



VNIVERSITAT D VALÈNCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

Recuperación muscular mediante la técnica fisioterápica del rodillo de espuma (Foam Roller)

Programa de Doctorado en Fisiología

Carlos Manuel Colmena Zaragoza

Dirigida por:

Dra. Soraya Vallés Martí

Valencia: 30 Septiembre 2020

TESIS DOCTORAL

**RECUPERACIÓN MUSCULAR
MEDIANTE LA TÉCNICA
FISIOTERÁPICA DEL RODILLO
DE ESPUMA (FOAM ROLLER)**

***Programa de Doctorado en Fisiología
Carlos Manuel Colmena Zaragoza***

Dirigida por:

Dra. Soraya Vallés Martí

TRIBUNAL:

Dr. ANTONIO IRADI CASAL

Dra. VICTORIA VALLS BELLÉS

Dr. JAVIER PUERTAS CUESTA

Valencia: 30 Septiembre 2020



VNIVERSITAT E VALÈNCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

Dra. Soraya Vallés Martí, profesora Titular del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia.

CERTIFICA:

Que **D. Carlos Colmena Zaragoza**, con DNI: **22590865N**, ha realizado bajo mi dirección la presente **TESIS DOCTORAL**, titulada:

“Recuperación muscular mediante la técnica fisioterápica del rodillo de espuma (Foam Roller)”

Para la obtención del título de Doctor y para que coste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación.

Valencia, 20 de abril de 2020

Dra. Soraya Vallés Martí

D.N.I. 43008486G

AGRADECIMIENTOS

A mis abuelos, eternos. A mis padres y hermano, por el apoyo incondicional. A Lara, por la paciencia infinita. Y, por supuesto, a la doctora Dña. Soraya Vallés, sin la que este trabajo no podría haber existido.

Mil gracias.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO	4
1.2 ORGANIZACIÓN DEL MUSCULO ESTRIADO.....	7
1.3 CONTRACCIONES MUSCULARES.....	8
1.4 MUSCULO ESTRIADO Y SU CONTRACCIÓN.....	9
1.5 TIPOS DE CONTRACCIONES MUSCULARES.....	11
1.5.1 CONTRACCIONES HETEROMÉTRICAS O INOTÓNICAS.....	11
1.5.1.1. Contracciones heterométricas concéntricas.....	12
1.5.1.2. Contracciones heterométricas excéntricas	13
1.5.2. CONTRACCIONES ISOMÉTRICAS.....	14
1.5.3. CONTRACCIONES AUXOTÓNICAS.....	14
1.5.4. CONTRACCIONES ISOCINÉTICAS	15
1.6. LESIONES DEL TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO (NOTEXINA).....	15
1.6.1. CLASIFICACIÓN SEGÚN MECANISMO ASOCIADO	19
1.6.1.1. Lesiones musculares directas.....	20
1.6.1.1.1. <i>Contusión muscular</i>	20
1.6.1.1.2. <i>Laceración muscular</i>	21
1.6.1.2. Lesiones musculares indirectas	22
1.6.1.2.1. <i>Lesiones por elongación</i>	22
1.6.1.2.2. <i>Lesiones musculares estructurales</i>	23
1.6.2. CLASIFICACIÓN SEGÚN DIAGNÓSTICO POR IMAGEN	23
1.6.2.1. Distensión muscular, grado I.....	23
1.6.2.2. Desgarro parcial, grado II.....	24
1.6.2.3. Desgarro completo, grado III.....	26
1.6.3. EL HEMATOMA	26
1.6.4. DOLOR MUSCULAR DE PRESENTACIÓN TARDÍA (DOMS)	28
1.6.5. SÍNDROME COMPARTIMENTAL	29
1.7. EVOLUCIÓN Y RECUPERACIÓN DE LAS LESIONES.....	29
1.7.1. LA CICATRIZ FIBROSA.....	29
1.7.2. MIOSITIS OSIFICANTE	30
1.7.3. HERNIACIÓN MUSCULAR.....	32
1.8. PROCESO INFLAMATORIO POST-LESIÓN.....	32

1.8.1.	DAÑO VASCULAR	33
1.8.2.	DAÑO MUSCULAR SECUNDARIO	36
1.9.	RESOLUCIÓN DE LA LESIÓN MUSCULAR	37
1.9.1.	FIBROLISIS MUSCULAR.....	39
1.10.	TERAPIAS DE RECUPERACIÓN DE LA LESIÓN.....	43
1.10.1.	TERAPIA TRADICIONAL.....	43
1.10.2.	USO DE ANTIOXIDANTES.....	44
1.10.3.	USO DE FACTORES DE CRECIMIENTO HUMANO	44
1.10.4.	DROGAS ANTI-INFLAMATORIAS NO ESTEROIDEAS	45
1.10.5.	MASAJE Y SUS TÉCNICAS.....	46
1.10.5.1.	Roce.....	48
1.10.5.2.	Fricción	48
1.10.5.3.	Percusión.....	49
1.10.5.4.	Tachadura.....	49
1.10.5.5.	Compresión.....	50
1.10.5.6.	Amasamiento.....	50
1.10.5.7.	Vibración.....	51
1.10.5.8.	Técnicas adaptadas a las técnicas básicas	51
1.10.5.8.1.	<i>Sacudidas</i>	51
1.10.5.8.2.	<i>Pellizcamiento</i>	52
1.10.5.8.3.	<i>Torsiones</i>	52
1.10.6.	LA TÉCNICA DEL FOAM ROLLING.....	52
1.11.	MUERTE CELULAR POR APOPTOSIS.....	54
1.11.1.	ETAPAS DE LA APOPTOSIS	56
1.11.1.1.	Fase de iniciación	56
1.11.1.2.	Fase de ejecución	56
1.11.1.3.	La fase de eliminación	59
1.11.2.	EL CITOCROMO C.....	60
1.11.3.	LA PROTEÍNA SMAC/DIABLO.....	61
1.11.4.	LA PROTEÍNA AIF	61
1.12.	EL PROCESO INFLAMATORIO	63
1.12.1.	MEDIADORES INFLAMATORIOS	64
2.	HIPÓTESIS	65

3. OBJETIVOS	69
4. MATERIAL Y MÉTODOS	73
4.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO Y PROCEDIMIENTO	73
4.2. ANTICUERPOS	73
4.3. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	74
4.4. TAMPONES	75
4.5. ENSAYOS	76
4.5.1. EJERCICIO DE RENDIMIENTO	76
4.5.2. ENSAYO LOWRY	77
4.5.3. ANÁLISIS DE INMUNO-TRANSFERENCIA (WESTERN-BLOT)	77
4.5.4. KITS DE ELISA	79
4.6. SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA	79
5. RESULTADOS	82
5.1. TEST DE FUERZA DE AGARRE (GRIP STRENGTH TEST)	82
5.2. TEST CAIDAS DEL PIE (FOOT FAULTS BEAM WALKING)	83
5.3. TEST CAMINAR SOBRE BARRA (BEAM WALKING TEST)	84
5.4. CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DEL CITOCROMO C	84
5.5. EXPRESIÓN PROTEICA DE SMAC/DIABLO	85
5.6. EXPRESIÓN DE LA PROTEINA AIF	86
5.7. DETERMINACIÓN DE LA CITOQUINA IL-1β	87
5.8. DETERMINACIÓN DE LA CITOQUINA IL-6	88
5.9. DETERMINACIÓN DE LA CITOQUINA IL-10	89
5.10. DETERMINACIÓN DE LA CITOQUINA IL-13	90
5.11. DETERMINACIÓN DE TNF-α	91
5.12. CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE NF-κB	92
5.13. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA IκB	93
5.14. DETERMINACIÓN DE PPAR-γ	94
5.15. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA COX-2	95
5.16. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA P38	96
5.17. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA P-P38	97
5.18. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA STAT	98
5.19. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA VEGF	99
6. DISCUSION	103

7. CONCLUSIONES.....	115
8. BIBLIOGRAFIA.....	119

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AIF	Factor inductor de apoptosis
BEAM WALKING	Test de Caminar sobre una barra
Citc	Citocromo c
COX-2	Ciclooxigenasa-2
DIABLO	Proteína directa unión IAP (Direct IAP low pl binding protein)
ECL	Aumentador de quimioluminiscencia
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ELISA	Ensayo por inmuoadsorción ligado a enzima
FOOT FAULTS BEAM WALKING	Tests de caidas del pie al pasar una barra
GRIP STRENGTH	Test de fuerza de agarre
IκB	Factor inhibidor del factor NF-κB
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
IP	Inmunoprecipitación
NF-κB	Factor nuclear potenciador cadenas ligeras-κ célulasB activadas
PPAR-γ	Receptor-γ de peroxisomas proliferador-activador
p38	Factor tumoral p38
p-p38	Factor tumoral fosforilado de p38
SDS	Dodecilsulfato sódico
SMAC	Activador secundario de caspasas derivado de mitocondrias
STAT	Transductor y activador de la señal de la transcripción
TNF-α	Factor de necrosis tumoral-alfa
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
WB	Inmuotransferencia

**EFFECTO PROTECTOR DEL FOAM ROLLING FRENTE AL DAÑO MUSCULAR
INDUCIDO POR LA NOTEXINA**

**CARLOS
COLMENA**

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1: Representación de la estructura del músculo esquelético	5
Figura 2: Unidades del sarcómero.....	8
Figura 3: Fuentes de calcio para la contracción.....	10
Figura 4: Miograma de una contracción muscular	12
Figura 5: Máquina de extensiones	13
Figura 6: Aparato extesor	15
Figura 7: A) Cuádriceps, B) gastrocnemio, C) isquiritivales	20
Figura 8: Contusión muscular	21
Figura 9: Laceración muscular	21
Figura 10: Elongación, desgarro y ruptura.....	22
Figura 11: Lesión por elongación grado I	24
Figura 12: Esquimosis	25
Figura 13: Desgarro parcial gemelo medial. Flecha, corte transversal.....	25
Figura 14: Desgarro grado III	26
Figura 15: Hemorragia intramuscular reciente.....	27
Figura 16: Hematoma en fase líquida difusamente anecogénico.....	28
Figura 17: Calcificación partes blandas.....	31
Figura 18: Miositis osificante	31
Figura 19: Herniación muscular.....	32
Figura 20: Respuesta celular posterior a la lesión muscular	35
Figura 21: Células satélites	38
Figura 22: Activación, proliferación y diferenciación de células satélite.....	39
Figura 23: Fibrosis progresiva.....	41
Figura 24: Masaje muscular.....	47
Figura 25: Imagen de Foam Rolling	53
Figura 26: Muerte celular	55
Figura 27: Test de fuerza de agarre (grip strength test).....	82
Figura 28: Test de fallos de la pata (Foot faults beam walking).....	83
Figura 29: Test de caminar por una barra (Beam walking test)	84
Figura 30: Expresión de Citocromo c en musculo de rata	85
Figura 31: Expresión de SMAC/DIABLO en musculo de rata.....	86
Figura 32: Expresión de AIF en musculo de rata.....	87
Figura 33: Determinación de la citoquina IL-1 β	88
Figura 34: Niveles de la citoquina IL-6	89
Figura 35: Niveles de la citoquina IL-10	90
Figura 36: Niveles de la citoquina IL-13	91
Figura 37: Niveles del factor TNF- α	92
Figura 38: Expresión de NF-kB en músculo de rata	93
Figura 39: Expresión de I κ B en músculo de rata.....	94
Figura 40: Expresión de PPAR- γ en músculo de rata	95
Figura 41: Expresión de COX-2 en músculo de rata.....	96
Figura 42: Expresión de p38 en músculo de rata.....	97

Figura 43: Expresión de p-p38 en músculo de rata	98
Figura 44: Expresión del factor de transcripción STAT	99
Figura 45: Expresión de la proteína VEGF en músculo de rata	100
Figura 46: Acción de la notexina en el músculo de rata	111
Figura 47: Acción del Foam Rolling tras notexina	112

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

En los deportistas y en la práctica deportiva en general, las lesiones en los tejidos blandos, como el tejido muscular, son continuas y recurrentes. Estas se producen bien por acontecimientos traumáticos o bien por sobrecargas y en ambos casos se supera la capacidad de respuesta al daño de los tejidos. Dentro de los múltiples tipos de lesiones, se considera sumamente importante las lesiones ocasionadas al sistema musculo-esquelético, particularmente al tejido muscular, debido a que alrededor de un 30% de las lesiones en atletas afectan a los músculos y revisten especial importancia cuando se trata de deportistas profesionales dado que afecta directamente a sus marcas patrocinadoras y a sus posibilidades (Muñoz, 2002).

La ruptura de las fibras musculares es auto-limitada y se puede clasificar (El-Khoury et al., 1996) según el mecanismo causante de la lesión en

- 1) Directas. Estas presentan contusión y laceración.
- 2) Indirectas. Lesiones por elongación con dolor muscular de aparición tardía o DOMS (delayed onset muscle soreness) y síndrome compartimental.

Por otra parte, otros autores como es el caso de Verdugo (Verdugo, 2004), utilizan una clasificación cualitativa, además de cuantitativa, para clasificar las lesiones de este tipo. Por lo tanto están en directa relación con la fisionomía de la lesión y su evolución y de esta manera se consigue aplicar el tratamiento óptimo. Considerando sus características, esta clasificación comprende seis tipos diferentes de desgarros.

- 1) Desgarro miofascial
- 2) Desgarro Fibrilar
- 3) Desgarro Multifibrilar
- 4) Desgarro Fascicular
- 5) Desgarro masivo o total con o sin avulsión ósea
- 6) Adherenciolisis (re-herida).

En el caso de deportistas profesionales, donde entra en juego el interés económico y deportivo, es importante pronosticar con gran exactitud el tiempo en el que van a permanecer lesionados y alejados de la competición (Traeviso, 2005). De hecho una reincorporación demasiado temprana puede provocar recaídas y agravar la lesión y una reincorporación tardía podría generar graves quebrantos económicos y deportivos.

1.1 TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO

El tejido simple más numeroso del cuerpo humano es el músculo estriado que constituye el 40-45% del peso corporal total. Básicamente la fibra muscular estructuralmente consistente en un grupo de largas células conectadas con el tendón o hueso sobre el cual actúa. El sitio de conexión entre las células musculares y el tendón se conoce con el nombre de unión músculo-tendinosa (Figura 1).

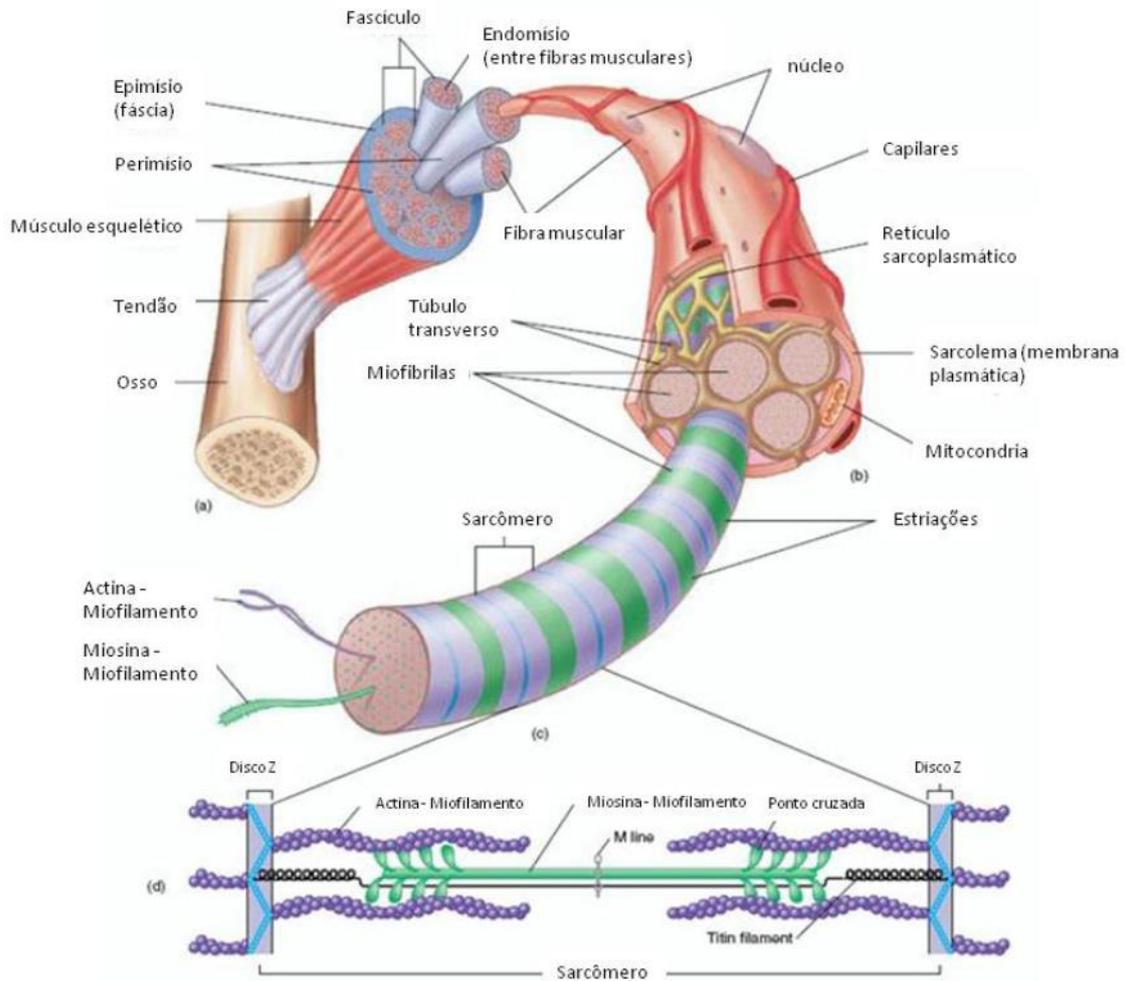


Figura 1: Representación de la estructura del músculo esquelético

Fuente: <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>

La función básica de los músculos es producir y modular el movimiento articular y contraerse para poder generar movimiento para poder realizar funciones vitales. Están controlados por nervios periféricos que inervan las placas motoras musculares. Estas unidades motoras están formadas por un axón simple y varias fibras musculares a las cuales inerva.

Las fibras musculares presentan características contráctiles y metabólicas similares, pero en la realidad no son homogéneas en las proporciones de sus

elementos (Muñoz, 2002). Existen tres tipos de fibras musculares (Conde et al., 2007).

- 1) Las de tipo I o de contracción lenta. Estas son más adecuadas para contracciones repetitivas y presentan mayor resistencia a la fatiga en movimientos de larga duración. Esto es debido principalmente a una mayor densidad de mitocondrias, de capilares por cada fibra y a la concentración de mioglobina.
- 2) Las tipo IIa o de contracción rápida. Más adecuadas para fuerzas rápidas, de patrón eléctrico fásico. Estas están más adaptadas para la actividad intensa de corta duración y para desarrollar mayor tensión. Sin embargo, poseen baja capacidad de resistencia a la fatiga, tanto por su dependencia del metabolismo anaeróbico como por su baja densidad de mioglobina.
- 3) Las de tipo IIb, llamadas también mixtas. Poseen la capacidad de generar fuerzas rápidas y presentan una mediana a alta capacidad de resistencia a la fatiga, ya que poseen una densidad moderada de mioglobina.

La tensión activa que puede producir un músculo es proporcional al tipo de fibras que contiene y lo forman. De esta manera músculos con alta proporción de fibras tipo II son capaces de generar mayor fuerza.

Los ejercicios de baja intensidad involucran de manera selectiva a las fibras de tipo I, mientras que las fibras de tipo II son reclutadas cuando la intensidad del ejercicio aumenta. Los velocistas de distancias cortas y carrera explosiva por ejemplo, tienen predominancia de fibras tipo II, mientras que en los corredores de distancia, como la maratón, predominan las fibras de tipo I. Actualmente no

se está claro si esta predominancia está determinada genéticamente o si es una respuesta al entrenamiento (El-Khoury, et al., 1996).

1.2 ORGANIZACIÓN DEL MUSCULO ESTRIADO

La unidad básica de la fibra muscular estriada es el sarcómero, observado desde el punto de vista anatómico-funcional. Este se encuentra formado por los microfilamentos de actina y miosina. Estos son los encargados de la generación de la tensión muscular y lo realizan gracias a la presencia de ATP, de calcio iónico y magnesio, entre otras moléculas. La tensión muscular facilita la contracción del tejido muscular gracias a la unión de puentes de miosina con los lugares activos de actina (Conde et al., 2007).

Las fibras musculares se agrupan en unidades motoras y estas se encuentran inervadas por una fibra nerviosa motora encargada de despolarizar la membrana, dando origen a la contracción muscular. Esta se realiza a través de la liberación de calcio iónico al sarcoplasma a través de los túbulos T. La intensidad de la contracción muscular dependerá de la cantidad de fibras musculares reclutadas, lo cual a su vez depende de la magnitud de aplicación de fuerza necesaria para realizar el esfuerzo físico demandado (Figura 2).

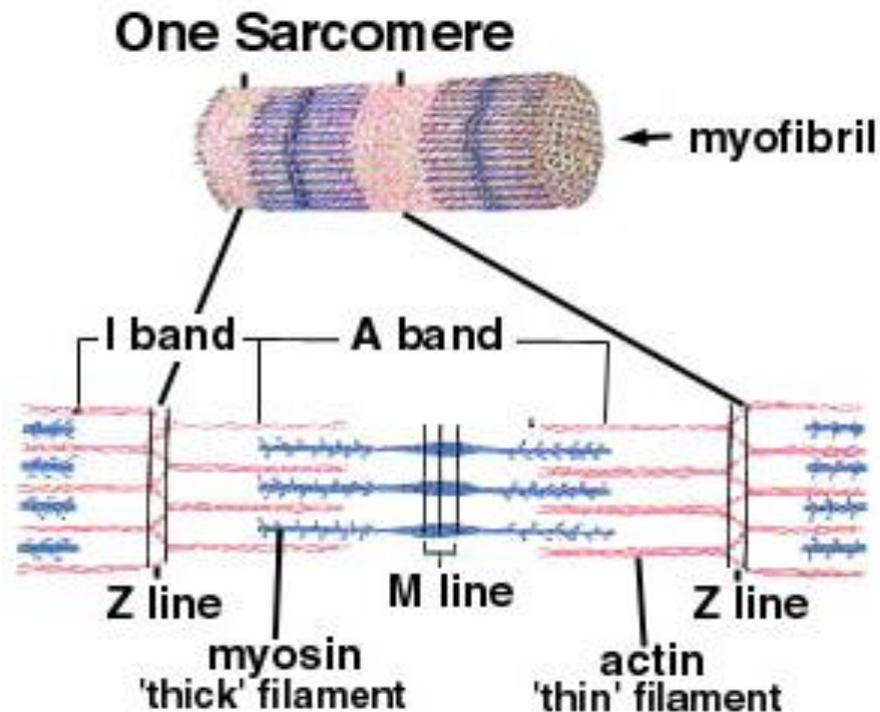


Ilustración 1: Unidades del sarcómero

Figura 2: Unidades del sarcómero

Fuente: <http://www.facmed.unam.mx/Libro-NeuroFisio/10-Sistema%20Motor/10a-Movimiento/Textos/MuscAnatomia.html>

Cada fibra muscular se encuentra rodeada de una membrana de tejido conectivo llamada endomisio. Al grupo de fibras musculares se le denomina fascículo, el cual está recubierto por tejido conjuntivo llamado perimisio. Los distintos fascículos constituyen un músculo y están recubierto por la fascia profunda, llamada epimisio (Figura 1).

1.3 CONTRACCIONES MUSCULARES

Existen diferentes tipos de contracciones musculares. En este estudio daremos más importancia a dos de ellas. La contracción isotónica, donde la tensión se

asocia a cambios en la longitud de la fibra y la contracción isométrica, en la que no aparecen cambios de longitud. En el caso de la contracción isotónica se puede producir a su vez, una acción concéntrica donde la fibra se acorta y en la contracción excéntrica se produce alargamiento de la fibra (Conde et al., 2007)

En el proceso biológico de contracción muscular por la acción de un estímulo de extensión, se producen tensiones y se acortan o bien estiran (o bien pueden permanecer en la misma longitud) los músculos involucrados (Silverthorn et al., 2016a; Silverthorn et al., 2016b). Estas contracciones ocasionan la fuerza motora para que bien el músculo liso o bien el músculo estriado pueda realizar sus funciones. Todo el sistema viene controlado por el sistema nervioso central, donde el encéfalo controla las contracciones voluntarias y la medula espinal los reflejos involuntarios.

La contracción muscular se produce gracias al desplazamiento de los miofilamentos. La cabeza de la miosina de une a la actina originando el desplazamiento. Además, la contracción se encuentra regulada por las variaciones del calcio, el ATP y el magnesio. Por otra parte, para que la contracción sea efectiva las células musculares deben estar sincronizadas gracias a las uniones tipo gap que permiten que pasen iones y se origine el estímulo eléctrico.

1.4 MUSCULO ESTRIADO Y SU CONTRACCIÓN

El músculo esquelético y cardíaco son músculos estriados debido a la aparición de estrías que se pueden ver al microscopio. Esto se debe a la organización del patrón de bandas A e I que le confieren ese aspecto. En estado de relajación las fibras de actina y miosina presentes en los filamentos A, apenas

se superponen entre sí. Pero en estado de contracción la actina se superpone sobre la miosina y de esta manera se entrelazan las dos proteínas entre sí. La actina se encuentra recubierta de una proteína denominada troponina. La contracción depende del ion Ca^{2+} del citoplasma, ya que al unirse a la troponina deja libre los puntos de unión de la actina con la miosina. El musculo estriado se encuentra inervado y producirá los cambios en las contracciones de calcio. Tras un potencial de acción sobre el músculo estriado esquelético se produce liberación de acetilcolina a la célula muscular. La acetilcolina se unirá a su receptor nicotínico ionotrópico provocando despolarización de la membrana y posteriormente transmitiéndose a lo largo del músculo. Involucra al retículo sarcoplásmico para producir la liberación intracelular del calcio acumulado en su interior. Además. Se produce una entrada de calcio extracelular por los canales de calcio. Así, se liberan los puntos de unión de la actina que se unirá a la miosina y se producirá la contracción (Figura 3).

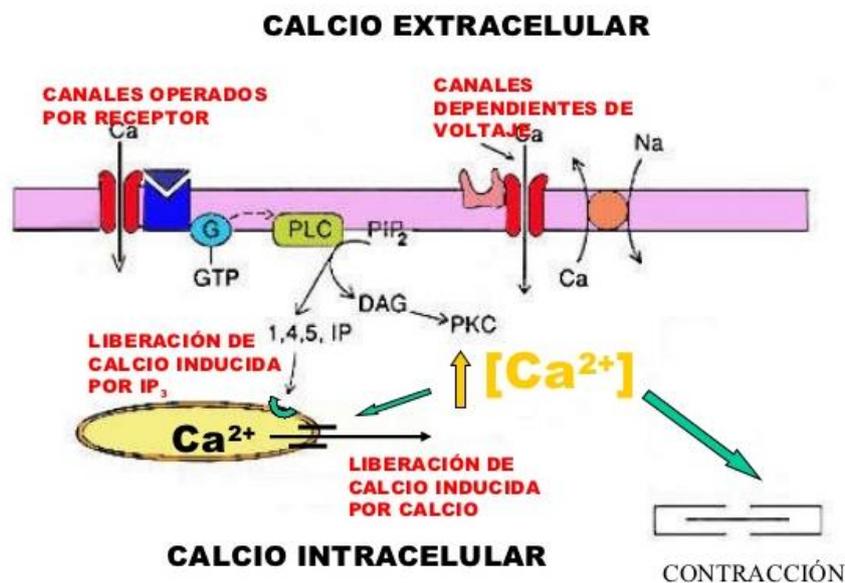


Figura 3: Fuentes de calcio para la contracción

Fuente: <https://es.slideshare.net/reynnerleon/musculo-8707626>

En el momento de la relajación, las concentraciones de calcio disminuyen y se rompen los enlaces y de esta manera el músculo deja de estar contraído. Los enlaces se rompen debido a la acción del ATP que se hidroliza y ayuda a la separación de la miosina en la unión con la actina. La disminución de calcio se produce debido a la existencia de las bombas de calcio situadas en el retículo sarcoplásmico. Se produce la hidrólisis de un ATP por cada dos de calcio que entra al interior del retículo. La salida del calcio desde el interior al exterior celular a través de la membrana celular se realiza gracias al intercambiador Na-Ca de la membrana. Si alguna bomba falla se produce la contracción muscular continuada o tetanización.

1.5 TIPOS DE CONTRACCIONES MUSCULARES

1.5.1 CONTRACCIONES HETEROMÉTRICAS O INOTÓNICAS

También se denominan contracciones isotónicas aunque no se producen contracciones de igual tensión como su nombre podría indicar. En realidad su tensión varía en los diferentes puntos del recorrido de la contracción (Figura 4).

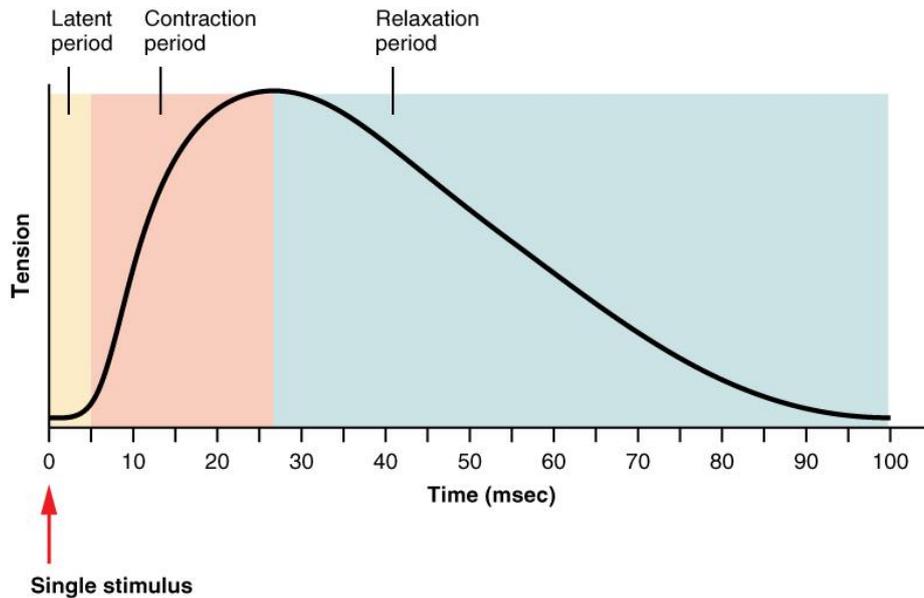


Figura 4: Miograma de una contracción muscular

Fuente: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:1012_Muscle_Twitch_Myogram.jpg

Las contracciones heterométricas son las más comunes en las actividades físicas y de la vida diaria. Se producen en la mayoría de las tensiones musculares acompañadas de acortamiento y alargamiento de las fibras musculares. Se dividen en concéntricas y excéntricas (Silverthorn et al., 2016b).

1.5.1.1. Contracciones heterométricas concéntricas

Una contracción concéntrica se produce cuando para superar una resistencia, un músculo dado se tensa suficientemente. Debido a ello se acorta produciendo el movimiento de una determinada zona del cuerpo y de esta manera venciendo dicha resistencia. Un ejemplo sería cuando levantamos cualquier objeto, se produce acortamiento muscular concéntrico debido a que los puntos de inserción de los músculos se acortan o se contraen. En resumen, se puede indicar que cuando los puntos de inserción de un músculo se acercan, la

contracción que se produce es concéntrica. En la figura 5 tenemos un ejemplo observando una máquina de extensiones donde al levantar las pesas, los cuádriceps se acortan produciéndose la contracción concéntrica avanzada.

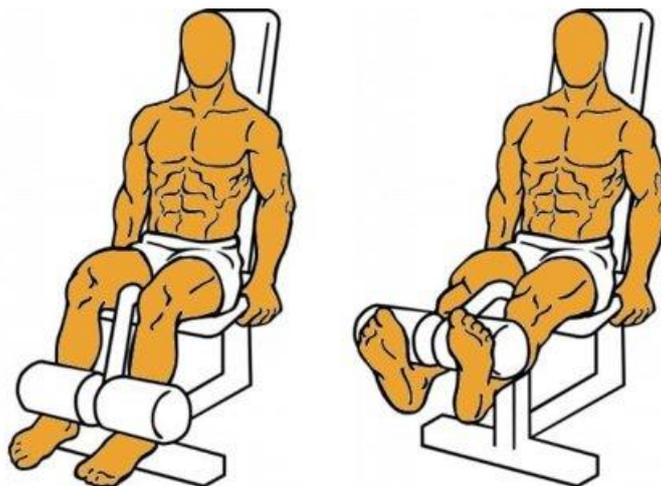


Figura 5: Máquina de extensiones

Fuente: <https://www.vitonica.com/musculacion/guia-para-principiantes-xxvi-extension-de-piernas-en-maquina>

1.5.1.2. Contracciones heterométricas excéntricas

En el caso de que una resistencia determinada sea mayor que la tensión producida por un músculo, éste se alargará y en este caso se estaría produciendo una contracción excéntrica. La tensión ocurrida en el músculo produce alargamiento y por lo tanto extendiendo su longitud. Por ejemplo, si bajo un peine desde mi cabeza a la mesa, aquí el bíceps braquial se contrae excéntricamente. Además actuaría la fuerza de la gravedad, y el peine podría caer al suelo. Para que no ocurra, el músculo se extiende contrayéndose en forma excéntrica.

En la figura 5, cuando bajamos las pesas, los cuádriceps se extienden, pero se está produciendo una contracción excéntrica. Los puntos de inserción del músculo cuádriceps se alejan, por ello decimos que se produce una contracción excéntrica (Silverthorn et al., 2016a).

1.5.2. CONTRACCIONES ISOMÉTRICAS

Isométrico significa igual longitud. En las contracciones isométricas el músculo permanece estático no produciéndose ni acortamientos ni alargamientos, pero el músculo sigue generando tensión. En estas contracciones el músculo permanece estático, sin acortarse ni alargarse, pero sigue generando tensión. Ejemplo, si colocamos un peso en una mano y mantenemos el brazo elevado sin variar su posición. Se produce una tensión continua sin que en las fibras musculares se produzca ni el alargamiento ni el acortamiento.

1.5.3. CONTRACCIONES AUXOTÓNICAS

En ellas se combinan las contracciones heterométricas con las isométricas. Primeramente se produce en mayor medida la heterométrica, mientras que al final de la contracción se remarca más la contracción isométrica.

Un ejemplo es cuando trabajamos con aparatos extensores. Se estira hasta un punto y en este momento el músculo se contrae concéntricamente, después mantenemos unos segundos estáticamente produciéndose la isométrica y luego volvemos a la posición inicial con otra excéntrica (Figura 6).



Figura 6: Aparato extesor

Fuente:

https://www.insania.es/producto/musculacion,categoria,Extensor_de_musculacion,nombre,068-335:03103,fid

1.5.4. CONTRACCIONES ISOCINÉTICAS

Es una contracción máxima a una velocidad constante en toda la gama del movimiento. Son contracciones clásicas en las que no se necesita aceleración en el movimiento. Se da en deportes con velocidad constante y uniforme, como la natación donde si aumentamos la fuerza, el agua produce un aumento de la resistencia. Para estos deportistas se han desarrollado aparatos específicos.

1.6. LESIONES DEL TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO (NOTEXINA)

Las lesiones del tejido muscular estriado, en especial el daño mecánicamente inducido debido a contusiones o laceraciones, son muy comunes en la práctica deportiva, ya sean accidentales o de acción deliberada directa.

El veneno de serpiente es una mezcla compleja de proteínas y polipéptidos con una amplia gama de actividades farmacológicas. Las proteínas y polipéptidos constituyen ~95% del peso seco del veneno (Tu, 1996). Existen diferencias significativas en la composición del veneno entre especies estrechamente relacionadas o incluso entre las mismas especies de diferentes orígenes geográficos (Queiroz et al., 2008; Salazar et al., 2009). Las cardiotoxinas (un inhibidor de la quinasa C) y (una fosfolipasa A2), extraídas de venenos de serpiente, son las miotoxinas más comúnmente utilizadas.

La Notexina es una neurotoxina presináptica de tipo fosfolipasa A2 y esta es purificada del veneno de *Notechis scutatus scutatus*. Es una proteína básica con 119 aminoácidos y 7 puentes disulfuro (Westerlund et al. 1992). Aparte de su neurotoxicidad presináptica, que bloquea la transmisión neuromuscular al afectar la liberación de acetilcolina, posee actividad fosfolipasa A2 y miotoxicidad (Rigoni et al. 2004; Plant et al. 2006). Los análisis por rayos X revelan que la Notexina es estructuralmente homologa a la enzima fosfolipasa A2 de los mamíferos y también del veneno de serpiente (Westerlund et al. 1992).

Para producir daño en el músculo experimental. Entre todas las toxinas del veneno, las toxinas enzimáticas fosfolipasa A2 (PLA2) y la l-aminoácido oxidasa (LAAO) se encuentran en todas partes en Elapidae y Viperidae, por lo que las PLA2 son las toxinas enzimáticas más abundantes, según revela el proteoma del veneno de serpiente. La Notexina bloquea la transmisión

neuromuscular por inhibición de la transmisión de la acetilcolina. Su actividad hidrolítica provoca la hidrólisis de los fosfolípidos de la membrana plasmática, pérdida de gradientes de iones e hipercontracción (Dixon et al., 1996; Harris et al., 1974).

El uso de la Notexina, como una de las miotoxinas más utilizadas en experimentación, se debe a que la degeneración inducida por estos agentes ha sido descrita como rápida, vigorosa y reproducible (Dixon et al., 1996). Además, las toxinas del veneno se han reconocido como agentes tóxicos bastante específicos en las fibras musculares, sin socavar los vasos sanguíneos, la lámina basal y, por lo tanto, la actividad de las células satélite (Dixon et al., 1996; Harris et al 1974; Hardy et al., 2016). Esta acción bastante específica puede permitir la disección de eventos regenerativos en un modelo simplificado de lesión muscular y en el estudio del comportamiento de los actores celulares y el perfil de los actores moleculares en la regeneración muscular.

Las inyecciones intramusculares de Notexina provocan sistemáticamente necrosis monofásica del tejido muscular, seguida inmediatamente por una regeneración secuencial y sincrónica caracterizada por infiltración de neutrófilos y macrófagos. Posteriormente aparecen los mioblastos que se fusionan para formar miofibras. La inflamación notablemente seguida presenta una cinética parecida a otras miotoxinas, pero con mayor gravedad. Durante el proceso de daño, se observa producción de citosinas que, en el caso de la Notexina en contraste con otros agentes miotóxicos, nunca se restablece a niveles normales. Esto sugiere que persiste una inflamación, existente a pesar de una apariencia normal del tejido muscular (Hardy et al., 2016).

Referente a las lesiones vasculares presentes tras la inyección con Notexina, estas se consideran graves y con una reacción inflamatoria granulomatosa que explicaría las diferencias en la cinética de regeneración observada entre los diferentes agentes miotóxicos. Los parámetros críticos usados en este trabajo para la elección del agente miotóxico fue la supervivencia y la expansión de las células satélites, los tipos de citosinas y los niveles de expresión y cinética inflamatoria. Todos ellos más graves y acusados en el caso de la Notexina.

Las ratas a las que se les aplica Notexina presentan después de 12 días de la lesión, calcificaciones multifocales de miofibras necrotizadas que provocan una reacción granulomatosa periférica con células multinucleadas gigantes. Estas fibras mineralizadas permanecen incluso 6 meses después de la lesión, ya que el reclutamiento crónico y la activación de macrófagos ocurren incluso en el tejido muscular preservado y completamente regenerado después de la lesión. Es probable que esta inflamación crónica multifocal sea responsable de alteraciones del perfil de expresión de citoquinas / quimiocinas en el músculo regenerado, en comparación con otros modelos de lesiones. El comportamiento de las células satélite residentes o trasplantadas está influenciado por el mayor nivel de IL-6, que favorece la diferenciación sobre la auto-renovación (Hardy et al 2016; Price et al., 2014; Doles et al., 2014)

Existen diferentes tratamientos apropiados a según qué tipo de lesión. La variedad de los tipos de lesión han complicado los tratamientos. Ejemplos podrían ser la extensión, severidad de la herida, grupo muscular afectado, musculo concreto afectado. Por otra parte, el conocimiento profundo de los mecanismos bioquímicos involucrados en el proceso inflamatorio y anti-inflamatorio. Por lo tanto se expande el foco de atención investigativo a terapias efectivas, con la idea de mejorar las diferentes posibilidades para descubrir

tratamientos adecuados para los tipos diferentes de lesiones abordando el proceso celular involucrado en su recuperación.

1.6.1. CLASIFICACIÓN SEGÚN MECANISMO ASOCIADO

Las lesiones musculares indirectas tienen lugar de manera predominantemente en músculos biarticulados, de acción excéntrica, con alta proporción de fibras tipo II y por lo general, cercanas a la unión músculo-tendinosa. Los músculos afectados con mayor frecuencia son los rectos femorales, cuádriceps, gastrocnemio medial, semitendinoso, semimembranoso, bíceps crural (Figuras 7) y aductores. Menos frecuentes son: pared abdominal, glúteos, pectoral, músculos del brazo y antebrazo (Travieso, 2005; Resnik and Kang, 2000).

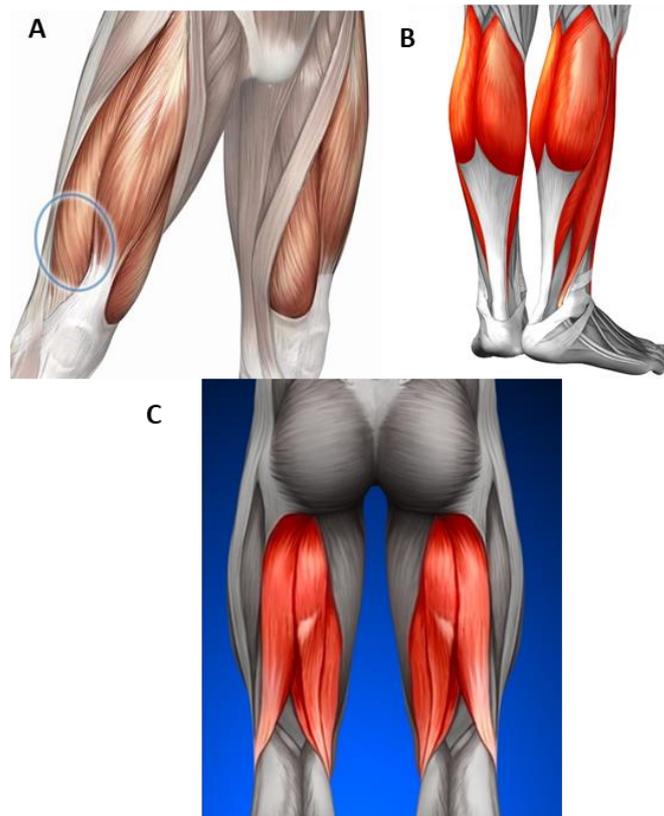


Figura 7: A) Cuádriceps, B) gastrocnemio, C) isquitivales

1.6.1.1. Lesiones musculares directas

1.6.1.1.1. *Contusión muscular*

Son las que corresponden a una compresión muscular debido a un traumatismo directo. Se produce con el choque de la masa muscular contra una superficie dura y el hueso. Se dan mayoritariamente en deportes de contacto, como el boxeo, y en accidentes de automóvil (Resnik and Kang, 2000) (Figura 8).



Figura 8: Contusión muscular

Fuente: <https://www.onlinepersonaltrainer.es/general/tratamiento-de-la-contusion-muscular/>

1.6.1.1.2. Laceración muscular

En la laceración se producen lesiones penetrantes y se detectan en mayor medida en politraumatismos (Streit et al., 2015 et al., 2007) (Figura 9).



Figura 9: Laceración muscular

Fuente: <https://ecografiadeportiva.com/contuso-laceracion-muscular-subfascial/>

1.6.1.2. Lesiones musculares indirectas

1.6.1.2.1. Lesiones por elongación

Se producen cuando se genera fuerza intrínseca producida por una contracción repentina del músculo. La lesión principal es el edema (Travieso, 2005), donde se produce un foco de distensión sin apreciarse rotura fibrilar o contractura. Por otra parte, puede estar presente en cualquiera de las lesiones por elongación (Figura 10). La elongación se encuentra muy relacionada con la elasticidad muscular, ya que a mayor elasticidad, existe menor resistencia al movimiento y por lo tanto menor posibilidad de ocasionarse una lesión. No aparece dolor en reposo, aunque la lesión abarque a la fascia muscular total, pero si cuando el músculo entra en acción.



Figura 10: Elongación, desgarro y ruptura

Fuente: <https://www.hsnstore.com/blog/aprendiendo-diferenciar-las-lesiones-musculares-su-tratamiento-especifico/>

1.6.1.2.2. Lesiones musculares estructurales

Una rotura muscular se produce cuando hay una rotura de las fibras musculares que provoca un dolor repentino, normalmente a causa de una contracción o elongación (estiramiento) violenta del músculo. Ocurre con más frecuencia en personas que practican algún deporte habitualmente. Las zonas en las que se producen con mayor asiduidad estas lesiones son la espalda y los músculos posteriores de la pierna y en los gemelos. Pueden producirse roturas parciales o totales.

1.6.2. CLASIFICACIÓN SEGÚN DIAGNÓSTICO POR IMAGEN

Se clasifican en tres grados según el daño producido al músculo y el dolor detectado por el paciente (Resnik and Kang, 2000)

1.6.2.1. Distensión muscular, grado I

Se produce cuando a un músculo se le ocasiona una elongación hasta su límite máximo o por encima de ese valor. El paciente detecta dolor severo sin ser puntual y por lo tanto, sin encontrar un punto preciso de mayor dolor (Resnik and Kang, 2000). Son lesiones microscópicas vistas anatómicamente, e involucran menos del 5% del espesor total del músculo. En estas lesiones aparecen pequeños huecos repletos de líquido serohemático que rellenan el vacío que han dejado las zonas de retracción de las miofibrillas consecutivas a la posición de la microrrotura. Además pueden estar rodeadas de edemas musculares. Son difíciles de detectar con el ecógrafo debido a su pequeño tamaño (Figura 11)



Figura 11: Lesión por elongación grado I

Fuente: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-93082002000300006

1.6.2.2. Desgarro parcial, grado II

En ella la elongación es mucho mayor que en el grado I. La lesión es más extensa y el músculo llega más allá del límite máximo de su elasticidad. Ocurre en más del 5% del espesor muscular. En el momento en el que la lesión se produjo, el paciente refiere un chasquido claro con dolor focalizado en un punto determinado. Si el músculo es superficial puede ocasionarse con el tiempo equimosis (Figura 12).



Figura 12: Esquimosis

Fuente: <https://www.efisioterapia.net/articulos/distension-muscular>

La ecografía permite diagnosticar la aparición de un área discontinua con disrupción de los septos fibroso-adiposos. Por esta razón se detectan hendiduras entre las fibras donde se encuentra un hematoma (Figura 13).

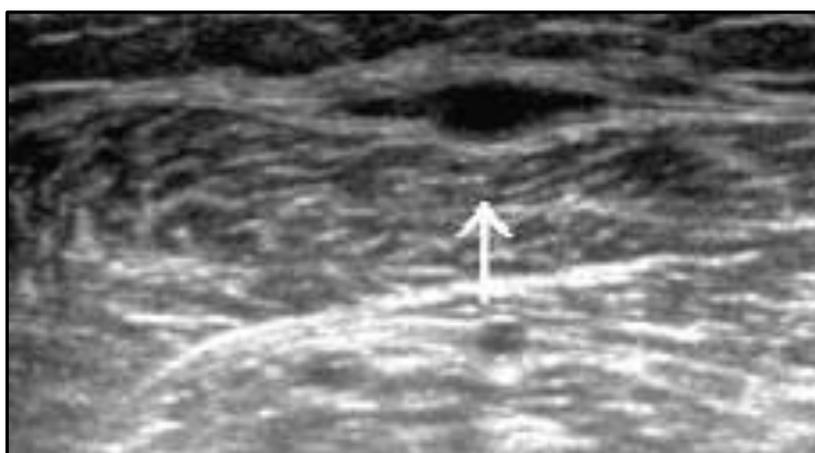


Figura 13: Desgarro parcial gemelo medial. Flecha, corte transversal

Fuente: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-93082002000300006

1.6.2.3. Desgarro completo, grado III

Se produce en el vientre completo del músculo, con separación completa de los cabos musculares por retracción e interposición de hematoma (Verdugo, 2004; Resnik and Kang, 2000) (Figura 14). Es muy común la presencia de equimosis y puede detectarse en la palpación.



Figura 14: Desgarro grado III

Fuente: <https://www.apunts.org/es-lesiones-musculares-el-deporte-actualizacion-articulo-X0213371715389042>

1.6.3. EL HEMATOMA

En la rotura muscular aparece un sello característico y es el hematoma. Su tamaño nos indica la extensión de la lesión, dándonos una idea de la gravedad de la lesión. Además puede aparecer intermuscularmente con presencia de sangre entre los planos de las fascias de ambos músculos.

En la ecografía el hematoma puede variar según el momento en el que se hace el estudio. Se puede ver de manera difusa e hiperecogénica la hemorragia activa o reciente (Figura 15).



Figura 15: Hemorragia intramuscular reciente

Fuente: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-93082002000300006

Después de unas pocas horas, el sangrado aparece como una masa homogénea e hiperecogénica. Posteriormente las células, el suero y la fibrina pueden aparecer separados y encontrarnos con un nivel líquido-líquido. Cuando ya han pasado varios días, el aspecto es uniformemente anecogénico. En un tiempo más o menos variable, según el daño presente, se reabsorben (Figura 16). El tiempo de evolución de los desgarros es, dependiendo del daño, entre 3 y 17 semanas y en su curación intervienen la cicatrización fibrosa y la capacidad del músculo a la regeneración (Resnik and Kang, 2000).

En el tratamiento tradicional se estimula la regeneración para impedir la cicatrización, la cual dará en último término, un menor volumen muscular con

una disminución de la función debida a que la cicatrización es elástica y predispone a la aparición de nuevas lesiones.



Figura 16: Hematoma en fase líquida difusamente anecogénico

Fuente: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-93082002000300006

1.6.4. DOLOR MUSCULAR DE PRESENTACIÓN TARDÍA (DOMS)

La definición de este dolor no se ha modificado significativamente desde el siglo XX cuando fue descrita (Travieso et al., 2005). Además su etiopatogenia todavía se desconoce en la actualidad (Streit et al., 2015 et al., 2007). El dolor muscular tardío ha sido experimentado alguna vez por la gran mayoría de las personas adultas. El dolor aparece en horas o días después de un ejercicio de forma extenuada o al que no está acostumbrado el individuo y normalmente dura unos 5 a 7 días y presenta autolimitación. Usando ultrasonidos podemos ver incremento del músculo dañado acompañado de aumento de la ecogenicidad debida al edema.

1.6.5. SÍNDROME COMPARTIMENTAL

Se produce un aumento de presión en una zona anatómica de espacio definido que ocasiona lesión de manera irreversible y que compromete a las estructuras confinadas, como estructuras neurales, vasculares y musculares. Sus causas pueden ser múltiples, debido a que ante cualquier situación que produzca un aumento o disminución del volumen compartimiento puede ocasionar síndrome compartimental, entre ellos las fracturas, las quemaduras y los traumatismos acompañados de hemorragias. La presencia del aumento de presión conlleva a obstrucción venosa e isquemia nerviosa y muscular con un final de aparición de la necrosis.

Se puede ver, mediante ultrasonografía, un incremento importante del volumen del músculo con fascia abombada y pérdida el patrón fibrilar normal. Además, por resonancia magnética se aprecia tumefacción del miembro afectado y cambios de la señal en los músculos del compartimiento. En etapas posteriores y tardías se aprecian áreas pequeñas de necrosis muscular (Streit et al., 2015 et al., 2007).

1.7. EVOLUCIÓN Y RECUPERACIÓN DE LAS LESIONES

1.7.1. LA CICATRIZ FIBROSA

Se produce por evolución de manera natural de un desgarro muscular donde la curación se lleva a cabo, en gran medida, por la cicatrización fibrosa. Usando ultrasonido o resonancia magnética, se aprecia una imagen retráctil y estrellada asociada a una disminución del volumen, acompañada de atrofia muscular en las áreas contiguas a la cicatriz.

1.7.2. MIOSITIS OSIFICANTE

Cuando se produce un hematoma intramuscular las contusiones musculares pueden osificarse por calcificación. A este proceso se le denomina miositis y es una osificación ocurrida tras el trauma sin aparición de inflamación, por lo que su nombre no es el más adecuado.

Es especialistas que realiza deportes de contacto es muy frecuente. De todas maneras, un 40% de los casos no presenta un problema traumático claro. Se localizan frecuentemente en el muslo y en la pelvis y su aspecto puede variar dependiendo del momento en que se realice el examen médico (Resnik, 2000). En el primer mes aparece una masa capaz de cambiar la estructura del patrón fibrilar muscular. Posteriormente aparecen las calcificaciones comenzando desde la periferia y continuando hacia el centro (Figura 17). A las 5 o 6 meses se llega a la osificación (Figura 18).



Figura 17: Calcificación partes blandas

Fuente:

https://www.researchgate.net/publication/259143699_Miositis_osificante_traumatica/figures?lo=1

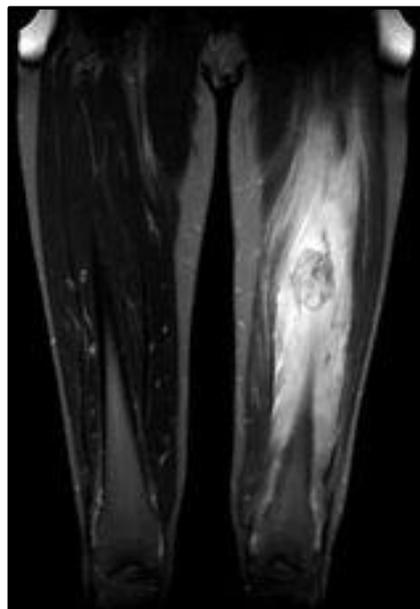


Figura 18: Miositis osificante

Fuente: <https://www.diagnosticojournal.com/articulos/397/miositis-osificante>

1.7.3. HERNIACIÓN MUSCULAR

Se produce tras un defecto muscular situado en la fascia muscular que lo envuelve que ocasiona herniación local. Se da con mayor prevalencia en las extremidades inferiores y especialmente en el compartimiento de la tibia anterior. Se utiliza la ultrasonografía para el diagnóstico, debido a que al pedir al paciente que contraiga el músculo se demuestra la hernia de una manera dinámica (Streit et al., 2015 et al., 2007; Resnik and Kang, 2000; Laiz Diez et al., 2017) (Figura 19).



Figura 19: Herniación muscular

Fuente: Revista chilena de cirugía. 2017. 69. 171-173

1.8. PROCESO INFLAMATORIO POST-LESIÓN

Una de las respuestas más importantes del sistema inmunológico a la lesión es el proceso inflamatorio. Esto se debe a su mecanismo consistente y

que perdura en el tiempo de manera independiente a la causa que originó la herida (Duchesne et al., 2017). Se identifican tres fases distintas, la fase de destrucción (del primer al octavo día), la fase de reparación (del sexto al vigésimo tercer día) y la fase de remodelación (del décimo cuarto al trigésimo día o incluso más) (Schmidt, 2018). Es posible que las fases indicadas presenten en detalle diferencias más o menos importantes debido a los mecanismos de lesión.

La magnitud de la respuesta inflamatoria depende de dos factores básicos: La extensión del daño físico y del grado de vascularización del segmento muscular en el momento de producirse la lesión (Smith et al., 2008). En las diferentes fases intervienen las células no musculares, como los fagocitos, macrófagos tisulares, citoquinas y factores de crecimiento. Todos ellos juegan un papel primordial en el proceso inflamatorio, en la recuperación y en la regeneración de la lesión muscular, pero también en el daño secundario producido durante el proceso inflamatorio. Además, el papel de todos estos factores todavía está por dilucidar completamente (Tidball, 1995), pero se sabe que ciertas sustancias pueden funcionar como hormonas de la herida, provocando el inicio del proceso inflamatorio (Interleukina-1, factor de necrosis tumoral, etc). Los macrófagos tisulares son especiales ya que en el músculo son activados por el mecanismo de lesión, produciendo quimiotaxis para las células inflamatorias que discurren por la circulación.

1.8.1. DAÑO VASCULAR

La vascularización del músculo esquelética normalmente no se ve interrumpida tras una contusión leve. En ella se produce dilatación de las arteriolas de la zona afectada por la herida, produciéndose un aumento del flujo sanguíneo. La vascularización tras lesión leve puede inducirse mediante dos mecanismos. Primero, por vasodilatación producida por la liberación de

histamina de las células del área dañada. Esta liberación originará un incremento en la permeabilidad capilar a través del aumento de los poros capilares del endotelio vascular. Se producirá un incremento en el número de leucocitos fagocíticos y en los niveles de proteínas del plasma. Ambos aumentos son esenciales en la respuesta inflamatoria ocasionada tras la lesión (Tidball, 1995). Un segundo mecanismo de vasodilatación se produce debido a la ruta del factor de crecimiento del endotelio vascular-óxido nítrico (VEGF-NO) (Wang et al., 2005). El factor VEGF puede segregarse por las células endoteliales, los fibroblastos o los macrófagos y lo hacen en respuesta bien a la hipoxia, factores de crecimiento, estrés oxidativo o bien al nivel de citoquinas existente. Provoca activación de la vía del óxido nítrico (NO) y óxido nítrico sintetasa (NOS) para mayor vasodilatación.

En otro orden de cosas, nada más producirse una lesión severa aparece la vascularización extensamente comprometida y además se inicia un proceso para controlar los daños existentes. Las plaquetas del plasma se adhieren al colágeno cambiando a plaquetas activas e iniciando la liberación de mediadores pro-inflamatorios como histamina, serotonina y tromboxano A₂. Posteriormente se crea la formación plaquetaria y el control hemorrágico. Después las células inmunes se dirigen, por quimiotaxis, desde la sangre al tejido dañado, donde intervienen en la respuesta localizada inflamatoria.

Las células inmunes circulantes recorren el endotelio hasta interactuar con los proteoglicanos de sulfato de heparina produciéndose una ralentización del movimiento de las células inmunes circulantes en su interacción con el endotelio. Además, posteriormente las citoquinas interactúan y provocan una rápida adhesión en el endotelio dependiente de integrinas (Figura 20).

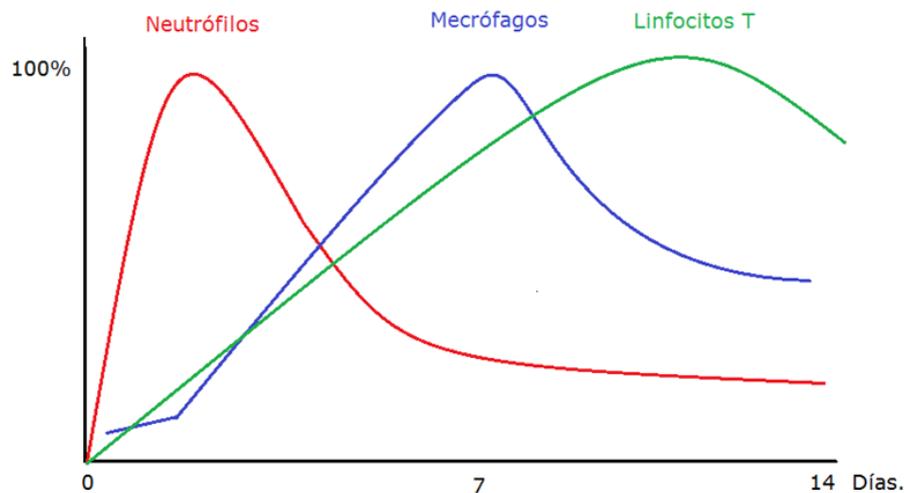


Figura 20: Respuesta celular posterior a la lesión muscular

Fuente: Carlos Colmena Zaragoza

Inmediatamente después de la lesión, aproximadamente dentro de la primera hora, predomina la infiltración de células neutrófilos. Su pico ocurre entre las 24 y 48 horas y puede seguir elevado hasta cinco días después de la lesión (Tidball, 1995). La dominancia en neutrófilos se debe a la acumulación en sangre de un gran número de neutrófilos preformados y de nueva creación que provienen de la médula ósea. Esta acumulación es estimulada por la liberación de mediadores químicos producidos por la zona inflamada (Figura 20) que incluyen prostaglandinas, leucotrienos, componentes complementarios (C5) y factores liberados por la actividad de las plaquetas, como son la histamina, el tromboxano A₂, etc.

Después de la lesión los neutrófilos pueden contribuir a los eventos de dos formas. O bien limpiando los desechos tras la necrosis, debido a su función fagocítica, o bien magnificando el proceso inflamatorio mediante la liberación de mediadores pro-inflamatorios, como la interleuquina 1 (IL-1) o la interleuquina 6 (IL-6). Por lo tanto, tanto neutrófilos como fagocitos realizan una función crucial

en las fases tempranas de la respuesta inflamatoria después de una lesión muscular. Por otro lado, estos elementos pueden producir daños adicionales en el tejido muscular, ocasionando daños al tejido sano adyacente. A este proceso se le conoce como, daño muscular secundario.

1.8.2. DAÑO MUSCULAR SECUNDARIO

Es un daño ocasionado de manera secundaria al tejido sano circulante a la lesión. Puede producirse por diferentes procesos celulares y bioquímicos activados en respuesta a la lesión primaria. No parece estar relacionado con el tipo de lesión pero si con la severidad del daño primario.

Los neutrófilos no presentan un papel importante en la recuperación muscular pero parece haber una relación clara entre el daño secundario y la presencia de neutrófilos (Tidball, 1995). Además, durante el proceso de fagocitosis, los neutrófilos producen gran cantidad de radicales libres ocasionando un aumento del estrés oxidativo. Por otra parte, la disminución en neutrófilos previa a un cuadro de isquemia y reperusión, ha demostrado una reducción en el daño muscular del 40% en el musculo estriado (Kyriakides et al., 1999), indicando el papel de los neutrófilos en el daño muscular secundario. De la misma forma se ha demostrado que bloqueando la cadena respiratoria de los neutrófilos se puede conseguir reducción del daño miofibrilar (Toumi et al., 2006). No hay que olvidar que la fagocitosis involucra a las enzimas lisosomales y por lo tanto también puede intervenir en el proceso, siendo los responsables de la digestión fagocitaria. Determinados autores indican que podría ocurrir una liberación accidental de las enzimas lisosomales hacia el espacio extracelular, ocasionado por las células muertas o en proceso de muerte. Por otra parte, los lisosomas son capaces de liberar su contenido causado necrosis (Merrick, 2002). Por otra parte, los lisosomas son los responsables de al menos el 40% de la

atrofia muscular posterior a un daño. Los lisosomas activos suelen estar en las zonas de macrófagos, realizando su función fagocítica, en las áreas donde hay fibras necróticas, mientras que los lisosomas situados en tejido muscular sano no aparecen activos (Farges et al., 2002).

1.9. RESOLUCIÓN DE LA LESIÓN MUSCULAR

La resolución de la lesión se inicia cuando el número de neutrófilos comienza a disminuir en la zona dañada (Järvinen et al., 2005). Esta es multifacética con numerosos procesos divididos en tres fases: resolución de la inflamación, angiogénesis y reparación del tejido muscular dañado.

El principal papel de los macrófagos es eliminar los desechos celulares, pero este puede no ser su único papel (Honda et al., 1990; Summan et al., 2006). Estas células pueden dividirse en diferentes subtipos según los marcadores de superficie que presenten. Se nombran dependiendo del tipo de tejido donde aparecen, como por ejemplo ED1+ (la mayoría de monocitos y macrófagos) ED2+ (macrófagos residentes dentro del tejido objetivo) y ED3+ (macrófagos usualmente confinados al tejido linfático). Después del daño, los diferentes subtipos aparecen en la herida en diferentes momentos secuenciales en el tiempo, demostrando que cumplen diferentes funciones (Järvinen et al., 2007).

Actualmente aún es necesario aclarar el papel que los macrófagos realizan en la recuperación tras la lesión muscular y parece claro que las terapias que afecten o inhiban a los macrófagos durante la fase de recuperación muscular pueden conllevar problemas de tiempo de recuperación.

El proceso de recuperación comienza tardíamente, unos siete días después de la lesión (Huard et al., 2002). Las células satélites del tejido muscular son las que juegan el papel principal en el proceso de regeneración (Figura 21).

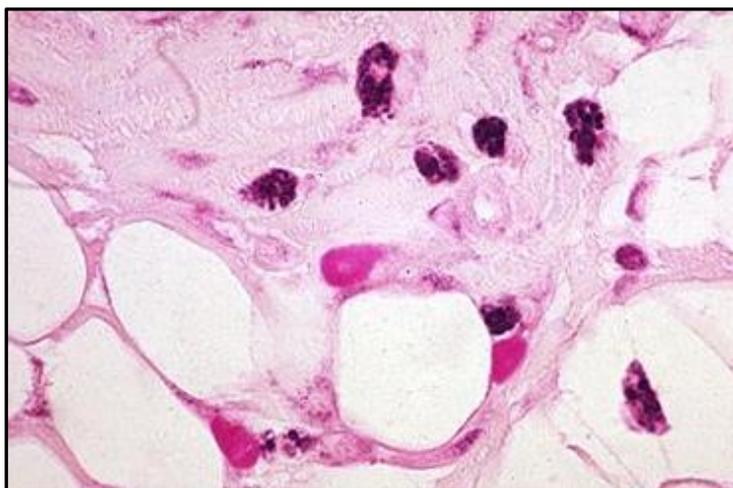


Figura 21: Células satélites

Fuente: <http://athleticperformance.es/las-celulas-satelite-en-el-musculo-esqueletico-humano-desde-el-nacimiento-hasta-la-vejez/>

Estas células se encuentran entre las láminas basales y el sarcolema. Actualmente dos teorías intentan explicar la activación de las células satélites durante la regeneración. La primera indica que es la destrucción de la integridad del sarcolema y de la lámina basal la que activa la migración de las células satélites (Qu-Petersen et al., 2002; Bischoff and Heintz, 1994; Hurme and Kalimo, 1992). La segunda teoría incide en que la liberación de citoquinas por las células inflamatorias, citoquinas como IL-1 β e IL-6, puede producir la activación de las células satélites (Zammit and Beauchamp, 2001).

Las células satélites son pequeñas y de escaso citoplasma, poseen un solo núcleo con una red cromática más gruesa y densa que la de los núcleos de

las células musculares. Además, constituyen la fuente potencial de nuevos mioblastos capaces de fusionarse y formar nuevas fibras musculares (Figura 22). Después de la activación de las células satélites, proliferan y se diferencian en unos diez días. Esta proliferación produce precursores miogénicos como los mioblastos, que al proliferar y diferenciarse se fusionan en miotúbulos multinucleados, miofibrillas inmaduras y, según sea necesario, miofibrillas maduras.

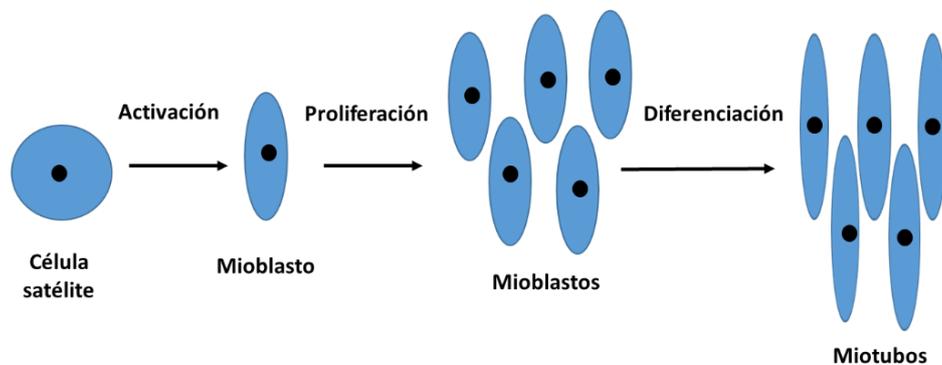


Figura 22: Activación, proliferación y diferenciación de células satélite

Fuente: Carlos Colmena

En la regeneración se produce liberación de diferentes factores de crecimiento en el lugar de la lesión. Estos factores juegan un papel primordial en la proliferación y diferenciación de los mioblastos. Podemos nombrar como los más importantes, el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF), el factor de crecimiento epidermal (EGF), el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) y el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) (Yamanouchi et al., 2000).

1.9.1. FIBROLISIS MUSCULAR

Definimos la fibrosis muscular como la sustitución del tejido muscular por tejido fibroso o acumulación de fibras de colágeno. La regeneración que ocurre tras una lesión del músculo estriado, de forma muy común, puede degenerar en un proceso de fibrosis. En ella hay una excesiva proliferación de componentes de la matriz extracelular. Este proceso comienza en unas dos semanas tras la lesión y se acelera hasta, más o menos, la cuarta semana. El fibroblasto es el tipo celular predominante en la matriz extracelular y las proteínas más importantes incluyen distintos tipos de colágeno, como tipo I y II, glicoproteínas y proteoglicanos.

Determinados factores estimulan la proliferación de la matriz extracelular y son capaces de inhibir la regeneración musculo-esquelética. Entre los más importantes están, el factor de crecimiento epidermal (EGF), el factor de crecimiento transformado β -1 (TGF β -1) y la mioestatina. Son producidos y liberados por los neutrófilos, macrófagos y los precursores miogénéticos e incluso liberados en las primeras 72 horas posteriores a la lesión (Yamanouchi et al., 2000). Cabría pensar que una intervención temprana sobre los neutrófilos especialmente, podría disminuir la proliferación de la matriz extracelular y la fibrosis.

Si no existe límite al desarrollo en cascada de la fibrosis, la actividad de los miofibroblastos no cesa, produciéndose a su vez un incremento en matriz extracelular. Obviamente se deteriora la arquitectura normal del tejido muscular dando como resultado una menor funcionalidad del músculo estriado (Chal and Pourquoié, 2017). Esto explicaría la pérdida de flexibilidad, fuerza y la propensión mayor a las roturas en la zona de lesión. La matriz extracelular reemplaza al hematoma que ocupaba la brecha de miofibras necróticas.

En el inicio, el tejido fibrótico consigue afianzar la zona del tejido muscular dañado, siendo muy positivo. Pero, a causa de que la matriz extracelular no deja de crecer, el tejido fibrótico se vuelve cada vez más denso impidiendo la regeneración de las miofibras (Figura 23). Este proceso puede ocurrir por tres mecanismos.

1.- La proliferación de la matriz extracelular confina el crecimiento regenerativo de las miofibras (Li and Huard, 2002; Sass et al., 2018).

2.- El tejido fibrótico, cuando esta denso, disminuye la elasticidad de las fibras y vuelve al músculo a ser más propenso a una nueva lesión en la misma zona.

3.- El tejido fibrótico inhibe la capacidad de los nuevos axones de llegar hasta las fibras musculares, desarrollándose más la denervación y la atrofia muscular.

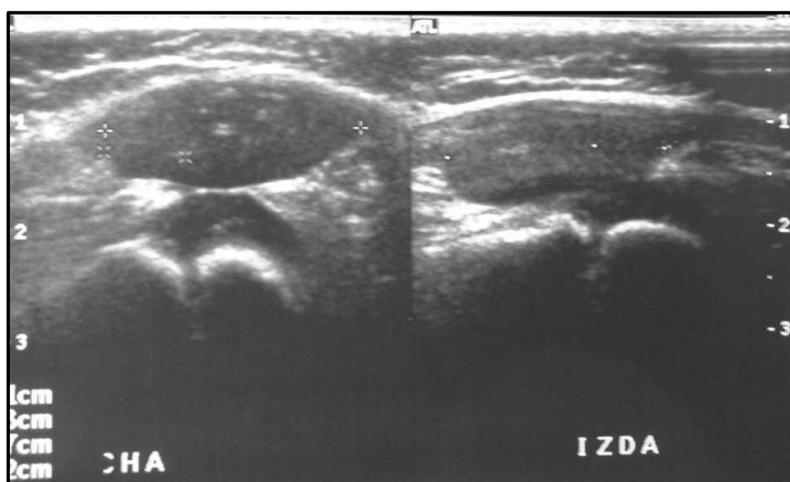


Figura 23: Fibrosis progresiva

Fuente: <https://www.analesdepediatria.org/es-fibrosis-progresiva-del-cuadriceps-articulo-13096169>

El factor TGF β -1 juega dos papeles importante en el proceso de la fibrosis. Primero, su sobre expresión es la principal causa de fibrosis. En segundo lugar, es el factor que inicia y mantiene en el tiempo la cascada de fibrosis dentro del musculo estriado (Sass et al., 2018). Por otra parte, un exceso de este factor produce inflamación crónica, fibrosis y acumulación de matriz extracelular. Dos mecanismos lo explicarían (Seeland et al., 2002; Ismaeel et al., 2019).

1.- El factor TGF β -1 estimula la producción de proteínas de la matriz extracelular y a la vez bloquea su degradación.

2.- El factor TGF β -1 promueve la diferenciación de precursores miogénéticos del linaje de los miofibroblastos más que de los mioblastos y así, favoreciendo la formación de elementos fibrosos más que la regeneración muscular esquelética (Ismaeel et al., 2019).

Fundamentalmente la expresión del factor TGF β -1 en el musculo esquelético puede jugar un papel muy importante en la cascada de la fibrosis que sigue al daño muscular (Tabla 1).

PROCESO PATOLÓGICO POSTERIOR A LA LESIÓN MUSCULAR

Lesión muscular	Destrucción de la membrana celular con liberación de calcio y formación de hematoma
Degeneración	Necrosis y autodestrucción con la posterior liberación de mioblastos
Inflamación	Infiltración celular (neutrófilos, macrófagos y linfocitos) que producen desbridación del tejido necrótico y promueven la liberación de factores de crecimiento.
Regeneración	Mioblastos proliferan y se fusionan dentro de las miofibrillas
Fibrosis	Sobreexpresión de moléculas, como TGF- β 1, estimulando proliferación de fibroblastos y sobrecrecimiento de la matriz extracelular y el tejido conectivo

Tabla 1: Proceso patológico posterior a una lesión

Fuente: Carlos Colmena. Modificado de Current Opinion Orthopedic, 2001

1.10. TERAPIAS DE RECUPERACIÓN DE LA LESIÓN

1.10.1. TERAPIA TRADICIONAL

Dependiendo de la severidad de la lesión, el tratamiento tradicional recomendado varía. Actualmente, para lesiones leves a moderadas se usan diferentes tratamientos, como son, el principio RICE (siglas en inglés de descanso + hielo + compresión + elevación), fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, movilización y ultrasonido. Aun así, la frecuencia de adherenciolisis

se produce en cerca del 44% de los pacientes (Connolly et al., 2015). Además el riesgo se ha correlacionado con la cantidad de tejido cicatrizado. De esta manera, la efectividad de este tratamiento está en controversia.

1.10.2. USO DE ANTIOXIDANTES

Son usados para prevenir la necrosis y la degeneración muscular. Tras una lesión muscular se producen radicales libres debido al hematoma. Estos exacerban la necrosis muscular expandiéndose a zonas no dañadas colindantes de las miofibras. La terapia adecuada para limitar la necrosis producida por el incremento de radicales libres, es la reducción de los mismos. El uso de antioxidantes, tales como la vitamina C, la vitamina E y el N-acetil-cisteína, puede ayudar si se ingieren antes de la realización de una actividad deportiva. Sin embargo, el resultado de los estudios con estos antioxidantes no han sido nada prometedores (Beaton et al., 2002)

1.10.3. USO DE FACTORES DE CRECIMIENTO HUMANO

Para mejorar la regeneración muscular con el fin de conseguir que la balanza se incline de la fibrosis a la regeneración, se debe mejorar la actividad de las células satélites musculares, aumentar la proliferación de mioblastos y otros importantes precursores mitógenos.

Respecto a los factores de crecimiento más estudiados y que se han caracterizado como potenciales mitógenos mioblasticos, incluyen IGF-1, bFGF, el factor de crecimiento nervioso y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (Menetrey et al., 2000; Mu et al., 2018). El mayor activador para la estimulación de las células satélites es el IGF-1, que además es un mediador

crítico en el crecimiento del músculo esquelético (Florini and Ewton, 1990; Snijders et al., 2015). Se ha demostrado que sobreexpresando IGF-1 humana en ratones transgénicos genéticamente manipulados, se detecta hipertrofia muscular (Coleman et al., 1995). Además, la administración de IGF-1 a pacientes ancianos disminuye la atrofia muscular asociada al envejecimiento (Rivas et al., 2014).

1.10.4. DROGAS ANTI-INFLAMATORIAS NO ESTEROIDEAS

Los AINEs o NSAIDs como se denominan en inglés (Non Steroid Anti-Inflammatory Drugs), han sido usados en el proceso inflamatorio con el objetivo de una intervención terapéutica adecuada para conseguir la recuperación de la lesión muscular. Los NSAIDs son un grupo de drogas diverso, con una función principal, el bloqueo de la vía de acción de la proteína Ciclooxygenasa (COX), con la consiguiente eliminación de la formación de las prostaglandina. Existen tres isoformas de la proteína COX. La COX-1 que es constitutivamente activa y que juega un papel importante en la homeostasis. Además, posee un papel secundario en la inflamación temprana. La COX-2 no es constitutiva y debe ser inducida y juega un papel principal en la mediación del proceso inflamatorio y del dolor asociado a la lesión (Murakami et al., 2000; Vane and Botting, 2003). La COX-3 es la menos estudiada y juega un papel importante en el proceso febril (Schwab et al., 2003).

Los NSAIDs bloquean de manera inespecífica la vía de las COX, por lo que han sido asociados a complicaciones severas, como daño hepático, sangrado gastrointestinal, fallo cardiaco y disfunción renal (Feenstra et al., 1997; Shim et al., 2016). Actualmente, se han desarrollado NSAIDs que son capaces de bloquear de manera específica la isoforma COX-2, reduciéndose la severidad y la frecuencia de efectos secundarios (Marsico et al., 2017).

Los mecanismos que presentan los NSAIDs para reducir la respuesta inflamatoria son varios. Son capaces de disminuir la concentración de prostaglandinas, que tienen un papel como mediadores del proceso inflamatorio (Trappe et al., 2001; Vellani et al., 2017), además suprimen la formación de radicales libres, inhibiendo la producción de superóxidos y ON (óxido nítrico). Por otra parte, juegan un papel en la reducción de la inflamación ya que bloquean la señal intracelular activada por las células inflamatorias e inhiben la agresión de los neutrófilos.

1.10.5. MASAJE Y SUS TÉCNICAS

El masaje terapéutico se utiliza en el tratamiento de trastornos neuromusculares y musculoesqueléticos, permitiendo la eliminación de toxinas, activando la circulación sanguínea y linfática y ayudando a un mejoramiento en el aporte de oxígeno a los tejidos implicados. Por otra parte, se utiliza para aliviar el estrés, la depresión y estados de ánimo negativos, ya que estimulan la producción de endorfinas orgánicas. El masaje terapéutico engloba toda una serie de técnicas de masaje que ayudan a este fin. Se divide en varias clasificaciones dependiendo de su especialidad (Field, 2016).



Figura 24: Masaje muscular

Fuente: <https://quebusca.com/usa.php>

Las técnicas básicas manuales generalmente se llevan a cabo con las manos del fisioterapeuta propagando una energía mecánica, donde por una parte actúa un sujeto activo, el fisioterapeuta y un sujeto pasivo que constituyen los tejidos corporales.

La clasificación de las técnicas de masaje se subdivide en siete:

1. roce
2. fricción
3. percusión
4. tachadura
5. compresión
6. amasamiento
7. vibración.

Además de estas técnicas de masaje, existen tres más pero son técnicas adaptadas ya que derivan de las básicas:

1. Sacudidas
2. Pellizcamiento
3. Torsiones

1.10.5.1. Roce

Entre las técnicas de masaje esta es la principal. Consiste en rozar o deslizar la mano sobre la piel del paciente sin producir deslizamiento de los tejidos subyacentes. El roce se introduce en cualquier sesión como primera maniobra, por lo que se conoce como maniobra inicial o de toma de contacto. También se emplea al finalizar el masaje. Para la realización de un roce correcto este debe ser lento y uniforme y solo se deben dejar los ritmos rápidos para efectos de calentamiento superficial (Weerapong et al., 2005).

Además también existe el roce profundo, que se diferencia del superficial por su alcance a tejidos más profundos, como son los músculos, sistema vascular, fascias, etc. Este roce profundo es una técnica mixta con desplazamiento y ligera presión.

1.10.5.2. Fricción

Permite una movilización de los planos superficiales de la piel sobre los planos más profundos. Debe ser tenida en cuenta la tolerancia del paciente y será tan amplio como la laxitud del tejido subcutáneo lo permita.

La mano del fisioterapeuta y la piel formaran una unidad y se intentará conseguir una presión controlada de los tejidos profundos constituyendo una de las características más importantes de esta técnica. Requiere menor superficie de contacto que la técnica de roce y la fricción se realiza mediante la utilización de los pulpejos. Los movimientos son típicamente los circulares y los elípticos, siendo breves y precisos. Posee un efecto hiperemiante o de activación térmica y dependiendo del tiempo de aplicación puede pasar de estimular a relajar e incluso ocasionar fuerte analgesia (Yi et al., 2018).

1.10.5.3. Percusión

En la percusión se necesita que las manos o parte de ellas produzcan ligeros golpes a ritmo rápido en la zona. Se deben escuchar sonidos huecos debido a la disposición en forma hueca de las manos. Desde el codo se debe desencadenar el movimiento para dotar de estabilidad a la muñeca en la percusión. La aplicación de percusiones produce principalmente irrigación importante muscular que se produce tras la respuesta nerviosa (Cafarelli et al., 1990).

1.10.5.4. Tachadura

Son muy importantes y consisten en movimientos sucesivos producidos con el borde cubital de la mano. Además, los dedos golpean unos con otros de manera elástica. Se produce una pérdida de contacto repetido con la piel, siendo su principal característica. La presión realizada debe estar equilibrada, en relación al efecto deseado y además dicha presión debe ser energética y el impacto debe ser muy breve.

Dentro de las técnicas de masaje constituyen las más estimulantes. Como ocurre con la percusión, son capaces de normalizar el tono muscular y producen un efecto circulatorio importante (Jay et al., 2014).

1.10.5.5. Compresión

En esta técnica no se produce desplazamiento de las manos, ni tampoco de los dedos. Básicamente se produce solo compresión y presión de la zona a tratar. Puede ser estática (o mantenida) o bien compresión con deslizamiento, siendo más o menos duradera en el tiempo. De forma estática o con deslizamiento se necesita mucha energía para su realización.

La compresión consiste en comprimir una determinada zona, abarcándola con los dedos o con las manos. Con el fin de conseguir efectos homogéneos es importante mantener la intensidad y el ritmo uniformes. Es recomendable realizarla al menos de 30 a 60 segundos que es el tiempo adecuado para un efecto analgésico (Hoffman et al., 2016).

1.10.5.6. Amasamiento

Se basa en la compresión de la piel, del tejido subcutáneo y de los músculos subyacentes. Requiere una mayor fuerza e intensidad de las manos. Consiste en coger, deslizar y levantar los tejidos musculares, intentando despegar los planos profundos, con el fin de desplazarlos transversalmente de un lado a otro, realizando al mismo tiempo presión y estiramiento con ligera torsión del vientre muscular. Es necesario el uso de deslizamientos (Ojoawo et al., 2018).

Las manos se disponen en la zona a amasar. Con los dedos se cogerá la masa muscular realizando con las manos un efecto de garra con sujeción fuerte de los tejidos, con el fin de realizar después un movimiento de despliegue con posterior torsión y estiramiento rítmico.

1.10.5.7. Vibración

Gracias a esta técnica se producen movimientos de pequeñas oscilaciones sobre la zona a tratar. Esto se consigue mediante una presión estática y variando la intensidad de la misma rítmicamente. Durante su aplicación las manos no deben de perder el contacto con la piel (Imtiyaz et al., 2014).

Requiere de un entrenamiento y cierta pericia manual para conseguir una frecuencia suficiente sin que el fisioterapeuta llegue a un agotamiento rápido. Produce efectos estimulantes en el sistema circulatorio periférico y calmante y sedativo a nivel del sistema nervioso.

1.10.5.8. Técnicas adaptadas a las técnicas básicas

1.10.5.8.1. Sacudidas

Son derivadas de la técnica de vibración. Presenta efectos suavizantes y relajantes en los músculos y manipulativos en las articulaciones. Son muy efectivas para reestablecer el tono muscular, acelerar la circulación y aliviar la tensión en los brazos y piernas.

1.10.5.8.2. Pellizcamiento

Combina percusión y tachadura. Se usa en fascias y tendones con el fin de estimularlos. Además se utiliza en el masaje deportivo junto con las sacudidas. Su recomendado en cicatrices adheridas para flexibilizar y despegar.

1.10.5.8.3. Torsiones

Presentan como base el amasamiento. Se usa para descontracturar ya que usa las fuerzas de cizallamiento provocando eliminación de la tensión muscular. Se aplica por ambas manos en un movimiento simultáneo. Se usara un medio deslizante (Sung et al., 2015).

1.10.6. LA TÉCNICA DEL FOAM ROLLING

Es bien conocido que el ejercicio de alta intensidad puede causar inflamación y daño en el tejido muscular, alterando la función celular (Terra et al., 2012). En el proceso inflamatorio, citoquinas, proteínas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias, fagocitos y leucocitos actúan como sustancias de recuperación y de regeneración después del daño muscular. Algunas de ellas, tales como interleuquina 1 β (IL-1 β) y tumor necrosis factor α , inician el proceso inflamatorio y por lo tanto actúan como proteínas pro-inflamatorias (Moresi et al., 2008). Por otra parte, proteínas anti-inflamatorias tales como PPAR- γ pueden suprimir los procesos inflamatorios (Liu et al., 2012; Thom et al., 2014).

En los últimos años, terapeutas físicos y profesionales del estado físico han comenzado a usar el laminado de espuma (Foam rollig) como un método para la recuperación con el fin de mejorar el rendimiento. El Foam rollig es una

técnica usada comúnmente que requiere que los individuos usen el Foam Rolling sobre su propia masa corporal para aplicar presión sobre el tejido muscular (Macdonald et al., 2014).

Diferentes estudios en los que se ha aplicado la técnica del Foam Rolling después de realizar pruebas físicas o aplicando un protocolo de inducción de dolor muscular de inicio tardío, han demostrado que el uso del Foam Rolling hace posible la reducción de la fatiga y el daño en el músculo (Cheatham et al., 20115; Romero-Moraleda et al., 2017), concluyendo que es una técnica efectiva para la recuperación muscular (Rey et al., 2017) (Figura 25).



Figura 25: Imagen de Foam Rolling

Fuente: <https://powerexplosive.com/tipos-de-Foam-roller/>

A pesar de esto, existen pocas evidencias respecto a la influencia del Foam Rolling a nivel fisiológico que puedan explicar los efectos anteriormente mencionados. Específicamente, algunos autores han observado que después de la aplicación de esta técnica hay una disminución de la velocidad de ondas pulsátiles y un aumento en la concentración de óxido nítrico, concluyendo que

pueden producirse beneficios en términos de función arterial (Okamoto et al., 2014). Por otra parte, resultados recientes han demostrado que se produce un aumento en el flujo sanguíneo después del uso de la técnica del Foam Rolling (Hotfiel et al., 2017), además se ha demostrado que la circulación sanguínea tiene un papel esencial en la cicatrización de los tejidos y, por lo tanto, en la recuperación muscular (Lohman et al., 2011).

A pesar de la falta de estudios científicos básicos que apoyen o rechacen la eficacia del Foam Rolling, la técnica es ampliamente utilizada en el mundo del deporte. A este respecto, este estudio pretende explorar los efectos del Foam Rolling en el músculo dañado y en la inflamación.

Puede ser muy interesante la idea de utilizar Foam Roller o cualquier otra herramienta que permita un auto-masaje de liberación miofascial, ya que es fácil de aplicar, no tiene un precio elevado y la investigación apunta a que puede ser útil.

1.11. MUERTE CELULAR POR APOPTOSIS

La apoptosis y la necrosis son los dos modos principales de muerte celular, cuyos mecanismos moleculares han sido ampliamente estudiados. Aunque inicialmente se pensó que constituían estados celulares mutuamente excluyentes, los hallazgos recientes revelan contextos celulares que requieren una interacción equilibrada entre estos dos modos de desaparición celular. Se han identificado varias moléculas iniciadoras y efectoras de muerte, vías de señalización y sitios subcelulares como mediadores clave en ambos procesos, ya sea constituyendo módulos comunes o, alternativamente, funcionando como un interruptor que permite a las células decidir qué ruta tomar, dependiendo de

la situación específica. Es importante destacar que la autofagia, que es un proceso predominantemente citoprotector, se ha relacionado con ambos tipos de muerte celular, cumpliendo una función pro-supervivencia o pro-muerte (Nikoletopoulou et al., 2013).

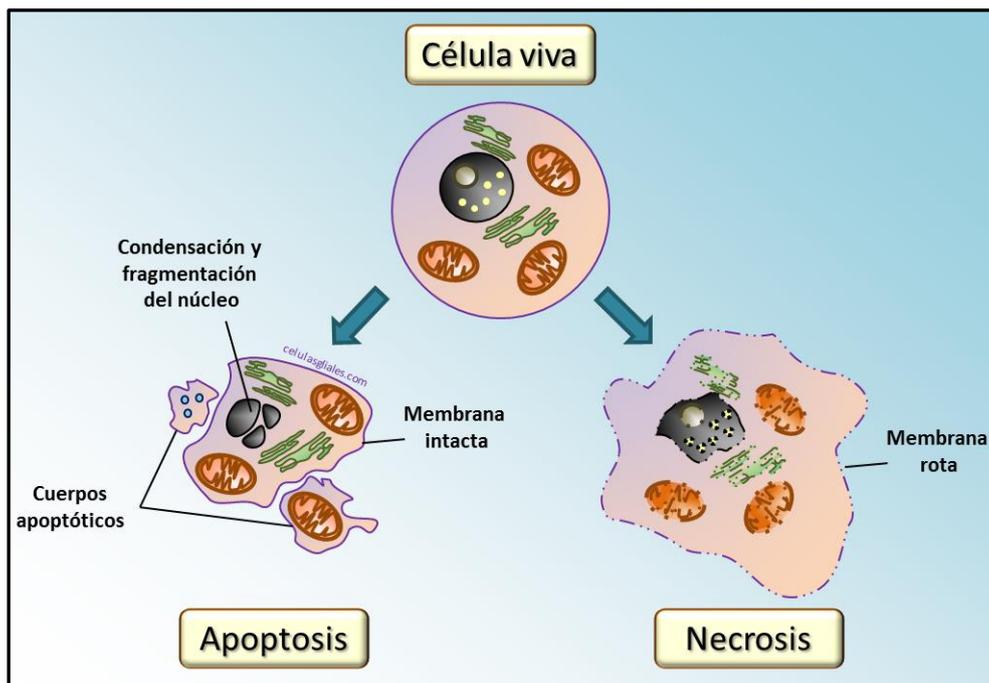


Figura 26: Muerte celular

Fuente: <https://celulasgliales.com/muerte-celular/>

En 1972 se empezó a usar el término apoptosis, como el mecanismo molecular de muerte programada que afecta a células individuales de un tejido y que constituye una medida fisiológica de renovación celular. Este mecanismo se encuentra bajo control genético y se caracteriza por un colapso celular sin rotura de la membrana celular, con streit et al., 2015nsación de la cromatina y con la rotura del ADN celular.

Las células apoptóticas son rápidamente fagocitadas por macrófagos, evitando así una reacción inflamatoria por secreción de citoquinas y por lo tanto, manteniendo la homeostasis tisular que asegura el estado de salud del organismo. En el tejido muscular puede ser inducida por diversos factores externos como la isquemia, el trauma, las infecciones y roturas musculares. Además son fundamentales en las interacciones entre las células vasculares del sistema vascular muscular (Zhang et al., 2017).

1.11.1. ETAPAS DE LA APOPTOSIS

El proceso apoptótico se diferencia en 3 etapas: la primera fase de iniciación, en la cual la célula recibe el estímulo que la conduce a la muerte. La segunda fase de ejecución, donde se producen los cambios morfológicos y bioquímicos característicos y una tercera fase de eliminación de los restos celulares, que son degradados por células fagocíticas (macrófagos).

1.11.1.1. Fase de iniciación

La apoptosis puede ser desencadenada por diferentes señales intracelulares, como el estrés biológico, que provoca la liberación por parte de la mitocondria del citocromo c, induciendo la vía intrínseca y otras señales como la inflamación local o generalizada producida por tóxicos, bacterias o virus. Las señales proapoptóticas se desencadenan por la unión de FAS (receptor de muerte) a su ligando, induciendo la vía extrínseca.

1.11.1.2. Fase de ejecución

En la célula apoptótica se produce una disminución del citoplasma con disminución del tamaño, condensación y fragmentación de la cromatina alrededor de la envoltura nuclear y la generación de vesículas que contienen parte de la cromatina y de los orgánulos celulares que van a constituir los cuerpos apoptóticos. Por otra parte, se producen cambios en la mitocondria, como desacoplamiento de la cadena de transporte de electrones para la síntesis del ATP, estrés oxidativo, reducción del potencial transmembrana y liberación del citocromo c al citoplasma.

Los cambios a nivel bioquímico de la señal de apoptosis que recibe la célula van a ser transmitidos a través de las enzimas caspasas. Estas enzimas constituyen una familia de proteasas de cisteína que muestran entre sí semejanzas en la secuencia de aminoácidos, en la estructura y en la especificidad. Son sintetizadas como pro-enzimas requiriendo un proceso proteolítico para su activación (hidrólisis del polipéptido inactivador de caspasas). Actualmente se conocen 14 caspasas, de las cuales 6 están relacionadas con procesos inflamatorios y las restantes con apoptosis, dividiéndose en caspasas iniciadoras (8, 9 y 12) y ejecutoras (2, 3 y 6) (Casanova, 2003).

Existen dos vías que llevan hacia la apoptosis, que son la vía extrínseca o mediada por receptor y la vía intrínseca o mitocondrial. La vía extrínseca se inicia por activación de los receptores de muerte localizados en la membrana celular. Estos receptores pertenecen a la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral, TNFR1, el Fas (Apo-1 o CD95), el DR3 (receptor de muerte 3 o Apo-3), el DR4 (receptor de muerte 4), el DR5 (Apo-2) y el DR6, presentes todos en la célula muscular.

La proteína adaptadora FADD media la inmediata activación de la caspasa 8. Una vez activada desencadena la producción de otras caspasas, incluyendo la 3 y paralelamente puede activar la vía intrínseca por activación de la proteína Bid, lo cual provoca la salida del citocromo c (proteína proapoptótica 1) y del Apaf1 (factor activador de la proteasa apoptótica 1) de la mitocondria al citoplasma, para formar el apoptosoma y de esta forma activar la caspasa 9 y la vía intrínseca (Angosto, 2012). Dentro de la mitocondria el citocromo c, implicado en la fosforilación oxidativa mitocondrial, es uno de los componentes requeridos para la activación de la caspasa-9 en el citosol.

El complejo III o complejo citocromo bc₁, obtiene dos electrones y se los transfiere a dos moléculas del citocromo c. Este último es un transportador de electrones hidrosoluble situado en el espacio intermembrana de la mitocondria (Li et al., 1997). El complejo IV o citocromo c oxidasa capta cuatro electrones y las cuatro moléculas de citocromo c y se transfieren al oxígeno para producir dos moléculas de agua. Además, se translocan cuatro protones al espacio intermembrana. Por los cuatro electrones. Por otra parte, cuatro protones formarán el agua al desaparecer de la matriz. En este proceso apoptótico se requiere la presencia de ATP, el cual marca el inicio de la cadena apoptótica a través de la activación de la caspasa-9. Esta funciona como una caspasa iniciadora que a su vez activa las caspasas 3, 6 y 7, caspasas efectoras que inician la vía intrínseca de la apoptosis. En la célula sana la membrana externa de la mitocondria expresa la proteína Bcl-2 que se une a la proteína Apaf-1, ocasionando el mantenimiento de su inactividad (subfamilia 1 anti-apoptótica).

Ante cualquier alteración del equilibrio interno de la célula y de la permeabilidad de la membrana mitocondrial. Se produce la liberación del citocromo c al citoplasma, donde su función cambia al interactuar con la proteína Apaf-1 en el dominio WD-40 y con la procaspasa 9 conformando con estas dos

proteínas un complejo denominado apoptosoma (Ortega-Camarillo et al., 2001; Hoyos et al., 2015). En el exterior de la mitocondria y con presencia del ATP, el citocromo c se une a la proteína Apaf-1 formando el complejo denominado apoptosoma que hidroliza la procaspasa-3 a caspasa-3. Esta se encarga de ejecutar la apoptosis, generando distintas proteína cuya suma resultará en el desmantelamiento ordenado y en la muerte de la célula.

En última instancia se origina la destrucción de las proteínas estructurales en el citoplasma, se produce la degradación del ADN cromosómico y se inicia la fagocitosis de los cuerpos apoptóticos (Hoyos et al., 2015; Agosto, 2012; Ortega-Camarillo et al., 2001; Li et al., 1997).

La vía intrínseca o mitocondrial se inicia por daño en el ADN, por estrés o por otras señales pro-apoptóticas, como la inducción de proteínas Bcl-2 (B-leucemia-celular-2). Este daño produce un aumento de la apoptosis mediante proteínas activadoras proapoptóticas como Bad, Bax y Bid (subfamilia II y III), que altera la permeabilidad de la membrana de los orgánulos intracelulares (Li et al., 1997; Wolter et al., 1997; Puthalakath et al., 1999). Cuando estas proteínas se unen a la membrana externa mitocondrial, se forman poros o canales que atraviesan la membrana y altera la permeabilidad reduciendo el potencial de membrana, aumentando el volumen mitocondrial y permitiendo la salida al citoplasma del citocromo c (Antonsson and Martinou, 2000).

1.11.1.3. La fase de eliminación

Las células apoptóticas y sus fragmentos experimentan varios cambios en las membranas que inducen a la fagocitosis. Así, son eliminadas antes de sufrir

una necrosis secundaria evitando la inflamación. Numerosos receptores de los fagocitos y ligandos inducidos en las células apoptóticas participan en la unión.

1.11.2. EL CITOCROMO C

El mecanismo de la apoptosis se inicia con la salida del Citocromo c. Esta es una proteína proapoptótica liberada por la mitocondria celular. Su salida al citoplasma provoca la activación de las caspasas, comenzando por la caspasa 9 y de la proteína Apaf-1 (factor activador de las proteasas apoptogénicas). El Citocromo c está implicado en la fosforilación oxidativa mitocondrial. El complejo III o complejo Citocromo bc1 consigue dos electrones y se los transfiere a dos moléculas de Citocromo c, que es un transportador de electrones hidrosoluble situado en el espacio intermembrana de la mitocondria (Becerra and Pimienta, 2009; Elmore, 2007). El complejo IV o Citocromo c oxidasa capta cuatro electrones de las cuatro moléculas de Citocromo c y se gasta oxígeno, para producir dos moléculas de agua. Por otra parte, se transfieren cuatro protones al espacio intermembrana por los cuatro electrones. Además, cuatro protones formarán el agua al desaparecer de la matriz.

En la célula sana, la membrana externa de la mitocondria expresa la proteína Bcl-2 que se une a la proteína Apaf-1 y se produce el mantenimiento de su inactividad. Si el equilibrio interno celular o la permeabilidad de la membrana mitocondrial se altera, se produce la liberación de Citocromo c al citoplasma, donde cambia su función al interactuar con la proteína Apaf-1 y con la procaspasa 9, formando con las dos proteínas un complejo llamado apoptosoma (Shakeri et al., 2017; Dorstyn et al., 2018).

1.11.3. LA PROTEÍNA SMAC/DIABLO

La proteína SMAC (second mitochondria-derived activator of caspases) o DIABLO (direct IAP binding protein with low pI), es la segunda proteína de la mitocondria activadora de las caspasas celulares. SMAC/DIABLO se une directamente a las proteínas inhibidoras de las proteínas apoptóticas (IAP's) como antagonista de la función. De esta manera permite la producción de la apoptosis por las caspasas iniciadoras, como la 9 y efectoras, como la 3, 6 o 7. Así, se asegura que estas proteínas antiapoptóticas no puedan parar la muerte celular programada que la célula ya ha iniciado (Fulda, 2015; Shi, 2002).

Últimamente numerosas investigaciones se han centrado en el diseño y desarrollo de moléculas SMAC de pequeño tamaño y capaces de mimetizar a la proteína SMAC, con el fin de realizar investigaciones en laboratorio o lograr estrategias terapéuticas encaminadas a la prevención y progresión del cáncer (Fulda, 2017; Bai et al., 2014). Por otra parte, con el fin de conocer los mecanismos "in vivo" para conseguir lograr estrategias terapéuticas encaminadas a la prevención y evitar la progresión del cáncer, numerosas investigaciones se han dirigido hacia el diseño y desarrollo de moléculas SMAC de pequeño tamaño miméticas a esta proteína (Becerra et al., 2009).

1.11.4. LA PROTEÍNA AIF

La proteína AIF, o factor inductor de apoptosis, se encuentra en el espacio intermembranal de la mitocondria. Es una proteína barredora contra la acción de los radicales libres y participa en las reacciones de oxidorreducción a nivel mitocondrial (Bano and Prehn, 2018).

Esta proteína se encuentra localizada en el cromosoma X en humanos. AIF1 es la más abundante de entre todos los tipos y es trasladada al citosol y recolocada al espacio intermembrana de la mitocondria cuando se induce. En la mitocondria, la proteína pasa a su configuración funcional con la ayuda del cofactor flavin adenin dinucleótido (FAD). AIF funciona como una NADH y NADPH oxidasa. Además, la parte N-terminal de AIF puede intervenir en las interacciones con otras proteínas o controlar las reacciones redox y la especificidad de sustrato (Hangen, et al., 2010).

La vida media de la proteína AIF puede verse incrementada por la proteína BAT3 utilizada para regular la organogénesis. De esta manera, si disminuye la proteína BAT3 se produce la fragmentación de AIF. El inhibidor de la apoptosis unido al gen x (XIAP) tiene la capacidad de influenciar, al igual que FAD, en la vida media de AIF. Estas dos moléculas no afectan a la unión de AIF a la membrana interna mitocondrial, pero si actúan sobre la estabilidad de AIF si esta se encuentra dentro de la mitocondria.

Durante el estrés AIF, se libera desde la mitocondria hacia el núcleo celular donde desencadena la condensación de la cromatina y la fragmentación del ADN de la célula. Cabe destacar que la proteína AIF es un efector de muerte independiente de las caspasas, tanto iniciadoras como efectoras, y que ocasiona cambios en el núcleo para iniciar la apoptosis (Nikolopoulou et al., 2013)

Es importante destacar que la deficiencia de AIF conduce a una disfunción mitocondrial severa, causando atrofia muscular y neurodegeneración en organismos modelo, así como en humanos. La deficiencia de AIF induce procesos patogénicos que alteran el metabolismo y finalmente comprometen la

homeostasis celular. Además, las mutaciones de AIFM1 actualmente conocidas e identificadas en humanos producen numerosos trastornos en términos de inicio y afectación de órganos y síntomas (Bano and Prehn, 2018).

Las rutas iniciadas por el SMAC/DIABLO, AIF o citocromo c coexisten en una misma célula y se pueden desencadenar por un mismo estímulo (Becerra et al., 2009). En los últimos años la investigación en enfermedades musculares se ha orientado a determinar cuál es la contribución del proceso de apoptosis y a desarrollar las terapias adecuadas para controlar este proceso. Se ha conseguido avanzar tanto a nivel celular en cultivos como en experimentos “in vitro”, donde el conocimiento tanto de los mecanismos moleculares que conducen a la muerte celular programada, como de las vías de señalización implicadas en dichos mecanismos, ha sido y es una prioridad.

1.12. EL PROCESO INFLAMATORIO

La inflamación contribuye de manera importante en la patología de las enfermedades implicadas en la disfunción del músculo esquelético (Londhe and Guttridge, 2015). Una serie de trastornos que incluyen miopatías inflamatorias y trastorno pulmonar obstructivo crónico (EPOC) se caracterizan por inflamación crónica o elevación de los mediadores inflamatorios. Si bien estos estados de enfermedad exhiben diferentes patologías, todos tienen en común la pérdida de masa del músculo esquelético y una fisiología desregulada del músculo esquelético. Las citocinas proinflamatorias son contribuyentes clave a la inflamación crónica que se encuentra en muchas de estas patologías.

La vía de señalización del factor nuclear kappa B (NF- κ B) se ha implicado en la regulación de la atrofia del músculo esquelético de entre otras proteínas

tales como, Insulin-like growth factor (IGF-1) y Fibroblast growth factor (FGF). En los mioblastos C2C12 cultivados, el NF- κ B es esencial para que el TNF- α medie una inhibición de la diferenciación muscular (Guttridge and Mayo, 2000). Asimismo, la sobreexpresión específica del músculo esquelético de la vía NF- κ B promueve la atrofia severa a través de la regulación de MuRF1.

1.12.1. MEDIADORES INFLAMATORIOS

Durante la lesión del músculo esquelético adulto, hay varios mediadores inflamatorios clave que rigen el proceso de reparación. Tanto las actividades fisiológicas como las patógenas se han atribuido a un número selectivo de citocinas inflamatorias.

Numerosos estudios han demostrado que el interferón γ (IFN- γ) influye en la homeostasis y reparación del músculo esquelético (Cheng et al., 2008). Se ha demostrado que la administración transitoria de IFN- γ exógeno después de la lesión mejora la cicatrización y limita la fibrosis (Foster et al., 2003). Esta respuesta es consistente con el fenotipo de que los ratones nulos IFN- γ exhiben una regeneración muscular defectuosa y el desarrollo de fibrosis (Cheng et al., 2008). Durante las primeras etapas de la regeneración muscular, la expresión de IFN- γ se regula al alza en el músculo (Cheng et al., 2008) y sus niveles disminuyen a medida que la etapa de regeneración pasa de la proliferación a la diferenciación. Mecánicamente, IFN- γ mejora la reparación muscular mediante la regulación de la migración de células inmunes específicas en el sitio de la lesión mediante la regulación positiva de la quimiocina y las moléculas de adhesión que incluyen quimiocina motivo C-C ligando 5 (Ccl-5, RANTES) y Ccl-2 (Gasque et al., 1996; Legoedec et al., 1997) y la molécula de adhesión intracelular (ICAM). TNF- α , es un ligando prototípico de la superfamilia TNF. Desempeña papeles centrales en la inflamación, la apoptosis y el desarrollo del

sistema inmune. TNF- α es producido por una amplia variedad de células inmunes y epiteliales y activa una serie de vías de señalización que median las respuestas pleotróficas específicas del tipo de célula (Grivennikov et al., 2005). TNF- α activa al menos 3 vías principales, incluida la activación de la quinasa terminal c-Jun (JNK) y la proteína activadora 1 (AP1) y la estimulación de la apoptosis a través del complejo receptor de TNF- α y la proteína Fas asociada con el dominio de muerte (FADD) y la activación de NF- κ B, que es un mediador primario del control transcripcional y de la señalización catabólica. La señalización de TNF- α puede estar mediada por TNFR1 o TNFR2. La unión de TNF- α a su receptor, inicia una cascada de señalización dependiente de IKK- γ que activa el heterodímero p50 / p65 inactivo y provoca su translocación hacia el núcleo donde disminuye la expresión del factor de transcripción pro-miogénico, MyoD. En el músculo esquelético, TNF- α influye en la proliferación de células satélite y acelera la transición de fase G1 a S (Raingeaud et al., 1995; Wajant et al., 2003).

Por todo ello, en el proceso inflamatorio se producen mediadores inflamatorios (como IL-1, IL-6 e IL-13) y anti-inflamatorios (como IL-10 o PPAR- α) que ayudan a la recuperación del músculo dañado.

HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

Terapeutas físicos y profesionales del estado físico han comenzado a usar el laminado de espuma (Foam Rollig) como un método para la recuperación con el fin de mejorar el rendimiento. La técnica hace posible la reducción del daño muscular y acelera la recuperación del mismo, siendo considerada actualmente como una técnica efectiva con similitudes con las de terapia manual.

Nuestra hipótesis consiste en que la aplicación del Foam Rolling, después del daño al músculo inducido por la notexina, puede actuar como una técnica protectora en los músculos cuádriceps de la rata, ocasionando una menor muerte celular y una disminución de la inflamación y del estrés oxidativo.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

1.- Estudiar el efecto de la notexina en la funcionalidad muscular de los cuádriceps de la rata.

2.- Estudiar el efecto del Foam Rolling en la funcionalidad muscular tras la inyección con notexina.

3.- Analizar los cambios producidos por la notexina en los músculos cuádriceps de la rata respecto a los aspectos siguientes:

- 1.- Muerte celular y apoptosis
- 2.- Expresión de mediadores pro-inflamación
- 3.- Expresión de mediadores anti-inflamación
- 4.- Estudio de las vías de señalización

4.- Estudiar los efectos de la técnica del Foam Rolling en los procesos de viabilidad celular, inflamatorios y en las vías de señalización tras la inyección con notexina en los músculos cuádriceps de la rata.

MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO Y PROCEDIMIENTO

Para inducir el daño muscular, se inyectó intramuscularmente 200 µl de notexina a 10 µg/ml en los cuádriceps de la rata. Las ratas control fueron inyectadas con 200 µl de solución salina.

El programa de Foam Rolling se inició a las 24 horas de la aplicación de la notexina. El Foam Rolling se aplicó a las patas traseras de las ratas (grupos R y N+R). El masaje fue aplicado mediante dos repeticiones de 60 segundos cada una, dos veces al día (10:00 y 17:00). La presión aplicada fue del 25% del peso de la rata. La medida del Foam Rolling fue de 4.5 x 2 cm.

4.2. ANTICUERPOS

- Anti-SMAC/DIABLO (1:500) revela los aminoácidos N-terminales para la unión de SMAC/DIABLO a IAP y la activación de las caspasas. Y es expresado en una variedad de tejidos humanos y ratón (Sigma-Aldrich Bitotechnology, Madrid, España).
- Anti-receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma (PPAR- γ) monoclonal (1:250) obtenido de Sigma-Aldrich Biothechnology, Madrid, España.
- Anti-NF- κ B (Nuclear factor- κ B) monoclonal (1:1000) obtenido de Sigma-Aldrich Biothechnology, Madrid, España.
- Anti-tubulina monoclonal (1:1000) obtenido de Cell Signalling, (Beverly, MA, USA).

- Anti-Factor Inductor de Apoptosis (AIF) monoclonal (1:500) obtenido de Sigma-Aldrich Biotechnology, Madrid, España.
- Anti-citocromo c monoclonal (1:500) obtenido de Sigma-Aldrich Biotechnology, Madrid, España.
- Anti-IkB monoclonal (1:500) obtenido de Sigma-Aldrich Biotechnology, Madrid, España.
- Anti-ciclooxigenasa 2 (COX-2) monoclonal (1:500) obtenido de Sigma-Aldrich Biotechnology, Madrid, España.
- Anti-P38 monoclonal (1:500) obtenido de Sigma-Aldrich Biotechnology, Madrid, España.
- Anti-P-P38 monoclonal (1:500) obtenido de Sigma-Aldrich Biotechnology, Madrid, España.
- Anti-STAT monoclonal (1:500) obtenido de Sigma-Aldrich Biotechnology, Madrid, España.
- Anti-Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) monoclonal (1:500) obtenido de Sigma-Aldrich Biotechnology, Madrid, España.

4.3. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Veinte ratas hembras de un peso entre 200-250 gramos de una edad de aproximadamente 7 meses fueron divididas en 4 grupos de 5 por grupo, incluyendo: control C

Los animales de experimentación empleados para el desarrollo de los ensayos *in vivo* fueron ratas hembras de la raza “*Sprague Dawley*” criadas y mantenidas en condiciones higiénicas, de climatización, de humedad y con ciclos de luz/oscuridad de 12/12 h, en el animalario de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia. Las ratas hembras fueron alimentadas con dieta sólida estándar y agua *ad libitum*.

Los animales fueron usados, en un justo número, con la intención de minimizar el sufrimiento animal y reducir el número de animales usados siguiendo los comités de ética locales (Comité de Ética para la investigación animal de la Universidad de Valencia. Con código de autorización: 1018/VSC/PA/0004) tipo 2) basándonos en las guías nacionales y europeas. El Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, artículo 33, establece las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluida la docencia. La Ley 32/2007 (artículo 7), para el cuidado de los animales, transporte, experimentación y sacrificio (B.O.E nº 34/2013) fueron reglamentados por el Parlamento Europeo y el Consejo con el fin de adoptar la Directiva 2010/63/UE, en sus artículos 59.2 y 47.5, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. La Comisión Europea, a través de la Recomendación 2007/526/CE de junio de 2007, estableció las directrices relativas al alojamiento y cuidado de los animales utilizados para experimentación.

4.4. TAMPONES

- Sustrato de ECL, es un quimioluminiscente para la detección de la actividad de anticuerpos y otras sondas de inmunotransferencia (Western-blot), suministrado por Pharmacia Biotechnology, (San Francisco, CA).
- TBS, se utiliza a menudo en inmunotransferencia, tanto para el lavado de la membrana como para la dilución del anticuerpo primario o secundario.
- TBST (TBS + Tween 20), es un tampón salino con un jabón, el tween 20, utilizado en el Western-blot.

4.5. ENSAYOS

4.5.1. EJERCICIO DE RENDIMIENTO

El rendimiento del ejercicio se determinó mediante dos pruebas diferentes: Balance Beam Test (Caminando por una barra) y Grip Strength (Fallos de las patas); En la primera prueba, se evaluó la capacidad de las ratas de pasar a lo largo de una barra estrecha para alcanzar una caja oscura. Para obligar a las ratas a pasar a lo largo de la barra, una luz blanca iluminó el comienzo de la barra. La barra de madera (1 x 150 cm) se elevó a una altura de 1,5 m sobre el piso. Se registraron, el tiempo requerido para cruzar a la caja de escape en el otro extremo de la barra y el número de fallos en las patas del miembro anterior y extremidades posteriores. Un deslizamiento de la pata se definió como cualquier pata que sale de la parte superior de la barra o cualquier uso de extremidades en el lado de la viga. El día de la prueba, se realizaron cuatro ensayos antes de registrar los resultados. El objetivo era familiarizar a las ratas con la barra y entrenarlas en presencia de la caja oscura al final de la barra. La barra estrecha y la caja oscura se limpiaron después de cada ensayo con etanol.

El segundo tipo de ensayo, grip strength (Fuerza de agarre), se midió de forma no invasiva aprovechando la tendencia instintiva de la rata a agarrar cuando son empujados suavemente hacia atrás. Este método se puede utilizar para probar el agarre de una extremidad utilizando una barra horizontal con un diámetro pequeño (0.1 cm), que se une a un transductor de fuerza. La latencia media a la caída se determinó con un valor máximo a los 60 s.

4.5.2. ENSAYO LOWRY

Es un ensayo bioquímico para la determinación del nivel total de las proteínas en una disolución, donde la concentración total de proteínas se detecta por la diferencia de color con respecto a una proteína dada (BSA = Suero albumina bovina).

4.5.3. ANÁLISIS DE INMUNO-TRANSFERENCIA (WESTERN-BLOT)

Se trataron las muestras con tampón de lisis y luego fueron mecánicamente degradadas para liberar las proteínas. La concentración de proteína se determinó utilizando el método de Lowry modificado (Peterson, 1977). La determinación cuantitativa de la concentración de proteínas es una de las pruebas que más frecuentemente deben hacerse en el laboratorio y los métodos colorimétricos ha permitido solventar el problema de cantidad de proteína por condición. En nuestro caso se utiliza el método de Lowry puesto que éste tiene la ventaja de ser extremadamente sensible, tanto que es capaz de detectar cantidades del orden de 10 µg de proteína. El inconveniente que presenta es que al evaluar los fenoles de la proteína (residuos de tiroxina), la intensidad de color resultante varía entre las distintas proteínas. Pero podemos solventar este problema ya que es posible calibrar el método con alguna proteína comercial conocida, como es la seroalbumina bovina (BSA).

Añadiendo el tampón (0, 125 M Tris-HCl pH 6,8, 2% SDS, 0,5% (v/v), 2-mecaptoetanol, 1% azul de bromofenol y 19% de glicerol) a la muestra, se obtuvo la liberación de las proteínas y la ruptura celular. Las proteínas obtenidas se calentaron durante 5 minutos a 95°C para desnaturalizar las proteínas. Antes de proceder a la carga en gel.

Las proteínas se separan en geles de SDS-PAGE (sodium dodecyl polyacrilamide gel electrophoresis). Es una técnica muy utilizada para la separación de proteínas de acuerdo a su movilidad electroforética (en función de la longitud de su cadena polipeptídica, masa molecular, modificaciones post-traduccionales y otros factores). Dichos geles son transferidos membranas de nitrocelulosa o de PVDF (poli-vinilo de fluoruro) en un ambiente húmedo utilizando un tampón de transferencia (Tris 25 mM, glicina 190 mM, 20% de metanol). El uso de membranas de nitrocelulosa o de PVDF depende de la potencia de la señal que se pretende obtener. Para anticuerpos con alta señal se puede usar nitrocelulosa. Para anticuerpos con señales más bajas se debe utilizar PVDF. Las membranas se bloquearon con un 5% de leche o 5% de suero albúmina bovina (BSA) en TBS-T (0.05% de Tween-20) durante media hora y se incubaron con anticuerpos primarios durante toda la noche a 4°C. Las membranas se lavaron 3 veces con tampón de lavado TBS-T (TBS, 0,2% Tween-20) y se incubaron con un anticuerpo secundario, bien anti-IgG de conejo o anti-IgG de ratón (Cell Señalización Tecnologías de Danvers, MA), anticuerpos conjugados con la enzima peroxidasa de rábano picante (HRP) durante 1h. El uso de la leche o del BSA depende de la potencia de anticuerpo, ya que usando BSA se consigue mayor fuerza de la señal. Las membranas se lavaron tres veces con TBS-T y las proteínas se detectaron utilizando el método de ECL tal como se especifica por el fabricante. Thermo Scientific Pierce ECL Western Blotting es un sustrato de peroxidasa que aumenta la

quimioluminiscencia (ECL) detectando la peroxidasa de rábano picante. Es un método sencillo y barato que sustituye a los productos más costosos sin necesidad de volver a optimizar las condiciones de sondeo o protocolos de incubación que hay que llevar a cabo con otros productos de otras casas comerciales o incluso de otros métodos. Se estudiaron las señales de autorradiografía utilizando el sistema de imagen digital ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare).

4.5.4. KITS DE ELISA

Se usaron los ensayos Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) para las proteínas inflamatorias interleukina 1 β (IL-1 β), interleukina 6 (IL-6), interleukina 10 (IL-10), interleukina 13 (IL-13) y TNF- α . Muestras de plasma fueron extraídas y la concentración (pg/ml) de las proteínas inflamatorias fue determinada usando kits de ELISA (Pierce Biotechnology. Inc.).

4.6. SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo realizando ANOVA de una vía mediante el programa Graphpad Prism 5. Todos los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar (DS). El t-test (Student's) se usó para dos grupos de análisis. El test de Turkey se usó para el análisis de grupos múltiples. Los resultados se consideraron significativos con una $p < 0.05$.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. TEST DE FUERZA DE AGARRE (GRIP STRENGTH TEST)

En la figura 27 podemos observar que no existe ninguna diferencia en el tiempo que están las ratas colgadas en la barra comparando las ratas controles y las ratas a las que solo se les aplicó el Foam Rolling. Siento su tiempo de permanencia colgadas por las patas de ± 40 segundos. Las ratas con notexina y con Foam Rolling y notexina presentaron una reducción significativa con respecto a las ratas control y Foam Rolling, con menor tiempo de permanencia (alrededor de 20 segundos para N y 30 segundos para N+R. Por otra parte, las ratas con N+R demostraban un tiempo en el test significativamente mayor con respecto a las ratas solo con notexina (Figura 27).

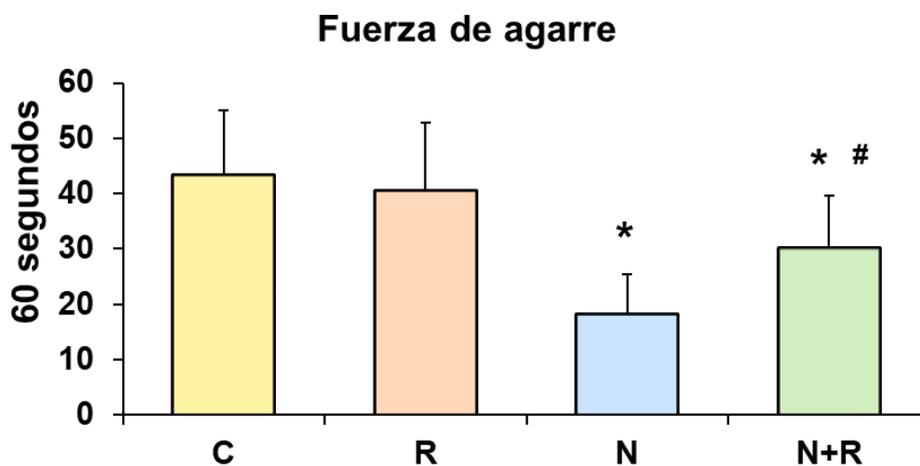


Figura 27: Test de fuerza de agarre (grip strength test)

Se analizaron con el test de fuerza de agarre (tiempo 60 segundos) ratas sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R). Los datos representan la media para el grupo con barras de error que indican un intervalo de confianza del 95%. * $p < 0.05$ vs. ratas control. # $p < 0.05$ vs. notexina

5.2. TEST CAIDAS DEL PIE (FOOT FAULS BEAM WALKING)

Para determinar la integridad de la musculatura de las patas de las ratas se registró el número de fallos de las patas y por lo tanto del posible desequilibrio al atravesar una barra estrecha. Un número significativo de caídas de la pata desde la barra (alrededor de 4 fallos) se detectaron en las ratas con notexina comparado con las ratas control ($p < 0.001$) (Figura 28). Tanto las ratas control, como las ratas solo con Foam Rolling o las ratas con N+R no presentaron diferencias significativas y su número ronda el valor numérico de 1 fallo. Comparando las ratas N+R y N se pudo observar que la aplicación del Foam Rolling producía una recuperación mayor en la musculatura que las ratas solo con N (Figura 28).

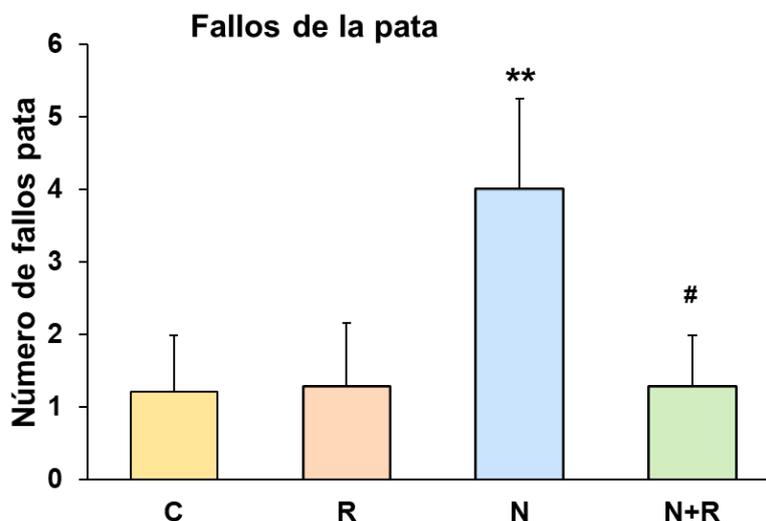


Figura 28: Test de fallos de la pata (Foot fauls beam walking)

Se analizaron con el test de fallos de la pata (número de fallos) ratas sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R). Los datos representan la media para el grupo con barras de error que indican un intervalo de confianza del 95%. ** $p < 0.01$ vs. ratas control. # $p < 0.05$ vs. notexina

5.3. TEST CAMINAR SOBRE BARRA (BEAM WALKING TEST)

En el caso de las ratas C y R no observamos diferencias significativas y su valor rondaba los 20 segundos. En ratas con N se producía un aumento significativo del tiempo que tardaba la rata en pasar por la barra hasta la plataforma de seguridad, comparado con el grupo control (130 segundos). El grupo de ratas N+R presento diferencias significativas con el grupo control, con un aumento en atravesar la barra (75 segundos). Pero este mismo grupo presentaba una disminución del tiempo significativa cuando se comparaba con el grupo N (Figura 29).

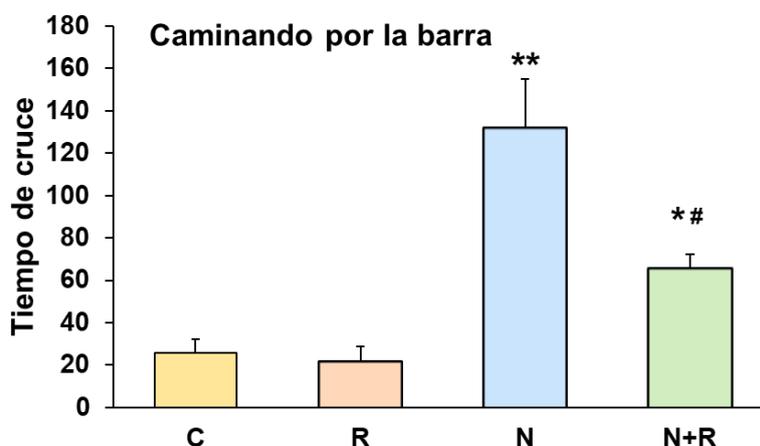


Figura 29: Test de caminar por una barra (Beam walking test)

Se analizaron con el test de caminar por una barra (tiempo en segundos) ratas sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R). Los datos representan la media para el grupo con barras de error que indican un intervalo de confianza del 95%. * $p < 0.05$ vs. ratas control. ** $p < 0.01$ vs. ratas control. # $p < 0.05$ vs. notexina

5.4. CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DEL CITOCROMO C

La proteína citocromo c es una proteína apoptótica dependiente de las caspasas y su liberación desde la mitocondria indica disfunción mitocondrial. En la figura 30, podemos observar que tanto las ratas C como R no presentaron diferencias significativas entre sí. La presencia de notexina produce un aumento significativo de la expresión proteica del citocromo c, indicando un aumento en la apoptosis. El uso del Foam Rolling después de la inyección con notexina (N+R) disminuyó la expresión del citocromo c a valores control (Figura 30).

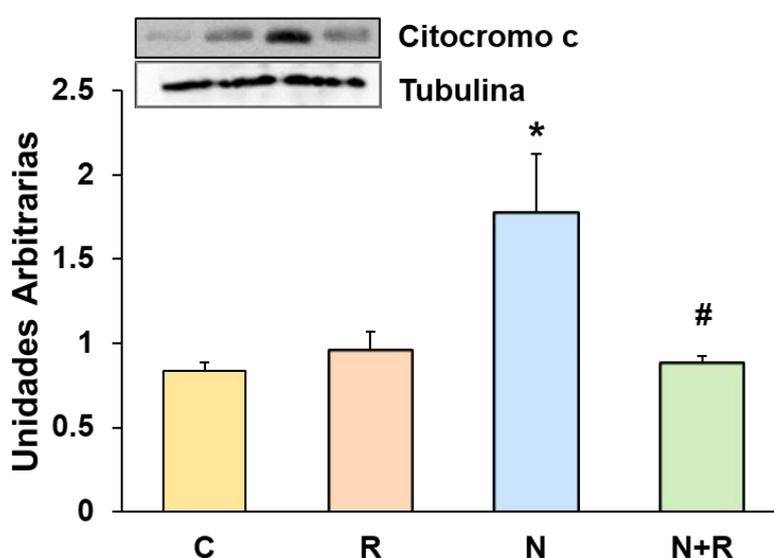


Figura 30: Expresión de Citocromo c en musculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot de la proteína citocromo c. Una imagen representativa se añade en la gráfica. Los datos representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes (n=5). * p <0.05 vs. control. # p <0.05 vs notexina.

5.5. EXPRESIÓN PROTEICA DE SMAC/DIABLO

La proteína SMAC/DIABLO es otra proteína apoptótica dependiente de las caspasas, al igual que el citocromo c. En la figura 31 podemos observar que

no existen diferencias entre los grupo C, R y N+R. En cambio el grupo N presenta un aumento significativo de la expresión de la proteína SMAC/DIABLO comparado con el grupo C. Por lo tanto, el grupo N+R consiguió bajar la expresión de esta proteína de manera significativa a valores control (Figura 31).

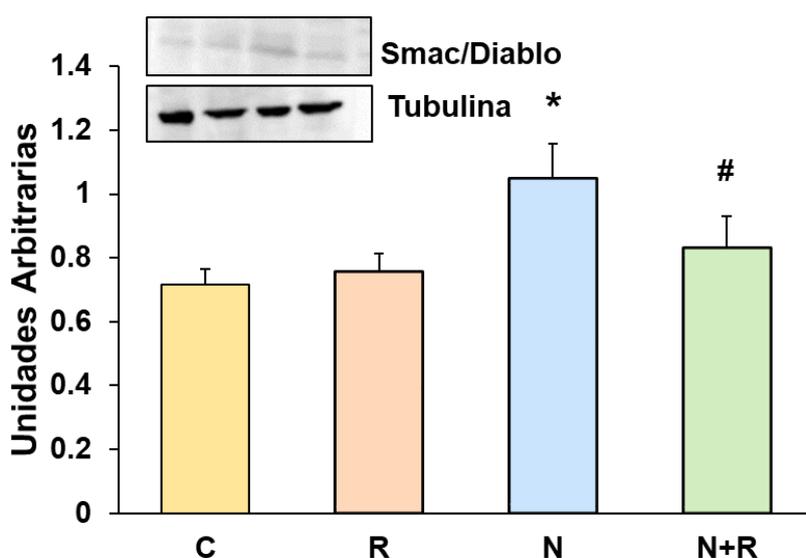


Figura 31: Expresión de SMAC/DIABLO en musculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot de la proteína SMAC/DIABLO. Una imagen representativa se añade en la gráfica. Los datos representan la media ± SD de seis experimentos independientes (n=6). *p<0.05 vs. control. #p<0.05 vs notexina.

5.6. EXPRESIÓN DE LA PROTEINA AIF

La proteína AIF (factor inductor de apoptosis) es una proteína apoptótica independiente de las caspasas, al contrario que el citocromo c y de SMAC/DIABLO. En la figura 32 se demuestra que hubo una expresión significativamente mayor de esta proteína en N y N+R que en ratas C y R (p <0.05) (Figura 32). Sin embargo, la aplicación del Foam Rolling después de la

inyección con notexina disminuyó significativamente la expresión de la proteína AIF, indicando una disminución de la apoptosis después del tratamiento con Foam Rolling (Figura 32).

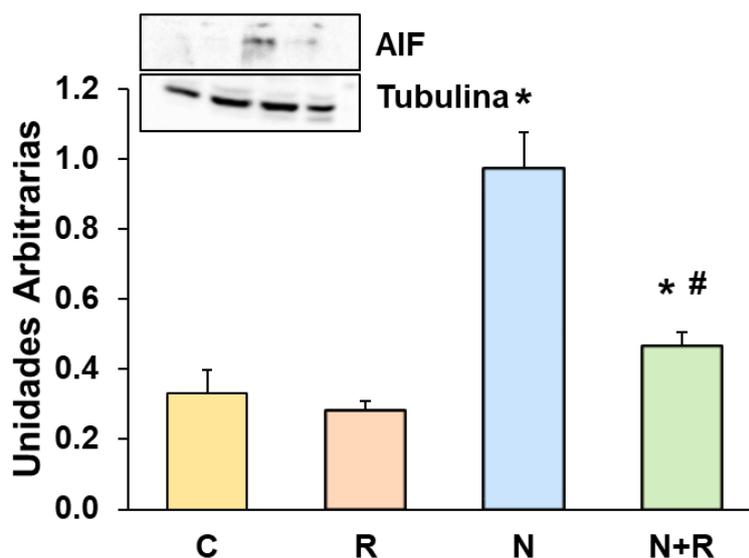


Figura 32: Expresión de AIF en musculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot de la proteína AIF. Una imagen representativa se añade en la gráfica. Los datos representan la media \pm SD de seis experimentos independientes ($n=6$). * $p<0.05$ vs. control. # $p<0.05$ vs notexina.

5.7. DETERMINACIÓN DE LA CITOQUINA IL-1 β

Los cambios en la cantidad de la citoquina pro-inflamatoria IL-1 β fue detectada por la técnica de ELISA. Para el ensayo se usó plasma procedente de ratas C, R, N y N+R. La figura 33 muestra que el valor de la citoquina no cambió para control y notexina, siendo de alrededor de 55 pg/ml. Las muestras de las ratas tratadas con notexina presentaron un aumento de 2.2 veces (\pm 120 pg/ml) en la citoquina IL-1 β comparado con el valor obtenido para las ratas control. Sin

embargo, las ratas N+R presentaban una disminución significativamente de la cantidad de citoquina (± 80 pg/ml) comparadas con las ratas tratadas con notexina. Este dato indica que se produce una disminución en la inflamación, mediada por IL-1 β , después del tratamiento con Foam Rolling ($p < 0.05$) (Figura 33).

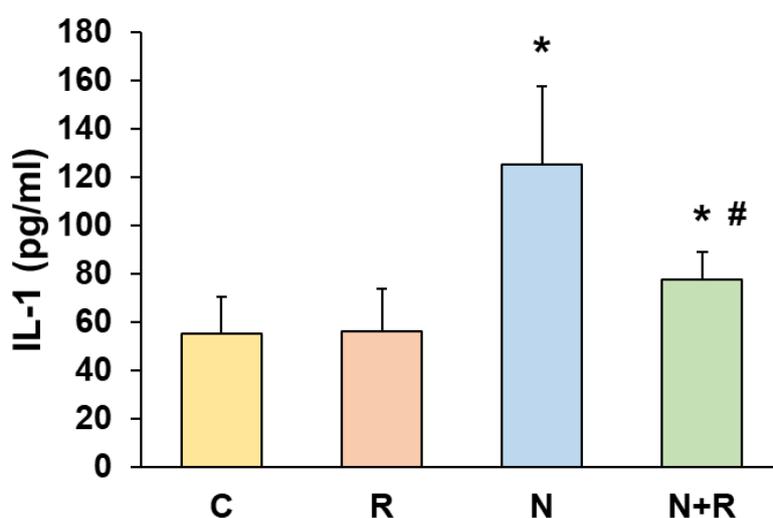


Figura 33: Determinación de la citoquina IL-1 β

Se obtuvo plasma de ratas sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) para la determinación de la IL-1 β mediante ELISA. Los valores representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes ($n=5$). * $p < 0.05$ vs. control. # $p < 0.05$ vs. notexina.

5.8. DETERMINACIÓN DE LA CITOQUINA IL-6

Mediante la técnica de ELISA se determinaron en plasma los niveles de la citoquina pro-inflamatoria IL-6. Como muestra la figura 34, los valores para los grupos, C y R fueron los semejantes con un valor aproximado de 57 pg/ml y no presentaron diferencias significativas entre ambos. En el caso del grupo N presentó un aumento con un valor aproximado de 80 pg/ml significativamente mayor que el grupo control ($p < 0.05$). Por otra parte, las ratas N+R presentaban una disminución significativamente de la cantidad de citoquina (± 62 pg/ml)

comparadas con las ratas tratadas con notexina ($p < 0.05$) y sin cambios significativos con respecto al grupo control (figura 34).

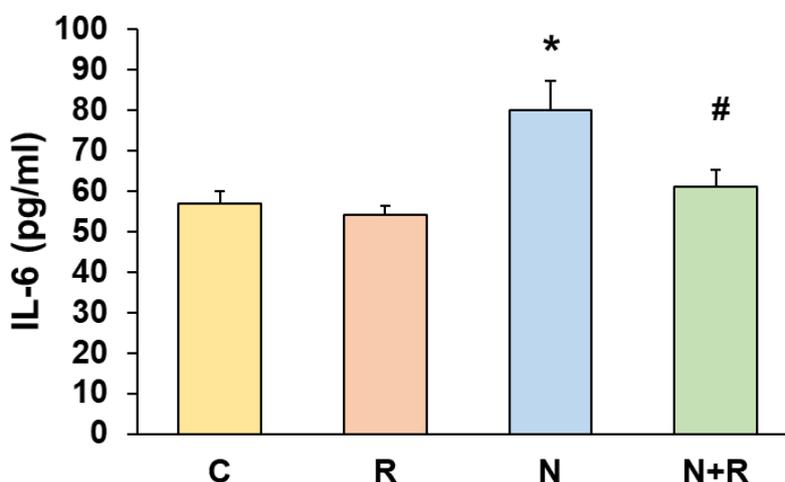


Figura 34: Niveles de la citoquina IL-6

Muestras de plasma de ratas sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) se usaron para la determinación por ELISA de la citoquina IL-6. Los valores representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes ($n=5$). * $p < 0.05$ vs. control. # $p < 0.05$ vs. notexina

5.9. DETERMINACIÓN DE LA CITOQUINA IL-10

Por técnica de ELISA se determinó en plasma de rata los niveles de la citoquina anti-inflamatoria IL-10. La figura 35 muestra que los valores para los grupos C, R y N no presentaron diferencias significativas con un valor aproximado de 70 pg/ml. En el caso del grupo N+R se produjo un aumento significativo con respecto a todos los grupos anteriormente mencionados (C, R y N), con un valor aproximado de 92 pg/ml, lo que indicaría un papel anti-inflamatorio de la citoquina IL-10 después del tratamiento con el Foam Rolling (figura 35).

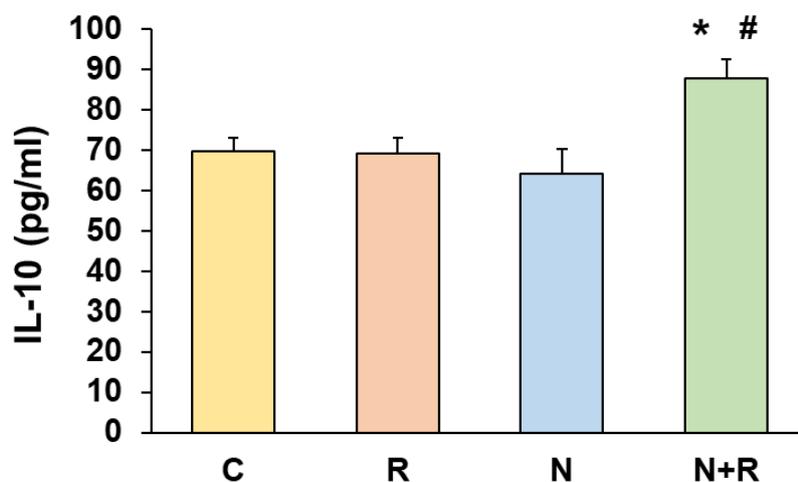


Figura 35: Niveles de la citoquina IL-10

Muestras de plasma de ratas sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) se usaron para la determinación por ELISA de la citoquina IL-10. Los valores representan la media \pm SD de seis experimentos independientes ($n=6$). * $p<0.05$ vs. control. # $p<0.05$ vs. notexina.

5.10. DETERMINACIÓN DE LA CITOQUINA IL-13

En plasma de rata se determinaron los niveles de la citoquina IL-13. La figura 36 indica que los valores para todos los grupos fueron similares sin diferencias significativas entre los grupos (± 9 pg/ml). Por lo tanto, ni la notexina ni el grupo con notexina al que posteriormente se le aplicó Foam Rolling (N+R) tuvieron ningún efecto en esta citoquina con respecto al grupo control (figura 36).

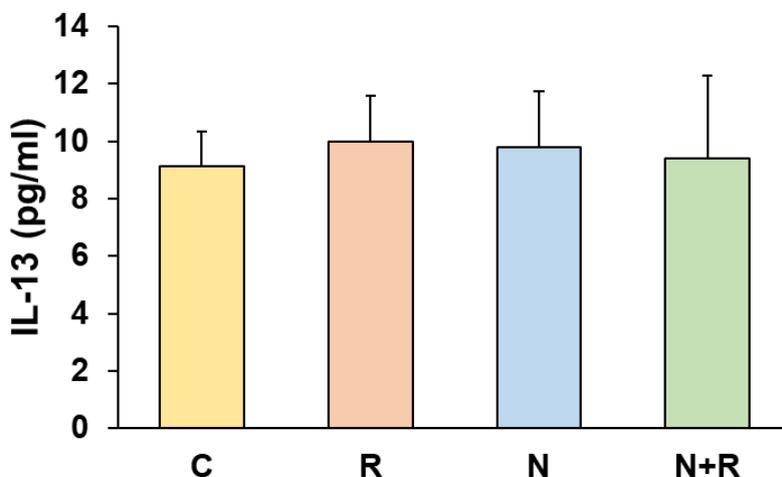


Figura 36: Niveles de la citoquina IL-13

Muestras de plasma de ratas sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) se usaron para la determinación por ELISA de la citoquina IL-13. Los valores representan la media \pm SD de seis experimentos independientes ($n=6$).

5.11. DETERMINACIÓN DE TNF- α

Mediante la técnica de ELISA se determinaron Los niveles de TNF- α en plasma de rata. La figura 37 muestra que no existen cambios significativos entre los valores de los grupos C y R (± 320 pg/ml). En cambio se produjo un incremento significativo de los valores en las ratas tratadas con notexina (± 1100 pg/ml). Las ratas con N+R presentaban una reducción significativa respecto al grupo N, aunque la disminución no llegaba a valores control. Este dato indica que se produce una disminución en la inflamación, mediada por TNF- α , después del tratamiento con Foam Rolling ($p<0.05$) (Figura 37).

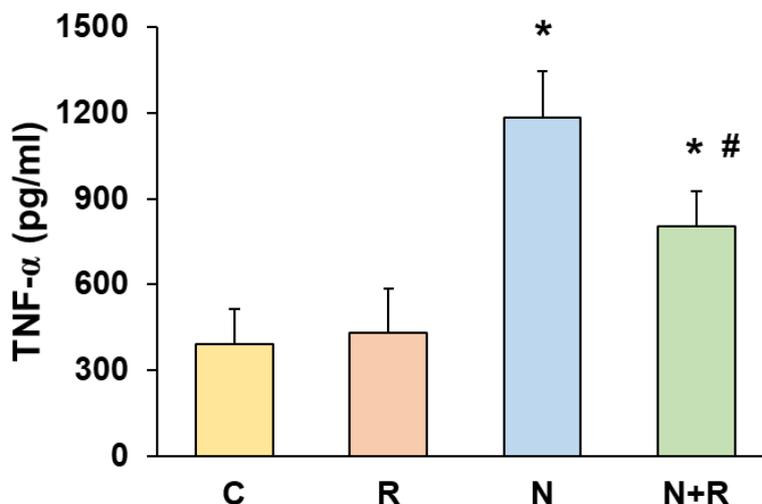


Figura 37: Niveles del factor TNF- α

Muestras de plasma de ratas sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) se usaron para la determinación por ELISA de la citoquina IL-13. Los valores representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes ($n=5$). * $p<0.05$ vs. control. # $p<0.05$ vs. notexina.

5.12. CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE NF- κ B

El factor de transcripción NF- κ B es una proteína pro-inflamatoria activado por mediadores pro-inflamatorios tales como, IL-1 β , IL-6 y TNF- α . En la figura 38, podemos observar que tanto las ratas C como R no presentaron diferencias significativas entre sí. La presencia de notexina produce un aumento significativo de la expresión proteica indicando un aumento en el proceso inflamatorio. El uso del Foam Rolling, después de la inyección con notexina (N+R), disminuyó la expresión del factor pero sin llegar a valores control (Figura 38).

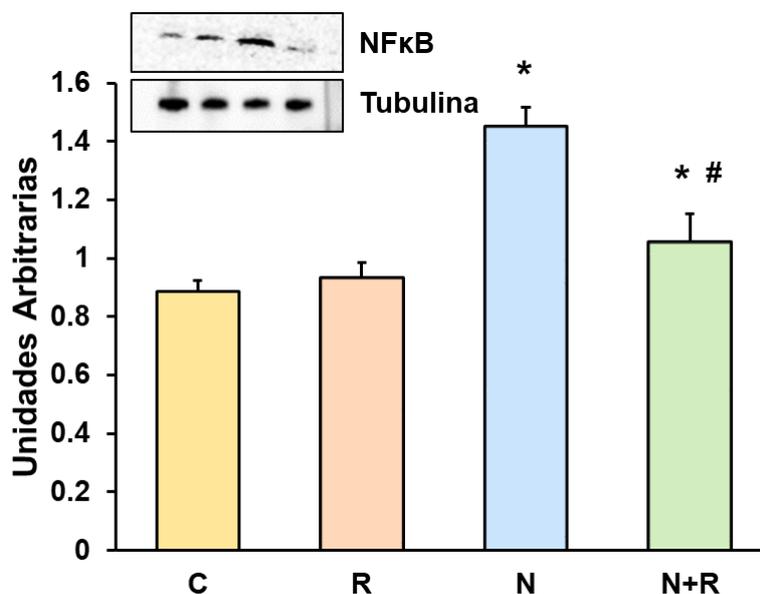


Figura 38: Expresión de NF-κB en músculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot del factor de transcripción NF-κB. Una imagen representativa se añade en la gráfica. Los datos representan la media ± SD de seis experimentos independientes (n=6). *p<0.05 vs. control. #p<0.05 vs notexina.

5.13. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA IκB

La figura 39 muestra los cambios detectados en la expresión de la proteína IκB. Las ratas R no presentaban diferencias significativas con respecto a las ratas C. Sin embargo, las ratas N presentaban una disminución significativa con respecto a las ratas C y R (p<0.05). Además, la expresión de este factor inhibidor se recuperó después del uso del Foam Rolling hasta llegar a valores C (Figura 39).

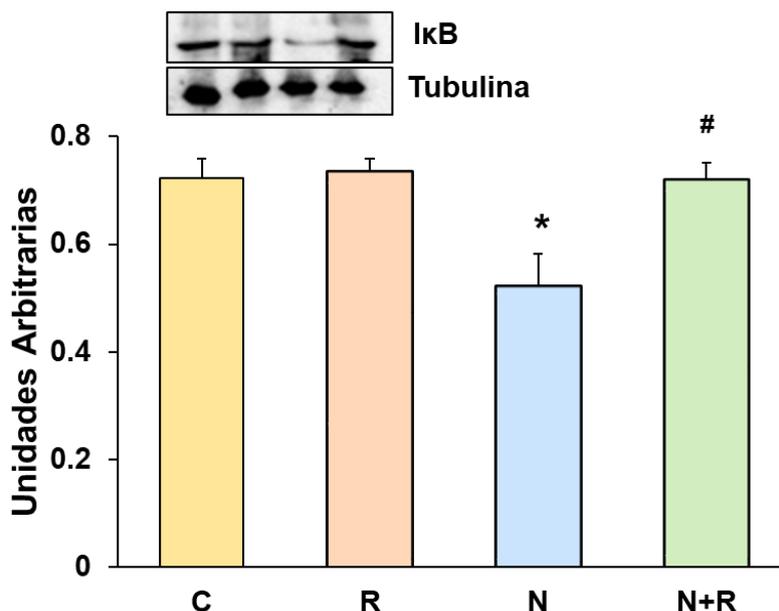


Figura 39: Expresión de IκB en músculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot del factor inhibidor IκB. Una imagen representativa se añade en la gráfica. Los datos representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes ($n=5$). * $p<0.05$ vs. control. # $p<0.05$ vs notexina.

5.14. DETERMINACIÓN DE PPAR- γ

La figura 40 muestra los cambios ocurridos en la expresión de la proteína PPAR- γ en el músculo de la rata. Las muestras provenientes de ratas C, R y N no presentaron diferencias significativas, en cambio las ratas N+R tuvieron un aumento significativo (1.5 veces) de la proteína anti-inflamatoria con respecto a control y al grupo N. Por lo que la aplicación del Foam Rollig parecía controlar la inflamación produciendo mayor cantidad de proteínas anti-inflamatorias, como era el caso de PPAR- γ .

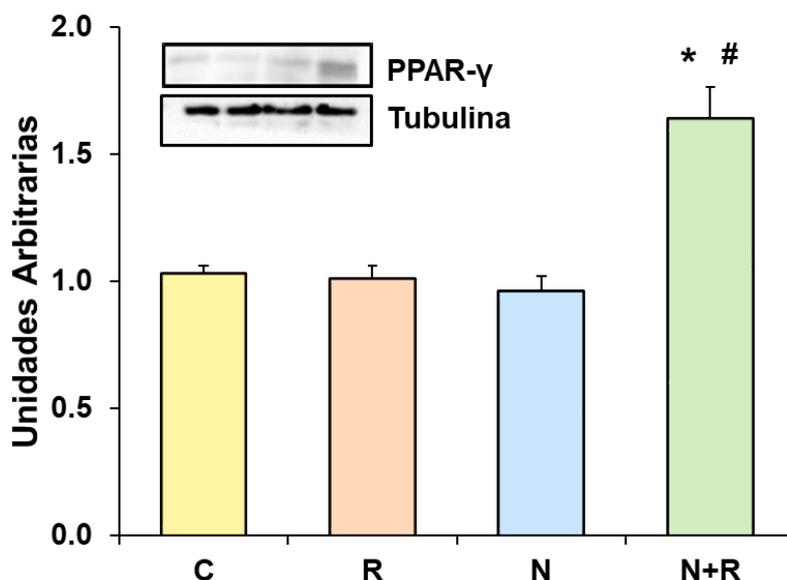


Figura 40: Expresión de PPAR- γ en músculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot de la proteína anti-inflamatoria PPAR- γ . Una imagen representativa se añade a la figura. Los datos representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes (n=5). *p<0.05 vs. control. #p<0.05 vs notexina.

5.15. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA COX-2

La figura 41 nos demuestra que la proteína COX-2 no presentó cambios significativos en su expresión ni en las muestras control ni en las muestras con Foam Rolling. Sin embargo, las muestras procedentes de ratas N presentaron un aumento significativo comparado con ratas C y R (p<0.05). Además, el tratamiento con Foam Rolling después de la inyección de notexina redujo significativamente la expresión de esta proteína pro-inflamatoria (Figura 41).

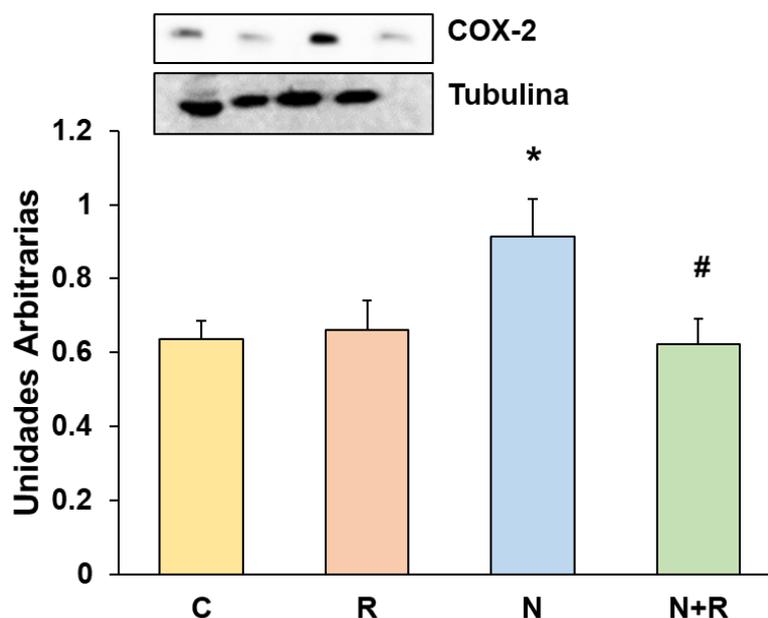


Figura 41: Expresión de COX-2 en músculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot de la proteína COX-2. Una imagen representativa se añade a la figura. Los datos representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes ($n=5$). * $p<0.05$ vs. control. # $p<0.05$ vs notexina.

5.16. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA P38

Muestras C, R, N y N+R fueron analizadas por la técnica de western-blot para determinar la expresión de la proteína p38. Esta proteína se encuentra involucrada en la formación de nuevos vasos. En la figura 42 se aprecian los cambios ocurridos en las diferentes muestras obtenidas. Tanto las muestras C como R y N, no presentaron diferencias significativas entre ellas. Por el contrario las ratas N+R presentaron un incremento significativo de 1.6 veces con respecto a C y a N. Este dato nos indicaría que la aplicación del Foam Rolling aumentaría la creación de nuevos vasos (Figura 42)

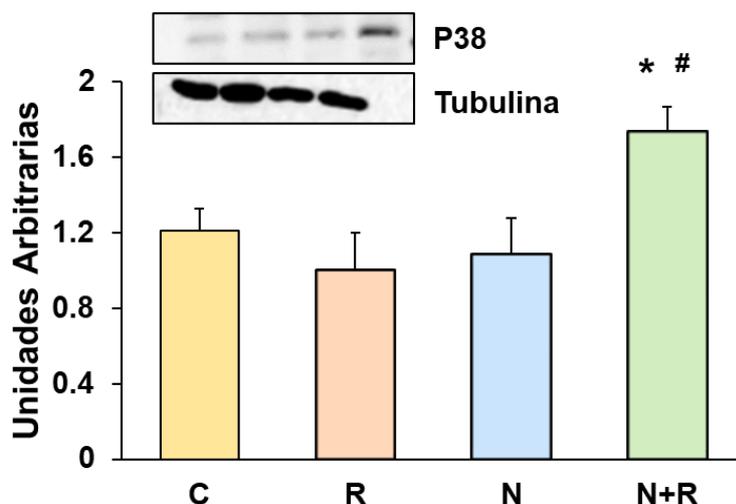


Figura 42: Expresión de p38 en músculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot de la proteína p38. Una imagen representativa se añade a la figura. Los datos representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes (n=5). * p <0.05 vs. control. # p <0.05 vs notexina.

5.17. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA P-P38

Se analizaron muestras C, R, N y N+R para la determinación de la expresión de la proteína p-p38. Un aumento tanto en la expresión de P38 como de p-p38 está relacionado con un incremento en la diferenciación celular y la liberación de citoquinas para la comunicación célula a célula. La figura 43 muestra que tanto el R como la N presentaron un aumento significativo de dicha proteína con respecto a las muestras C. Las muestras N+R nos muestra un aumento significativo con respecto a C y R. También se observó un aumento significativo con respecto a N, demostrando un aumento en la diferenciación celular, lo que permite una implicación de más células musculares en el funcionamiento muscular (Figura 43).

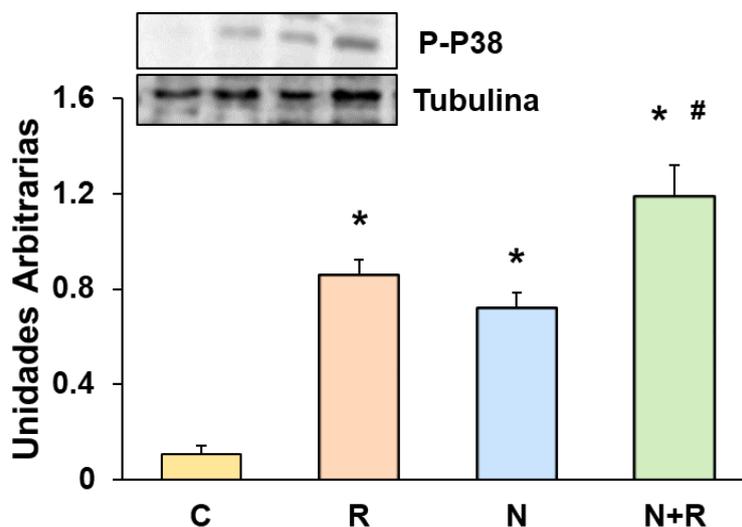


Figura 43: Expresión de p-p38 en músculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot de la proteína p-p38. Una imagen representativa se añade a la figura. Los datos representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes ($n=5$). * $p<0.05$ vs. control. # $p<0.05$ vs notexina.

5.18. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA STAT

Se analizaron muestras C, R, N y N+R para la determinación de la expresión del factor de transcripción STAT. La figura 44 muestra que las muestras tanto C como R no presentaron diferencias significativas entre ellas. Por el contrario, las muestras N y N+R mostraron una disminución significativo con respecto a C y R, lo que indicaría una disminución en la regeneración del músculo esquelético. Cabe destacar que el grupo N+R no produjo diferencias significativas con el grupo N, por lo que la aplicación del Foam Rolling no mejoró los efectos adversos producidos por la inyección de notexina (Figura 44).

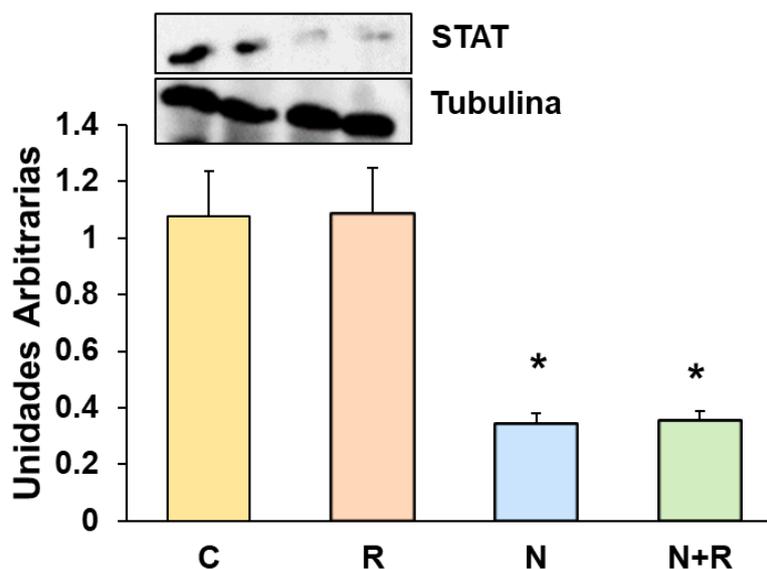


Figura 44: Expresión del factor de transcripción STAT

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot de la proteína STAT. Una imagen representativa se añade a la figura. Los datos representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes (n=5). * $p < 0.05$ vs. control.

5.19. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA VEGF

VEGF es una proteína señalizadora implicada en la vasculogénesis (formación de novo del sistema circulatorio embrionario) y en la angiogénesis (crecimiento de vasos sanguíneos provenientes de vasos preexistentes). Ningún cambio en el factor de crecimiento, VEGF, fue observado en los grupos, C, R y N según nos indica la figura 45. Sin embargo, un aumento significativo en la expresión de la proteína VEGF fue detectado tras la aplicación del Foam Rolling (N+R), demostrando un incremento en los factores de crecimiento endoteliales y mejorando la musculatura vascular ($p < 0.05$) (Figura 45).

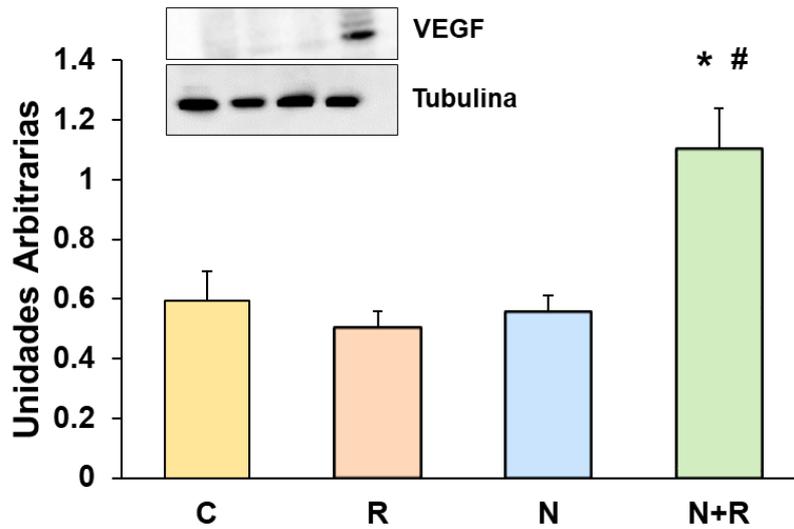


Figura 45: Expresión de la proteína VEGF en músculo de rata

Músculos de rata sin notexina (control, C y Foam Rolling, R) o con notexina (notexina, N y notexina con Foam Rolling, N+R) fueron obtenidos para determinación por western blot de la proteína VEGF. Una imagen representativa se añade a la figura. Los datos representan la media \pm SD de cinco experimentos independientes (n=5). * $p < 0.05$ vs. control. # $p < 0.05$ vs. notexina.

DISCUSIÓN

6. DISCUSION

Esta tesis se centra en demostrar los cambios fisiológicos que se producen por el uso de la técnica del Foam Rolling en el músculo de la rata. Este es el primer estudio que se realiza para justificar los efectos biomoleculares de la recuperación y la actuación después de la aplicación de esta técnica. Se estudian los efectos en el músculo de rata, haciendo hincapié en los cambios en la inflamación y en la muerte celular posiblemente inducidos.

Se ha demostrado que la técnica del Foam Rolling no tiene efectos negativos en el rendimiento de los deportistas (Behara and Jacobson, 2015; D' Amico and Gillis, 2017). También se ha detectado que después de la aplicación del Foam Rolling al músculo dañado con un protocolo de inducción, produce un aumento de la recuperación del mismo (Romero-Moraleda et al., 2017; D' Amico and Gillis, 2017). Todos estos cambios en la recuperación tras el ejercicio podrían estar relacionados con una disminución de la liberación de mediadores pro-inflamatorios, tales como IL-1 β , IL-6, IL-13 y TNF- α . También con factores de transcripción, tales como NF- κ B y STAT-3, y de proteínas proinflamatorias como COX-2.

Por otra parte, la técnica del Foam Rolling podría aumentar proteínas anti-inflamatorias como IL-10 y PPAR- γ , demostrando de esta manera una protección frente la inflamación y probablemente un incremento en la recuperación después del daño producido en nuestro caso por notexina. Durante el daño hay que tener en cuenta que podrían producirse cambios en la apoptosis, como nosotros detectamos, con reducción en la expresión de proteínas como SMAC/DIABLO, citocromo c y AIF. De esta manera se demostraría una disminución en la

inducción de la apoptosis y además probablemente un aumento de la recuperación del músculo dañado después de la aplicación del Foam Rolling.

La señalización de la proteína p38 es necesaria para la protección de las células frente a la apoptosis. Nuestros resultados demuestran una reducción de esta quinasa después de la inyección con el tóxico notexina, con un aumento significativo después del uso con Foam Rolling. De esta manera, se demuestra una protección del músculo después del uso del Foam Rolling. Por último, se demuestra un aumento en la angiogénesis que ha sido detectada debido a un incremento significativo en el factor VEGF que fue notado después del uso del Foam Rolling.

Actualmente permanece sin determinar el mecanismo exacto por el que la técnica de Foam Rolling conduce a la recuperación del músculo dañado, pero bajo nuestras condiciones la técnica Foam Rolling causa una disminución en la muerte celular debido a la apoptosis. El proceso de la apoptosis está asociado con la liberación de proteínas dependientes de las caspasas, tales como citocromo c y SMAC/DIABLO e independientes de las caspasas como AIF (Du et al., 2000). Estas proteínas son liberadas al citosol por la mitocondria en respuesta al daño a la célula. La apoptosis requiere de la regulación de genes específicos que se encuentran estrechamente coordinados en todos los acontecimientos ocurridos en la apoptosis (Daniel et al., 2004). El balance entre la supervivencia celular y la muerte celular es muy importante en el proceso de la mitosis y también en el proceso de la apoptosis, siendo este último muy importante para monitorizar todos los procesos. La proteína SMAC/DIABLO produce apoptosis mediante la neutralización de uno o más miembros de la familia de las proteínas de la familia de las IAP (proteínas inhibidoras de la apoptosis) (Tchoghandjian et al., 2016). Nuestros resultados demuestran una disminución de la expresión de la proteína SMAC/DIABLO después del uso de

la técnica del Foam Rolling en el músculo cuando comparamos con el músculo control. De acuerdo con esto, la disminución después de la aplicación de la técnica del Foam Rolling podría estar asociada con la inactivación de la vía de la apoptosis mitocondrial vía SMAC/DIABLO (Lee, 2016). Por lo tanto es posible que esta proteína juegue un papel importante en la disminución de la muerte cuando disminuye su expresión, como detectamos tras la aplicación del Foam Rolling, y pueda estar asociado con la inactivación de la vía de la apoptosis mitocondrial.

En condiciones normales, existe un equilibrio entre mediadores pro-inflamatorios y anti-inflamatorios para permitir el mantenimiento del equilibrio (Holdsworth and Gan, 2015). La mayoría de las citoquinas y de los mediadores proteicos regulan las funciones celulares, incluyendo la supervivencia de la célula, el crecimiento celular y la diferenciación (Yang and Hu 2018). Nuestros resultados demuestran que la técnica del Foam Rolling disminuye la liberación de citoquinas pro-inflamatorias como IL-1 β , IL-6 y TNF- α aplicada a los cuádriceps de la rata. El tóxico notexina puede producir daño en el músculo debido a diferentes mediadores inflamatorios como son IL-1 β , IL-6 y TNF- α (Swiderski et al., 2016).

La IL-6 (Interleucina-6) es una glucoproteína localizada en el cromosoma 7 y secretada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos. Su liberación está inducida por la IL-1 y se incrementa en respuesta a TNF α . Paradójicamente es una citoquina con actividad antiinflamatoria y proinflamatoria. Se ha demostrado que la concentración en el plasma de esta citoquina aumenta durante el ejercicio (Febbraio and Pedersen, 2002; Febbraio and Pedersen, 2005). Aunque se ha detectado en cantidades importantes en diferentes enfermedades (Nishimoto et al. 1989, 2005; Yoshizaki et al. 1989).

Un proceso inflamatorio prolongado en el tiempo o incontrolado es perjudicial, ocasionando una exacerbación del daño al músculo por sobreexpresión de factores pro-inflamatorios que aumentan la inflamación debido a un bucle de retroalimentación positiva. Este bucle induce la producción de más citoquinas o también posiblemente a especies reactivas de oxígeno (ROS), ocasionando al final efectos deletéreos a la célula (Jabari et al., 2018). En los primeros días del daño al tejido, se ha descrito un aumento en los niveles plasmáticos de TNF- α (Meador et al., 2008). Además, este permanece elevado debido a su acción en la necrosis celular (Bhatnagar et al., 2010). Por vías redox-dependientes o independientes, TNF- α acelera la degradación de las proteínas, que promueven el catabolismo de las células (Moresi et al., 2008), produce interrupción del proceso de diferenciación y ocasiona inhibición de la miogénesis (Langen et al., 2004). El TNF- α puede estimular el proceso catabólico, quizás siendo el primer mecanismo con potencial para actuar en el efecto catabólico, seguramente debido a una inhibición de la diferenciación de los mioblastos y por una producción de una respuesta regenerativa de las células satélite al músculo dañado (Moresi et al., 2008).

Se ha publicado que en cultivos de células musculares, el TNF- α directamente disminuye la proteína total muscular, incluyendo las cadenas de miosina pesadas de tipo rápido adultas (Moresi et al., 2008). En los resultados de esta tesis demostramos un aumento en los niveles plasmáticos debido a la notexina y una normalización a niveles normales después del tratamiento con la técnica de Foam Rolling aplicada durante 3 días.

Existen interacciones entre la acción del TNF- α y las citoquinas IL-1 β e IL-6 (Shi et al., 2018). La notexina causa un aumento significativo de las citoquinas IL-1 β e IL-6 comparado con el grupo control. Estas citoquinas ha sido asociada con los procesos inflamatorios (Roerink et al., 2017). Por otra parte, IL-1 β inhibe

la síntesis de proteínas en el músculo esquelético (Borghetti et al., 2014) y también en el músculo cardíaco (Yang et al., 2017). Los niveles plasmáticos de la citoquina IL-1 β e IL-6 vuelven a valores normales cuando la técnica de Foam Rolling es usada. Para realizar un resumen, la técnica de Foam Rolling y su tratamiento reduce las proteínas pro-inflamatorias en el músculo dañado.

En situaciones de inflamación, tales como el daño al músculo inducido por la notexina, se produce un aumento significativo de la expresión del factor de transcripción NF- κ B. En concordancia, nosotros encontramos un incremento significativo de la expresión de NF- κ B con una disminución en su inhibidor I κ B tras la inyección con notexina al músculo de la rata. Se ha publicado que el complejo citoquina-receptor es capaz de unirse a otras citoquinas y a otras proteínas de la matriz extracelular, produciendo señales inflamatorias que podrían ser muy importantes en muchas patologías diferentes (Bondareff, 2013). La técnica de Foam Rolling disminuye el factor de transcripción pro-inflamatorio NF- κ B, reduciendo la producción de proteínas pro-inflamatorias, tales como IL-1 β , IL-6, TNF- α y COX-2 (Abat et al., 2015).

La ciclooxigenasa inducible COX-2 y los factores neurotróficos que la envuelven se han relacionado con el dolor muscular de aparición tardía (Mizumura and Taguchi, 2016), como nosotros hemos demostrado después de la inyección con notexina. La técnica de Foam Rolling podría ser un método más adecuado para la recuperación de un músculo dañado que el uso de fármacos anti-inflamatorios no esteroideos u otras drogas. (Fleming et al., 2018).

Se ha demostrado y aparece en la literatura que la notexina provoca la inactivación de la cascada de las MAP quinasas (Chen and Chang, 2010), afectando a la vía de la p38 MAPK. Un aumento en la expresión de p38 y p-p38

ha sido relacionada con un incremento en la diferenciación celular y en la liberación de citoquinas en la comunicación intercelular (Krauss, 2017). La diferenciación de los mioblastos es compleja, con un programa transcripcional específico existente en el ciclo celular y con cambios en la morfología celular, produciendo elongación, alineamiento y produciendo miofibrillas sincitiales. Los factores de transcripción producidos son regulados por señales específicas de vías de traducción, incluyendo la vía de la p38 MAP quinasa (Krauss, 2017). En los resultados de esta tesis detectamos que el Foam Rolling produce un aumento de p38 y p-p38, mostrando una inducción de esta quinasa para proteger del daño producido por la notexina y aumentando la diferenciación de los mioblastos. Demostramos, también, que un incremento en ambas proteínas fue detectado en el grupo de notexina + Foam Rolling comparado con el grupo control y el que solo se le aplicó Foam Rolling. Esto demuestra un aumento en la diferenciación, permitiendo que se involucren más células musculares en las funciones de trabajo. Por otra parte, una inhibición de la proteína STAT ayuda a incrementar la regeneración del músculo esquelético, como fue detectado cuando el Foam Rolling se usó en ratas con notexina. Por lo tanto, cambios en la señalización después del uso del Foam Rolling en términos de regeneración y diferenciación conducen a aumentar la recuperación después del daño inducido por la notexina.

Debido a los posibles mecanismos protectores frente a la inflamación después de la aplicación de la técnica del Foam Rolling, podría ocurrir una disminución en las proteínas pro-inflamatorias y un aumento de las proteínas anti-inflamatorias después de la aplicación esta técnica. De hecho, la citoquina IL-10 y la proteína PPAR- γ juegan un papel fundamental en la respuesta inmune porque disminuyen la expresión de genes pro-inflamatorios (Saraiva M y O'Garra A, 2010; Bertin et al., 2013). Además, en el caso de PPAR- γ , también actuando como proteína anti-inflamatoria suprime la expresión y las señales del factor de transcripción pro-inflamatorio NF- κ B. (Wan et al., 2007). Por otra parte, datos recientes sugieren que la inhibición de la vía del factor de transcripción NF- κ B

estimula los neutrófilos de fenotipo N2, con efectos neuroprotectores (Cuartero et al., 2013). La proteína PPAR- γ aumenta la captación de ácidos grasos y la esterificación, promoviendo el almacenamiento de lípidos miocelulares, produciendo simultáneamente un aumento de la señalización de insulina y la formación de glucógeno. Todos estos efectos producen efectos positivos en la salud metabólica y en la reparación del tejido. Nuestros resultados demuestran que el uso del Foam Rolling a ratas con notexina significativamente aumenta la citoquina IL-10 y la proteína PPAR- γ .

Cambios en la apoptosis y en la inflamación después de la aplicación del Foam Rolling puede justificar la atenuación que se percibe en el dolor muscular en individuos adultos sanos después de daño muscular (Macdonald et al., 2014). La disminución en notar el daño muscular puede estar relacionado con una mejora de la recuperación muscular, que podría conducir a un incremento en el mejoramiento como han indicado y demostrado diferentes autores (Rey et al., 2017; Fleckenstein et al., 2017).

Por otra parte, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un factor paracrino que juega un papel principal en la promoción de la angiogénesis, mejorando la supervivencia celular, induciendo proliferación y aumentando la migración y la invasión de las células endoteliales. Además, VEGF es también inducido por el factor de transcripción PPAR- γ en los miofibroblastos cardiacos (Chintalgattu et al., 2007), disminuyendo la inflamación. Durante la contracción de las fibras musculares esqueléticas se produce un control del crecimiento de los capilares mediante la liberación de VEGF (Hoier et al., 2013). También, VEGF produce regeneración del músculo esquelético mediante la estimulación de la diferenciación miogénica a través de las células stem (Beckman et al., 2013).

Nuestros resultados demuestran un alto grado de expresión de la proteína, VEGF, después del uso de la técnica Foam Rolling a musculo dañado con notexina, indicando un papel activo en el mantenimiento del flujo sanguíneo en la microcirculación para conseguir un aumento de mediadores solubles anti-inflamatorios en el músculo. Estos resultados coinciden con los demostrados por Hotfiel et al., donde indican que el flujo sanguíneo aumenta significativamente después del uso de la técnica del Foam Rolling en participantes sanos y entrenados (Hotfiel et al., 2017). Además, la compresión causada por el Foam Rolling sobre los vasos sanguíneos reduce la rigidez arterial y mejora la función endotelial vascular (Okamoto et al., 2014). Este último dato podría ser debido a una distorsión del endotelio vascular, que podría inducir la liberación de óxido nítrico (NO) (Huey, 2018).

En suma, nuestro estudio demuestra un aumento en la apoptosis y en la inflamación después de la inyección con notexina (Figura 46) y una considerable mejora después de la aplicación del Foam Rolling (Figura 47).

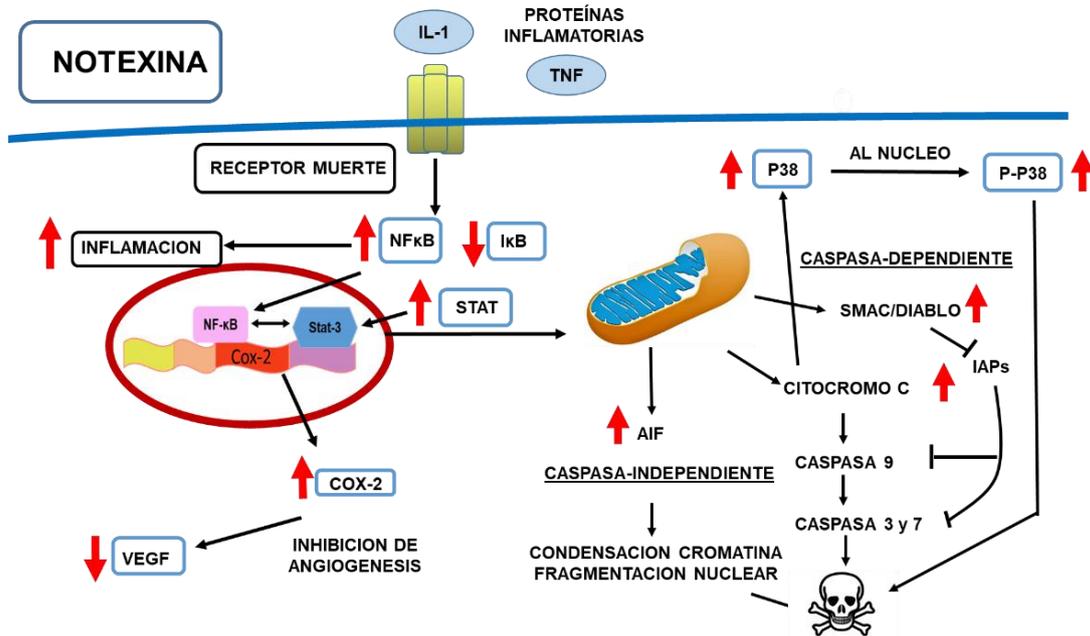


Figura 46: Acción de la notexina en el músculo de rata

Fuente: Carlos Colmena Zaragoza

Esta última figura 47 demuestra los cambios que la técnica del Foam Rolling puede causar al músculo dañado después de la inducción con notexina. En base a esta figura 47, se puede establecer que esta es la primera investigación sobre el efecto del Foam Rolling en el tejido muscular y que demuestra los mecanismos moleculares que subyacen. En aproximaciones posteriores se deberían realizar estudios en humanos para confirmar nuestros resultados.

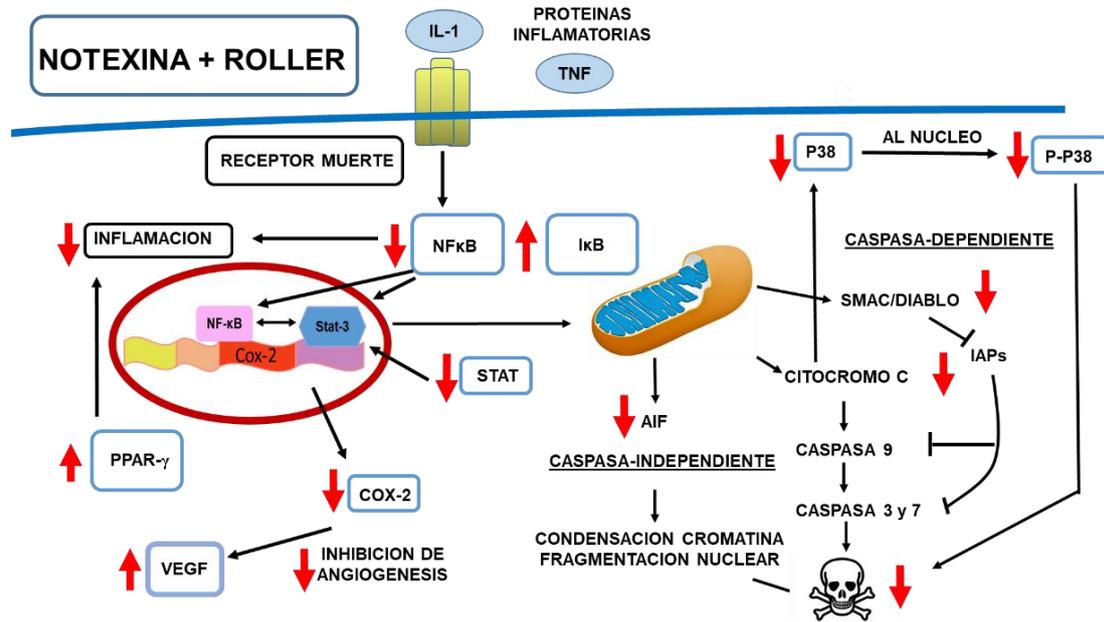


Figura 47: Acción del Foam Rolling tras notexina

Fuente: Carlos Colmena Zagozá

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. La inyección de notexina al músculo cuádriceps de la rata ocasiona una disminución de la fuerza de agarre, un aumento del tiempo al atravesar una barra estrecha, así como un aumento en los fallos de las patas para mantenerse en equilibrio sobre la barra. Todos estos resultados se ven revertidos gracias a la aplicación de la técnica del Foam Rolling. De esta manera, la notexina afecta a la funcionalidad muscular y la aplicación de la técnica del Foam Rolling mejora dicha funcionalidad.
2. El tóxico notexina disminuye la viabilidad celular y aumenta la apoptosis en cuádriceps de rata detectado por la disminución de citocromo c, SMAC/DIABLO y AIF. El Foam Rolling previene de la muerte celular y de la apoptosis inducida por la notexina.
3. La notexina ocasiona aumento de mediadores pro-inflamatorios (NF- κ B, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α y COX-2) y provoca un aumento de los procesos inflamatorios en el músculo de la rata. El Foam Rolling reduce los mediadores pro-inflamatorios e incrementa los anti-inflamatorios (IL-10 y PPAR- γ) que producen recuperación del daño inducido por la notexina.
4. Por otra parte, un aumento en la proteína VEGF por aplicación del Foam Rolling demuestra un incremento en factores de crecimiento endotelial, produciendo una mejora en la vascularización muscular.

Todos estos resultados justificarían el uso de la técnica de Foam Rolling como método para la recuperación muscular en atletas que han sufrido daño en el tejido.

BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFIA

- Abat F, Valles SL, Gelber PE, Polidori F, Jorda A, García-Herreros S, Monllau JC, Sanchez-Ibáñez JM. An experimental study of muscular injury repair in a mouse model of notexin-induced lesion with EPI® technique. *BMC Sports Sci Med Rehabil.* 2015;7:7. doi:10.1186/s13102-015-0002-0
- Adrain C, Creagh EM, Martin SJ. Apoptosis-associated release of Smac/DIABLO from mitochondria requires active caspases and is blocked by Bcl-2. *EMBO J.* 2001;20(23):6627-6636. doi:10.1093/emboj/20.23.6627
- Angosto D, López-Castejón G, López-Muñoz A, Sepulcre MP, Arizcun M, Meseguer J, Mulero V. Evolution of inflammasome functions in vertebrates: Inflammasome and caspase-1 trigger fish macrophage cell death but are dispensable for the processing of IL-1 β . *Innate Immun.* 2012;18(6):815-824. doi:10.1177/1753425912441956
- Antonsson B, Martinou JC. The Bcl-2 protein family. *Exp Cell Res.* 2000;256(1):50-57. doi:10.1006/excr.2000.4839
- Bai L, Smith DC, Wang S. Small-molecule SMAC mimetics as new cancer therapeutics. *Pharmacol Ther.* 2014;144(1):82-95. doi:10.1016/j.pharmthera.2014.05.007
- Bano D, Prehn JHM. Apoptosis-Inducing Factor (AIF) in Physiology and Disease: The Tale of a Repented Natural Born Killer. *EBioMedicine.* 2018;30:29-37. doi:10.1016/j.ebiom.2018.03.016
- Beaton LJ, Allan DA, Tarnopolsky MA, Tiidus PM, Phillips SM. Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34(5):798-805. doi:10.1097/00005768-200205000-00012

- Beatriz Laiz Díez, Jaime Ruiz Tovar, Carlos Ferrigni González, Manuel Durán Poveda. Hernia del músculo tibial anterior. A propósito de un caso. *Revista Chilena de Cirugía*. 2017;69:171-173.
- Becerra A, Warke RV, Martin K, Xhaja K, de Bosch N, Rothman A, Bosch I. Gene expression profiling of dengue infected human primary cells identifies secreted mediators in vivo. *J Med Virol*. 2009;81(8):1403-1411. doi:10.1002/jmv.21538
- Becerra LV, Pimienta HJ. Apoptosis neuronal: la diversidad de señales y de tipos celulares. *Colombia Médica*. 2009; 40(1):124-133.
- Beckman SA, Chen WC, Tang Y, Proto JD, Mlakar L, Wang B, Huard J. Beneficial effect of mechanical stimulation on the regenerative potential of muscle-derived stem cells is lost by inhibiting vascular endothelial growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(8):2004-2012. doi:10.1161/ATVBAHA.112.301166
- Behara B, Jacobson BH. Acute Effects of Deep Tissue Foam Rolling and Dynamic Stretching on Muscular Strength, Power, and Flexibility in Division I Linemen. *J Strength Cond Res*. 2017;31(4):888-892. doi:10.1519/JSC.0000000000001051
- Bertin B, Dubuquoy L, Colombel JF, Desreumaux P. PPAR-gamma in ulcerative colitis: a novel target for intervention. *Curr Drug Targets*. 2013;14(12):1501-1507. doi:10.2174/13894501113149990162
- Bhatnagar S, Panguluri SK, Gupta SK, Dahiya S, Lundy RF, Kumar A. Tumor necrosis factor- α regulates distinct molecular pathways and gene networks in cultured skeletal muscle cells. *PLoS One*. 2010;5(10):e13262. Published 2010 Oct 12. doi:10.1371/journal.pone.0013262
- Bischoff R, Heintz C. Enhancement of skeletal muscle regeneration. *Dev Dyn*. 1994;201(1):41–54. doi:10.1002/aja.1002010105
- Bondareff W. Age-related changes in brain extracellular space affect processing of amyloid- β peptides in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2013;35(1):1-6. doi:10.3233/JAD-122305

- Borghi SM, Zarpelon AC, Pinho-Ribeiro FA, Cardoso RD, Cunha TM, Alves-Filho JC, Ferreira SH, Cunha FQ, Casagrande R, Verri WA Jr. Targeting interleukin-1 β reduces intense acute swimming-induced muscle mechanical hyperalgesia in mice. *J Pharm Pharmacol*. 2014;66(7):1009-1020. doi:10.1111/jphp.12226
- Cafarelli E, Sim J, Carolan B, Liebesman J. Vibratory massage and short-term recovery from muscular fatigue. *Int J Sports Med*. 1990;11(6):474-478. doi:10.1055/s-2007-1024840
- Casanova I, Bosch R, Lasa A, Parreño M, Cespedes MV, Brunet S, Nomdedeu JF, Manges MA, Sierra J, Manges RA. A celecoxib derivative inhibits focal adhesion signaling and induces caspase-8-dependent apoptosis in human acute myeloid leukemia cells. *Int J Cancer*. 2008;123(1):217-226. doi:10.1002/ijc.23516
- Chal J, Pourquié O. Making muscle: skeletal myogenesis in vivo and in vitro. *Development*. 2017;144(12):2104-2122. doi:10.1242/dev.151035
- Cheatham SW, Kolber MJ, Cain M, Lee M. The effects of self-myofascial release using a foam roll or roller massager on joint range of motion, muscle recovery, and performance: a systematic review. *Int J Sports Phys Ther*. 2015;10(6):827-838.
- Chen KC, Chang LS. Notexin upregulates Fas and FasL protein expression of human neuroblastoma SK-N-SH cells through p38 MAPK/ATF-2 and JNK/c-Jun pathways. *Toxicol*. 2010;55(4):754-761. doi:10.1016/j.toxicol.2009.11.008
- Cheng M, Nguyen MH, Fantuzzi G, Koh TJ. Endogenous interferon-gamma is required for efficient skeletal muscle regeneration. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2008;294(5):C1183-C1191. doi:10.1152/ajpcell.00568.2007
- Chintalgattu V, Harris GS, Akula SM, Katwa LC. PPAR-gamma agonists induce the expression of VEGF and its receptors in cultured cardiac myofibroblasts. *Cardiovasc Res*. 2007;74(1):140-150. doi:10.1016/j.cardiores.2007.01.010

- Coleman ME, DeMayo F, Yin KC, Lee HM, Geske R, Montgomery C, Schwartz RJ. Myogenic vector expression of insulin-like growth factor I stimulates muscle cell differentiation and myofiber hypertrophy in transgenic mice. *J Biol Chem.* 1995;270(20):12109-12116. doi:10.1074/jbc.270.20.12109
- Connolly B, MacBean V, Crowley C, Lunt A, Moxham J, Rafferty GF, Hart N. Ultrasound for the assessment of peripheral skeletal muscle architecture in critical illness: a systematic review. *Crit Care Med.* 2015;43(4):897-905. doi:10.1097/CCM.0000000000000821
- Cuartero MI, Ballesteros I, Moraga A, Nombela F, Vivancos J, Hamilton JA, Corbí ÁL, Lizasoain I, Moro MA. N2 neutrophils, novel players in brain inflammation after stroke: modulation by the PPAR γ agonist rosiglitazone. *Stroke.* 2013;44(12):3498-3508. doi:10.1161/STROKEAHA.113.002470
- D'Amico AP, Gillis J. Influence of Foam Rolling on Recovery from Exercise-Induced Muscle Damage. *J Strength Cond Res.* 2019;33(9):2443-2452. doi:10.1519/JSC.0000000000002240
- Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell.* 2004;116(2):205-219. doi:10.1016/s0092-8674(04)00046-7
- Dixon RW, Harris JB. Myotoxic activity of the toxic phospholipase, notexin, from the venom of the Australian tiger snake. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1996;55(12):1230-1237. doi:10.1097/00005072-199612000-00006
- Doles JD, Olwin BB. The impact of JAK-STAT signaling on muscle regeneration. *Nat Med.* 2014;20:1094–5. doi: 10.1038/nm.3720
- Dorstyn L, Akey CW, Kumar S. New insights into apoptosome structure and function. *Cell Death Differ.* 2018;25(7):1194-1208. doi:10.1038/s41418-017-0025-z
- Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell.* 2000;102(1):33-42. doi:10.1016/s0092-8674(00)00008-8

- Duchesne E, Dufresne SS, Dumont NA. Impact of Inflammation and Anti-inflammatory Modalities on Skeletal Muscle Healing: From Fundamental Research to the Clinic. *Phys Ther.* 2017;97(8):807-817. doi:10.1093/ptj/pzx056
- El-Khoury GY, Brandser EA, Kathol MH, Tearse DS, Callaghan JJ. Imaging of muscle injuries. *Skeletal Radiol.* 1996;25(1):3-11. doi:10.1007/s002560050024
- Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4):495-516. doi:10.1080/01926230701320337
- Farges MC, Balcerzak D, Fisher BD, Attaix D, Béchet D, Ferrara M, Baracos VE. Increased muscle proteolysis after local trauma mainly reflects macrophage-associated lysosomal proteolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;282(2):E326-E335. doi:10.1152/ajpendo.00345.2001
- Febbraio MA, Pedersen BK. Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ?. *Exerc Sport Sci Rev.* 2005;33(3):114-119. doi:10.1097/00003677-200507000-00003
- Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J.* 2002;16(11):1335-1347. doi:10.1096/fj.01-0876rev
- Feenstra J, Grobbee DE, Mosterd A, Stricker BH. Adverse cardiovascular effects of NSAIDs in patients with congestive heart failure. *Drug Saf.* 1997;17(3):166-180. doi:10.2165/00002018-199717030-00003
- Field T. Massage therapy research review. *Complement Ther Clin Pract.* 2016;24:19-31. doi:10.1016/j.ctcp.2016.04.005
- Fleckenstein J, Wilke J, Vogt L, Banzer W. Preventive and Regenerative Foam Rolling are Equally Effective in Reducing Fatigue-Related Impairments of Muscle Function following Exercise. *J Sports Sci Med.* 2017;16(4):474-479.

- Fleming JA, Naughton RJ, Harper LD. Investigating the Nutritional and Recovery Habits of Tennis Players. *Nutrients*. 2018;10(4):443. Published 2018 Apr 3. doi:10.3390/nu10040443
- Florini JR, Ewton DZ. Highly specific inhibition of IGF-I-stimulated differentiation by an antisense oligodeoxyribonucleotide to myogenin mRNA. No effects on other actions of IGF-T. *J Biol Chem*. 1990;265(23):13435-13437.
- Foster W, Li Y, Usas A, Somogyi G, Huard J. Gamma interferon as an antifibrosis agent in skeletal muscle. *J Orthop Res*. 2003;21(5):798-804. doi:10.1016/S0736-0266(03)00059-7
- Fulda S. Smac mimetics as IAP antagonists. *Semin Cell Dev Biol*. 2015;39:132-138. doi:10.1016/j.semcdb.2014.12.005
- Fulda S. Smac Mimetics to Therapeutically Target IAP Proteins in Cancer. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2017;330:157-169. doi:10.1016/bs.ircmb.2016.09.004
- Gasque P, Morgan BP, Legoedec J, Chan P, Fontaine M. Human skeletal myoblasts spontaneously activate allogeneic complement but are resistant to killing. *J Immunol*. 1996;156(9):3402-3411.
- Grivennikov SI, Tumanov AV, Liepinsh DJ, , Kruglov AA, Marakusha BI, Shakhov AN, Murakami T, Drutskaya LN, Forster I, Clausen BE, Tessarollo L, Ryffel B, Kuprash DV, Nedospasov SA. Distinct and nonredundant in vivo functions of TNF produced by t cells and macrophages/neutrophils: protective and deleterious effects. *Immunity*. 2005;22(1):93-104. doi:10.1016/j.immuni.2004.11.016
- Guttridge DC, Mayo MW, Madrid LV, Wang CY, Baldwin AS Jr. NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia. *Science*. 2000;289(5488):2363-2366. doi:10.1126/science.289.5488.2363

- Hangen E, Blomgren K, Bénit P, Kroemer G, Modjtahedi N. Life with or without AIF. *Trends Biochem Sci.* 2010;35(5):278-287. doi:10.1016/j.tibs.2009.12.008
- Hangen E, De Zio D, Bordi M, Zhu C, Dessen P, Caffin F, Lachkar S, Perfettini JL, Lazar V, Benard J, Fimia GM, Piacentini M, Harper F, Pierron G, Vicecio JM, Benit P, de Andrade A, Hoglinnger G, Culmsee C, Rustin P, BlomgrenK, Cecconi F, Kroemer G, Modjtahedi NA. A brain-specific isoform of mitochondrial apoptosis-inducing factor: AIF2. *Cell Death Differ.* 2010;17(7):1155-1166. doi:10.1038/cdd.2009.211
- Hardy D, Besnard A, Latil M, et al. Comparative Study of Injury Models for Studying Muscle Regeneration in Mice. *PLoS One.* 2016;11(1):e0147198. Published 2016 Jan 25. doi:10.1371/journal.pone.0147198
- Harris JB, Johnson MA, Karlsson E. Proceedings: Histological and histochemical aspects of the effect of notexin on rat skeletal muscle. *Br J Pharmacol.* 1974;52(1):152P.
- Hoffman MD, Badowski N, Chin J, Stuempfle KJ. A Randomized Controlled Trial of Massage and Pneumatic Compression for Ultramarathon Recovery. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2016;46(5):320-326. doi:10.2519/jospt.2016.6455
- Hoier B, Prats C, Qvortrup K, Pilegaard H, Bangsbo J, Hellsten Y. Subcellular localization and mechanism of secretion of vascular endothelial growth factor in human skeletal muscle. *FASEB J.* 2013;27(9):3496-3504. doi:10.1096/fj.12-224618
- Honda H, Kimura H, Rostami A. Demonstration and phenotypic characterization of resident macrophages in rat skeletal muscle. *Immunology.* 1990;70(2):272-277.
- Hotfiel T, Swoboda B, Krinner S, Grim C, Engelhardt M, Uder M, Heiss RU. Acute Effects of Lateral Thigh Foam Rolling on Arterial Tissue Perfusion Determined by Spectral Doppler and Power Doppler Ultrasound.

- J Strength Cond Res. 2017;31(4):893-900.
doi:10.1519/JSC.0000000000001641
- Hoyos V, Del Bufalo F, Yagyu S, Ando M, Dotti G, Suzuki M, Bouchier-Hayes L, Alemany R, Brener MK. Mesenchymal Stromal Cells for Linked Delivery of Oncolytic and Apoptotic Adenoviruses to Non-small-cell Lung Cancers. *Mol Ther.* 2015;23(9):1497-1506. doi:10.1038/mt.2015.110
 - Huard J, Li Y, Fu FH. Muscle injuries and repair: current trends in research. *J Bone Joint Surg Am.* 2002;84(5):822-832.
 - Huey KA. Potential Roles of Vascular Endothelial Growth Factor During Skeletal Muscle Hypertrophy. *Exerc Sport Sci Rev.* 2018;46(3):195-202. doi:10.1249/JES.0000000000000152
 - Hurme T, Kalimo H. Adhesion in skeletal muscle during regeneration. *Muscle Nerve.* 1992;15(4):482-489. doi:10.1002/mus.880150412
 - Imtiyaz S, Veqar Z, Shareef MY. To Compare the Effect of Vibration Therapy and Massage in Prevention of Delayed Onset Muscle Soreness (DOMS). *J Clin Diagn Res.* 2014;8(1):133-136. doi:10.7860/JCDR/2014/7294.3971
 - Ismaeel A, Kim JS, Kirk JS, Smith RS, Bohannon WT, Koutakis P. Role of Transforming Growth Factor- β in Skeletal Muscle Fibrosis: A Review. *Int J Mol Sci.* 2019;20(10):2446. Published 2019 May 17. doi:10.3390/ijms20102446
 - Jabari D, Vedanarayanan VV, Barohn RJ, Dimachkie MM. Update on Inclusion Body Myositis. *Curr Rheumatol Rep.* 2018;20(8):52. Published 2018 Jun 28. doi:10.1007/s11926-018-0755-z
 - Järvinen TA, Järvinen TL, Kääriäinen M, Aärimaa V, Vaittinen S, Kalimo H, Järvinen M. Muscle injuries: optimising recovery. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2007;21(2):317-331. doi:10.1016/j.berh.2006.12.004
 - Järvinen TA, Järvinen TL, Kääriäinen M, Kalimo H, Järvinen M. Muscle injuries: biology and treatment. *Am J Sports Med.* 2005;33(5):745-764. doi:10.1177/0363546505274714

- Jay K, Sundstrup E, Søndergaard SD, Behm D, Brandt M, Særvoll CA, Jakobsen MD, Andersen LL. Specific and cross over effects of massage for muscle soreness: randomized controlled trial. *Int J Sports Phys Ther.* 2014;9(1):82-91.
- Krauss RS. Regulation of Skeletal Myoblast Differentiation by Drebrin. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1006:361-373. doi:10.1007/978-4-431-56550-5-22
- Kyriakides C, Austen W Jr, Wang Y, Favuzza J, Kobzik L, Moore Jr FD, Hechtman HB. Skeletal muscle reperfusion injury is mediated by neutrophils and the complement membrane attack complex. *Am J Physiol.* 1999;277(6):C1263-C1268. doi:10.1152/ajpcell.1999.277.6.C1263
- Langen RC, Van Der Velden JL, Schols AM, Kelders MC, Wouters EF, Janssen-Heininger YM. Tumor necrosis factor-alpha inhibits myogenic differentiation through MyoD protein destabilization. *FASEB J.* 2004;18(2):227-237. doi:10.1096/fj.03-0251com
- Legoedec J, Gasque P, Jeanne JF, Scotte M, Fontaine M. Complement classical pathway expression by human skeletal myoblasts in vitro. *Mol Immunol.* 1997;34(10):735-741. doi:10.1016/S0161-5890(97)00093-x
- Li P, Yang X, Wasser M, Cai Y, Chia W, Shen CP, Jan YN. Breaking symmetry in the CNS. *Trends Cell Biol.* 1997;7(11):422. doi:10.1016/S0962-8924(97)88137-8
- Li Y, Huard J. Differentiation of muscle-derived cells into myofibroblasts in injured skeletal muscle. *Am J Pathol.* 2002;161(3):895-907. doi:10.1016/S0002-9440(10)64250-2
- Liu CS, Chang CC, Du YC, Chang FR, Wu YC, Chag WC, Hsieh TJ. 2-hydroxy-4'-methoxychalcone inhibits proliferation and inflammation of human aortic smooth muscle cells by increasing the expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2012;59(4):339-351. doi:10.1097/FJC.0b013e3182440486
- Lohman EB 3rd, Bains GS, Lohman T, DeLeon M, Petrofsky JS. A comparison of the effect of a variety of thermal and vibratory modalities on

- skin temperature and blood flow in healthy volunteers. *Med Sci Monit.* 2011;17(9):MT72-MT81. doi:10.12659/msm.881921
- Londhe P, Guttridge DC. Inflammation induced loss of skeletal muscle. *Bone.* 2015;80:131-142. doi:10.1016/j.bone.2015.03.015
 - Macdonald GZ, Button DC, Drinkwater EJ, Behm DG. Foam rolling as a recovery tool after an intense bout of physical activity. *Med Sci Sports Exerc.* 2014;46(1):131-142. doi:10.1249/MSS.0b013e3182a123db
 - Marsico F, Paolillo S, Filardi PP. NSAIDs and cardiovascular risk. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2017;18 Suppl 1: Special Issue on The State of the Art for the Practicing Cardiologist: The 2016 Conoscere E Curare Il Cuore (CCC) Proceedings from the CLI Foundation:e40–e43. doi:10.2459/JCM.0000000000000443
 - Meador BM, Krzyszton CP, Johnson RW, Huey KA. Effects of IL-10 and age on IL-6, IL-1beta, and TNF-alpha responses in mouse skeletal and cardiac muscle to an acute inflammatory insult. *J Appl Physiol (1985).* 2008;104(4):991-997. doi:10.1152/jappphysiol.01079.2007
 - Menetrey J, Kasemkijwattana C, Day CS, Bosch P, Vogt M, Fu FH, Moreland MS, Huard J. Growth factors improve muscle healing in vivo. *J Bone Joint Surg Br.* 2000;82(1):131-137. doi:10.1302/0301-620x.82b1.8954
 - Merrick MA. Secondary injury after musculoskeletal trauma: a review and update. *J Athl Train.* 2002;37(2):209-217.
 - Mizumura K, Taguchi T. Delayed onset muscle soreness: Involvement of neurotrophic factors. *J Physiol Sci.* 2016;66(1):43-52. doi:10.1007/s12576-015-0397-0
 - Moresi V, Pristerà A, Scicchitano BM, Molinaro M, Teodori L, Sassons D, Adamo S, Coletti D. Tumor necrosis factor-alpha inhibition of skeletal muscle regeneration is mediated by a caspase-dependent stem cell response. *Stem Cells.* 2008;26(4):997-1008. doi:10.1634/stemcells.2007-0493

- Mu L, Sobotka S, Chen J, Nyirenda T. Nerve growth factor and basic fibroblast growth factor promote reinnervation by nerve-muscle-endplate grafting. *Muscle Nerve*. 2018;57(3):449-459. doi:10.1002/mus.25726
- Muñoz, S. Lesiones Musculares Deportivas: Diagnóstico por Imágenes. *Revista Chilena de Radiología*. 2002;3: 127-132. doi.org/10.4067/S0717-93082002000300006
- Murakami M, Naraba H, Tanioka T, Semmyo N, Nakatani Y, Kojima F, Ikeda T, Fueki M, Ueno A, Oh S, Kudo I. Regulation of prostaglandin E2 biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E2 synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2. *J Biol Chem*. 2000;275(42):32783-32792. doi:10.1074/jbc.M003505200
- Nikolettou V, Markaki M, Palikaras K, Tavernarakis N. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1833(12):3448-3459. doi:10.1016/j.bbamcr.2013.06.001
- Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M, Nakano S, Nakano N, Ikeda Y, Sasaki T, Nishioka N, Hara M, Taguchi H, Kimura YK, Asaoku H, Kumagai S, Kodama F, Nakahara H, Hagihara K, Yoshizaki K, Kishimoto T. Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman disease. *Blood*. 2005;106(8):2627-2632. doi:10.1182/blood-2004-12-4602
- Nishimoto N, Yoshizaki K, Tagoh H, Monden M, Kishimoto S, Hirano T, Kishimoto T. Elevation of serum interleukin 6 prior to acute phase proteins on the inflammation by surgical operation. *Clin Immunol Immunopathol*. 1989;50(3):399-401. doi:10.1016/0090-1229(89)90147-5
- Ojoawo AO, Malomo EO, Olusegun EO, Olaogun BMO. Effects of pulse ultrasound and kneading massage in managing individual with incessant pain at lower region of back using random allocation. *J Exerc Rehabil*. 2018;14(3):516-522. Published 2018 Jun 30. doi:10.12965/jer.1836126.063

- Okamoto T, Masuhara M, Ikuta K. Acute effects of self-myofascial release using a foam roller on arterial function. *J Strength Cond Res.* 2014;28(1):69-73. doi:10.1519/JSC.0b013e31829480f5
- Ortega-Camarillo C, Díaz-Flores M, Avalos-Rodríguez A, Vergara-Onofre M, Rosales-Torres AM. La apoptosis y su importancia biomédica [Apoptosis and its biomedical significance]. *Gac Med Mex.* 2001;137(6):563-577.
- Peterson GL. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal Biochem.* 1977;83(2):346-356. doi:10.1016/0003-2697(77)90043-4
- Plant DR, Colarossi FE and Lynch GS. Notexin causes greater myotoxic damage and slower functional repair in mouse skeletal muscles than bupivacaine; *Muscle Nerve.* 2006;34:577–585.
- Price FD, von Maltzahn J, Bentzinger CF, Dumont NA, Yin H, Chang NC, et al. Inhibition of JAK-STAT signaling stimulates adult satellite cell function. *Nat Med.* 2014;20:1174–81. doi: 10.1038/nm.3655
- Puthalakath H, Huang DC, O'Reilly LA, King SM, Strasser A. The proapoptotic activity of the Bcl-2 family member Bim is regulated by interaction with the dynein motor complex. *Mol Cell.* 1999;3(3):287-296. doi:10.1016/s1097-2765(00)80456-6
- Queiroz GP, Pessoa LA, Portaro FCV, MdFD F, Tambourgi DV. Interspecific variation in venom composition and toxicity of Brazilian snakes from *Bothrops* genus. *Toxicon.* 2008;52:842–851. Doi:10.1016/j.toxicon.2008.10.002
- Qu-Petersen Z, Deasy B, Jankowski R, Ikezawa M, Cummins J, Pruchnic R, Mytinger J, Cao B, Gates C, Wernig A, Huard J. Identification of a novel population of muscle stem cells in mice: potential for muscle regeneration. *J Cell Biol.* 2002;157(5):851-864. doi:10.1083/jcb.200108150
- Raingeaud J, Gupta S, Rogers JS, Dickens M, Han J, Ulevitch RJ, Davis RJ. Pro-inflammatory cytokines and environmental stress cause p38

- mitogen-activated protein kinase activation by dual phosphorylation on tyrosine and threonine. *J Biol Chem.* 1995;270(13):7420-7426. doi:10.1074/jbc.270.13.7420
- Resnik D, Kang HS. Trastornos internos de las articulaciones. Ed med Panamericana 2000;141-160.
 - Rey E, Padrón-Cabo A, Costa PB, Barcala-Furelos R. Effects of Foam Rolling as a Recovery Tool in Professional Soccer Players. *J Strength Cond Res.* 2019;33(8):2194-2201. doi:10.1519/JSC.0000000000002277
 - Rigoni M, Schiavo G, Weston A E, Caccin P, Allegrini F, Pennuto M, Valtorta F, Montecucco C and Rossetto O. Snake presynaptic neurotoxins with phospholipase A2 activity induce punctuate swellings of neurites and exocytosis of synaptic vesicles; *J. Cell Sci.* 2004;117:3561–3570
 - Rivas DA, Lessard SJ, Rice NP, Lessard SJ, Rice NP, Lustgarten MS, So K, Goodyear LJ, Parnell LD, Fielding RA. Diminished skeletal muscle microRNA expression with aging is associated with attenuated muscle plasticity and inhibition of IGF-1 signaling. *FASEB J.* 2014;28(9):4133-4147. doi:10.1096/fj.14-254490
 - Roerink ME, Bredie SJH, Heijnen M, Dinarello CA, Knoop H, Van der Meer JWM. Cytokine Inhibition in Patients With Chronic Fatigue Syndrome: A Randomized Trial. *Ann Intern Med.* 2017;166(8):557-564. doi:10.7326/M16-2391
 - Romero-Moraleda B, La Touche R, Lerma-Lara S, Lerma-Lara S, Ferrer-Peña R, Paredes V, Peinado AB, Muñoz-García D. Neurodynamic mobilization and foam rolling improved delayed-onset muscle soreness in a healthy adult population: a randomized controlled clinical trial. *PeerJ.* 2017;5:e3908. Published 2017 Oct 13. doi:10.7717/peerj.3908
 - Salazar AM, Guerrero B, Cantu B, Cantu E, Rodríguez-Acosta A, Pérez J.C. et al. Venom variation in hemostasis of the southern Pacific rattlesnake (*Crotalus oreganus helleri*): isolation of hellerase. *Comp.*

- Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 2009;149: 307–316
10.1016/j.cbpc.2008.08.007
- Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(3):170-181. doi:10.1038/nri2711
 - Sass FA, Fuchs M, Pumberger M, Pumberger M, Geissler S, Duda GN, Perka C, Schmidt-Bleek K. Immunology Guides Skeletal Muscle Regeneration. *Int J Mol Sci.* 2018;19(3):835. Published 2018 Mar 13. doi:10.3390/ijms19030835
 - Schmidt J. Current Classification and Management of Inflammatory Myopathies. *J Neuromuscul Dis.* 2018;5(2):109-129. doi:10.3233/JND-180308
 - Schwab JM, Schluesener HJ, Meyermann R, Serhan CN. COX-3 the enzyme and the concept: steps towards highly specialized pathways and precision therapeutics?. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2003;69(5):339-343. doi:10.1016/j.plefa.2003.07.003
 - Seeland U, Haeuseler C, Hinrichs R, Rosenkranz S, Pfitzner T, Scharffetter-Kochanek K, Böhm M. Myocardial fibrosis in transforming growth factor-beta(1) (TGF-beta(1)) transgenic mice is associated with inhibition of interstitial collagenase. *Eur J Clin Invest.* 2002;32(5):295-303. doi:10.1046/j.1365-2362.2002.00985.x
 - Shakeri R, Kheirollahi A, Davoodi J. Apaf-1: Regulation and function in cell death. *Biochimie.* 2017;135:111-125. doi:10.1016/j.biochi.2017.02.001
 - Shi F, Xiong Y, Zhang Y, Qiu C, Li M, Shan A, Yang Y, Li B. The Role of TNF Family Molecules Light in Cellular Interaction Between Airway Smooth Muscle Cells and T Cells During Chronic Allergic Inflammation. *Inflammation.* 2018;41(3):1021-1031. doi:10.1007/s10753-018-0755-1
 - Shi Y. Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis. *Mol Cell.* 2002;9(3):459-470. doi:10.1016/s1097-2765(02)00482-3
 - Shim YK, Kim N. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug and Aspirin-induced Peptic Ulcer Disease *Korean J Gastroenterol.* 2016;67(6):300-312.

- Silverthorn DU, Johnson BR, Ober WC, Ober CE, Silverthorn AC. 2016. Human physiology: An integrated approach.
- Smith C, Kruger MJ, Smith RM, Myburgh KH. The inflammatory response to skeletal muscle injury: illuminating complexities. Sports Med. 2008;38(11):947-969. doi:10.2165/00007256-200838110-00005
- Snijders T, Nederveen JP, McKay BR, Joannis S , Verdijk LB, van Loon LJC, Parise G. Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. Front Physiol. 2015;6:283.doi:10.3389/fphys.2015.00283
- Streit JJ, Shishani Y, Rodgers M, Gobezie R. Tendinopathy of the long head of the biceps tendon: histopathologic analysis of the extra-articular biceps tendon and tenosynovium. Open Access J Sports Med. 2015;6:63-70. Published 2015 Mar 10. doi:10.2147/OAJSM.S76325
- Summan M, Warren GL, Mercer RR, Chapman R, Hulderman T, Rooijen NV, Simeonovaet PP. Macrophages and skeletal muscle regeneration: a clodronate-containing liposome depletion study. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2006;290(6):R1488-R1495. doi:10.1152/ajpregu.00465.2005
- Sung DH, Yoon SD, Park GD. The effect of complex rehabilitation training for 12 weeks on trunk muscle function and spine deformation of patients with SCI. J Phys Ther Sci. 2015;27(3):951-954. doi:10.1589/jpts.27.951
- Swiderski K, Thakur SS, Naim T, Trieu J, Chee A , Stapleton DI, Koopman R, Lynch GS. Muscle-specific deletion of SOCS3 increases the early inflammatory response but does not affect regeneration after myotoxic injury. Skelet Muscle. 2016;6:36. Published 2016 Oct 24. doi:10.1186/s13395-016-0108-4
- Tchoghandjian A, Soubéran A, Tabouret E, Tchoghandjian A, Soubéran A, Tabouret E, Colin C, Denicolaï E, Jiguet-Jiglaire C, El-Battari A, Villard C, Baeza-Kallee N, Figarella-Branger D. Inhibitor of apoptosis protein expression in glioblastomas and their in vitro and in vivo targeting by

- SMAC mimetic GDC-0152. *Cell Death Dis.* 2016;7(8):e2325. Published 2016 Aug 4. doi:10.1038/cddis.2016.214
- Terra R, Silva SAG, Pinto VS, Dutra PML. Effect of exercise on immune system: response. Adaptation and cell signaling. *Rev. Bras. Med. Sport.* 2012;18:208-214
 - Thom R, Rowe GC, Jang C, Safdar A, Arany Z. Hypoxic induction of vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiogenesis in muscle by truncated peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator (PGC)-1 α . *J Biol Chem.* 2014;289(13):8810-8817. doi:10.1074/jbc.M114.554394
 - Tidball JG. Inflammatory cell response to acute muscle injury. *Med Sci Sports Exerc.* 1995;27(7):1022-1032. doi:10.1249/00005768-199507000-00011
 - Toumi H, F'guyer S, Best TM. The role of neutrophils in injury and repair following muscle stretch. *J Anat.* 2006;208(4):459-470. doi:10.1111/j.1469-7580.2006.00543.x
 - Trappe TA, Fluckey JD, White F, Lambert CP, Evans WJ. Skeletal muscle PGF(2)(α) and PGE(2) in response to eccentric resistance exercise: influence of ibuprofen acetaminophen. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(10):5067–5070. doi:10.1210/jcem.86.10.7928
 - Travieso, M. Asociación entre Ecografía y Resonancia Magnética en las lesiones musculares traumáticas deportivas: Significado en la predicción de la evolución clínica. *Vector Plus.* 2005;25(1):55-62.
 - Tu AT. Overview of snake venom chemistry In *Natural Toxins 2 Advances in Experimental Medicine and Biology* (Singh B.R., Tu A.T., eds), 1996;vol. 391: pp. 37–62, Boston, MA, Springer
 - Vane JR, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. *Thromb Res.* 2003;110(5-6):255-258. doi:10.1016/s0049-3848(03)00379-7
 - Vellani V, Moschetti G, Franchi S, Giacomoni C, Sacerdote P, Amodeo G. Effects of NSAIDs on the Release of Calcitonin Gene-Related Peptide and

- Prostaglandin E2 from Rat Trigeminal Ganglia. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:9547056. doi:10.1155/2017/9547056
- Verdugo, M. Clasificación Ultrasonográfica de los Desgarros Musculares *Revista Chilena de Radiología.* 2004;10(2):53-57
 - Vucic D, Deshayes K, Ackerly H, Pisabarro MT, Kadkhodayan S, Fairbrother WJ, Dixit VM. SMAC negatively regulates the anti-apoptotic activity of melanoma inhibitor of apoptosis (ML-IAP). *J Biol Chem.* 2002;277(14):12275-12279. doi:10.1074/jbc.M112045200
 - Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ.* 2003;10(1):45-65. doi:10.1038/sj.cdd.4401189
 - Wan Y, Chong LW, Evans RM. PPAR-gamma regulates osteoclastogenesis in mice. *Nat Med.* 2007;13(12):1496-1503. doi:10.1038/nm1672
 - Wang WZ, Fang XH, Stepheson LL, Khiabani KT, Zamboni WA. Acute microvascular action of vascular endothelial growth factor in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg.* 2005;115(5):1355-1365. doi:10.1097/01.prs.0000156980.38387.8d
 - Weerapong P, Hume PA, Kolt GS. The mechanisms of massage and effects on performance, muscle recovery and injury prevention. *Sports Med.* 2005;35(3):235-256. doi:10.2165/00007256-200535030-00004
 - Westerlund B, Nordlund P, Uhlin U, Eaker D and Eklund H. The three-dimensional structure of notexin, a presynaptic neurotoxic phospholipase A2 at 2.0 Å resolution; *FEBS Lett.* 1992;301:159–164
 - Wolter KG, Hsu YT, Smith CL, Nechushtan A, Xi XG, Youle RJ. Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis. *J Cell Biol.* 1997;139(5):1281-1292. doi:10.1083/jcb.139.5.1281
 - Yamanouchi K, Soeta C, Naito K, Tojo H. Expression of myostatin gene in regenerating skeletal muscle of the rat and its localization. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;270(2):510-516. doi:10.1006/bbrc.2000.2464

- Yamanouchi K, Soeta C, Suzuki S, Hasegawa T, Naito K, Tojo H. Identification of skeletal muscle satellite cells by transfecting EGFP driven by skeletal alpha-actin promoter. *J Vet Med Sci.* 2000;62(11):1213-1216. doi:10.1292/jvms.62.1213
- Yang W, Hu P. Skeletal muscle regeneration is modulated by inflammation. *J Orthop Translat.* 2018;13:25-32. Published 2018 Feb 7. doi:10.1016/j.jot.2018.01.002
- Yang Z, Kirton HM, Al-Owais M, Yang Z, Kirton HM, Al-Owais M, Thireau J, Richard S, Peers C, Steele DS. Epac2-Rap1 Signaling Regulates Reactive Oxygen Species Production and Susceptibility to Cardiac Arrhythmias. *Antioxid Redox Signal.* 2017;27(3):117-132. doi:10.1089/ars.2015.6485
- Yi R, Bratchenko WW, Tan V. Deep Friction Massage Versus Steroid Injection in the Treatment of Lateral Epicondylitis. *Hand (N Y).* 2018;13(1):56-59. doi:10.1177/1558944717692088
- Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto N, Kuritani T, Taeho L, Aozasa K, Nakahata T, Kawai H, Tagoh H, Komori T. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. *Blood.* 1989;74(4):1360-1367.
- Zammit P, Beauchamp J. The skeletal muscle satellite cell: stem cell or son of stem cell?. *Differentiation.* 2001;68(4-5):193-204. doi:10.1046/j.1432-0436.2001.680407.x
- Zhang J, Yu Q, Han L, Chen C, Li H, Han G. Study on the apoptosis mediated by cytochrome c and factors that affect the activation of bovine longissimus muscle during postmortem aging. *Apoptosis.* 2017;22(6):777-785. doi:10.1007/s10495-017-1374-2