T15	3	0,83 ^{fgh}	0,13
RT12	T12-T14	2	0,77 ^{gh}	0,13
3ML3	L3-L6/S1	3	0,74 ^{gh}	0,13
4ML3	L3-S1/S2	4	0,69 ^h	0,13
RT17	T17-L1	2	0,63 ^h	0,13
RL3	L3-L5	2	0,62 ^h	0,13
5MT4	T4-T9	5		

Tabla 14: Valores de LFN normalizados a la longitud del sarcómero expresados en cm, analizados de acuerdo a todos los fascículos que se insertan en los SMV indicados cranealmente por las vértebras T4, T9, T12, T17 y L3. Superíndices idénticos indican falta de significación ($p \leq 0,05$). EE, error estándar.

SMV	LFN	EE
T4	1,85 ^a	0,09
T9	1,18 ^b	0,12
T12	1,03 ^b	0,12
T17	0,96 ^b	0,12
L3	0,68 ^b	0,12

Tabla 15: Valores de PCSA (cm²) en cada uno de los músculos estudiados. Superíndices idénticos indican falta de significación ($p \leq 0,05$). EE, error estándar.

Músculo	PCSA (cm ²)	EE
8MT4	0,88 ^a	1,82
3MT4	2,26 ^a	1,27
RL3	2,77 ^a	1,27
RT4	3,05 ^a	1,27
RT9	3,94 ^{ab}	1,27
7MT4	4,31 ^{ab}	1,40
6MT4	4,50 ^{ab}	1,27
RT17	4,61 ^{ab}	1,27
RT12	4,84 ^{ab}	1,27
4MT4	5,67 ^{abc}	1,40
3MT9	5,70 ^{abc}	1,27
4MT9	6,24 ^{abc}	1,27
SCDme	6,36 ^{abc}	1,27
SCDla	6,57 ^{abc}	1,27
4MT12	6,96 ^{abc}	1,27
4MT17	7,14 ^{abc}	1,27
4ML3	7,27 ^{abc}	1,27
3MT17	7,65 ^{abc}	1,27
3MT12	9,88 ^{bc}	1,27
3ML3	12,29 ^c	1,27

Tabla 16: Valores de PCSA (cm²) analizados de acuerdo a todos los fascículos que se insertan en los SMV indicados cranealmente por las vértebras T4, T9, T12, T17 y L3. Superíndices idénticos indican falta de significación ($p \leq 0,05$). EE, error estándar.

SMV	PCSA	EE
T4	3,59 ^a	0,65
T9	5,29 ^{ab}	0,85
T17	6,47 ^{ab}	0,85
T12	7,23 ^b	0,85
L3	7,44 ^b	0,85

Figura 23: Valores promedio de PCSA (cm^2) de los diferentes músculos rotadores y multífidos a lo largo de las diferentes metámeras.

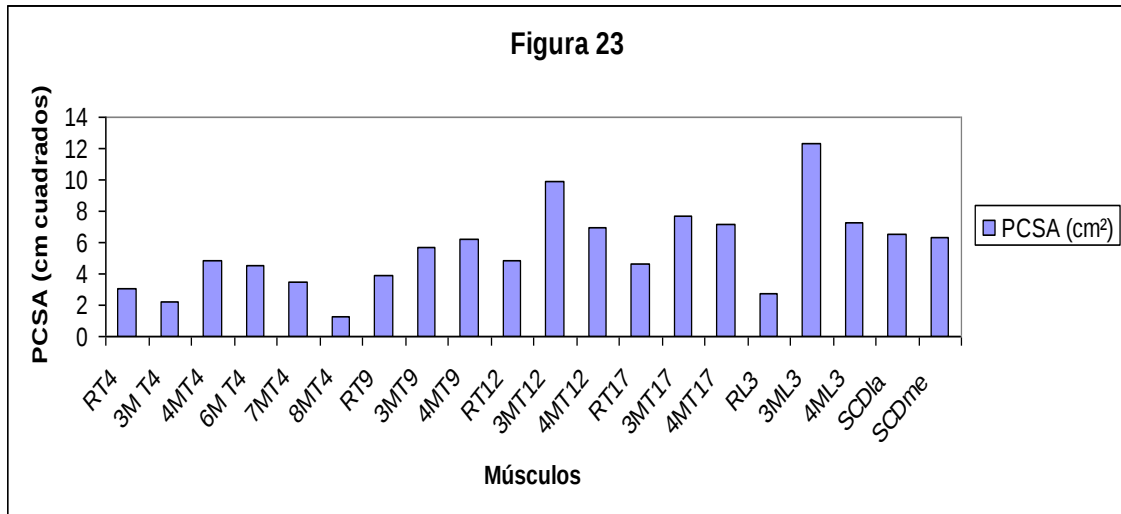


Figura 24: Valores de PCSA, LFN y Mm de cada músculo a través de las distintas metámeras. Para su mejor representación los valores de LFN están expresados en mm.

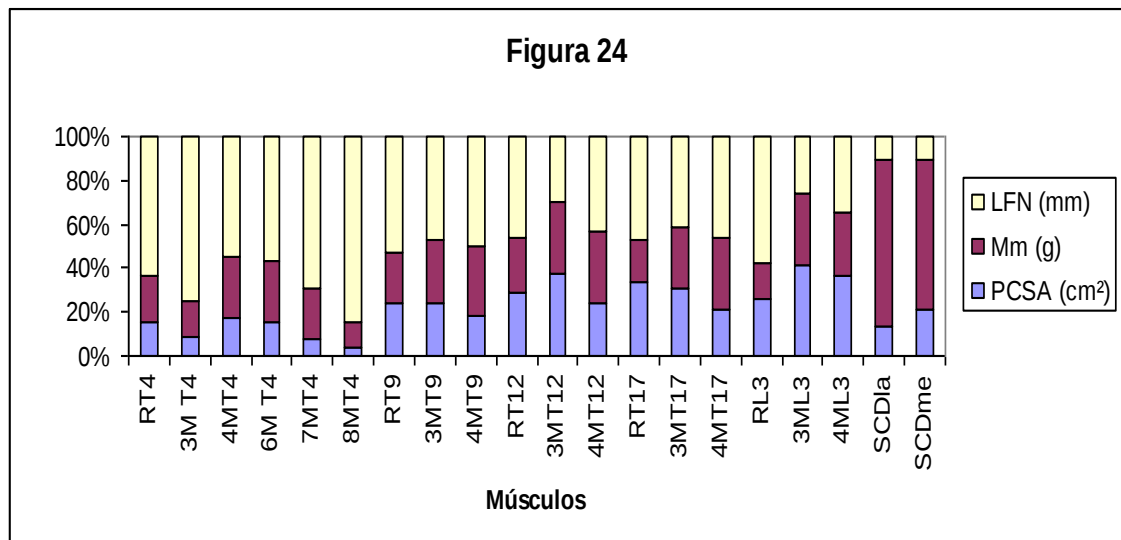


Tabla 17: Valores de Fmáx indicados en N de cada uno de los músculos estudiados. Superíndices idénticos indican falta de significación ($p \leq 0,05$). EE, error estándar.

Multífido	Fmáx (N)	EE
8MT4	22,93 ^b	37,12
3MT4	50,83 ^b	25,90
RL3	62,25 ^b	25,90
RT4	68,68 ^b	25,90
RT9	88,63 ^b	25,90
7MT4	94,0 ^b	28,51
6MT4	101,39 ^b	25,90
RT17	103,73 ^b	25,90
RT12	109,06 ^b	25,90
4MT4	124,51 ^b	28,51
3MT9	128,20 ^b	25,90
4MT9	140,50 ^{ab}	25,90
SCDme	143,10 ^{ab}	25,90
SCDla	147,88 ^{ab}	25,90
3MT12	152,61 ^{ab}	28,37
4MT12	156,74 ^{ab}	25,90
4MT17	160,76 ^{ab}	25,90
4ML3	163,49 ^{ab}	25,90
3MT17	172,30 ^{ab}	25,90
3ML3	276,64 ^a	25,90

Tabla 18: Valores de Fmáx acumulados por SMV indicados en N. Superíndices idénticos sin diferencia significativa ($p \leq 0,05$). EE, error estándar.

SMV	Fmáx (N)	EE
T4	80,08 ^b	13,35
T9	119,11 ^{ab}	0,85 ^{ab}
T12	143,07 ^{ab}	18,01
T17	145,59 ^{ab}	17,48 ^{ab}
L3	167,46 ^a	17,48 ^b

Figura 25: Valores de Fmáx expresados en N de los músculos estudiados en las distintas metámeras.

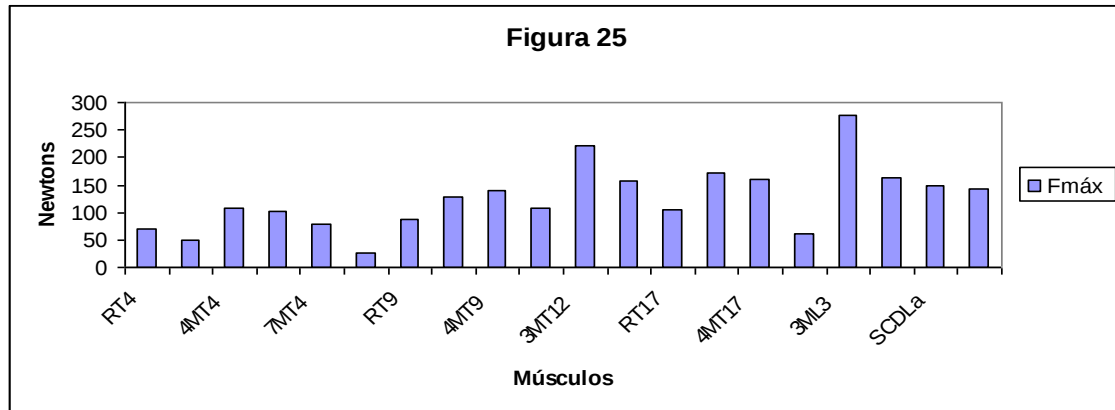


Figura 26: Relación entre PCSA y Fmáx de los músculos estudiados en las distintas metámeras.

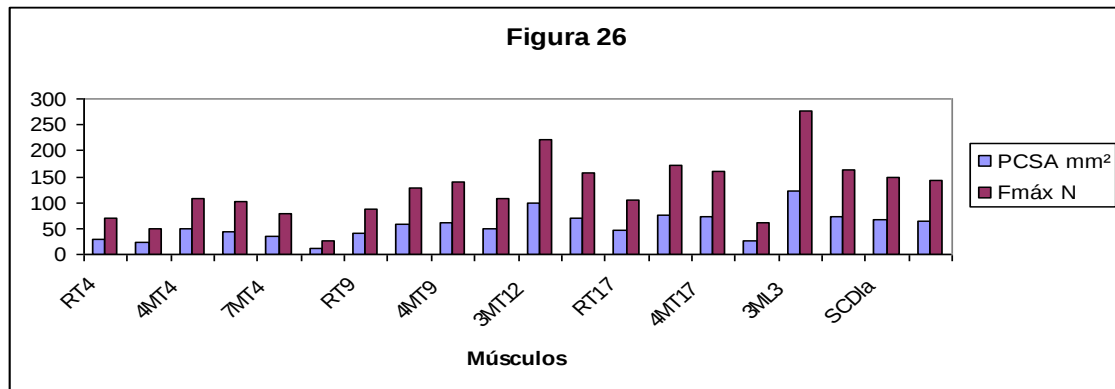


Tabla 19: Valores de Vmáx para cada músculo. Valores expresados en m/s. Superíndices idénticos sin diferencia significativa ($p \leq 0,05$). EE, error estándar.

Músculo	Vmáx (m/s)	EE
SCDla	0,30 ^a	0,01
4MT17	0,11 ^b	0,01
7MT4	0,09 ^{bc}	0,01
8MT4	0,09 ^{bc}	0,01
4MT9	0,08 ^{bc}	0,01
3MT4	0,08 ^{bc}	0,01
4MT12	0,07 ^{bc}	0,01
SCDme	0,07 ^{bc}	0,01
3MT9	0,06 ^{bc}	0,01
3MT17	0,05 ^{bc}	0,01
6MT4	0,05 ^{bc}	0,01
RT12	0,04 ^{bc}	0,01
RT4	0,04 ^c	0,01
3MT12	0,04 ^c	0,01
4MT4	0,04 ^c	0,01
4ML3	0,04 ^c	0,01
3ML3	0,04 ^c	0,01
RT17	0,04 ^c	0,01
RT9	0,03 ^c	0,01
RL3	0,03 ^c	0,01

Tabla 20: Valores de V_{máx} acumulados por SMV. Superíndices idénticos sin diferencia significativa ($p \leq 0,05$). Valores expresados en m/s.

SMV	V _{máx} (m/s)	EE
T17	0,06	0,01
T4	0,06	0,01
T9	0,06	0,01
T12	0,05	0,01
L3	0,04	0,01

Figura 27: Valores de V_{máx} de los músculos rotadores y multifidos en las distintas metámeras.

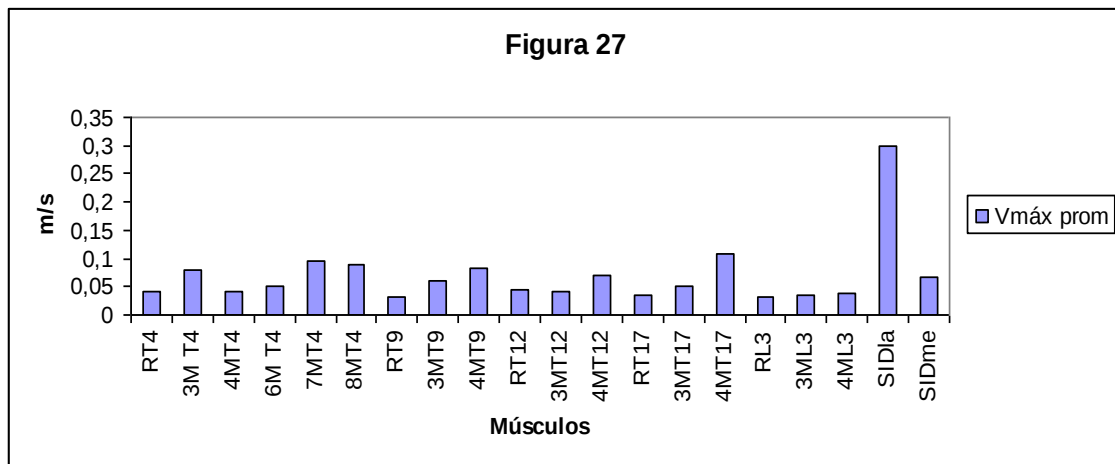


Figura 28: Relación directa entre los valores de V_{máx} y LFN.

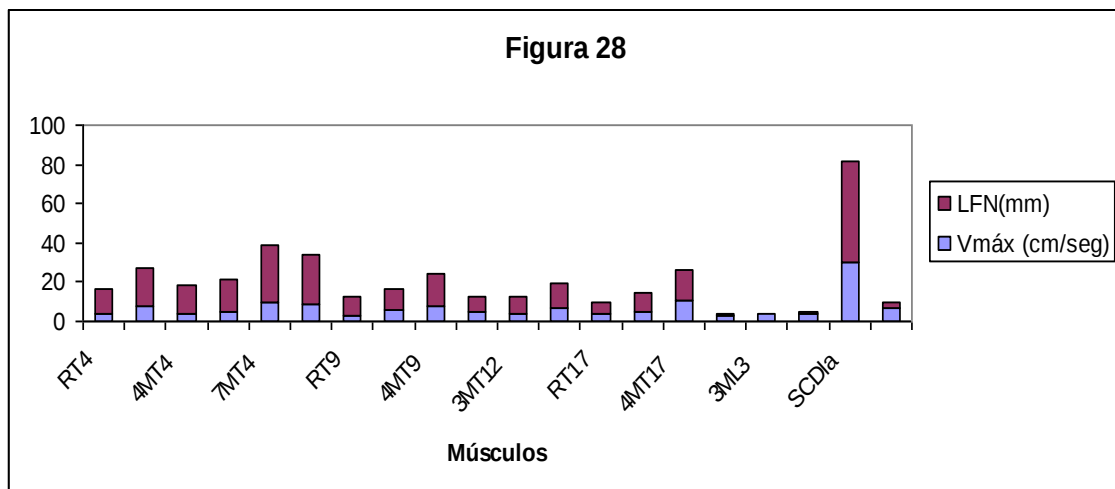


Tabla 21: Valores de potencia para cada músculo estudiado transformados en valores de rangos ($p \leq 0,05$). Los valores de las medias originales se expresaron en W. EE, error estándar.

Músculo	Rangos	EE
SCDla	108,83 ^a	7,15
4MT17	98,67 ^{ab}	7,15
4MT9	88,08 ^{abc}	7,15
4MT12	85,92 ^{abcd}	7,15
3ML3	83,67 ^{abcd}	7,15
SCDme	80,83 ^{abcde}	7,15
3MT12	72,33 ^{abcdef}	7,15
7MT4	71,34 ^{abcdef}	7,87
3MT17	66,83 ^{bcdefg}	7,15
3MT9	66,67 ^{bcdefg}	7,15
6MT4	50,67 ^{cdefgh}	7,15
4ML3	48,67 ^{defgh}	7,15
RT12	43,08 ^{efghi}	7,15
4MT4	42,24 ^{efghi}	7,87
3MT4	36,83 ^{fghi}	7,15
RT9	26,17 ^{ghi}	7,15
RT4	24,33 ^{ghi}	7,15
8MT4	20,29 ^{gi}	10,25
RT17	19,92 ^{hi}	7,15
RL3	9,92 ⁱ	7,15

Tabla 22: Valores de potencia acumulados por SMV expresados como rangos. Los valores de las medias originales se expresaron en W.

SMV	W	EE
T12	67,11 ^{ab}	6,91
T17	61,81 ^b	6,91
T9	60,31 ^b	6,91
L3	47,42 ^b	6,91
T4	41,88 ^b	5,28

Figura 29: Valores de potencia de los músculos estudiados en las distintas metámeras. Los valores de las medias originales se expresaron en W.

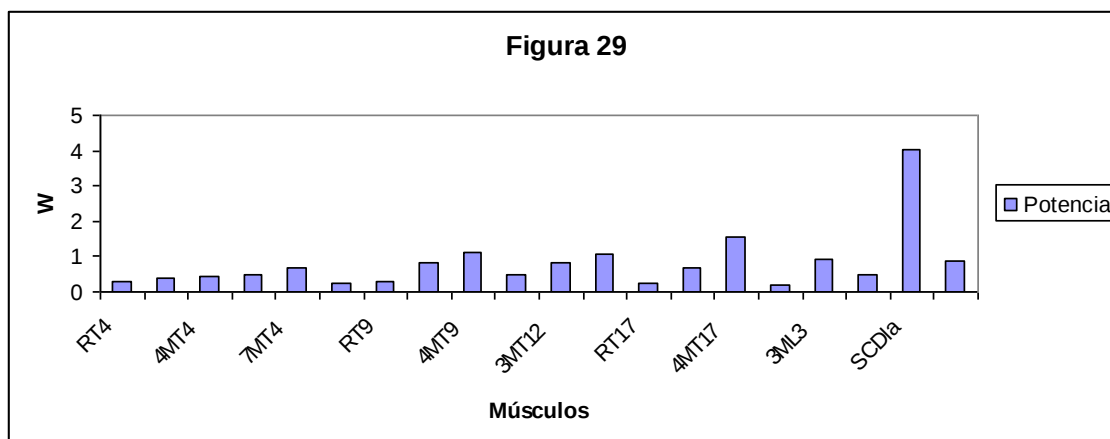


Figura 30: Valores de potencia en los SMV T17, L3 y región lumbosacra representada por los músculos SCDla y SCDme.

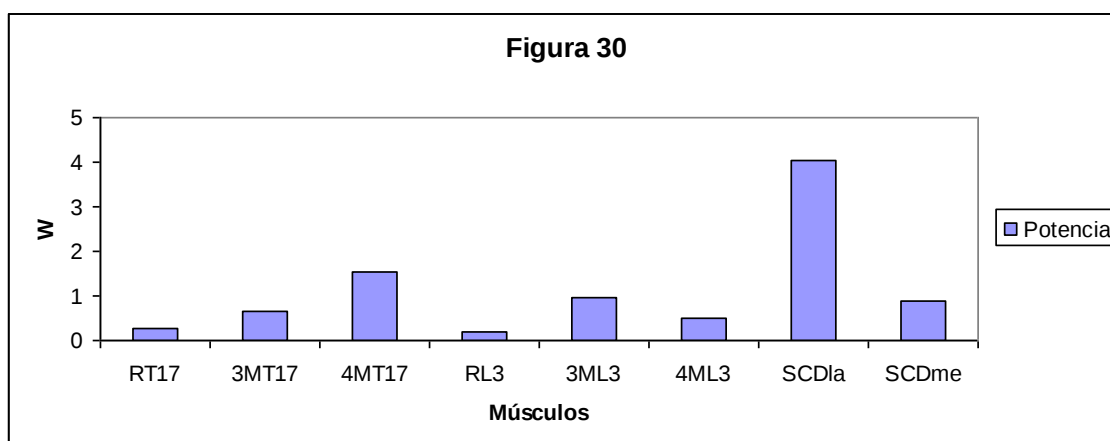


Figura 31: Valores de potencia acumulados por SMV y para los músculos SCDla y SCDme.

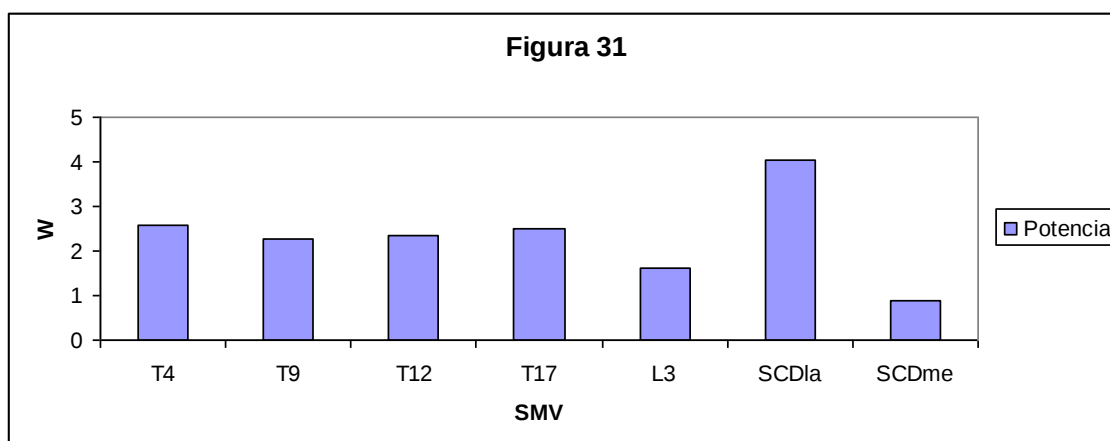


Figura 32: Valores de PCSA indicados por SMV y para los músculos SCDla y SCDme. (Ver tabla 16).

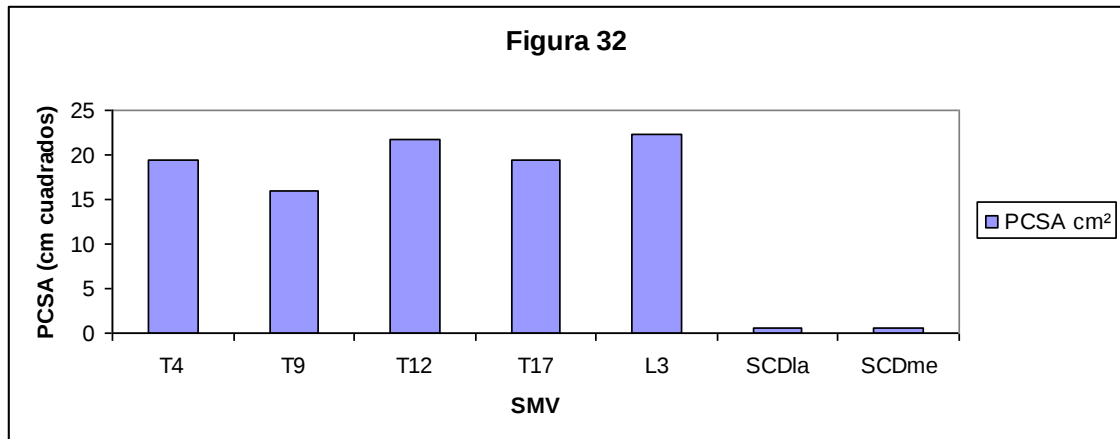


Figura 33: Valores de Fmáx indicados por SMV y para los músculos SCDla y SCDme. (Ver tabla 18).

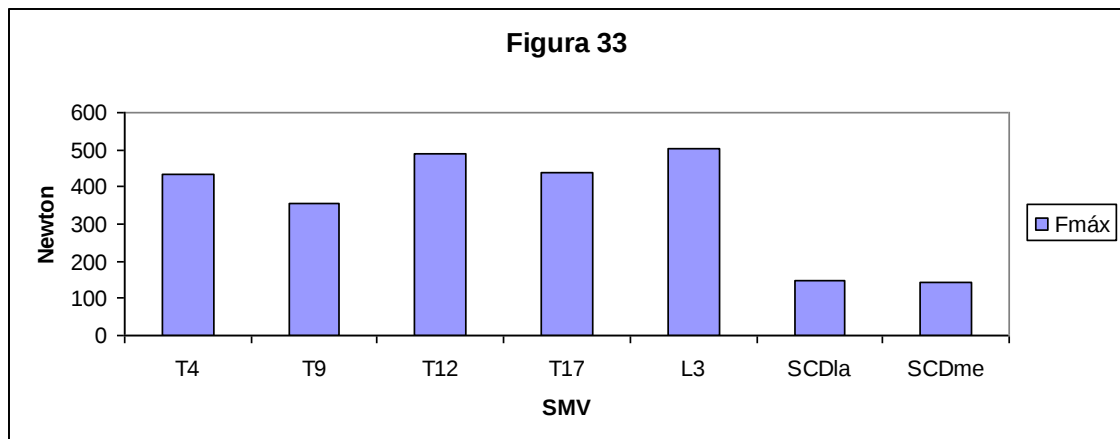


Figura 34: Valores de Vmáx (m/seg) acumulados por SMV y para los músculos SCDla y SCD me. Ver tabla 20.

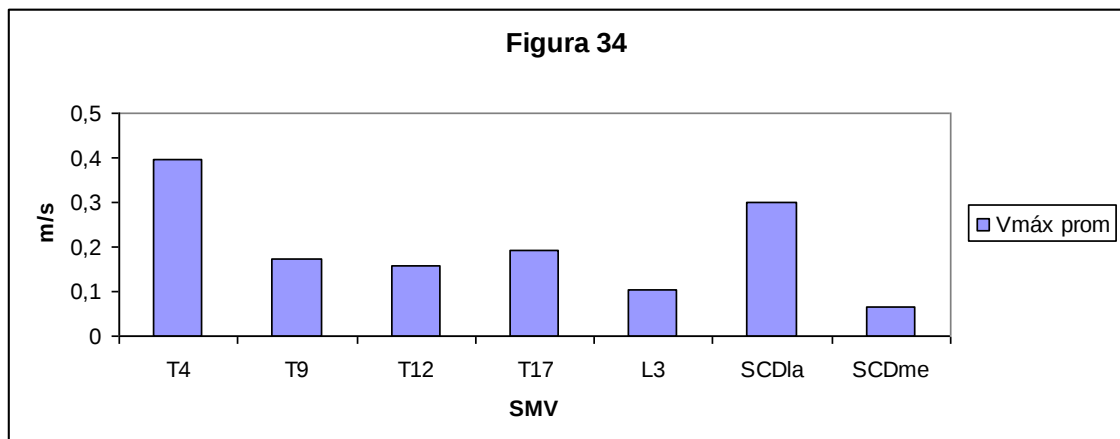


Figura 35: Valores de LFN (cm) de los músculos en cada metámera.

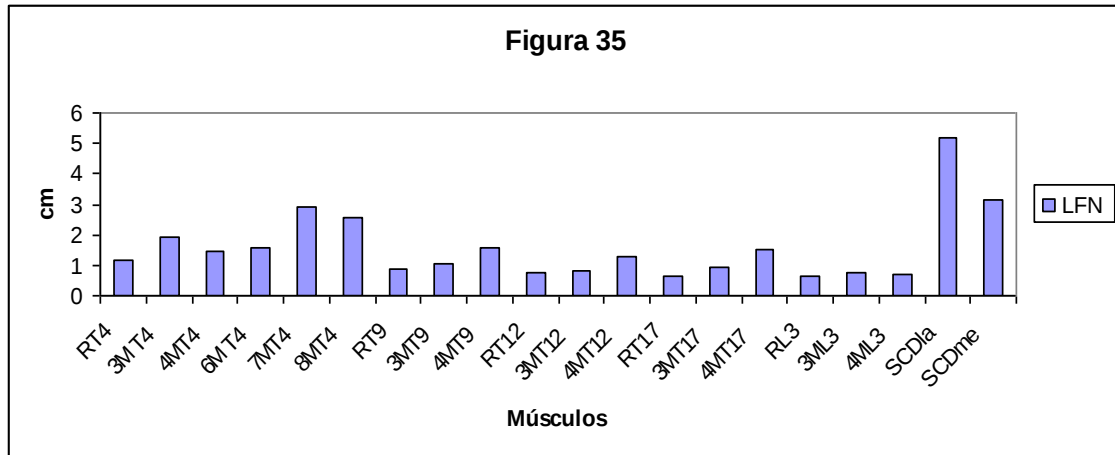


Tabla 23: Valores de momento muscular (r) y momento articular (M) ejercido por cada músculo. Los valores significativos de M fueron analizados como rango. Superíndices idénticos sin diferencia significativa ($p \leq 0,05$). EE, error estándar.

Músculo	r (cm)	M (Ncm)	Rango	EE
3ML3	8,5	2481,35	23,51 ^a	2,34
3MT12	8,5	2069,34	18,90 ^{ab}	2,34
4MT12	11	1368,81	17,24 ^{ab}	2,34
4MT9	11,5	1699,26	16,16 ^{abc}	2,34
6MT4	15	1664,34	15,21 ^{abc}	2,34
4ML3	10	1884,01	14,63 ^{abc}	2,34
4MT17	9	1569,99	14,47 ^{abc}	2,34
4MT4	11,5	1368,81	14,32 ^{abc}	2,58
7MT4	15,5	1229,64	13,93 ^{abc}	2,58
3MT17	7,5	1243,09	12,92 ^{abc}	2,34
3MT9	8,5	1176,02	10,90 ^{bc}	2,34
RT12	6,6	774,44	7,20 ^{bc}	2,34
RT17	6	638,02	6,22 ^{bc}	2,34
RT9	6	610,471	5,32 ^{bc}	2,34
RT4	7,5	510,12	5,15 ^{bc}	2,34
3MT4	9,5	489,40	4,83 ^{bc}	2,34
8MT4	15,5	514,36	4,08 ^{bc}	3,36
RL3	6,5	414,72	4,05 ^c	2,34

Tabla 24: Valores del momento articular (M) en cada SMV, tomados como rangos. No se observan diferencias significativas ($p \leq 0,05$). Valores de las medias originales expresados en Nm.

SMV	M (Nm)	EE
T12	14,45	1,82
L3	14,06	1,82
T17	11,20	1,82
T9	10,79	1,82
T4	9,81	1,39

Figuras 36: Valores medios de los momentos musculares (r) de cada músculo expresados en cm.

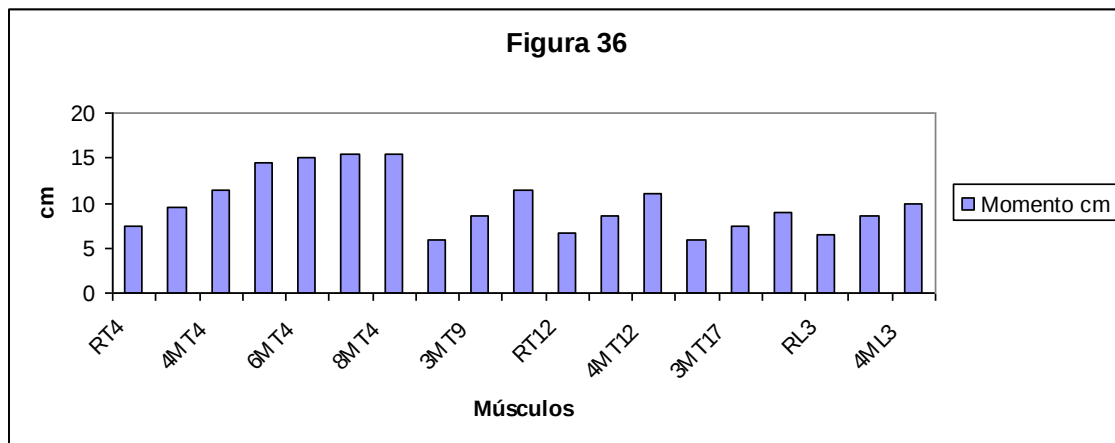


Figura 37: Valores de los momentos articulares (M) de cada músculo expresados en Nm.

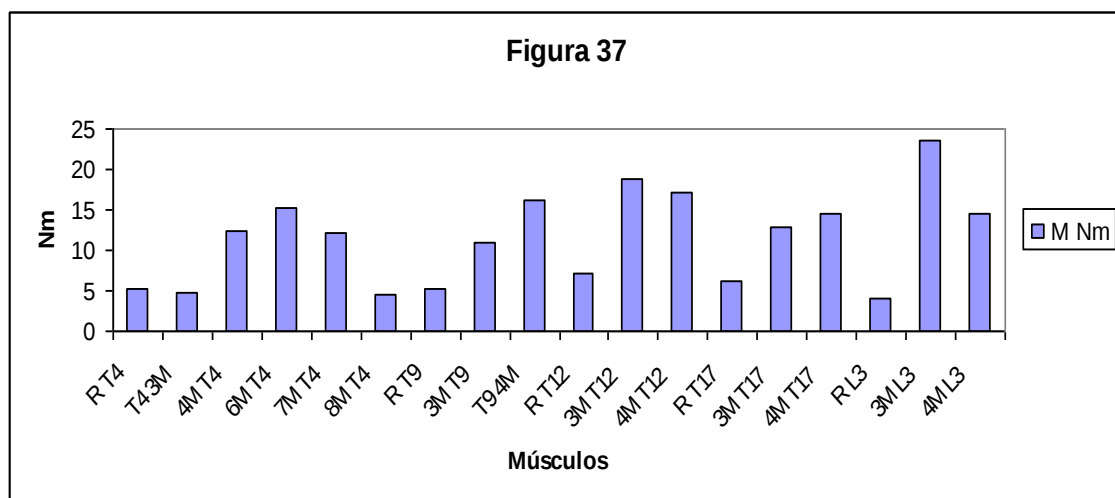


Figura 38: Valores de PCSA (cm^2) y M (Nm) de cada músculo.

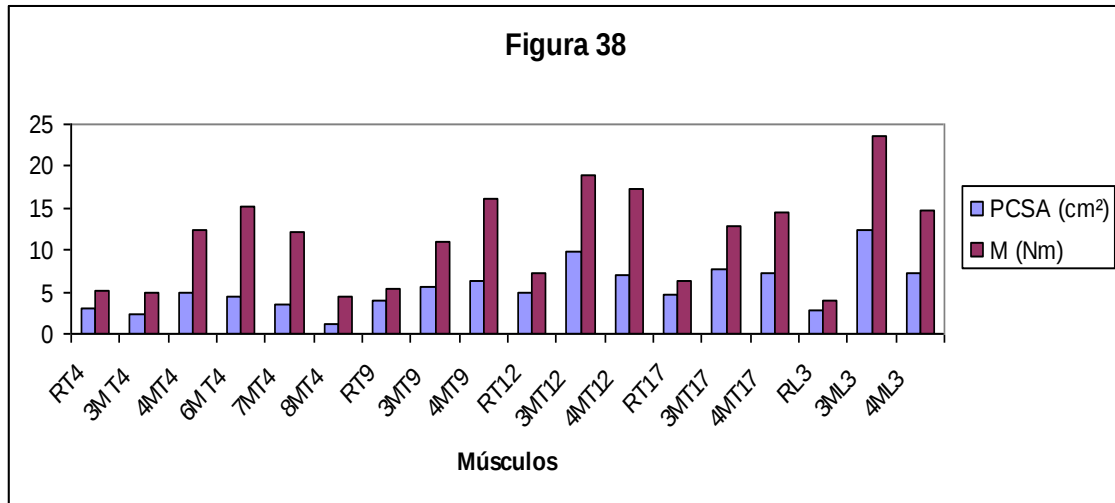
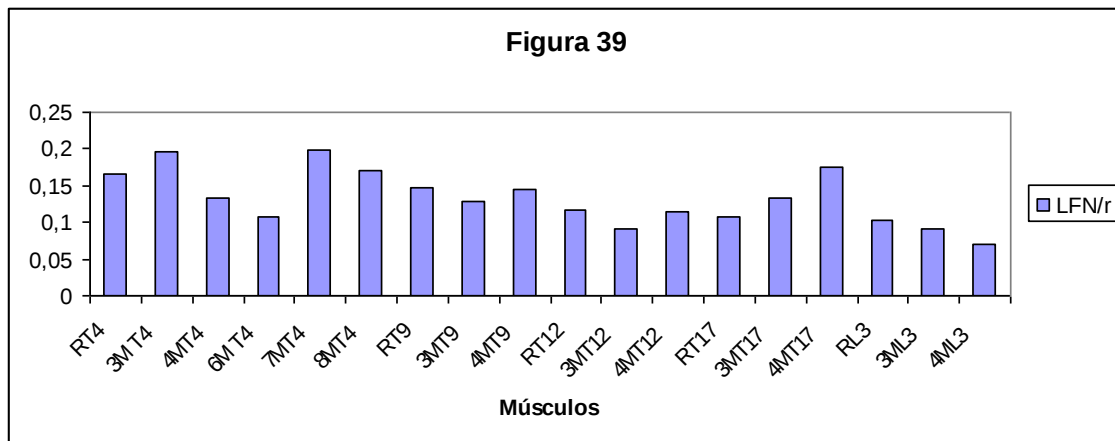


Figura 39: Valores correspondientes a la relación entre la longitud de las fibras de cada músculo y el momento muscular (r), de los músculos estudiados.



La figura precedente muestra la relación entre la longitud de las fibras musculares y el momento muscular. Esta relación indica la habilidad de un músculo para rotar una articulación a través de grandes rangos.

Figura 40: Valores de M (Nm) y los valores de la relación entre longitud de fibras y r para cada músculo.

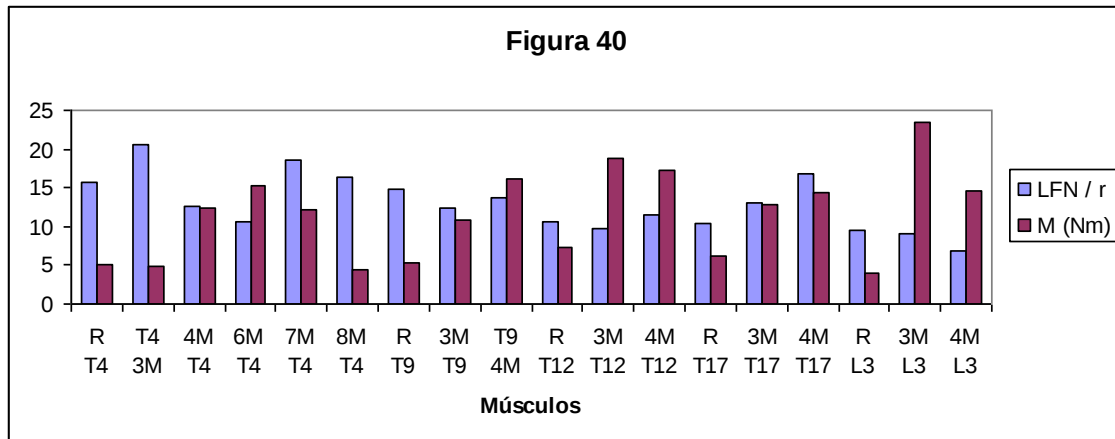


Figura 41: Valores de M (Nm) y de potencia (W) para cada músculo.

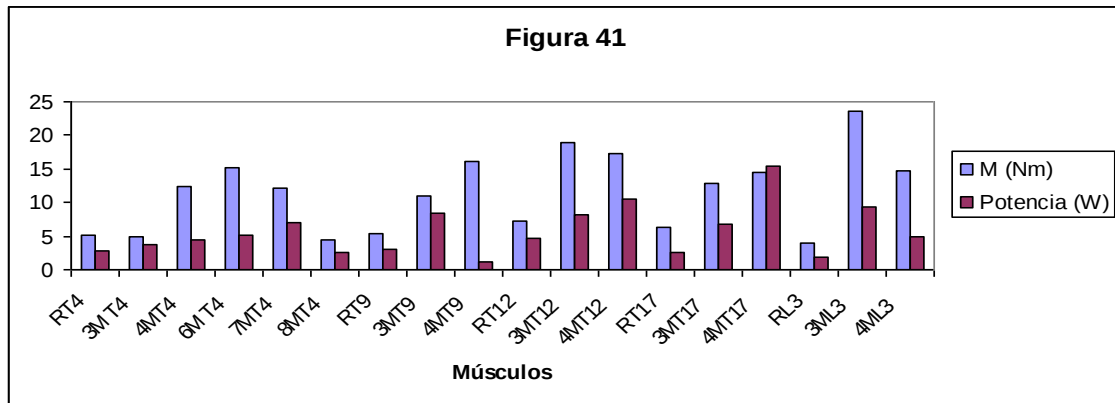


Figura 42: Relación entre los valores de masa muscular (Mm) expresada como rangos y la LFN expresada en

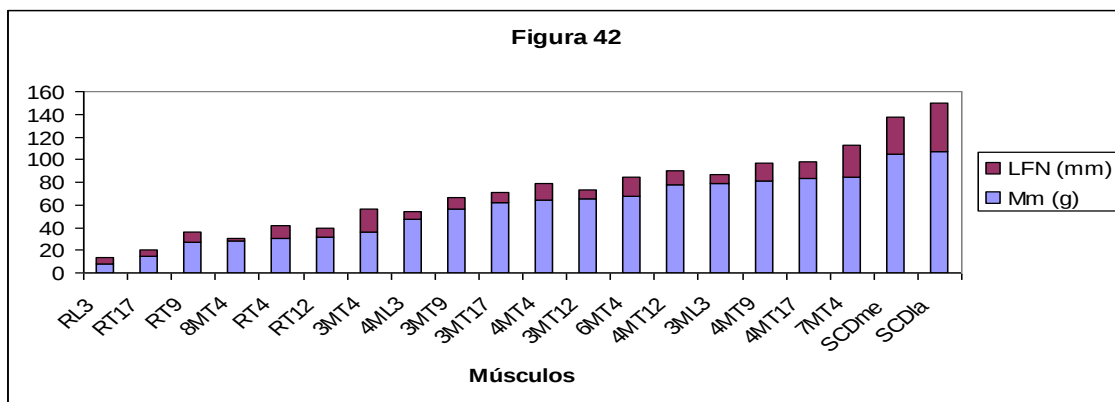


Tabla 25: Valores de la masa muscular (Mm) en cada músculo estudiado, luego de separar el tejido muscular del tejido conectivo. Valores expresados como rangos de los valores originales expresados en gramos. Superíndices idénticos no indican diferencia significativa ($P \leq 0,05$). EE, error estándar.

Músculo	Mm (g)	EE
RL3	7,67 ^a	6,66
RT17	14,33 ^{ab}	6,66
RT9	27,50 ^{abc}	6,66
8MT4	28,04 ^{abcd}	9,54
RT4	30,33 ^{abcd}	6,66
RT12	31,67 ^{abcd}	6,66
3MT4	36,50 ^{abcd}	6,66
4ML3	47,0 ^{bcd}	6,66
3MT9	56,0 ^{cde}	6,66
3MT17	61,50 ^{cde}	6,66
4MT4	64,66 ^{cde}	7,32
3MT12	65,33 ^{de}	6,66
6MT4	68,0 ^{de}	6,66
4MT12	77,67 ^{ef}	6,66
3ML3	79,33 ^{ef}	6,66
4MT9	81,17 ^{ef}	6,66
4MT17	82,83 ^{ef}	6,66
7MT4	84,26 ^{ef}	7,32
SCDme	105,33 ^f	6,66
SCDla	106,83 ^f	6,66

Tabla 26: Valores de masa muscular, considerados todos los músculos que se insertan en cada SMV. Valores expresados como rangos de los valores originales expresados en gramos. En L3, el músculo SCDla fue considerado separadamente. Superíndices idénticos indican falta de diferencia significativa ($P \leq 0,05$).

SMV	Mm	EE
L3	44,67 ^a	6,69
T4	52,76 ^a	5,11
T17	52,89 ^a	6,69
T9	54,89 ^a	6,69
T12	58,22 ^a	6,69
SCDme	105,33 ^b	11,58
SCDla	106,83 ^b	11,58

12- DISCUSIÓN

La literatura describe en el equino músculos multífidos con 2M y 3M *Barone, (1989)*, 2M a 6M *Nickel y col., (1985)* sin describir en detalle los segmentos vertebrales en los cuales ellos están localizados. En los últimos años, *Stubbs y col. (2006 y 2011)* y *Hyytiäinen y col. (2014)* también documentan la presencia de un músculo multífido con fascículos que se extienden entre 1M a 5M a todo lo largo de la columna tóracolumbar; *Mc Gowan y col. (2007)*, describen la presencia de fascículos 1M-4M en el segmento mencionado. Los resultados obtenidos en esta investigación acuerdan parcialmente con estos autores, debido a que se han encontrado multífidos que atraviesan 6M, 7M y 8M insertados en el SMV T4. Además en este estudio se encontraron fascículos 5 M en el SMV T9 en el 45% de los animales, y en ninguno de ellos encontramos fascículos 5M en los SMV T12, T17 y L3. Además estos autores describen músculos multífidos 1M entre los segmentos T1-L6, los cuales tienen ambas inserciones en una misma metámera (músculo R corto); en esta investigación no se han detectado por lo que los resultados obtenidos no tienen coincidencia con esta documentación, ya que sólo se encontró en un solo animal un fascículo monometamérico (1M) entre T3 y T4 en el lado derecho (Fig. 4b).

En cuanto al músculo R, *Barone (1989)* indica que es muy difícil de identificar en el equino, mientras que *Slijper (1946)*, y *Martin (1914)* no los reconocen en esta especie. Los hallazgos de esta investigación confirmaron la presencia del músculo R en la totalidad de las regiones torácica y lumbar (Fig. 4a) siendo esta información citada por *Nickel y col. (1985)*, solo en la región torácica caudal.

De acuerdo con *Rietbroeck y col. (2007)*, en las figuras 19-22 y la tabla 11 se observa como los valores de IDC, están influenciados por la DF y la DC. Se observa que cuando se incrementa la DF, generalmente decrece la CSA; además las variaciones en estos parámetros se hallan modificados de acuerdo a la CSA del tipo de fibra en cada músculo, ya que de acuerdo con *Rivero y col. (1993a)* el contacto de capilares con cada tipo de fibra se ordena significativamente en el músculo esquelético del caballo tipo I > tipo IIA > tipo IIX. En consecuencia, el valor que mejor indica la irrigación se encuentra expresado en el IDC, cuya composición tiene en cuenta a los restantes parámetros (DF y DC). Como el IDC indica el área irrigada por un (1) capilar, cuando el valor del IDC decrece, indica mejor nivel de irrigación. Cuando se analiza un músculo

con bajo IDC (adecuada irrigación), como el 3ML3, se presentan elevados valores de CSA de los tipos I y IIA y baja CSA de tipo IIX, con elevada DC; estas relaciones coinciden con la elevada RCF que habitualmente tienen las fibras de tipo I y IIA. Un músculo de perfil típicamente oxidativo como el RT4, muestra elevada CSA de tipo I y IIA, coincidiendo con elevados índices de RCF, DC y bajo IDC, que indica muy buena irrigación. Un músculo interesante a considerar es el 4MT17, por las características de sus parámetros funcionales, como veremos más adelante, que lo hacen un músculo de acción dual de elevada capacidad de generar $V_{m\acute{a}x}$ y $F_{m\acute{a}x}$, y muestra con énfasis las relaciones entre todos los parámetros que miden la irrigación capilar; este músculo se caracteriza por tener elevado AR de fibras IIX, baja CSA determinado por pequeños valores de AA de las fibras musculares, la consecuente más elevada DF y elevada DC, lo cual le otorga el valor más bajo de IDC con muy buena capacidad de irrigación (Tablas 6, 9, 10, 11, 17 y 19. Fig. 19-22).

En la ecuación que evalúa la PCSA, parámetro directamente vinculado a la $F_{m\acute{a}x}$, en esta tesis se decidió incluir al coseno del ángulo de pinación (Tabla 5), tal cual lo indican Roy y col. (1984), en desacuerdo con Payne y col. (2005a) quienes descartan la importancia del ángulo de pinación de las fibras sosteniendo que el volumen muscular tiene diversas variaciones probablemente en los ángulos de pinación por lo cual la medida del ángulo en la pieza muscular diseccionada no tiene valor de importancia (cuando se consideran las tres dimensiones durante la contracción del músculo en el animal vivo). Sin embargo, en la investigación de esta tesis se ha trabajado con músculos con fibras musculares extremadamente cortas (0,74-2,84cm) excepto para los músculos SCDla y SCDme, (Tabla 13), encerradas entre planos de aponeurosis paralelos y superpuestos de medial a lateral y separados por escasos mm (3mm aproximadamente) (Fig. 6), por lo cual se consideró que la determinación del ángulo de pinación tiene valor constante y orientativo, (Tabla 5). Payne y col. han trabajado sobre músculos, en general de gran volumen y variación en forma y estructura, como lo son las grandes masas musculares propulsoras del miembro pelviano Payne y col., (2005a) y los músculos extrínsecos del miembro torácico del equino Payne y col., (2005b); sin embargo, Crook y col. (2008) que estudian los mismos músculos aunque en distinta raza de caballos, incluyen el valor del coseno del ángulo de pinación cuando calculan la $F_{m\acute{a}x}$ del músculo, aunque aclaran que cuando el ángulo desciende a un valor inferior de 20° la influencia del mismo pierde importancia porque el coseno del ángulo se acerca a 1. De acuerdo con Ker y col. (2000) cuando no se

considera el coseno del ángulo de pinación de las fibras, se obtienen valores de la PCSA y parámetros que derivan de él, como la determinación del stress en vida del tendón y la $F_{m\acute{a}x}$ sobrestimados, aunque todo depende, según este autor, de los objetivos a alcanzar y de la agudeza de las mediciones. *Thompson y col. (2011)* documentan la importancia de considerar los valores del ángulo de pinación, a los cuales relacionan con modificaciones patológicas y funcionales en el músculo supraespinoso.

La importancia de la medición del ángulo de pinación en el cadáver, probablemente quede dilucidada cuando se utilice rutinariamente para tal fin la ultrasonografía tridimensional (*Payne y col., 2005a*). En resumen, dentro de la metodología disponible en el laboratorio utilizado en esta tesis, y avalada por los distintos autores mencionados más arriba, el dato adquiere valor orientativo cuando siempre se trabaja con el mismo método y se está advertido de las limitaciones instrumentales. Además se considera que es necesario recabar e interpretar todos los datos referidos a la arquitectura muscular, ya que, de acuerdo con *Kearns y col. (2002)*, *Burkholder y col. (1994)* y *Felder y col. (2005)*, *Eng y col. (2008)*, la arquitectura del músculo es el factor más importante en la predicción funcional del mismo. Los datos obtenidos en esta investigación acerca de la arquitectura muscular, se han logrado a partir del estudio de cadáveres conservados como se detalla en materiales y métodos, que es considerada por *Lieber y Fridén (2000)* la metodología más adecuada. Otra alternativa hubiera sido realizar los estudios por imágenes como tomografía computada y resonancia magnética (*Thompson y col., 2011*); sin embargo, de acuerdo con *Delp y col. (2001)* y *Lieber y Fridén (2000)*, los mismos tienen importantes limitaciones (además de las disponibilidades técnicas y económicas) con respecto a los estudios de arquitectura sobre el cadáver: por ejemplo, cuando la sección transversal del músculo no es uniforme en toda su longitud, o los fascículos no son perpendiculares a la imagen, la PCSA puede no dar resultados que indiquen fehacientemente la máxima capacidad de generar fuerza. La anatomía por imágenes, según *Lieber y Fridén (2000)*, no exterioriza correctamente la longitud y orientación de fascículos en músculos de arquitectura complicada como el erector espinal, o no distinguir entre distintos compartimientos neuromusculares, o en esta investigación, entre los distintos multifidos superpuestos de ventral a dorsal y de lateral a medial. *Sharir y col. (2006)* sostienen que los estudios imagenológicos, aún los más sofisticados como resonancia magnética y tomografía computada, son limitados en la determinación de la arquitectura muscular en músculos de estructura compleja como los tratados en este estudio. En el mismo sentido son

concluyentes *Lieber y Fridén (2000)* en una extensa revisión, al sostener que es imposible determinar la arquitectura del músculo por resonancia magnética, tomografía computada o ultrasonido ya que estos estudios imagenológicos no miden la longitud de las fibras o las variaciones del ángulo de inserción de las fibras que ocurren a lo largo del músculo.

Teniendo en cuenta las objeciones realizadas por los autores mencionados precedentemente con respecto a los estudios de arquitectura muscular por medio de imágenes, y al no obtener resultados convincentes al comienzo del desarrollo del proyecto a través de imágenes ultrasonográficas, propuesto en los objetivos y metodología en el proyecto original, los mismos fueron descartados desde la etapa inicial.

Las diferencias en la $V_{m\acute{a}x}$ entre músculos es más dependiente de la longitud de las fibras *Lieber y Fridén, (2000)* que de las características bioquímicas del músculo (porcentajes de tipos de fibras, áreas absolutas (AA) y áreas relativas (AR), de los tipos de fibras), significando que un músculo arquitectónicamente rápido no siempre necesita ser rápido bioquímicamente *Eng y col., (2008)*. Cuando coinciden las características bioquímicas y estructurales de las fibras musculares (fibras largas /fibras rápidas; fibras cortas / fibras lentas) se incrementa la eficiencia en la locomoción, ya que permite mantener constante la relación $V / V_{m\acute{a}x}$. *Rome y col., (1990)*, siendo V la velocidad de acortamiento del músculo durante la locomoción y $V_{m\acute{a}x}$ la velocidad máxima de acortamiento de cada fibra individual. Como V decrece a medida que se incrementa el tamaño corporal, para mantener el valor de $V/V_{m\acute{a}x}$, cuando varía V , se reclutan las fibras de acuerdo a su tipo ya que la $V_{m\acute{a}x}$ depende del tipo isoformas de miosinas de cadena pesada y de cadena liviana *Rome y col., (1990)*; *Bottinelli y Reggiani, (2000)*. Estos conceptos fundamentan la necesidad de realizar un detallado estudio de la arquitectura muscular junto con la correcta identificación de los tipos de fibras, realizada en el caso de la investigación en esta tesis, por combinación de reacciones histoquímicas (mATPasa, NADH-TR, GPD) y el uso de AcMo contra isoformas de cadena pesada de miosina (Tablas 1, 3 y 4).

De acuerdo con lo mencionado hasta aquí, la longitud de la fibra muscular es muy importante en la determinación de la **PCSA** *Lieber y Fridén, (2000)*; *Felder y col., (2005)*; *Eng y col., (2008)* y la **$V_{m\acute{a}x}$** *Burkholder y col., (1994)*; *Lieber y Fridén, (2000)*; *Felder y col., (2005)*; *Payne y col., (2005b)*; *Eng y col., (2008)*. Por esta razón, si bien se considera que las modificaciones de longitud de los fascículos por el

tratamiento efectuado, no es estadísticamente significativa ($< 3\%$) de acuerdo a lo documentado por *Delp y col. (2001)* y *Sharir y col. (2006)*, en esta tesis se ha decidido agudizar la medición normalizando la longitud de fibra a la longitud del sarcómero de acuerdo con *Felder y col. (2005)*, asumiendo que la longitud del sarcómero y la longitud de fibra están linealmente relacionadas. Al respecto, estos autores documentan que si bien ellos midieron la longitud de los sarcómeros por difracción de rayos laser, cualquier otra metodología puede ser usada. En los experimentos de esta tesis se hicieron mediciones mediante analizador de imágenes a partir de fotos digitalizadas de acuerdo con *Sharir y col. (2006)*.

La LFN es una importante característica en el diseño arquitectónico del músculo. De acuerdo con *Burkholder y col. (1994)*, *Kearns y col. (2002)*, *Felder y col. (2005)* y *Payne y col. (2005a y b)* la LFN es directamente proporcional a la capacidad para generar $V_{m\acute{a}x}$ e inversamente proporcional a la habilidad para generar $F_{m\acute{a}x}$.

Las diferencias en la $V_{m\acute{a}x}$ dependen más del acortamiento de la longitud de las fibras musculares que de las características histoquímicas y metabólicas de las fibras musculares (tipo de fibras musculares) *Burkholder y col., (1994)*; *Kearns y col., (2002)*, y la velocidad máxima de acortamiento de cada tipo de fibra depende del tipo de isoforma de miosina de cadena pesada y de cadena liviana que contenga. Este valor es similar, independientemente del músculo que se considere, y tampoco se modifica por el entrenamiento, excepto para las fibras de tipo I cuando se hace un entrenamiento de resistencia *Bottinelli y Reggiani, (2000)*.

Robert y col. (2001) y *Licka y col. (2009)* han documentado que el músculo longísimus tóracolumbar, estabiliza la columna transformando la región en una eficiente plataforma para transmitir los impulsos de propulsión desde los miembros pelvianos; sin embargo la cinemática del extremo craneal de esta plataforma (región interescapular, SMV T4 en este estudio) depende más de la actividad de los músculos comunes de los miembros torácicos y del peso y movimientos de cuello y cabeza. En los hallazgos que surgieron en el desarrollo de esta tesis, se muestra la presencia de los músculos multífidos más largos (5M, 6M, 7M, 8M) entre los segmentos T2-T5, lo cual puede ser explicado por el gran peso en las regiones de cabeza y cuello en el caballo, el cual corresponde al 10% de la masa corporal *Zsoldos y col., (2010)* contrarrestando la excesiva rotación interescapular, principalmente cuando el cuello es flexionado *Denoix, (1999)*, con un mejor control neural específico *Moseley y col., (2002)*; *Higham y*

Biewener, (2011) en acuerdo con un incremento del AR de las fibras de tipo I en el SMV T4, las cuales son resistentes a la fatiga (Tabla 7).

En la investigación de esta tesis se considera además, que la presencia de estos largos fascículos pueden cumplir un rol como agonistas del músculo espinal, si se tiene en cuenta el incremento significativo de la LFN en estos segmentos musculares (Tabla 13), lo cual le daría, a este grupo de músculos, mayor capacidad de acortamiento y menor aptitud para la generación de fuerza isométrica y función antigravitatoria *Burkholder y col.(1994); Kearns y col(2002)*. En el mismo sentido, si bien estos músculos tienen predominantemente fibras lentas o de velocidad intermedia oxidativas (I y IIA) ello no invalida su posible acción dinámica, ya que de acuerdo *con Eng y col. (2008)* un músculo rápido no necesariamente debe ser bioquímicamente rápido. Además de acuerdo con *Bottinelli y Reggiani (2000)* durante el acortamiento muscular a velocidad lenta, las fibras de tipo I son más eficientes al convertir la energía química liberada por hidrólisis del ATP en energía mecánica, que las fibras IIX, siendo las fibras IIA intermedias ($I > IIA > IIX$) y la generación de fuerza varía poco entre ellas. En consecuencia, es coherente que los músculos involucrados en esta región, tengan un AR de fibras de tipo I significativamente elevado, actuando como extensores en los SMV interescapulares. Al respecto, *Denoix (1999)* documenta que en la región interescapular (SMV T4 en esta tesis), ocurre flexión ventral cuando desciende la cabeza y el cuello. Esto explicaría el hallazgo de los músculos 7MT4 y 8MT4 con su elevado valor de LFN (Tabla 7), pudiendo actuar como músculos agonistas del músculo espinal, contrarrestando la flexión ventral de la región durante el descenso de cabeza y cuello. Los datos referidos a los valores de PCSA sumada por SMV (Tabla 16), muestran un decrecimiento significativo en el SMV T4, lo cual fundamenta su baja capacidad de generar fuerza isométrica (función de sostén) y la capacidad para actuar como agonistas del músculo espinal. En relación con esto, *Williams y col. (2008)* también documentan que la máxima fuerza isométrica que puede ejercerse sobre una articulación es la suma de todos los M (momentos de fuerza articulares) que actúan sobre ella. Al observar la tabla 24, se ve que el valor de M en el SMV T4 es menor que en el resto de los segmentos, lo cual indicaría que la principal acción de los músculos multífidos largos sobre este segmento sería la de realizar rotación transversal (extensión) cuando actúan simultáneamente los de ambos lados junto con el músculo espinal. En acuerdo, *Schilling (2009)*, en una investigación evolutiva de la musculatura paravertebral profunda, argumenta que durante las marchas asimétricas (trote, galope), la actividad de los

multífidos más largos y superficiales (7MT4, 8MT4) clasificados funcionalmente por este autor como estabilizadores globales y dinámicos, es apropiada en el tiempo para producir la extensión de la columna.

El decrecimiento significativo de los valores de LFN en los músculos 3MT9, 3MT17, RT9, 3MT12, RT12, 3ML3, 4ML3, RT17 y RL3 (Tabla 13) incrementa la capacidad de generar fuerza isométrica antigravitatoria dada por el incremento de la PCSA *Felder y col., (2005)*, dando sostén y oponiéndose al incremento de las rotaciones con ejes axial y vertical entre T9-T14 haciéndose evidente en su mayor grado en T12, con eje transversal en T17 (flexión) y en la región lumbosacra (extensión) *Townsend y Leach, (1984)*; *Denoix, (1999)*; *Licka y col., (2009)*; *van Weeren, (2009)*; *Groesel y col., (2010)*, sugiriendo que estos segmentos musculares tendrían una acción fuertemente antigravitatoria. De acuerdo con *Schilling (2009)* los músculos mencionados se comportan como estabilizadores locales, estabilizadores globales y estabilizadores globales y dinámicos, según consideremos a los segmentos R (que muestran actividad independiente y continua, generadores de rotación axial), 3M (de actividad no continua) y 4M (de actividad no continua, productores de extensión espinal durante marchas asimétricas) respectivamente.

Cuando se analizan los valores de PCSA, parámetro indicador de la capacidad de generar fuerza isométrica, se observan que los valores de cada músculo estudiado se ordenan en forma casi opuesta a aquellos de LFN (Tablas 13 y 15). Los valores más elevados de PCSA los encontramos en los segmentos 3MT17, T12 y L3, que se corresponden con los SMV de mayor movilidad (ver introducción, *Denoix, (1999)*; *van Weeren, (2009)* en cuanto a las rotaciones verticales y transversales (T12 y T17). Con respecto al SMV L3 debe tenerse en cuenta que el valor de PCSA (indicador de acción antigravitatoria) de este segmento es necesario que se encuentre incrementado, en concordancia con el fuerte incremento de la extensión en la articulación lumbosacra y el impulso de los miembros pelvianos; asimismo recibe la inserción del músculo SCD1a de valores medios de PCSA y Fmáx, de elevada masa, pero con elevada LFN (Tablas 13, 15, 17 y 25) y elevada AR de fibras de tipo IIA de intermedia resistencia a la fatiga (0,512) (Tabla 12). Los valores de PCSA continúan en orden decreciente en los músculos 4ML3, 4MT17 y 4MT12 (Tabla 15), que probablemente colaboren para disminuir el movimiento de estos SMV (en concordancia, los grados de rotación vertical y axial en estos SMV se incrementan en orden exactamente inverso, de acuerdo con *Denoix (1999)*, actuando como estabilizadores dinámicos globales durante las marchas

asimétricas, (aquellas distintas al paso) conservando relativa capacidad de rotación de acuerdo con *Schilling (2009)*. Debe considerarse que los valores de PCSA de los músculos rotadores se ordenan de a pares (RT4 – RT9) y (RT12- RT17), ubicados en SMVs de movilidad creciente en esos segmentos *Denoix, (1999)*. Los músculos rotadores que son considerados por *Schilling (2009)* como músculos estabilizadores locales del SMV y generadores de rotación axial, muestran valores de PCSA muy bajos con respecto a los músculos 3M y 4M, explicados por el escaso valor de la Mm (tablas 15 y 25); sin embargo es interesante el ordenamiento de las medias de PCSA de estos músculos como se menciona más arriba. Cuando se observa las tablas 15 y 17, el R insertado en T4, presenta mayor PCSA y Fmáx que el 3MT4, basado en el decrecimiento significativo de la LFN (Tabla 13), teniendo asimismo un ángulo de inserción más eficiente (Fig. 5). Esta interpretación funcional se aprecia en el mismo sentido y con mayor claridad cuando se analizan los valores de PCSA acumulados en cada SMV (Tabla 16), ya que, en acuerdo con *Williams y col. (2008)*, la suma de todos los momentos de fuerza articulares (M) que actúan sobre una articulación, indica la mayor Fmáx, directamente relacionada a la PCSA, que puede ejercerse sobre una articulación. Si se acepta que la PCSA es un parámetro que indica la capacidad de generar fuerza antigravitatoria y que en estos músculos representan una oposición a las rotaciones de la columna, las diferencias significativas y descriptivas indicadas en la mencionada tabla, se corresponden con el incremento de movilidad de la columna indicado por *Denoix (1999)* y *van Weeren (2009)* en el sentido SMV T4< SMV T9< SMV T12> SMV T17< región lumbosacra. Debe aclararse que el ordenamiento significativo entre SMVT12 y SMVT17 está referido a las rotaciones a ejes vertical y axial *Denoix, (1999)*, ya que en el SMVT17 se incrementa la rotación a eje transversal (incremento de la flexión-extensión).

Las diferencias de LFN inciden fuertemente en los valores de PCSA y Fmáx (Tablas 13, 15 y 17) coincidiendo con *Burkholder y col. (1994)* y *Kearns y col. (2002)*.

Observando la tabla 17 los valores de Fmáx antigravitatoria son similares significativamente en los SMV T9, T12 y T17 aunque los valores descriptivos están incrementados en ese orden, coincidiendo con el mismo incremento descriptivo de los distintos grados de las rotaciones en los SMV mencionados *Denoix, (1999)*.

Observando los valores de Fmáx (Tablas 17 y 18), aquellos más elevados significativamente pertenecen a los músculos 3ML3, 3MT17, 4ML3 y al SMV L3. Puede explicarse por el incremento de la extensión a nivel lumbosacro y la flexión en

T17 Denoix, (1999); van Weeren, (2009), actuando estos músculos como estabilizadores globales y estabilizadores dinámicos globales Schilling, (2009). En la tabla 17 se observa un ordenamiento significativo regional de Fmáx por SMV, 3MT9-4MT9, 3MT12-4MT12-4MT17-4ML3-3MT17-3ML3, indicando diferencias estructurales y funcionales en LFN, Fmáx y Vmáx (Tablas 13, 17 y 19), con un probable control neural muy específico, coincidiendo y fundamentando diversas documentaciones Burkholder y col., (1994); Moseley y col., (2002); Kearns y col., (2002); Schilling, (2009); van Weeren, (2010); Stubbs y col., (2011); Meyer y Lieber, (2011); Higham y Biewener, (2011). Resumiendo lo considerado hasta aquí, la longitud de los músculos multifidos (en su extensión metamérica) parece ser independiente de la longitud de fibras (Tabla 13), sugiriendo diferencias funcionales y en las cronologías de la innervación respectiva. Cuando se analizan en los resultados de esta tesis, los valores de PCSA y Fmáx, acuerdan con los conceptos documentados por Eng y col. (2008), quienes sostienen que los músculos incrementan su masa predominantemente por tener mayor número de fibras, más que por cambios en la longitud de las fibras; en consecuencia la estructura del músculo con las fibras orientadas oblicuamente, también facilita el incremento del número de fibras y por lo tanto de Mm, que es directamente proporcional a PCSA, Fmáx y potencia. Esto es lo obtenido en los resultados de la investigación cuando se observan por ejemplo los valores de LFN, PCSA, Fmáx y W de los músculos 3MT12, 4MT17 y 3ML3 observando las tablas 13, 15, 17, 21 y figuras 23, 24 y 29 que indican como la LFN es baja o intermedia, mientras que incrementan fuertemente la Mm (Tabla 25); en casos como el 7MT4 se incrementa la Mm, pero disminuye la PCSA por un fuerte incremento de la LFN. El incremento del AA de los músculos estudiados de las fibras de tipo I y IIA con respecto al músculo esquelético de equino tomado como control (GM) (Tablas 8 y 9) también permite el incremento de Mm relacionado con el incremento de la PCSA y Fmáx de acuerdo con Eng y col. (2008) y Lieber y Fridén (2000) quienes documentan que el diámetro de las fibras musculares tiende a ser constante entre músculos de distinto tamaño, pero varían de acuerdo a la capacidad de generar fuerza. Esto parece ocurrir en T9, T12, L3, L6 y en el m. SCDme, observando la tabla 8.

En resumen, analizando las tablas mencionadas, los resultados indican que los músculos estudiados constituyen su masa principalmente por incremento del número de fibras y / o por el aumento del AA de las fibras. En desacuerdo con Eng y col. (2008) y

observando las tablas 13, 25, y 42 existió un incremento de la Mm por el aumento de la LFN en los músculos R T4, 3M T4, 7M T4, SCDme y SCDla.

Cuando se analizan los valores de V_{máx} acumulados por SMV (Tabla 20) no se aprecian diferencias significativas, lo cual estaría indicando que sumada la acción de los músculos multífidos, prevalecerían su acciones antigravitatorias contrarrestando las rotaciones, como estabilizadores largos dinámicos *Schilling, (2009)* dejando principalmente la actividad de extensión de la columna al longissimus *Groesel y col., (2010)* junto con los músculos iliocostal *Schilling, (2009)* y espinal *Rooney, (1982)*. Sin embargo al analizar los músculos individualmente (Tabla 19) se aprecia una diferencia significativa en el valor de V_{máx} del 4MT17, el cual arquitectónicamente se encuentra en el grupo de los de mayor longitud de fibras (Tabla 13) entre las cuales existe la mayor AR de fibras rápidas glicolíticas IIX (0,28) (Tabla 12), con excelente irrigación debido a su bajo IDC (Tabla 11), contribuyendo a incrementar la velocidad de acortamiento, ya que las fibras IIX tienen valores significativos mayores de acortamiento que las fibras de tipo I y IIA en el músculo esquelético en general *Bottinelli y Reggiani, (2000)* y en el músculo esquelético del equino específicamente *Rome y col., (1990)*. Simultáneamente y como excepción, este músculo tiene elevados valores de generación de PCSA y F_{máx} (Tablas 15 y 17). Las características de diseño arquitectónico y bioquímicas de los músculos multífidos (ejemplificada en el músculo 4MT17) probablemente indiquen una acción dual, sugiriendo un control neural muy específico durante su actividad como estabilizadores globales y dinámicos. Siguiendo con el análisis de la V_{máx} (Tabla 19) los valores de los músculos se ordenan de la siguiente forma: 4MT17 > 4MT12 = 4MT9, lo cual probablemente indique la acción de extensión en el SMV T17 de acuerdo con *Schilling (2009)*, oponiéndose a la flexión de los músculos abdominales *Denoix, (2009)*; *van Weeren, (2009)*. Son medianos y similares los valores de V_{máx} de 3MT9, 3MT12 y 3MT17, mientras que estos dos últimos músculos presentan valores muy altos de PCSA y F_{máx} (Tablas 15 y 17) acercándolos a funciones antigravitatorias, evidenciando una inervación selectiva con respecto a los segmentos 4M, coincidiendo con la estimulación diferencial documentada por *Moseley y col. (2002)*. Los músculos 3ML3 y 4ML3 poseen elevados y cercanos valores de PCSA y F_{máx} (Tablas 15 y 17) y valores muy bajos de V_{máx} (Tabla 19) lo cual sugiere que están involucrados en funciones antigravitatorias para oponerse a la rotación transversal generada a nivel lumbosacro. Además debe tenerse en cuenta que el

SMV L3 recibe como valor de potencia (Tabla 21) la generación de $F_{m\acute{a}x}$ del músculo SCDla que se inserta en el proceso espinoso L3.

Debe agregarse que el incremento de movilidad en los SMV T12 y T17, se corresponde en la clínica equina con la observación de lesiones en los extremos de los procesos espinosos en la zona comprendida precisamente entre estos segmentos *Townsend y col., (1986); Mc Gowan y col., (2007)*.

Volviendo a los hallazgos de la investigación de esta tesis, respecto de la inserción en el SMV T4 de multífidos muy largos (8M, 7M, 6M), los mismos se encuentran entre los músculos estudiados con valores significativos más bajos de PCSA y $F_{m\acute{a}x}$ (Tablas 15 y 17), en concordancia con los menores valores significativos en el SMV T4 cuando se analizan los músculos actuando por SMV (Tablas 16 y 18), mientras que concordantemente los valores de $V_{m\acute{a}x}$ de los músculos 7MT4 y 8MT4 (Tabla 19) se ubican entre los de valor significativo más incrementado, sorpresivamente acompañados, en el mismo rango, por el músculo 3MT4, lo cual sugiere que estos músculos actúan como estabilizadores dinámicos de extensión como agonistas del músculo espinal *Rooney, (1982); Schilling, (2009)*, tal cual se sugiere en párrafos anteriores. Nuevamente, los valores de $V_{m\acute{a}x}$ de estos músculos de distinta longitud, indican que las características estructurales se corresponden con necesidades funcionales.

Los valores de potencia se encuentran en una escala intermedia para los músculos 6M y 7M, y significativamente muy bajo para el 8M, relacionado con el significativo decrecimiento del valor de $F_{m\acute{a}x}$ (Tabla 17), lo cual nuevamente fundamenta nuestra consideración de su acción predominantemente dinámica sobre la antigravitatoria. Estos conceptos acuerdan con la documentación de *Denoix (1999)* quien indica que en la región interescapular si bien es la de más baja rotación axial y lateral, se incrementa fuertemente la flexión cuando el cuello se halla flexionado; estos músculos contribuirían a realizar una extensión opuesta al desequilibrio producido durante la flexión del cuello.

De acuerdo con *Williams y col. (2008)* la potencia de un músculo es proporcional a la $F_{m\acute{a}x}$ y a la $V_{m\acute{a}x}$. En consecuencia el incremento de masa muscular es proporcional a la potencia del músculo. Con respecto al crecimiento de potencia, el valor de LFN tiene un valor límite en equilibrio con la masa muscular, ya que incrementos en LFN aumentan la $V_{m\acute{a}x}$, pero disminuyen la $F_{m\acute{a}x}$, por decrecimiento de la PCSA. Además, con respecto a la $V_{m\acute{a}x}$ debe considerarse el tipo de fibras

Kearns y col., (2002), ya que cada isoforma de cadena pesada que caracteriza al tipo de fibra, tiene una velocidad máxima de acortamiento Rome y col., (1990); Bottinelli y Reggiani, (2000). Precisamente por esta razón, en esta tesis se ha calculado la $V_{m\acute{a}x}$ de cada músculo mediante una ecuación que tiene en cuenta el AR de cada tipo de fibra en cada músculo estudiado, además de la LFN. (Ver Materiales y Métodos).

Observando la tabla 21, los valores más elevados de potencia se observan en los músculos SCDla > 4MT17= 4MT9 = 4MT12, todos ellos con los valores más grandes de PCSA y $V_{m\acute{a}x}$ (tablas 15 y 19). El SCDla es un músculo de elevada LFN y Mm (tablas 13 y 25), que se extiende desde la región caudal hasta la vértebra L3, conteniendo fibras rápidas de tipo IIX (Tabla 12), interviniendo en los movimientos de rotación a ejes vertical y transversal de la cola y probablemente también contribuya en determinada fase del movimiento a la extensión lumbosacra, siendo considerado por Nickel y col. (1985) y Schilling (2009) un músculo longísimus, y funcionalmente estaría dentro del grupo de los músculos estabilizadores globales dinámicos en la clasificación de Schilling (2009).

La posibilidad que este músculo contribuya a la extensión lumbosacra según los requerimientos dinámicos, invirtiendo su punto de inserción más móvil Barone, (1989), puede suponerse por la estructura del músculo con elevados valores AR de fibras de tipo IIX y significativos incrementos de LFN y Mm (tablas 13 y 25) hallados en los resultados de esta tesis. Si se observa a los equinos al galope máximo llevando la cola parcialmente flexionada, puede inferirse que el músculo SCDla estaría actuando en esta fase dinámica extrema como extensor lumbosacro, teniendo como punto de inserción fijo el extremo caudal, y como punto móvil su inserción craneal en la vértebra L3. De acuerdo a los valores de AR de fibras obtenidos en esta investigación, se coincide con Nickel y col. (1985) que el SCDla es un músculo longísimus, disintiendo con Stubbs y col. (2006) que lo consideran un multífido.

Los restantes músculos de mayor potencia, 4MT17, 4MT9, 4MT12 indicados anteriormente, pertenecerían al grupo de estabilizadores globales dinámicos dentro de la mencionada clasificación de Schilling (2009) teniendo una acción dual, antigravitatoria y dinámica mediante rotaciones axiales, asegurando la cohesión vertebral en SMVs de importantes movimientos rotacionales (Tablas 17, 19). Estos hallazgos estructurales indicarían que la inervación cronológica de, al menos este grupo de músculos, sería bastante más compleja que lo indicado en la documentación de Moseley y col. (2002).

Con respecto al músculo SCDme, difiere funcionalmente del SCDla, fundamentalmente en los valores de $V_{\max}$. El SCDme presenta elevada AR de fibras de tipo I y de elevada AA (Tablas 6 y 8; Fig. 14) lo cual le asigna función de sostén antigravitatorio de la pelvis por su inserción en las vértebras S3-S4. La constitución del tipo de fibras obtenidas en esta investigación, coincide con *Nickel y col. (1985)* en el concepto de que los músculos SCDla y SCDme pertenecen al grupo longísimus y multífido respectivamente, mientras que se disiente fuertemente con *Stubbs y col. (2006)* quienes documentan que ambos músculos pertenecen al grupo de multífidus.

Hudson y col. (2011 a y b) indican que el incremento del momento de palanca máximo (r) (Ver Materiales y Métodos) en una especie sumamente veloz en su desplazamiento, es la más notable adaptación del músculo esquelético. Sin embargo de acuerdo a los datos obtenidos en esta tesis se considera que un parámetro más ajustado para evaluar la función muscular es el momento de fuerza de cada músculo sobre su articulación o también llamado momento articular (M), de acuerdo con la ecuación propuesta por *Williams y col. (2008)*, $M: F_{\max} \times r$ (ver Materiales y Métodos) El mismo, expresa la transformación de la fuerza lineal desarrollada por un músculo en momentos rotacionales que determinan el movimiento de la articulación.

Observando la tabla 23, el mayor valor significativo de M corresponde al músculo 3ML3, seguido de elevados rangos en los músculos 3MT12, 4MT12 y 4MT9 probablemente relacionados con la capacidad de rotación para contrarrestar la extensión lumbosacra y las flexiones lateral y axial en los SMV mencionados. En relación con esto, *Williams y col. (2008)* también documentan que la máxima fuerza isométrica que puede ejercerse sobre una articulación es la suma de todos los M (momentos de fuerza articulares) que actúan sobre ella. En los resultados indicados en la tabla 24, la suma de todos los M si bien no muestran diferencias significativas, existe un claro incremento en los valores descriptivos de los M en los SMV T12 y L3.

En la tabla 23, los valores de M de los músculos R se encuentran dentro del mismo rango, lo cual sugiere que cumplen una función antigravitatoria equivalente en el equino para todos los SMV estudiados. Estos datos concuerdan con lo documentado por *Moseley y col. (2002)*, quienes sostienen que los R tienen valores de M muy pequeños por estar cerca del centro de rotación de las vértebras, con escasa capacidad de rotación, oponiéndose al movimiento del SMV por compresión, con mínimo movimiento de torque. Con respecto al 8M, el escaso valor de M se debe a la escasa capacidad de generar PCSA y $F_{\max}$, por el muy bajo valor de su masa muscular, ya que es un

músculo con gran contenido de tejido conectivo, al cual le asignamos una función dinámica de acortamiento, probablemente agonista del músculo espinal como se trató oportunamente.

Estas características de los músculos R están en concordancia con el ángulo de inserción en el proceso espinoso, el cual para mayor eficiencia debe acercarse a 90° de acuerdo con *Slijper (1946)*. Observando la figura 5, vemos como en los SMV T4-T12 se encuentran en el valor ideal, y aún manteniéndose cercano en T17. En la región lumbar es evidente, dada la escasa Mm en los R, que la oposición a la rotación no depende solamente de los músculos R, sino de otras características anatómicas óseas y articulares, de los músculos 3M, 4M, de los músculos interespinosos y probablemente de los músculos SCDme principalmente, y SCDla de acuerdo a las necesidades biomecánicas.

Los restantes fascículos de mayor longitud disminuyen bruscamente el ángulo de inserción en T2, y luego incrementan en forma progresiva y consecutiva su acercamiento a 90° entre T2 y T6, decreciendo entre estos segmentos en el sentido 3M>4M>5M>6M>7M>8M. (Fig. 5). Los fascículos 3M y 4M acercan el ángulo de inserción a 90° entre los segmentos T10 y T14. Probablemente estos valores del ángulo de inserción, cercanos a la máxima eficiencia, se encuentran relacionados con los mayores movimientos de láteroflexión y rotación axial que se describe en los segmentos T9-T14 de acuerdo con *Denoix (1999)*, *McGowan y col. (2007)* y *Townsend y Leach (1984)*, debido al desplazamiento hacia craneal hasta el SMV T10, cuando el animal descende cabeza y cuello *Denoix, (1999)*, por la acción de la porción funicular del ligamento de la nuca hasta su inserción en T15 de acuerdo con *Barone (1989)*, y por la acumulación de energía potencial en el tendón elástico del músculo semiespinal de la cabeza *Gellman y col., (2002)*. Con respecto al incremento de la rotación a eje vertical (láteroflexión) entre T9-T14, a la acción del músculo espinal cuando es unilateral, debe sumarse la actividad del músculo longísimus produciendo rotación de la columna en sus tres ejes, la cual se evidencia por electromiografía en su mayor valor a nivel de la vértebra T12 *Groesel y col., (2010)*; asimismo, *Robert y col. (2001)* y *Licka y col. (2009)* documentan que la actividad del músculo longísimus es necesaria para mantener la estabilidad de la columna, cuando el tronco es empujado por el miembro pelviano ipsilateral, siendo la actividad preventiva del m. longísimus desarrollada antes de iniciarse la expansión lateral de la columna, mayor en T12 >T16>L3 *Licka y col., (2009)*. Los trabajos de *Robert y col. (2001)*, *Licka y col. (2009)* y *Groesel y col. (2010)*

afirman experimentalmente la clasificación de *Schilling* (2009) que incluye a los músculos espinal y longísimus como estabilizadores dinámicos largos. Los conceptos precedentes pueden relacionarse con los hallazgos de esta investigación en relación a los valores de PCSA y $F_{m\acute{a}x}$, los cuales alcanzan elevados valores en el segmento 3MT12 (Tablas 15 y 17. Fig. 23 y 25) y con el acercamiento al ángulo de inserción a 90° entre los segmentos T10-T14, interviniendo este músculo en la estabilización de la columna.

Considerando la anatomía funcional del límite cervico-torácico el SMV T1-T2 es considerado por *Grassé* (1971) y *Townsend y Leach* (1984) un punto de transición de la musculatura episomática en conjunto y de anclaje para los movimientos de ascenso y descenso del conjunto cuello y cabeza; experiencias *in vivo* *Clayton y col.*, (2010) e *in vitro* *Clayton y Townsend*, (1989) indican gran movilidad de flexión-extensión y lateralidad en la región cervico-torácica. Esta característica anátomo-fisiológica es de esperar porque permite al cuello en conjunto el descenso, ascenso y doblar en todas direcciones, durante necesidades diarias fisiológicas. En consecuencia probablemente sea necesario limitar una rotación excesiva de la vértebra T1 sobre la T2, y de allí la inserción próxima a 90° de todos los fascículos en T1 (Fig. 5).

Por otra parte, los largos procesos espinosos interescapulares reciben la acción opuesta del músculo espinal *Grassé*, (1971); *Rooney*, (1982), el cual produce extensión y desplazamientos laterales de la columna vertebral. La estructura y función de los multífidos largos 7M-8M hallados en el desarrollo de esta tesis, insertándose en la región interescapular y actuando como estabilizadores dinámicos globales y agonistas del músculo espinal *Schilling*, (2009), ya fue analizada anteriormente.

Continuando en la región interescapular, como se observa en la figura 5, a medida que se incrementa la longitud de los multífidos disminuye su eficiencia en cuanto al ángulo de inserción, excepción hecha en el 3M en el segmento T6. Puede especularse que la acción de contención del músculo R se debe a un incremento en la PCSA, parámetro relacionado directamente con la capacidad de generar fuerza isométrica. Cuando se observan la tabla 15 y la figura 23, el R insertado en T4, presenta una mayor PCSA que el 3MT4, basado en el incremento de la masa muscular, teniendo asimismo un ángulo de inserción más eficiente (Fig. 5). Puede observarse que el músculo 6MT4 contribuye a la contención del SMV, mostrando también un leve incremento en la $F_{m\acute{a}x}$ (Tablas 17 y 19. Fig. 25) y un elevado AR de fibras de tipo I, asociadas a funciones de sostén, con decrecimiento de la $V_{m\acute{a}x}$.

Algún grado de variabilidad encontrado en los ángulos de inserción, de acuerdo a los individuos, tal vez pueda explicarse con la documentación de *Stubbs y col. (2006)* quienes sostienen que existen variaciones en el ángulo articular entre L6 y S1, y entre L5 y L6, de acuerdo a la existencia de la región lumbar provista de 5 o 6 vértebras, existiendo un 30% de individuos con solo 5 vértebras lumbares, haciendo que estas variaciones en el números de vértebras y angulaciones, modifique la dirección vectorial del músculo multífido. En los resultados obtenidos en esta tesis, también encontramos la misma proporción en cuanto a la aparición de individuos con 5 vértebras lumbares, observando que en estos animales la inclinación craneal del proceso espinoso es mayor que en el caso de existir 6 vértebras lumbares (Tabla 2).

La reunión de fascículos polimetaméricos pertenecientes al complejo multífido en cada proceso espinoso, constituyen un ejemplo de las conexiones sinérgicas intersegmentarias adaptativas descritas por *Higham y Biewener (2011)*, donde los fascículos musculares son conectados por aponeurosis comunes a lo largo de la longitud del músculo, y a su vez estos empaquetamientos aponeuróticos favorecen la generación de fuerza isométrica, por dificultar el estiramiento y acortamiento de las fibras. Esta regionalización y polimetamerización, van a producir diferentes torques aún en una misma articulación, lo cual indica distinta función, y además, probablemente sea un mecanismo para que el sistema nervioso central module la acción mecánica del músculo *Higham y Biewener (2011)*, permitiendo en el caballo un mejor control de la estabilidad intervertebral *van Weeren, (2010)*; *Stubbs y col., (2011)* (Tablas 16 y 18).

El mecanismo de control de la actividad del músculo multífido es clarificado por las investigaciones de *Panjabi (1992)* quien sostiene que la distensión de ligamentos y tendones generan estímulos propioceptivos produciendo un mecanismo de feedback que regula la tensión y la actividad de los músculos que estabilizan la columna.

La figura 39 muestra la relación entre la longitud de las fibras musculares y el momento muscular (LFN/r). Esta relación indica la habilidad de un músculo para rotar una articulación a través de grandes rangos, de acuerdo con *Williams y col. (2008)*. Debe destacarse el elevado valor en 4MT17, lo cual permite especular que este músculo contribuye a la rotación en el eje transversal (extensión) en el mencionado segmento, oponiéndose al incremento de flexión documentado en este segmento, coincidiendo con elevados valores significativos de F_{máx} y V_{máx} (Tablas 17 y 19). Esto está indicando una probable acción dual antigravitatoria y de acortamiento. Además, este músculo presenta un acercamiento entre los valores de M y LFN/r (Fig.40), infiriéndose que

cuando ambos valores se incrementan y se aproximan, existiría un incremento de la capacidad de rotación y que esta se efectúa en amplios rangos. En oposición, decrece fuertemente el valor en el SMV L3, mientras que se incrementa el valor de M (Fig. 40), lo cual indicaría que el músculo rota la articulación en estrechos rangos, pero con elevadas $F_{m\acute{a}x}$ y PCSA aplicada a evitar la rotación excesiva. Los valores de estos parámetros coinciden con características anatómicas orientadas a la inmovilidad de la región, para mantener la cohesión durante el impulso del miembro pelviano, manifestado por los elevados registros de extensión y flexión en la región lumbosacra y SMV T18-L1. Estos datos coinciden con la elevada $V_{m\acute{a}x}$ de los músculos en T17 y su valor decreciente en L3 en este parámetro. En el SMV T12 existen elevados valores de PCSA, $F_{m\acute{a}x}$ y baja $V_{m\acute{a}x}$; a su vez coincide con elevados valores de M sobre todo en 3MT12 y elevados valores de AA de fibras de tipo I y bajos valores de LFN/r (Fig. 40). Todos estos parámetros indican que el músculo 3MT12 estaría diseñado para ejercer rotación sobre el SMV con elevada capacidad para evitar el movimiento del mismo, pero con estrechos rangos (acción antigravitatorio) ante la acción de desplazamiento lateral ejercida por el músculo longísimus. También se observa un acercamiento del ángulo de inserción en el proceso espinoso a los 90° incrementando su eficiencia de acuerdo con *Slijper (1946)*. Tiene características funcionales similares al SMV L3. Con respecto al 7MT4, los elevados valores de LFN/r, $V_{m\acute{a}x}$, y LFN, junto a un intermedio valor de M y bajo valor de $F_{m\acute{a}x}$ (Tablas, 13, 15, 17. 19. Fig 39) permiten documentar su acción dinámica sobre el SMV T4 mencionada en párrafos anteriores.

La fundamentación biofísica de los conceptos estructurales y funcionales de los músculos R y multífidos mencionados hasta aquí, están en concordancia con las documentaciones de *Moseley y col. (2002)* y *Denoix (1999)*. Con respecto a la estructura y a la mecánica de acción de los músculos R y multífidos, *Moseley y col. (2002)*, documentan en estudios hechos en el ser humano que su estructura polimetamérica, presenta una inervación cronológicamente diferente y no tiene una acción uniforme en todas las metámeras. Si aplicamos estos estudios al equino, los fascículos más cortos y profundos, R largos, recibirían un estímulo nervioso cronológicamente anterior al resto de las fascículos provenientes de las metámeras más caudales; en base a esta documentación electromiográfica, y a las disposición de los fascículos del m. R, los cuales unen la lámina del arco vertebral y la parte más ventral del proceso espinoso en el caso de los R, y hallándose cercanos al centro de rotación de la vértebra (Fig. 4b) *Denoix (1999)*, actuarían por compresión del cuerpo vertebral, con un momento de

palanca pequeño, variando poco su longitud, con mínimo torque de movimiento, evitando la rotación del SMV en sus tres ejes (rotación en el eje transversal, vertical y axial). Con respecto a la ubicación del centro de rotación (CR) de la vértebra, ubicado según *Denoix (1999)* muy cerca del centro del cuerpo de la vértebra, y desplazándose hacia dorsal durante la extensión y hacia craneal y ventral durante la flexión, el músculo R se encuentra por sus inserciones (Fig 4a) muy próximo al mismo. En cambio, los fascículos polimetaméricos, extienden sus inserciones entre procesos mamilares o transversos caudalmente, mientras que hacia craneal, se insertan en un nivel creciente hacia dorsal en el proceso espinoso: cuantas más metámeras se extiende el multífido, más dorsalmente se inserta en el proceso espinoso (Fig. 2 y 3), incrementando entonces su brazo de palanca. Este incremento del brazo de palanca le permite a estos fascículos polimetaméricos más superficiales, ejercer una acción agonista con el m. erector espinal en la extensión de la columna (rotación en el eje transversal) y actuar como estabilizadores globales dinámicos. Resumiendo estos conceptos de *Moseley y col. (2002)*, el m. multífido tendría una activación disociada: los fascículos cortos profundos del m. multífido (m. rotador) serían coactivados anticipatoriamente (con respecto a los fascículos más largos, polimetaméricos del músculo multífido) junto con los músculos abdominales, permitiendo así que su acción estabilizadora del SMV se anticipe a los momentos de flexión lateral (rotación sobre el eje vertical) y a la rotación axial, creada por la musculatura abdominal. Sin embargo, *Hyytiäinen y col. (2014)* ponen en duda que la documentación de *Moseley y col (2002)* pueda asimilarse en el equino. Los resultados de esta investigación disienten con *Hyytiäinen y col. (2014)* ya que no realizan un estudio estructural, sino bioquímico de los músculos multífidos. En esta línea los resultados obtenidos en esta tesis permiten acordar parcialmente con *Moseley y col. (2002)*, ya que, con lo analizado en párrafos anteriores, las características funcionales y estructurales de los músculos (Tabla 13), y en consecuencia probablemente la cronología de su inervación, parecen depender más del SMV considerado que de la longitud del músculo de acuerdo a las metámeras que atraviesa, existiendo en algunos músculos una probable acción dual antigravitatoria y de acortamiento, por ejemplo en los m. 4MT17 y 7MT4. Al decir que se coincide parcialmente con *Moseley y col. (2002)* el autor de esta investigación se refiere a que al observar los valores de PCSA, Fmáx y Vmáx existen diferencias entre los músculos 3M y 4M, principalmente en los SMV T12 y T17, siendo más estrechas en el SMVT9. Estas observaciones junto con las consideraciones hechas en la región interescapular,

focalizada de este estudio en el SMV T4, permiten evidenciar que la especificidad de la innervación y función seguramente son más complejas que las descritas por *Moseley y col. (2002)*.

Teniendo en cuenta las características bioquímicas de las fibras musculares, se ha tipificado las mismas como tipo I, IIA y IIX, en acuerdo con *Eizema y col. (2003)* y *Rivero y col. (1996)* para el músculo esquelético del equino y con *Hyytiäinen y col. (2014)*, específicamente para los músculos multífidos tóracolumbares. *Hyytiäinen y col.* expresan los valores cuantitativos en porcentajes, por lo cual los datos obtenidos no son comparables, ya que en esta tesis se cuantifica la composición de fibras en términos de AR, a la que se considera como una valoración más exacta ya que representa una expresión del número de fibras y del AA de las mismas. Al respecto, al observar la tabla 6 podemos ver como en los músculos marcados con un asterisco difieren considerablemente los valores de AR y porcentaje. En el presente estudio no existieron diferencias significativas en los valores de AR entre los tipos de fibras I, IIA y IIX (Tabla 6). La única diferencia significativa encontrada fue el incremento del AR de las fibras de tipo I en el SMV T4 (Tabla 7). De acuerdo con *Eng y col. (2008)* esto no invalida la función agonista propuesta para los fascículos largos insertados en el SMV T4, ya que un músculo estructuralmente rápido no tiene que ser necesariamente rápido bioquímicamente. Además las fibras de tipo I son más eficientes en cuanto a la utilización de energía durante la generación de fuerza isométrica y el acortamiento mediante velocidades lentas *Bottinelli y Reggiani, (2000)*. Las observaciones y hallazgos de la investigación en esta tesis, permiten disentir con *Hyytiäinen y col. (2014)* en que considera a los músculos antigravitatorios solo a aquellos que tienen prácticamente en su totalidad fibras de tipo I, cuando otros autores como *Hermansson y Hurley (1990)* y *Hermanson (1997)* adjudican funciones de sostén a músculos o compartimientos neuromusculares que contienen un mínimo de 30% de fibras de tipo I. Al analizar el trabajo de *Hyytiäinen y col. (2014)* se observa que los sitios de muestreo no se corresponden con los del presente trabajo (en realidad este autor no los aclara). Sin embargo se puede comparar sus resultados en los músculos SCDme y SCDla y en ellos obtenemos resultados relativamente similares, tanto en la composición de fibras como en la interpretación funcional, antigravitatoria y sostén para el SCDme; es así que se adjudica una acción dual al SCDla, ya que puede existir además de la función de sostén, una intervención del músculo en la extensión sacroilíaca al interpretar las características de su estructura, no considerada por *Hyytiäinen y col. (2014)*.

Datos interesantes se observan en los valores medios por músculo del AA de las fibras musculares. En la tabla 9, se muestra como el valor de AA para las fibras IIA de los músculos estudiados son muy superiores con respecto al músculo GM el cual fue tomado como patrón de medición. La muestra de este músculo fue tomada profundamente, adyacente al plano óseo, para que tenga valor comparativo con los músculos multífidos, los cuales son músculos bien profundos, ya que la CSA de las fibras musculares varían de acuerdo a la situación con respecto al esqueleto, existiendo un incremento del AA de las fibras rápidas oxidativas en compartimientos musculares de acción de sostén *Hermanson, (1997)* y un incremento del AA de las fibras oxidativas ubicadas próximas al esqueleto y del AA de las fibras IIX en aquellas ubicadas superficialmente *Rivero y col., (1993); Hermanson, (1997)*. De acuerdo a lo observado en la figura 18, donde se comparan los valores medios de AA de los tipos de fibras en la totalidad de las muestras estudiadas, los valores se ordenan: tipo I > tipo IIA = tipo IIX. Este ordenamiento del AA es inverso a otros músculos estudiados, como el GM donde *Rivero y col. (1993a y b)* documentan diferencias significativas en la CSA donde $IIX > IIA > I$, existiendo algunas particularidades según la profundidad del sitio de obtención de la muestra. Cuando se analizan simultáneamente las tablas 9 y 10 que ordenan significativamente los valores de AA de las fibras IIA y IIX puede verse que, en algunos músculos, es mayor el valor del AA de las fibras IIA. Este hallazgo, evidencia la aptitud general de estos músculos segmentarios profundos para el desarrollo de fuerza isométrica incrementando el Mm y evitando excesos en la rotación del SMV, de acuerdo con el documentado por *Eng y col. (2008)* en el músculo de rata. Otra particularidad es el valor similar del AA de las fibras IIA y IIX en los músculos rotadores. Una característica es el decrecimiento de los valores de AA en el músculo 4MT17, lo cual está indicando que el incremento de su masa, que le otorga importantes valores de Fmáx, el músculo lo ha realizado incrementando el número de fibras y adicionando sarcómeros en paralelo *Barone, (1989); Roy y col., (1984); Roy y Ishihara, (1997)* insertadas en un ángulo de pinación de 30°, y aumentando la LFN, teniendo también en consecuencia altos valores de Vmáx (Tablas 17, 19, 21 y 25) indicando la capacidad de acortamiento de este músculo, mencionada cuando se analizaron los parámetros funcionales en párrafos anteriores.

En la determinación de la Vmáx en cada músculo estudiado se ha adoptado los valores de Vmáx de cada tipo de fibra documentados por *Rome y col. (1990)* a 15°C, determinados en el m. sóleo de equino; probablemente estos valores se incrementen a la

temperatura normal del equino, tal cual es calculado deductivamente por *Payne y col. (2005b)*. Además, en los resultados de esta tesis al determinar la $V_{m\acute{a}x}$, se tiene en cuenta el aporte de cada tipo de fibra a la velocidad de contracción, considerando las áreas relativas (AR) de cada tipo de fibra (AR_{T1} , AR_{TIIA} y $ARTIIX$). Esta metodología difiere con la utilizada por *Payne y col. (2005a y b)* quienes asumen por convención que los músculos esqueléticos de equino constan principalmente de fibras de tipo IIA. Precisamente, por esto es que este es un punto muy débil de su metodología, ya que la composición por tipo de fibras varía en cada músculo, y aún dentro de un mismo músculo cuando se consideran compartimientos neuromusculares en cada músculo *Hermanson, (1997); Graziotti y col. (2012)*. Además cuando se considera el AR se obtiene un dato más fehaciente de la cualidad morfo fisiológica del músculo que cuando se considera el porcentaje del número de fibras por tipo (Tabla 6); esto cobra mayor importancia en los músculos analizados en este proyecto, en los cuales el AA de las fibras de tipo I no tiene diferencia significativa con las fibras rápidas, o aún es más grande significativamente, contrariamente a lo que ocurre en otros músculos esqueléticos del equino como el glúteo medio *Rivero y col., (1993b); Rivero (2007)*.

Interesantemente, *Clayton y col. (2012)* documentan que existe una diferencia funcional entre los lados derecho e izquierdo, según predomine el movimiento intervertebral en L3-L5 o el movimiento intervertebral en la última articulación lumbar y en la articulación lumbosacra respectivamente. Estas diferencias probablemente respondan a un patrón neuromuscular con preferencia de movilidad hacia el lado izquierdo o derecho según los individuos. Variaciones similares en la actividad de la columna según se considere el lado derecho o el izquierdo, han sido mencionadas por *Groesel y col. (2010)* y *Licka y col. (2009)* al evaluar la actividad del m. longissimus dorsi, sin una fundamentación clara. En el planeamiento de esta tesis, no se han tenido en cuenta estas diferencias, por estar poco fundamentadas y ser muy específicas.

En relación a la cantidad de animales utilizados para realizar esta investigación, se consideró que los caballos de raza silla argentino, de edades y condiciones de trabajo similares, fueron un número adecuado fundamentando este concepto en otras documentaciones que utilizan la misma metodología y teniendo en cuenta la tendencia global de utilizar la menor cantidad de muestras posibles en trabajos con animales, y principalmente basados en la documentación de *Burkholder y col. (2004)* y *Eng y col. (2008)* quienes sostienen que las estructuras musculares se mantienen entre las especies, aún en aquellas que tienen muy distintos patrones de locomoción; *Lieber y Fridén*

(2000) documentan que la arquitectura de un músculo se conserva fuertemente entre individuos de la misma especie. Con la misma orientación, *Crook y col. (2008)* utilizan seis animales en estudios de arquitectura para comparar las razas (Quarter horse y Árabe) y concluyen que las diferencias genéticas (raza) se evidencian en la masa muscular, pero no en la arquitectura propiamente dicha. *Sharif y col. (2006)* documentan las características estructurales y funcionales de la musculatura del cuello del canino con un total de 6 animales, de razas indefinidas y de amplitud de talla, asumiendo que el diseño estructural es similar y comparable en distintas razas y tallas. En esta investigación doctoral no existieron diferencias en los entrenamientos, pues todos los animales provenían de establecimientos deportivos de salto de mediana performance, y de raza silla argentino. De acuerdo con *Crook y col. (2008)*, la metodología usada en este trabajo, similar a la de este autor, puede producir modificaciones en la masa muscular, longitud de fibras y ángulo de pinación, debido a retracciones posmortem, rigor mortis y deshidratación. En esta tesis, los valores de longitud de fibras fueron normalizadas a la longitud del sarcómero para evitar los errores por estiramiento o encogimiento del tejido. Finalmente se puede decir que la metodología utilizada en el presente estudio es fuertemente avalada por la documentación de *Lieber y Fridén (2000)* y validada por *Harrison y col. (2012)* quienes sostienen que los valores de $F_{m\acute{a}x}$ y $V_{m\acute{a}x}$ de un músculo son esenciales y complementan la información brindada por la electromiografía cuando se estudia la actividad muscular.

13- CONCLUSIONES O PRINCIPALES HALLAZGOS

- . El complejo de músculos multífidos en el caballo en la región tóracolumbar, es homogéneo desde el punto de vista inmunohistoquímico, con variaciones significativas en el diseño arquitectónico, de significación funcional.
- . Los músculos varían en su estructura en forma evidente de acuerdo a las características de movimiento en los distintos segmentos de movilidad vertebral, más que por el número de metámeras a través de las cuales se extiende el músculo multífido considerado.
- . En los SMV de mayor movilidad en la región tóracololumbar (T12 y T17), los músculos multífidos difieren con evidencia en su estructura y parámetros funcionales, lo cual indica la variación en la función de los multífidos aún en un mismo segmento.
- . Las características funcionales de los músculos en los SMV en la región tóracolumbar se definen con fuerte evidencia por la estructura del músculo. Las características bioquímicas (tipos de fibras) inciden escasamente en la determinación detallada de la función.
- . Las mayores diferencias estructurales se presentan en la masa muscular y la longitud de fibras, lo cual hace variar la fuerza máxima y la velocidad máxima, de acuerdo a las regiones y necesidades funcionales.
- . Los hallazgos estructurales en esta investigación indicarían que la cronología de la innervación y función, sería más compleja que lo indicado en la documentación previa, dependiendo del SMV y de la longitud del músculo considerado.
- . Al observar los valores de PCSA, Fmáx y Vmáx existen diferencias entre los músculos 3M y 4M, principalmente en los SMV T12 y T17, siendo más estrechas en el SMVT9. Estas observaciones junto con las consideraciones hechas en la región interescapular, focalizada en esta tesis en el SMV T4, permiten evidenciar que la especificidad de la innervación y función seguramente son más complejas que las propuestas por otros autores.
- . Los hallazgos de esta investigación confirman la existencia del músculo rotador largo en toda la región tóracolumbar.
- . En ningún caso estuvo presente el músculo rotador corto (rotador limitado a una metámera) en desacuerdo con la bibliografía previa.

- . Las características del músculo sacrocaudal dorsal lateral se corresponden bioquímicamente con un músculo longísimus; sumadas a sus características estructurales, probablemente indiquen que el músculo contribuya en su acción como extensor de la articulación sacroilíaca.
- . El AA de las fibras de tipo I es mayor que las de las fibras de tipo IIA y IIX.
- . El AA de las fibras de tipo IIA es, en varios de los músculos, igual o mayor que el AA de las fibras de tipo IIX.
- . El AA de las fibras IIA y IIX presentó diferencias significativas en los distintos músculos
- . El AR de las fibras no presentó diferencias significativas en los músculos estudiados.
- . El AR de las fibras de tipo I es mayor significativamente en el SMVT4 cuando se consideran todos los músculos que se insertan en cada SMV.
- . Los diseños arquitectónicos de los músculos estudiados coinciden con la necesidad de incrementar su capacidad de generación de fuerza mediante el aumento de masa muscular, principalmente por medio de un incremento en el número de fibras.
- . El incremento del AA de las fibras de tipo I y IIA también constituye un recurso adaptativo para incrementar la masa muscular y la capacidad de generar fuerza.
- . En los músculos R T4, 3M T4, 7M T4, SCDme y SCDla se observó que el aumento de la LFN también contribuye al incremento del Mm.
- . Los valores de AR de tipo I son coincidentes con la eficiencia química y mecánica en la generación de fuerza isométrica y en el acortamiento a velocidades lentas.
- . En la región interescapular se encontraron músculos multífidos que se extienden hasta 8 metámeras, los cuales a su vez poseen los valores de momento más elevados que en el resto de la columna, indicando una determinada capacidad de rotar el SMV, pudiendo actuar como agonistas del músculo espinal.
- . La existencia del músculo R en toda la columna toracolumbar y la polimetamería de los multífidos en la región interescapular, probablemente constituyan en esta especie, una regionalización muscular de carácter adaptativo.
- . Las características de diseño arquitectónico y bioquímicas de los músculos multífidos (ejemplificada en el músculo 4MT17) probablemente indiquen una acción dual, con un control neural muy específico durante su actividad como estabilizadores globales y dinámicos.
- . En resumen, los músculos R y multífidos constituyen fascículos musculares conectados por aponeurosis a lo largo de su longitud. Estos empaquetamientos

aponeuróticos favorecen la generación de fuerza isométrica, por dificultar el estiramiento y acortamiento de las fibras, lo cual nuevamente muestra que la arquitectura del músculo es más importante que las características bioquímicas de las fibras, en la asignación de la función muscular.

. Esta regionalización y polimetarización de la musculatura trasverso espinal profunda indica distinta función en cada SMV y probablemente constituya un mecanismo para que el sistema nervioso central module con precisión la acción muscular y los movimientos de la columna vertebral.

. Los conceptos precedentes se explican por la complejidad y heterogeneidad de la estructura de los músculos multifidos.

. La metodología utilizada y el número de individuos analizados en este estudio han sido claramente avalada por la documentación consultada.

14- MATERIAL PRODUCIDO DURANTE EL DESARROLLO DE LA TESIS

Durante el desarrollo de la tesis, se ha publicado distintos trabajos en Congresos y en revistas como:

1) *Structural and functional characteristics of the thoracolumbar multifidus muscle in horses*

Autores: J.A. García Liñeiro, G.H. Graziotti, J.M. Rodríguez Menéndez, C.M. Ríos, N.O. J Affricano and C.L. Victorica.
J. Anat. (2016) doi: 10.1111/joa.12564

2) *Segmentación funcional del musculo multifido toracolumbar del equino*

Autores: García Liñeiro C.A.; Graziotti G.H.; Ríos C.M.; Rodríguez Menéndez J.M.; Affricano N.O.; Victorica C.L. XXVII
Conferencias Internacionales de Veterinaria Equina
10 de julio de 2016
<http://www.fvet.uba.ar/equinos/30052016/4.pdf>

3) *Evidencias funcionales del control neural específico en el músculo multífido tóracolumbar del equino*

Autores: Graziotti, Guillermo; García Liñeiro, Alberto; Ríos, Clara; Rodríguez Menéndez, José; Affricano, Néstor
XVII Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2016.
Facultad de Ciencias Veterinarias. IV Jornada Latinoamericana
II Jornadas de Ciencia y Tecnología 2016.
Universidad Nacional de Rosario. Casilda 22 y 23 de septiembre de 2016
Archivo Digital: descarga y online ISBN 978-987-4055-04-0

15- BIBLIOGRAFÍA

- Barone, R. 1989. Anatomie Comparee des Mammiferes Domestiques. T. second. Artrologie et Miologie. 2nd. edición. Vigot. Paris.
- Bottinelli R y Reggiani C. 2000. Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity. Prog Biophys Mol Biol., 73: 195- 262.
- Brooke M M y Kaiser K K. 1970. Muscle fiber types: how many and what kind? Arch Neurol., 23:369-379.
- Burkholder TJ, Fingado B, Baron S, Lieber RL. 1994. Relationship between muscle fiber types, sizes, and muscle architectural properties in the mouse hindlimb. J Morphol., 221:177-190.
- Clayton HM, Townsend HGG. 1989. Kinematics of the cervical spine of the adult horse. Equine Vet. J., 21:189-192.
- Clayton HM, Kaiser LJ, Lavagnino M. 2010. Dynamic mobilization in cervical flexion: effects on intervertebral angulations. Equine Vet. J., Suppl 38:688-694.
- Clayton HM, Kaiser LJ, Lavagnino M, Stubbs N. 2012 Evaluation of intesegmental vertebral motion during performance of dynamic mobilization exercises in cervical lateral bending in horses. AJVR, 73:1-7.
- Crook TC, Cruickshank SE, McGowan CM, Stubbs N, Wakeling JM, Wilson AM, Payne RC. 2008. Comparative anatomy and muscle architecture of selected hind limb muscles in the Quarter Horse and Arab. J. Anat., 212:144-152.
- Delp S L, Suryanarayanan S, Murray W M, Uhler J, Triolo R J. 2001. Architecture of the rectus abdominis, quadratus lumborum, and erector spinae. J. of Biomech. 34: 371-375.
- Denoix JM. 1999. Spinal biomechanics and functional anatomy. The Vet. Clinics of North America, 15:1, 27-60
- Dubowitz V. 1985. Muscle Biopsy: a practical approach, 2nd ed. London: Bailliere Tindall.

- Eizema K, van den Burg M, Kiri A, Dingboom EG, van Oudheusden H, Godspnk G y Weijs WA. 2003. Differential expression of equine myosin heavy-chain mRNA and protein isoforms in a limb muscle. The J of Histochem. & Cytochem., 51:1207-1216.
- Eng CM, Smallwood LH, Rainiero MP, Lahey M, Ward SR, Lieber R. 2008. Scaling of muscle architecture and fiber types in the rat hindlimb. The J. of Exp. Biol., 211:2336-2345.
- Felder A, Ward SR, Lieber RL. 2005. Sarcomere length measurement permits high resolution normalization of muscle fiber length in architectural studies. The J. of Exp. Biol., 208:3275-3279.
- Gellman KS, Bertram JEA, Hermanson JW. 2002. Morphology, histochemistry and function of epiaxial cervical musculature in the horse (*Equus caballus*). J. of Morphol. 251:182-194.
- Grassé P. 1971: Traitée de Zoologie. Tome XVI. Masson, Paris.
- Graziotti GH, Palencia P, Delhon G. López Rivero JL. 2004. Neuromuscular partitioning. Architectural design and myosin fibre types of the m. vastus lateralis of the llama (*Lama glama*). J. of Morphol., 262: 667-681.
- Graziotti G, Chamizo V, Ríos C, Acevedo L, Rodríguez Menéndez J, Victorica C, Rivero JLL. 2012. Adaptive functional specialisation of architectural design and fibre type characteristics in agonist shoulder flexor muscles of the llama, *Lama glama*. J. of Anat., 221:151-163.
- Groesel M, Zsoldos RR, Kotschwar A, Gfoehler M, Peham C. 2010. A preliminary model study of the equine back including activity of longíissimus dorsi muscle. Equine Vet. J., 42: (Suppl 38) 401-406.
- Harrison SM, Whitton, RC, King M, Haussler KK, Kawcak CE, Stover SM, Pandy MG. 2012-Forelimb muscle activity during equine locomotion. The J of Exp Biol. 215:2980-2991.
- Haussler KK, Stover SM, Willits NH. 1997. Developmental variations in lumbosacral pelvic anatomy of Thoroughbred racehorses. AJVR, 58:1083.
- Haussler KK. 1999. Anatomy of the thoracolumbar vertebral region. The Vet. Clinics of North America, 15:1, 13-25.
- Hermanson JW y Hurley K. 1990. Architectural and histochemical analysis of the Biceps brachii muscle of the horse. Acta Anat. 137:146-156.

- Hermanson JW. 1997. Architecture and the division of labor in the extensor carpi radialis muscle of horse. *Acta Anat.*, 159:127-135.
- Higham TE, Biewener AA, Delp SL. 2011. Mechanics, modulation and modeling: how muscles actuate and control movement. *Phil. Trans. of R. Soc. B.*, 366:1463-1465.
- Higham TE, Biewener AA. 2011. Functional and architectural complexity within and between muscles: regional variation and intermuscular force transmission. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 366:1477-1487.
- Hudson PE, Corr SA, Payne-Davis, RC, Clancy SN, Lane E, Wilson AM. 2011a. Functional anatomy of the cheetah (*Acinonyx jubatus*) hindlimb. *J. Anat.*, 218: 363–374.
- Hudson PE, Corr SA, Payne-Davis RC, Clancy SN, Lane E, Wilson AM. 2011b. Functional anatomy of the cheetah (*Acinonyx jubatus*) forelimb. *J. Anat.*, 218: 375–385.
- Hyytiäinen HK, Mykkänen AK, Hielm-Björkman AK, Stubbs NC, McGowan CM. 2014. Muscle fibre type distribution of the thoracolumbar and hindlimb regions of horses: relating fibre type and functional role. *Acta Vet. Anat.*, 56:1-8
- Kaigle AM, Sten MS, Holm H, Hansson TH. 1995. Experimental instability in the lumbar spine. *Spine*, 20:421-430.
- Kearns CF, McKeever KH, Abe T. 2002. Overview of horse body composition and muscle architecture: implications for performance. *The Vet. J.*, 164:224-234.
- Kellis E, Galanis N, Kapetanios G, Natsis K. 2012. Architectural differences between the hamstring muscles. *J. of Electrom. and Kinesiol.*, 22:520–526.
- Ker RF, Wang XT, Pike AVL. 2000. Fatigue quality of mammalian tendons. *The J. of Exp. Biol.*, 203:1317-1327.
- Licka T, Frey A, Peham C. 2009. Electromyographic activity of the longissimus dorsi muscles in horses when walking on a treadmill. *The Vet. J.*, 180:71-76.
- Lieber, RL y Fridén J. 2000. Functional and clinical significance of skeletal muscle architecture. *Muscle & Nerve*, 23:1647-1666.
- Lieber RL y Ward SR . 2011. Skeletal muscle design to meet functional demande. *Phi. Trans. R. Soc.*, 366:1466-1476.
- Macintosh JE, Bogduk N (1986). The biomechanics of the lumbar multifidus. *Clin Biomech* 1, 206–213.

- Martin P. 1914. *Lerbuch der Anatomil der Haustiere*, II Band. Schickardt & Ebner. Stuttgart.
- Marx JO, Olsson MC, Larsson L. 2006. Scaling of skeletal muscle shortening velocity in mammals representing a 1000000-fold difference in body size. *Pflugers Arch-Eur J. Physiol.*, 452:222-230.
- Mc Gowan C, Stubbs N, Hodges P, Jeffcott L. 2007. Back pain in horses. Rural Industries Research and Development Corporation. Australian Government ISSN 1440-6845, 9-35.
- Meyer GA y Lieber RL. 2011. Elucidation of extracellular matriz mechanics from muscle fibers and fiber bundles. *J. of Biomech.* 44:771-773.
- Monti RJ, Roy RR, Edgerton VR. 2001. Role of motor unit structure in defining function. *Muscle & Nerve*, 24:848-866.
- Moseley GL, Hodges PW, Gandevia S. 2002. Deep and superficial fibers of the lumbar multifidus muscle are differentially active during voluntary arm movements. *Spine*, 27: E29-E36
- Nickel R, Schummer A, Wilkens H, Vollmerhaus B y Habermehl KH. 1985. *The Anatomy of the Domestic Animals. Volume 2.* Verlag Paul Parey. Berlin. Hamburg.
- Nwoye L, Mommaerts, WFHM, Simpson D R, Sreyderian K y Marusich M. 1982. Evidence for a direct action of thyroid hormone in specifying muscle properties. *Am. J. Physiol.*, 242:R401-R408.
- Panjabi, M.M. 1992. The stabilizing system of the spine. Part I. Function, dysfunction, adaptation, and enhancement. *J of Spinal Disorders & Techniques* 5:383-389.
- Payne RC, Hutchinson JR, Robilliard JJ, Smith NC, Wilson AM. 2005a. Functional specialization o pelvic limb anatomy in horses (*Equus caballus*). *J. Anat.*, 206:557-574.
- Payne RC, Veenmam P, Wilson AM. 2005b. The role of the extrinsic thoracic limb muscles in equine locomotion. *J. Anat.*, 206:193-204.
- Rietbroeck N, Dingboom EG, Schuurman SO, Hengeveld- van der Wiel E, Eizema K y Everts M E. 2007. Effect of exercise on development of capillary supply and oxidative capacity in skeletal muscle horses. *AJVR*, 68:1226-1231.
- Rivero JLL, Serrano AL, Diz AM, Morales JL. 1993a. Changes in cross-sectional area and capillary supply of the muscle fiber population in equine gluteus muscle as a function of sampling depth. *AJVR*, 54:32-37.

- Rivero JLL, Diz AM, Monterde JG y Agüera E. 1993b. Intramuscular distribution of fibre types in the gluteus medius of the horse: a histochemical analysis. *Anat. Hist. Embriol.*, 22:233-240.
- Rivero JLL, Taldmagne RJ, Edgerton R. 1996. Myosin heavy chain isoforms in adult equine skeletal muscle: an immunohistochemical and electrophoretic study. *Anat. Rec.*, 246:185-194.
- Rivero JLL. 2007. A scientific background for skeletal muscle conditioning in equine practice. *J. Vet. Med.*, A54:321-332.
- Robert C, Audigié F, Valette JP, Pourcelot P y Denoix JM. 2001. Effects on treadmill speed on the mechanics of the back in the trotting saddlehorse. *Equine Vet. J. Suppl.*, 33:154-159.
- Rome LC, Sosnicki AA, Goble DO. 1990. Maximum velocity of shortening of three fibre types from horse soleus muscle: implications for scaling with body size. *J. of Physiol.*, 431:173-185.
- Rooney JR. 1982. The horse's back: biomechanics of lameness. *Equine Pract.* 4:17-27
- Roy RR, Powell PL, Kanim P, Simpson DR. 1984. Architectural and histochemical analysis of the semitendinosus muscle in mice, rats, guinea pigs, and rabbits. *J. of Morphol.*, 181:155-160.
- Roy RR, Ishihara A. 1997. Overview: Functional implications of the design of skeletal muscles. *Acta Anat.*, 159:75-77.
- Schilling N. 2009. Metabolic profile of the perivertebral muscles in small therian mammals: implications for the evolution of the mammalian musculature. *Zool.*, 112:279-304
- Schilling, N and Carrier, DR. 2009. Function of the epaxial muscles during trotting. *The J. of Exp. Biol.*, 212: 1053-1063.
- Sharir A, Milgram J, Shahr R. 2006. Structural and functional anatomy of the neck musculature of the dog (*Canis familiaris*). *J. Anat.*, 208:331-351.
- Slijper EJ. 1946. Comparative biologic-anatomical investigations on the vertebral column and spinal musculature of mammals. Tesis doctoral. State University. Utrecht. Holland.
- Stubbs NC, Hodges PW, Jeffcott LB, Cowin G, Hodgson DR, McGowan CM. 2006. Functional anatomy of the caudal thoracolumbar and lumbosacral spine in the horse. *Equine Exercise Physiology 7. Equine Vet. J. Suppl.*, 36:393-399.

- Stubbs NC, Kaiser LJ, Hauptman J, Clyton HM. 2011. Dynamic mobilization exercises increase cross sectional area of musculus multifidus. *Equine Vet. J.*, 43(5):522-529.
- Thompson SM, Reilly P, Emery RJ, Bull AMJ. 2011. An anatomical description of the pinnation angles and central tendon angle of the supraspinatus both in its normal configuration and with full thickness tears. *J. Shoulder Elbow Surg.*, 20: 899-903.
- Townsend HGG y Leach DH. 1984. Relation between intervertebral joint morphology and mobility in the equine thoracolumbar spine. *Equine Vet. J.*, 16:461-465.
- Townsend HGG, Leach DH, Doige CE, Doige GE, Kirkaldy-Willis WH. 1986. Relationship between spinal biomechanics and pathological changes in the equine thoracolumbar spine. *Equine Vet J.*, 18:107-112.
- Valentine BA, Mc Donough SP, Chang YF, Vonderchek AJ. 2000. Polisaccharide storage myopathy in Morgan Arabian, and Standardbred related horses and Welsh cross ponies. *Vet. Pathol.* 37:193-196.
- Van Weeren PR. 2009. Kinematics of the equine back. *Equine back pathology diagnosis and treatment*, capítulo 5 Editor Henson FMD. Wiley- Blackwell, Singapur.
- Van Weeren PR, McGowan C, Haussler KK. 2010. Developmental of a structural and functional understanding of the equine back. *Equine Vet. J.*, 42:suppl. 38, 393-400.
- Williams SB, Wilson AM, Rhodes L, Andrews J, Payne RC. 2008. Functional anatomy and muscle moment arms of the pelvic limb of an elite sprinting athlete: the racing greyhound (*Canis familiaris*). *J. Anat.*, 213:361-372.
- Zsoldos RR, Kotschwar AB, Kotschwar A, Groesel M, Licua T, Peham C. 2010. Electromyography activity of the equine splenius muscle and neck kinematics during walk and trot on the treadmill. *Equine Vet. J.*, 42 (Suppl. 38) 455-461.

16- APÉNDICE

15. A Protocolos utilizados en este estudio

Soluciones de reserva

15. A.a Histoquímica

.- Buffer acético, utilizada en preincubación de mATPasa ácida: ácido acético glacial (Merck 63) 1,2 ml; Ácido de sodio (ICN 102591) 0,400 g; agua destilada (dH₂O) hasta 400 ml, pH 4,35.

.- Buffer de cloruro de calcio, utilizada en preincubación mATPasa básica: Cloruro de calcio dihidratado (Anedra 6456) 4,0 g; Azida de sodio 0,400 g; AMP (ICN 100627) 1,91 ml; dH₂O hasta 400 ml, pH 10,3.

.- Buffer AMP, utilizada en medio de incubación mATPasa ácida y básica: AMP 4,77 ml; Azida de sodio 0,500 g; dH₂O hasta 500 ml, pH 9,3.

.- Tris buffer utilizado en las reacciones de NADH- TR, SDH y α GPD: Tris (Merck 8382) 2,42 g; dH₂O 50 ml, ajustar a pH 7,4 con ClH 1N y llevar a 100 ml con dH₂O, reajustar pH y guardar en heladera.

15. A.b Inmunohistoquímica

.- Buffer fosfato salino (Buffer PBS): dH₂O 1000 ml; fosfato dibásico de sodio anhidro (Merck 1.06586) 1,48 g; fosfato monobásico de potasio anhidro (Anedra 7053) 0,43 g; Cloruro de sodio (Merck 1.06404) 7,20 g, ajustar a pH 7,2 y guardar en heladera.

.- Solución de cloruro de sodio: cloruro de sodio 8,5 g; dH₂O 1000 ml.

.- Ácido clorhídrico 1N: ácido clorhídrico (Panreac 011610) 42 ml; dH₂O 458 ml.

.- Solución buffer <triz madre: dH₂O 500 ml; trizma base (Sigma t- 1503) 60,57 g; Clorhídrico 1N 350 ml. Ajustar a pH 7,6 con ClH 1N.

.- Solución de buffer triz de trabajo: Cloruro de sodio 0,85 % 900 ml; buffer triz madre 100 ml.

mATPasa ácida

Medio de pre incubación: ClK (Merck 4936) 0,250 g; 25 ml buffer de ácido acético.

Tiempo: 2 minutos. Temperatura 22-23° C. Medio de incubación: sal disódica ATP (Sigma A-3377) 0.030 g; cloruro de calcio anhidro (Panreac 141219) 0,05 g; buffer AMP 25 ml, pH 9,3. Tiempo: 30 minutos a 37° C.

mATPasa básica

Medio de preincubación: Buffer de cloruro de calcio 25 ml. Tiempo 10 minutos.

Temperatura: 22-23° C. Medio de incubación: Cloruro de calcio anhidro 0,25 g; sal disódica ATP 0,03 g; AMP buffer 25 ml, pH 9,75.

.- Solución indicadora: cloruro de cobalto 0.400 g (ICN 195107); 20 ml dH₂O. Tiempo 10 minutos (Paso común a mATPasa ácida y básica).

.- Solución Sulfuro de amonio (Merck 5442) 200 μ l en 19,8 ml dH₂O. Tiempo 30 segundos (Paso común a mATPasa ácida y básica).

La enzima mATPasa, localizada en la región de la cabeza de la cadena de miosina, Cataliza la liberación del fosfato terminal del ATP. La presencia de calcio en la solución de incubación, determina la formación de fosfato de calcio, sal insoluble que determina su precipitación en el lugar de la reacción. El tejido es luego colocado en una solución de cloruro de cobalto, siendo entonces el cobalto intercambiado por el calcio, formándose fosfato de cobalto en los sitios de actividad enzimática, donde previamente

se había formado fosfato de calcio. Luego el tejido es puesto en presencia de sulfuro de amonio, formándose sulfato de cobalto insoluble, de color negro, que permite identificar de acuerdo a un gradiente de tonos grises, la actividad de la enzima mATPasa en cada fibra.

NADH-TR

Incubar las muestras a 37° C durante 45 minutos en: Tris buffer pH 7,4 10 ml; NADHTR

(Sigma N- 8129) 8 mg; NBT (Sigma N- 6876) 10 mg. Extraer en soluciones acuosas de Acetona (Panreac 141007) 30 %, 60 %, 90 %, 60 % y 30 % en este orden, durante 10 minutos en cada una. Lavar con dH₂O.

La evaluación de la actividad de esta enzima permite determinar cuali y semicuantitativamente la capacidad oxidativa de los tipos de fibras musculares. La enzima NADH-TR es un reflejo del grado de utilización de los intermediarios metabólicos del ciclo de Krebs y rutas relacionadas.

El principio de esta técnica consiste en emplear un colorante soluble, sal de tetrazolium (NBT), el cual intercepta el pasaje de electrones en la cadena respiratoria y se precipita en el lugar de la reacción, las membranas mitocondriales.

α -GPD

Incubar 60 minutos a 37° C en Tris buffer pH 7,4 10 ml; Menadiona (Sigma M 5625) 2 mg disueltos en 1 ml de acetona; NBT (Sigma N 6876) 10 mg; α GPD (Sigma G- 2138) 30 mg.

Esta enzima cataliza la reacción glycerol-3 fosfato + aceptor, y cuando la menadiona es utilizado como aceptor de hidrógeno, indica la actividad de esta enzima de localización mitocondrial como indicadora de la capacidad glicolítica de esta enzima.

15. A.c Protocolo de inmunohistoquímica (Complejo Avidina- biotina peroxidasa), utilizado en este estudio

1) Secado de los cortes a temperatura ambiente durante 20 minutos; 2) rehidratación con PBS buffer a temperatura ambiente 10 minutos; 3) Phenilhydrazine (Sigma P-6766) 0,005 % en PBS buffer a temperatura ambiente 40 minutos; 4) lavado en PBS, 3 veces en 10 minutos; 5) aplicación de la solución de bloqueo (suero normal de cabra, Vector-s 1000) al 10 % en PBS, en cámara húmeda 30 minutos a temperatura ambiente; 6) evacuación de la solución de bloqueo e inmediata aplicación del anticuerpo primario, en cámara húmeda, llevando a 4° C durante 18 hs; 7) lavado en PBS, 3 veces en 10 minutos; 8) aplicación del anticuerpo secundario biotinilado (Dako E- 0354) en PBS buffer, en cámara húmeda 30 minutos a temperatura ambiente; 9) lavado en PBS, 3 veces en 5 minutos; 10) aplicar el complejo ABC (Vector PK-6100) a temperatura ambiente en cámara húmeda 60 minutos; 11) lavado en Triz solución de trabajo 2 veces en 5 minutos; 12) desarrollar la reacción en solución de diaminobenzidine (Sigma D-5637) 100 ml a la que se agrega 1 ml de agua oxigenada de 30 vol. (Merck 240) diluida al 10 % durante 3 minutos; 13) interrumpir la reacción aplicando solución Triz de trabajo y agua corriente; 14) deshidratar con etanol al 100 % 2 veces; 15) llevar al xylol 2 veces en 2 minutos.

17- FIGURAS Y SUS REFERENCIAS

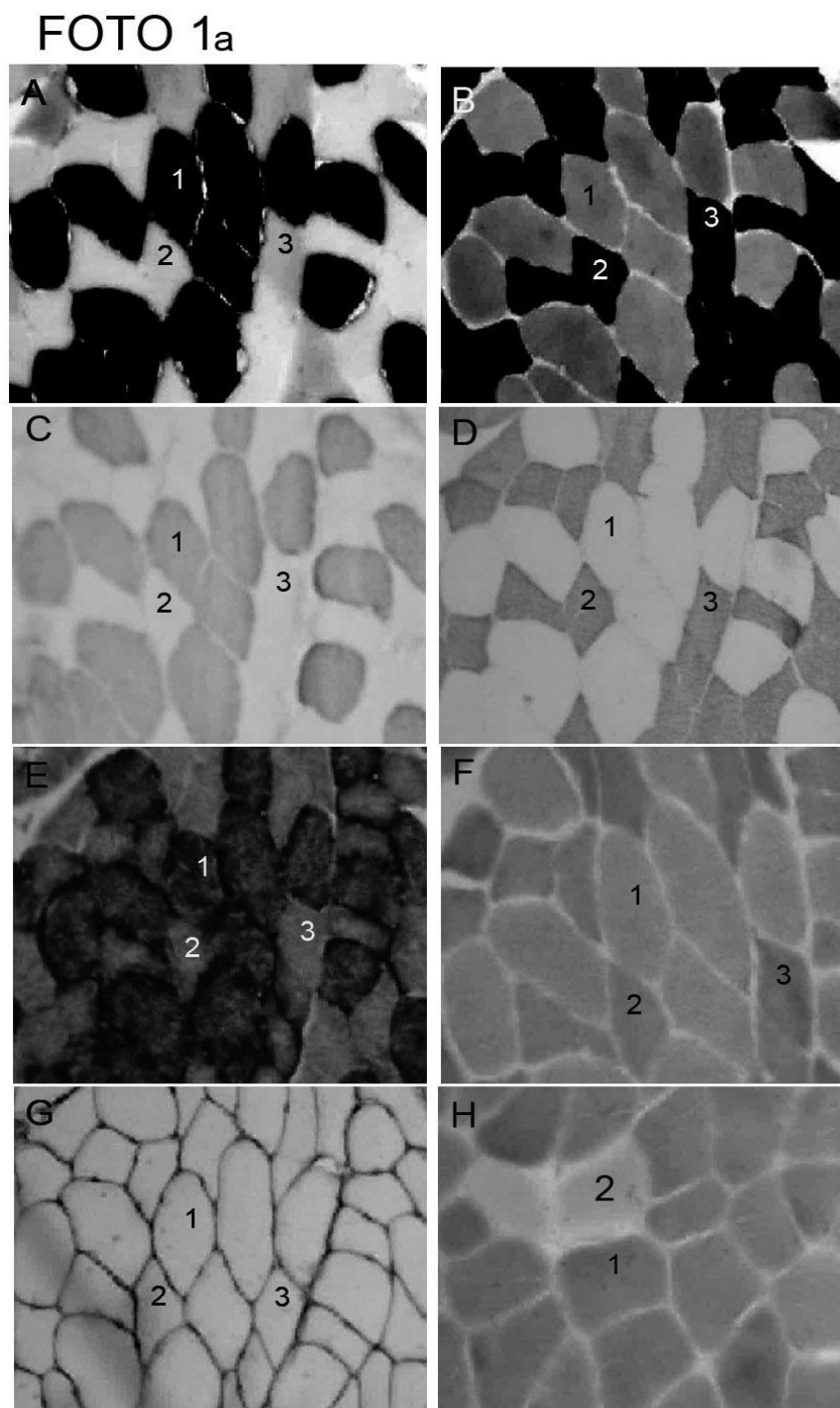


FIGURA 1A:

Cortes seriados del músculo multífido trimetamérico de equino: A, B, C, D, E, F y G corresponden a reacciones de mATPasa (pH 4,23), mATPasa (pH 10,3), AcMo BAF8, A.474 (1:10), NADH, α GPD y tinción de capilares (Lectina 1:30); H corresponde a un corte del músculo glúteo medio (mATPasa, pH 4,23) utilizado para comparar el área de sección transversa de las fibras de tipo I. Las fibras de tipo I, IIA y IIX están indicadas como 1, 2 y 3 respectivamente.

Figura 1b

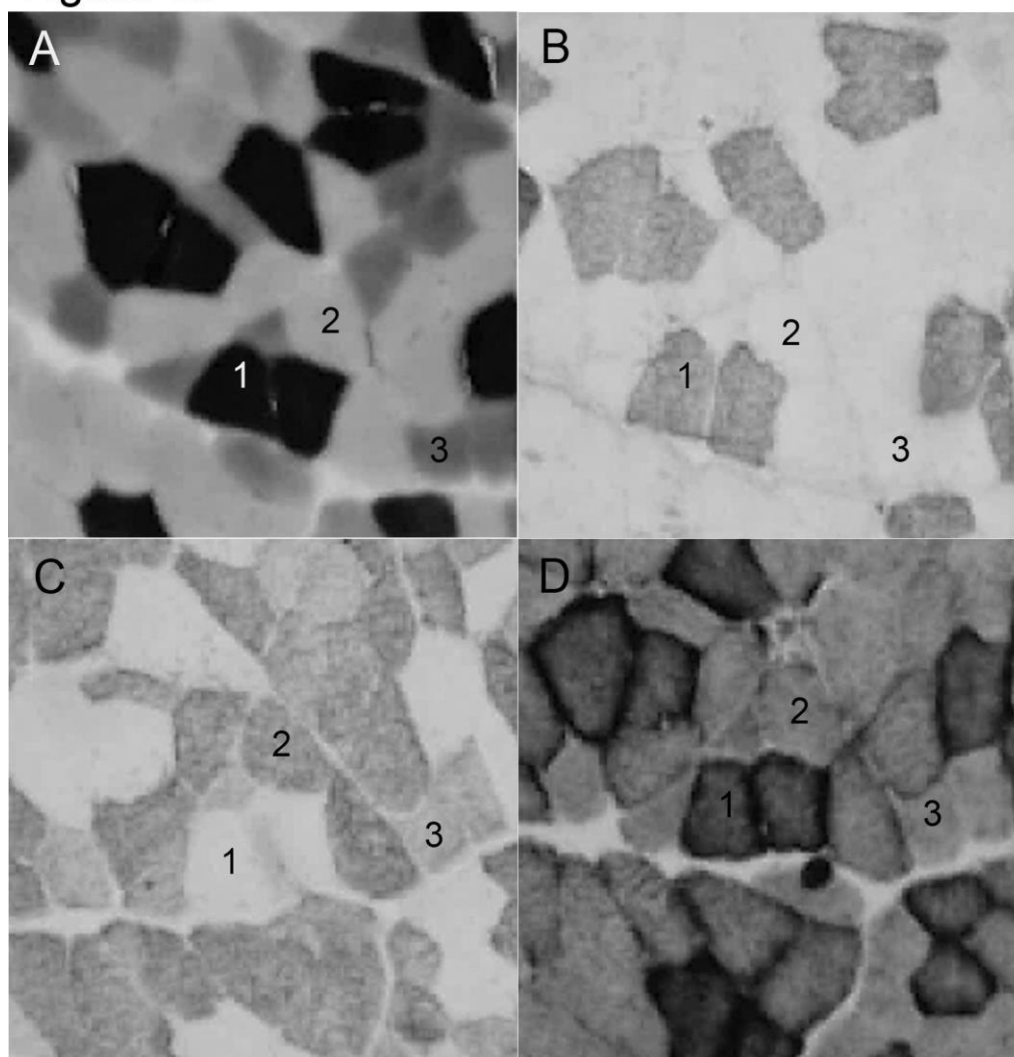


FIGURA 1B:

Cortes seriados del músculo rotador insertado en T17 teñidos por las reacciones de mATPasa luego de preincubación a pH 4,3 (A), NADH-TR (D) e inmunohistoquímica con los AcMos F-8 (B) y A4.74 (C). Las fibras etiquetadas como 1, 2, 3 contienen miosina de cadena pesada I, IIA y IIX respectivamente

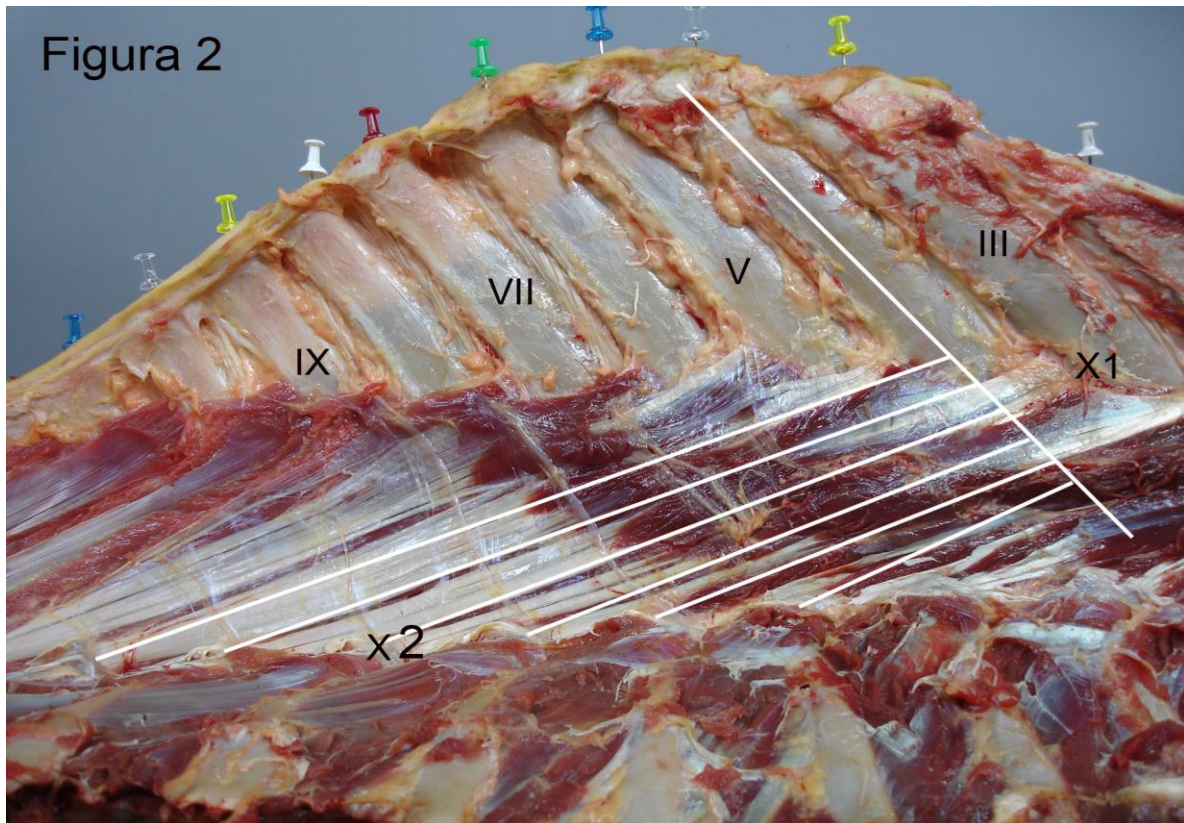


FIGURA 2:

Diseción de músculos multifidos; en números romanos se indica el proceso espinoso de la vértebra torácica correspondiente; X1 y X2 indican las inserciones del multifido 7M, con inserciones en el proceso espinoso de T3 y el proceso transverso de T10. Las líneas blancas trazadas indican el eje del proceso espinoso y las líneas de inserción para tomar los ángulos de inserción. Valores mostrados en Fig. 5.

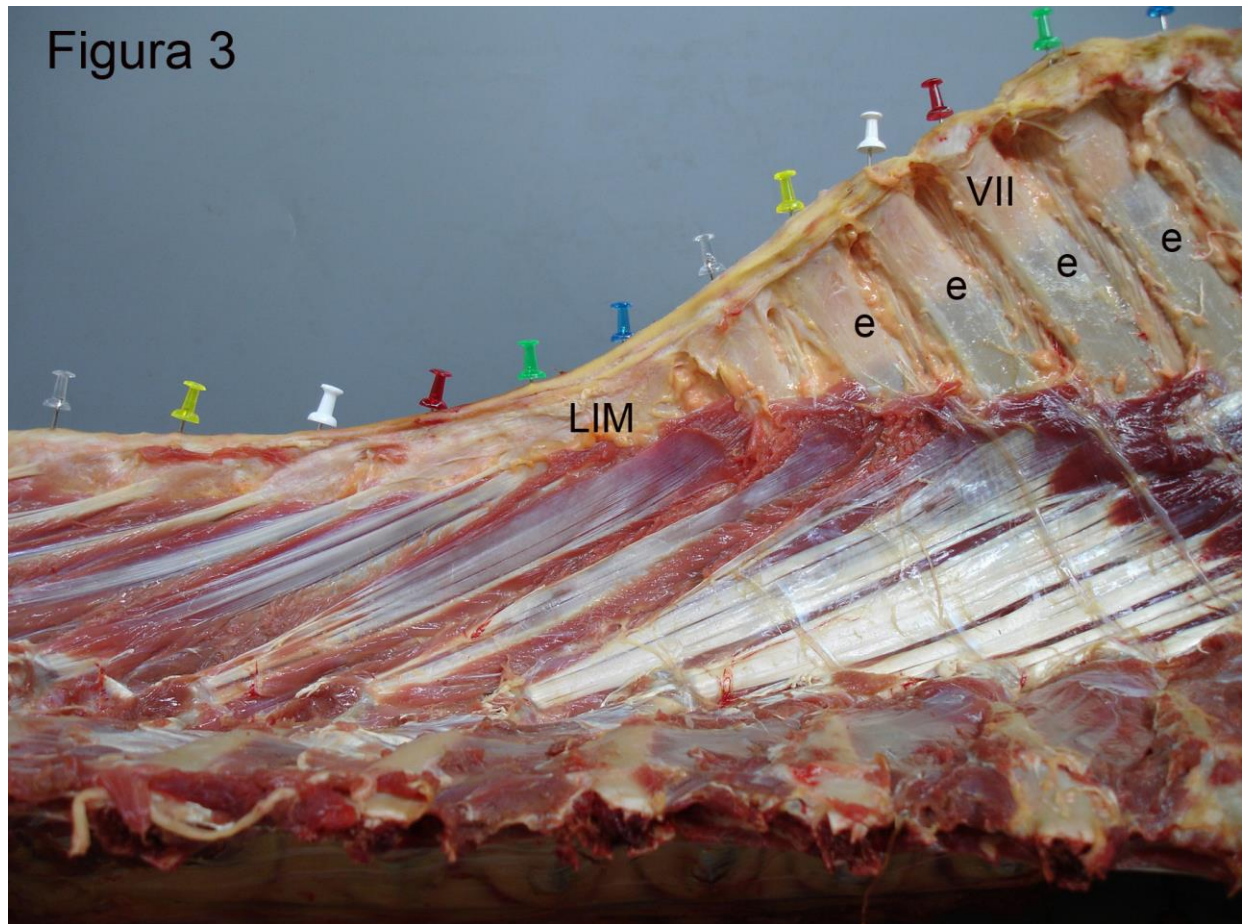


FIGURA 3:

Línea de inserción de los músculos multífidos (LIM), la cual es constante, independientemente de la longitud de los procesos espinosos (e).

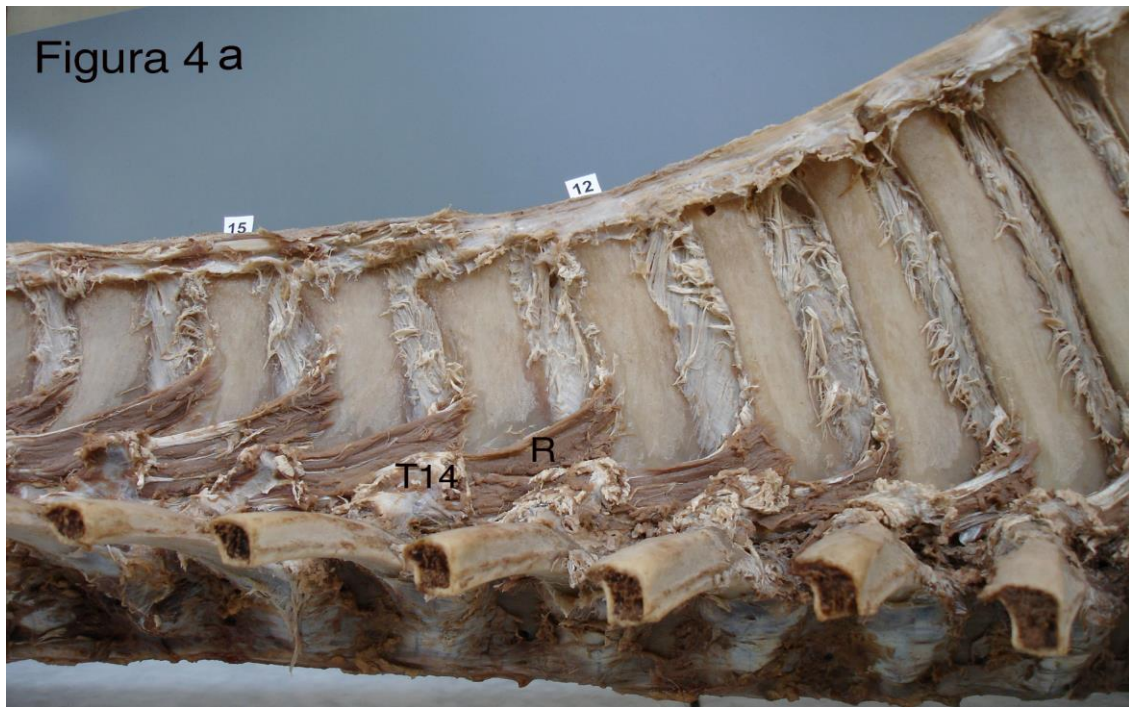


FIGURA 4A:

Discción entre T9 y T16; R, músculo rotador largo con inserciones en proceso transverso de T14 y el proceso espinoso de T12.

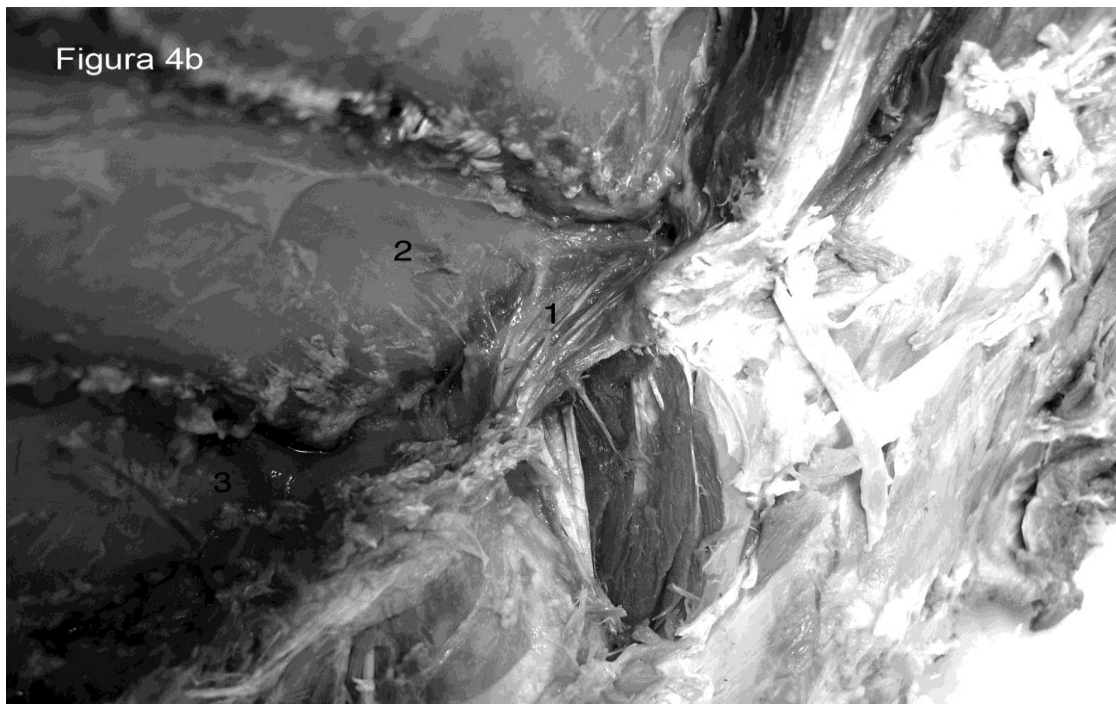


FIGURA 4B:

Discción de un músculo rotador corto, encontrado excepcionalmente en un individuo, del lado derecho en el SMV T3-T4: 1, m. rotador corto, 2 y 3 bases de los procesos espinosos que integran el SMV mencionado.

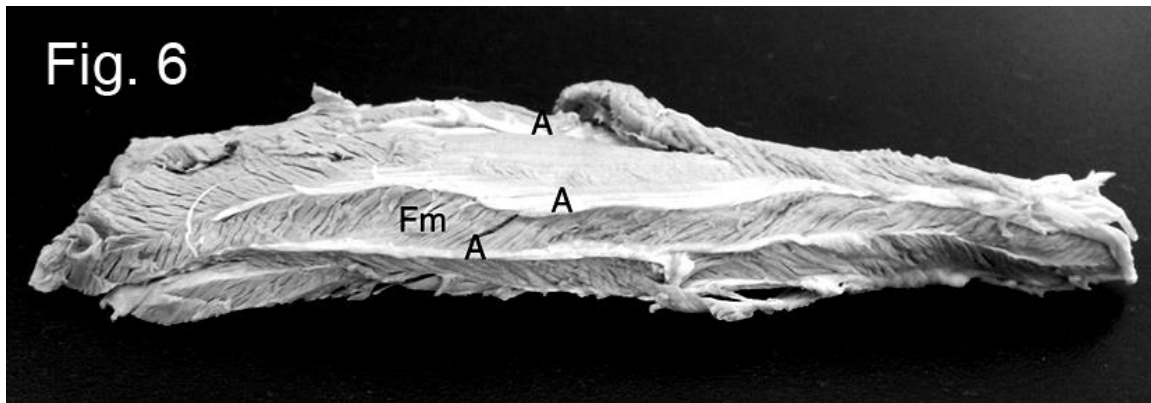


FIGURA 6:

Estructura de un músculo multífido, luego del tratamiento de la pieza con ácido nítrico: A, hojas de aponeurosis que sirven de inserción a las fibras musculares, Fm.

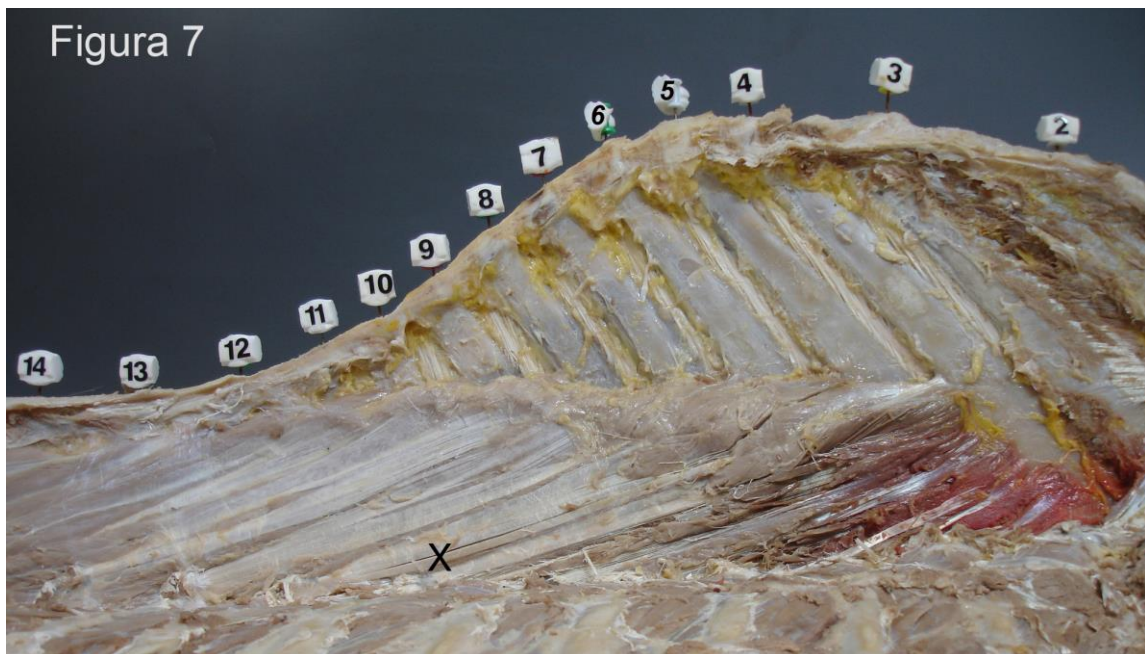


FIGURA 7:

Músculos multífidos de equino después de remover el músculo erector espinal. El foco está hecho en los fascículos multífidos 2M a 8M insertados en T4. La letra X indica el proceso transverso de la vértebra T12. Las áreas descubiertas en los procesos espinosos T2 - T10 indican la inserción del músculo espinal. Los marcadores ubicados en el ápex de los procesos espinosos indican la vértebra correspondiente.



FIGURA 8:

Disección de la región lumbosacra indicando 1 y 2 a los mm. SCDla y SCDme respectivamente. Este último se inserta en la primera vértebra sacra, sin cruzar el espacio lumbosacro (3); 4, ala del sacro. Los marcadores del 1-5 indican los procesos espinosos sacros (Animal con 5 vértebras lumbares).