

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**



**RELACIÓN ENTRE EL CRECIMIENTO MUSCULAR Y LA EXPRESIÓN DE  
MIOSINA EN CERDOS EN DIFERENTES ETAPAS DE CRECIMIENTO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS EN PRODUCCIÓN ANIMAL**

**PRESENTA:**

**LISBETH VÁZQUEZ HERNÁNDEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**Ph. D. Miguel Cervantes Ramírez**

**CO-DIRECTORA DE TESIS:**

**Dra. Adriana Morales Trejo**

La presente tesis titulada “**RELACIÓN ENTRE EL CRECIMIENTO MUSCULAR Y LA EXPRESIÓN DE MIOSINA EN CERDOS EN DIFERENTES ETAPAS DE CRECIMIENTO**”, realizada por C. Lisbeth Vázquez Hernández; bajo la dirección del Dr. Miguel Cervantes Ramírez, siendo aceptada, revisada y aprobada, por el Comité Particular abajo indicado

#### COMITÉ PARTICULAR

DIRECTOR

---

Dr. Miguel Cervantes Ramírez

CO-DIRECTORA

---

Dra. Adriana Morales Trejo

SINODAL

---

Dr. Benedicto Alfonso Araiza Piña

SINODAL

---

Dr. Ernesto Avelar Lozano

SINODAL

---

M.C. Salvador Espinoza Santana

**“POR LA REALIZACION PLENA DEL HOMBRE”**

# Contenido

RESUMEN .....	1
I. INTRODUCCIÓN .....	3
II. ANTECEDENTES .....	5
2.1 TEJIDO MUSCULAR DEL CERDO .....	5
2.2 CLASIFICACIÓN DEL TEJIDO MUSCULAR.....	7
2.3 MUSCULOS DE LA PIERNA DEL CERDO .....	8
2.4 TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES .....	10
2.5 SÍNTESIS DE PROTEÍNA MUSCULAR.....	15
2.6 DETERMINACIÓN DE TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES Y EXPRESIÓN DE MIOSINA .....	16
III. HIPÓTESIS .....	19
IV. OBJETIVOS .....	19
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
5.1 LOCALIZACIÓN .....	20
5.2 ANIMALES Y ALOJAMIENTO .....	20
5.3 COLECCIÓN DE TEJIDOS.....	21
5.4 EXTRACCIÓN DE ARN.....	22
5.5 TRANSCRIPCIÓN REVERSA .....	23
5.6 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA CUANTITATIVO (qPCR) .....	23
5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	24
VI. RESULTADOS .....	25
VII. DISCUSIÓN.....	38
VIII. CONCLUSIÓN .....	41
IX. BIBLIOGRAFÍA .....	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura y mecanismo de contracción de las fibras musculares.....	7
Figura 2. Principales músculos de la pierna del cerdo (Sisson., 2008) .....	10
Figura 3. Identificación de las fibras musculares en el músculo esquelético del cerdo por el método succinato deshidrogenasa (Fazarinc et al., 2013). .....	13
Figura 4. Disección de músculos de la pierna utilizados en este estudio. ....	22
Figura 5. Peso vivo (PV) y ganancia diaria de peso (GDP) en cerdos en crecimiento .....	25
Cuadro 2. Peso individual de músculos analizados para cada grupo de cerdos (kg) .....	26
Figura 6. Separación e identificación de músculos de la pierna del cerdo .....	27
Figura 7. Peso (PBF) y expresión de miosina (MBF) del músculo <i>Biceps Femoris</i> en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos .....	34
Figura 8. Peso (PGM) y expresión de miosina (MGM) del músculo <i>Gluteus Medius</i> en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos .....	35
Figura 9. Peso (PSM) y expresión de miosina (MSM) del músculo <i>Semimembranosus</i> en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos .....	36
Figura 10. Peso (PSMT) y expresión de miosina (MSMT) del músculo <i>Semitendinosus</i> en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos .....	36
Figura 11. Peso (PTFL) y expresión de miosina (MTFL) del músculo <i>Tensor Fasciae Latae</i> en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos .....	37

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Peso y contribución relativa de cuatro músculos de la pierna del cerdo (Fisher et al., 2003).....	9
Cuadro 3. Valores de correlación entre el peso vivo (PV), ganancia diaria de peso (GDP) y pesos de los músculos <i>Biceps femoris</i> (BF), <i>Gluteus medius</i> (GM), <i>Semimembranosus</i> (SM), <i>Semitendinosus</i> (SMT) y <i>Tensor Fasciae Latae</i> (TFL).....	28
Cuadro 4. Peso de cada músculo expresado como porcentaje de peso vivo de cada cerdo en animales livianos, medios y pesados (kg) .....	29
Cuadro 5. Ganancia de peso (g/d) de cada músculo en cerdos medios y pesados .....	30
Cuadro 6. Expresión de miosina en cada uno de los músculos de la pierna y en cada grupo de cerdos periodo (unidades arbitrarias; proporción de RNAm: 18S rRNA) .....	32
Cuadro 7. Valores de correlación entre el peso vivo (PV), ganancia diaria de peso (GDP) y expresión de miosina en los músculos <i>Biceps femoris</i> (BF), <i>Gluteus medius</i> (GM), <i>Longissimus dorsi</i> (LD), <i>Semimembranosus</i> (SM), <i>Semitendinosus</i> (SMT) y <i>Tensor Fasciae Latae</i> (TFL).....	33

## RESUMEN

El conocimiento de la estructura de un músculo dado, tiene interés tanto en el estudio de la función muscular como para obtener un producto de calidad en la transformación del músculo en carne. La determinación final del crecimiento del músculo estará en función de la acumulación de las proteínas musculares, asociada a procesos moleculares finamente regulados por genes específicos del músculo. La abundancia del RNA mensajero que codifica la isoforma tipo IIB se ha empleado como indicador de crecimiento muscular. Es necesario identificar el músculo en el que la abundancia del RNA mensajero de la isoforma IIB de la cadena pesada de miosina refleje mejor el crecimiento muscular del cerdo. Los objetivos fueron cuantificar la expresión del RNA mensajero que codifica la síntesis de los músculos *Biceps Femoris*, *Gluteus Medius*, *Semimembranosus*, *Semitendinosus*, *Tensor Fasciae Latae* y establecer su relación con el crecimiento de estos en cerdos con pesos livianos, medios y pesados e identificar el músculo que mejor se relacione con la expresión de miosina. Se utilizaron 19 cerdos híbridos (Landrace x Hampshire x Duroc). Los cerdos se distribuyeron en tres grupos basados en su peso corporal inicial clasificados como ligeros (5 animales, 15.2 kg), medios (7 animales, 18.2 kg) y pesados (7 animales, 21.3 kg) alojados en grupos de 2 animales por jaulas metabólicas (1.2 x 1.2 m). Después de permanecer 15 días en experimento los cerdos se pesaron y sacrificaron semanalmente, esto para calcular ganancia diaria de peso (GDP) y consumo

diario de alimento (CDA). La ganancia de peso fue mayor a medida que aumentó el peso de los animales. Los músculos BF Y SMT estuvieron mejor correlacionados con la ganancia diaria y el de peso de los animales. Además, el peso vivo y la ganancia diaria de peso de los animales se correlacionaron mejor con la expresión de miosina en el músculo BF y LD. Por tanto, se puede concluir que BF y LD son los músculos cuyo crecimiento está mejor asociado a la expresión de miosina.

Palabras clave: Cerdos, expresión de miosina, RNA mensajero, músculos

## I. INTRODUCCIÓN

El cerdo es uno de los animales más eficientes en la producción de carne, su gran capacidad transformadora de nutrientes lo convierte en una fuente importante de alimentos para la población en México y el mundo. La producción de carne de porcino en México ha crecido a una tasa anual de 1.1% durante el periodo 2001-2011, por lo que en este último año la producción se ubicó en 1.18 millones de toneladas (SAGARPA, 2012). Debido a la demanda y a la alta producción de carne de porcino; es necesario que se realice con sistemas de producción eficientes.

La eficiencia productiva de los cerdos depende principalmente de su velocidad de crecimiento muscular y eficiencia para convertir los nutrientes del alimento en tejido muscular. El crecimiento muscular depende del balance entre la síntesis y degradación de proteína muscular; ocurre crecimiento muscular neto cuando el balance es positivo pero cuando este balance es negativo el resultado es la pérdida de peso muscular (Layne and Donald., 2006). Además, la velocidad de crecimiento muscular es diferente entre los diversos tipos de músculos del animal. El crecimiento es un fenómeno multifactorial, dinámico, y altamente complejo que involucra el proceso de miogénesis, hipertrofia así como el número y tamaño de fibras musculares. La determinación final del crecimiento del músculo estará en función de la acumulación de las proteínas musculares, asociada a procesos moleculares finamente regulados por genes específicos del músculo.

El tejido muscular está formado por células contráctiles especializadas en realizar trabajo mecánico por la acción concertada de las proteínas actina y

miosina. Desde el punto de vista productivo y nutricional, miosina es la proteína más importante debido a que es la más abundante en tejido muscular. En músculo esquelético está integrado por cuatro tipos de fibras; I, IIA, y IIB y un cuarto tipo IIX que aparece en aquellos animales en crecimiento, las cuales corresponden a las cuatro isoformas de la cadena pesada de miosina. Estas cuatro isoformas son expresadas en músculo esquelético de cerdos (Lefaucheur and Gerrard, 2000), sin embargo se ha visto que el tipo de fibra más abundante es el tipo IIB. El porcentaje de los tipos de fibras musculares se ve influenciado por factores ambientales (Andersen and Henriksson, 1977; Petersen et al., 1997a), genéticos, nutricionales, entre otros (Petersen et al., 1998). La abundancia del mRNA que codifica la isoforma tipo IIB se ha empleado como indicador de crecimiento muscular en diversos estudios nutricionales, sin embargo la respuesta es consistentemente variable entre músculos (García-Villalobos et al., 2012; Morales et al., 2013). Es necesario identificar el músculo en el que la abundancia del mRNA de la isoforma IIB de la cadena pesada de miosina refleje mejor el crecimiento muscular del cerdo. El conocimiento de la estructura de un músculo dado, tiene interés tanto en el estudio de la función muscular como en las aptitudes para obtener un producto de calidad en la transformación del músculo en carne. Por tanto el objetivo del presente estudio consistió en cuantificar la expresión de miosina en diferentes músculos de la pierna y su relación con el crecimiento muscular de cerdos en diferentes etapas de crecimiento.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 TEJIDO MUSCULAR DEL CERDO

El tejido muscular tiene como finalidad darle forma al cuerpo del animal, del cual existen tres tipos:

- 1) Tejido estriado o voluntario.
- 2) Tejido liso o involuntario.
- 3) Tejido muscular involuntario o cardiaco

Los músculos esqueléticos o voluntarios constan de fibras largas de unos 10 cm, parecidas a pelos finos, que a su vez están constituidos por fibrillas las cuales por su disposición confieren a la fibra el aspecto estriado (Frandsen et al., 2006). Por su regular funcionamiento, los músculos se hacen más voluminosos, oscuros, compactos y eficientes; mientras que por la inercia los músculos quedan más flácidos y más pálidos; debido a lo anterior la carne de los animales jóvenes es más pálida y grácil (Monge., 2006).

Alrededor de la fibra muscular se encuentra el tejido conectivo a través del cual corren los vasos y los nervios, en esta masa conectiva se depositan gran cantidad de grasa. Los músculos pueden insertarse directamente en los huesos correspondientes, mediante fibras musculares o adherirse por medio de tendones. El tejido muscular se caracteriza por presentar células especializadas en la contracción. Cada una de estas células o fibras está compuesta por filamentos gruesos y finos. Los filamentos gruesos se componen de una proteína denominada miosina; existe miosina de cadena pesada y miosina de cadena liviana. Los filamentos finos consisten de varias proteínas: actina, troponina y

tropomiosina. El corte transversal de la fibra muscular, permite ver que cada filamento grueso se encuentra en el centro de un hexágono de filamentos finos (Graziotti et al., 2000).

La contracción muscular se fundamenta en la interacción de los filamentos finos y gruesos, de manera que los primeros se mueven hacia los segundos. En cada filamento grueso debe mencionarse la existencia de una dilatación o cabeza formada por miosina de cadena pesada, la cual al desencadenarse el estímulo nervioso y en presencia de calcio, se flexiona y proyecta hacia afuera, para formar enlaces cruzados que se unen y mueven al filamento de actina, durante la contracción muscular. En ausencia de calcio la tropomiosina y troponina forman un complejo que impide el enlace entre la cabeza de miosina y la actina. La flexión de la cabeza de miosina requiere energía que es aportada por el adenosintrifosfato (ATP) (Graziotti et al., 2000).

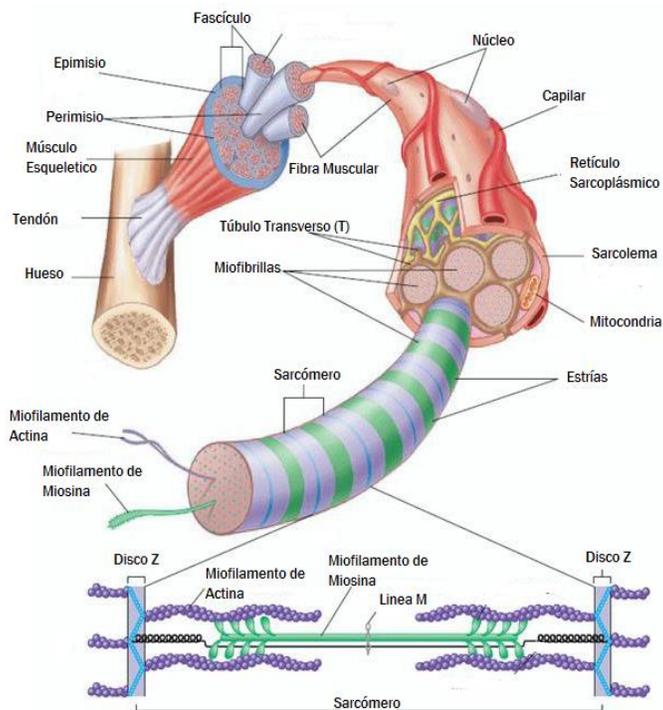


Figura 1. Estructura y mecanismo de contracción de las fibras musculares.

## 2.2 CLASIFICACIÓN DEL TEJIDO MUSCULAR

De acuerdo con Frandson et al., 2006, los tres tipos de músculo son esqueléticos, lisos y cardíacos. El mayor de los músculos en el cuerpo es el esquelético, este es responsable de la producción de movimientos voluntarios de las extremidades, tronco y cabeza. Este tejido muscular es también en mayor proporción de carne en los animales domésticos.

Las células musculares del tejido esquelético (fibras) son agrupadas dentro de distintos órganos de talla variable denominado músculos. Estos músculos generalmente se unen a los huesos del esqueleto y están bajo control voluntario

del animal. Las fibras musculares esqueléticas presentan un modelo de rayas característico, derivado de la disposición ordenada de las proteínas contráctiles dentro de las células. El músculo liso está compuesto de células musculares que no tienen una estriación, el músculo liso se encuentra en los sistemas del cuerpo que tiene una función automática. El músculo liso se encuentra en mayor proporción en órganos, sistemas digestivo, urogenital y en vasos sanguíneos. El músculo cardíaco es caracterizado por fibras con estriación, por lo que es considerada un tipo de músculo estriado. Sin embargo, el músculo cardíaco, como músculo liso, la contracción es intrínseca y no está bajo control voluntario (Frandsen et al., 2006).

Se ha descrito que a nivel de los músculos de las extremidades abundan las fibras musculares rápidas tipo II. En cambio, las fibras musculares lentas tipo I son más abundantes en músculos relacionados con la postura corporal (Ijkema-Paassen y Gramsbergen, 2005).

### 2.3 MUSCULOS DE LA PIERNA DEL CERDO

Dentro de la disección de los músculos de la pierna del cerdo y anatómicamente podemos distinguir los diferentes músculos:

- ***Biceps Femoris (BF)***: de tipo rápido-glucolítico; cubre la mayor superficie lateral del muslo, se encuentra detrás del tensor de la fascia lata, retrae la rodilla, flexiona la pierna y secuestra el muslo.
- ***Gluteus Medius (GM)***: es el más marcado dentro de la pierna y el que ocupa una tercera parte de la composición de la pierna, músculo de tipo

rápido-glucolítico; actúa para extender la cadera y mover la extremidad posterior.

- **Semimembranosus (SM):** es el segundo músculo más grande la pierna y uno de los más importantes a nivel comercial en la producción de cerdos, por su tamaño y calidad magra; considerado de tipo rápido-glucolítico. Actúa para extender la cadera y la aducción de la extremidad posterior.
- **Semitendinosus (SMT):** de tipo rápido-glucolítico; las partes de este músculo pueden verse superficialmente, su mayor parte esta oculta.
- **Tensor Fasciae Latae (TFL):** es ancho, termina hasta la rótula, este músculo se considera de tipo lento-oxidativo; flexiona la cadera y extiende la rodilla (Fisher et al., 2003; Sisson., 2008).

Cuadro 1. Peso y contribución relativa de cuatro músculos de la pierna del cerdo (Fisher et al., 2003).

Músculo	Peso		Porcentaje	
	11 kg	33 kg	11 kg	33 kg
<b><i>Biceps Femoris</i></b>	262	367	32.3 %	33 %
<b><i>Gluteus Medius</i></b>	166	236	20.5 %	21.2 %
<b><i>Semimembranosus</i></b>	187	250	23.1 %	22.4 %
<b><i>Semitendinosus</i></b>	194	259	23.9 %	23.2 %

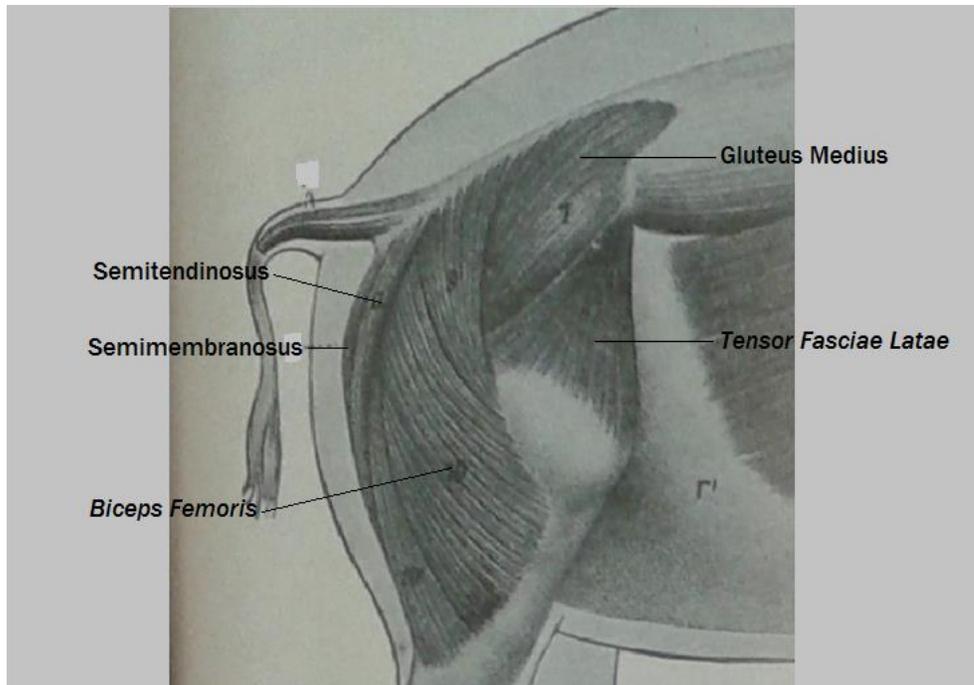


Figura 2. Principales músculos de la pierna del cerdo (Sisson., 2008)

#### 2.4 TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES

Una de las características únicas del músculo esquelético es su arquitectura de las fibras. La disposición altamente organizada de las fibras musculares contribuye a una variedad de capacidades funcionales. El músculo esquelético representa del 30 al 65% del peso corporal del cerdo de acuerdo a las razas consideradas, y contiene el 45% de las proteínas totales del individuo. Las fibras musculares constituyen el 75-90% del volumen muscular, la morfología de la fibra muscular es un factor determinante de la masa muscular; y el resto está integrado por tejido adiposo, tejido conectivo, vasos y nervios (Lefaucheur., 1989).

La morfología de la fibra muscular está representada por su número total de fibras, área de sección transversal de la fibra muscular y la longitud de la fibra. El músculo esquelético se compone de tres grupos de proteínas clasificadas por la solubilidad y su ubicación en el tejido muscular. Están representados por proteínas sarcoplásmicas, miofibrilares y estroma. Especialmente, las proteínas miofibrilares son responsables de las propiedades contráctiles del músculo y carne (Goll et al., 2008). Una de las proteínas más abundantes de la proteína miofibrilar es miosina, la cual está formada por dos cadenas de aminoácidos; cadena ligera y cadena pesada (MyHC), (Lutz and Lieber., 2000).

Diversos estudios indican que las isoformas de miosina están fuertemente correlacionadas con la composición del tipo de fibra muscular (Schiaffino et al., 1989; Talmadge et al., 1995). En estudios recientes mostraron que la variedad en la composición de isoformas de MyHC era mayor que la del tipo de fibra muscular (Lefaucheur, 2010). La fibra de músculo esquelético es una célula multinucleada, unida a la membrana. Se extiende por lo general de 10 a 100 micras de diámetro. La diversidad de músculo esquelético se puede atribuir a las características heterogéneas de las fibras musculares individuales y la composición del mosaico (Bottinelli y Reggiani, 2000; Schiaffino et al, 1989; Taber, 1998).

En general, las fibras musculares se clasifican de acuerdo a su propiedades contráctiles y metabólicas (Lefaucheur, 2010). De hecho, todos los tipos de fibras se observan en la mayoría de los músculos. Su composición relativa en los diferentes músculos puede determinar el predominio de las propiedades metabólicas del músculo (Ozawa et al., 2000; Peter et al., 1972; Ryu y Kim, 2005).

La composición en el tipo de fibra varía en los tipos de músculo, dependiendo de su función contráctil y bioquímica (Klont et al., 1998).

Existen métodos útiles que clasifican las fibras en tres tipos principales, es decir, las fibras rojas, intermedias y blancas. Fibras rojas tienen una mayor actividad de las enzimas oxidativas y exhiben relativamente la contracción más lenta. Por el contrario, las fibras blancas tienen tendencia de propiedades glucolíticas por el consumo de glucosa en lugar de la respiración mitocondrial, así como una contracción rápida. Por otro lado, las fibras intermedias son intermedias entre las fibras rojas y blancas y tienen capacidades metabólicas alternativas (Dubowitz y Pearse, 1960; Jurie et al, 1999).

Los porcentajes de tipos de fibras musculares están influenciadas por distintos factores ambientales, genéticos, nutrición y ejercicio. La relación entre los tipos de fibras musculares y la calidad de la carne no se conocen en todos los cerdos y la composición del tipo de fibra es muy variable. La existencia de numerosos tipos de fibras musculares puede ser delineada de acuerdo a las diferencias en sus propiedades estructurales y funcionales. De la multitud de esquemas de clasificación que han aparecido en la literatura solo unos pocos han resultado ser ampliamente utilizados (Pette and Staron, 1990).

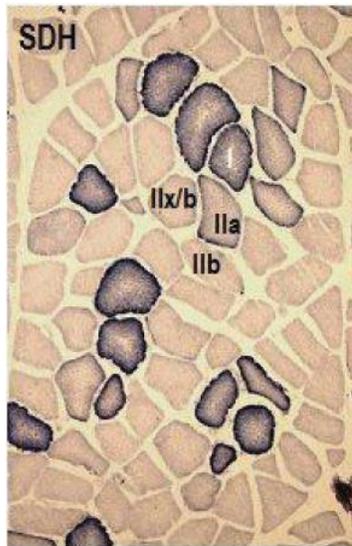


Figura 3. Identificación de las fibras musculares en el músculo esquelético del cerdo por el método succinato deshidrogenasa (Fazarinc et al., 2013).

Las fibras musculares se clasifican según dos criterios: a) de acuerdo a la velocidad de contracción y b) de acuerdo al tipo de metabolismo energético regenerador del adenosintrifosfato (ATP), (Pette and Staron., 2000)

El músculo esquelético se compone de distintos tipos de fibras que difieren en su capacidad para contraerse y metabolizar la energía. Un factor determinante de la velocidad de contracción es el tipo de isoforma de miosina de cadena pesada (MyHC) dentro de la fibra muscular, estas corresponden a los tipos de fibras clasificadas histológicamente como I, IIA, IIB o IIX. Cada isoforma MyHC se expresa por un gen diferente. Las fibras que contienen en su mayoría MyHC tipo I son de contracción lenta mientras que las MyHC de tipo IIB son de contracción más rápida; mientras que las de tipo IIA y IIX son intermedias a las miofibrillas I y IIB (Pette and Staron., 2000).

Por otra parte, el tipo de músculo se clasifica según el tipo de metabolismo de la energía utilizada (glucolítica u oxidativa). Las fibras de contracción rápida poseen un metabolismo predominantemente glucolítica que apoyan a los movimientos cortos, mientras que las fibras de contracción lenta utilizan el metabolismo oxidativo principalmente para apoyar una contracción sostenida, pero la relación entre los genes que controlan el metabolismo de la energía no se conoce (Fazarinc et al., 2013). Según estos dos criterios de clasificación, las fibras musculares en el cerdo están típicamente dispuestas en grupos o haces de fibras I, (lentas oxidativas); en número de una o varias, rodeadas incompletamente por una primera corona de fibras IIA (rápidas intermedias), y una segunda corona de fibras IIB (rápidas glicolíticas) (Lefaucheur, L.1989 ; Ruusunen, M. 1996.). Kaman (1995) sostiene que esta disposición en rosetas sólo se halla presente en músculos glucolíticos como el músculo *Longissimus dorsi* (LD)

La selección genética del cerdo doméstico ha resultado en un incremento en el número y área de las fibras I. (Ruusunen, M. 1996). Brocks et al (1998) encontraron que la selección genética a partir de la cuarta generación produce un aumento en el porcentaje de fibras IIB y significativa disminución en el tipo I y IIA en líneas de crecimiento rápido y magro. Lo anterior es de notoria relevancia puesto que podrían ayudar a explicar las diferencias en expresión de miosina entre músculos reportados en algunos estudios (e.g., Cervantes et al., 2013).

## 2.5 SÍNTESIS DE PROTEÍNA MUSCULAR

La síntesis de proteínas es el proceso en el cual el cuerpo utiliza los aminoácidos para construir y reparar el tejido muscular. Cuando esto ocurre a gran escala se conoce como hipertrofia del músculo esquelético (crecimiento) y es el proceso por el cual los músculos se hacen más grandes. ()

La tasa de crecimiento es mayor durante el período neonatal que en cualquier otra etapa de la vida postnatal (Denne y Kalhan, 1987). La acumulación de proteínas es muy rápida durante este período de desarrollo y la ganancia en masa de proteínas es más rápida en el músculo esquelético que en otros tejidos del cuerpo. La mayor acumulación de proteína es dependiente de la tasa de síntesis de proteínas que la tasa de degradación de proteínas. En el recién nacido, la alta tasa de acumulación de proteína es impulsado por la alta tasa fraccional de síntesis de proteínas en el músculo esquelético y esta tasa disminuye bruscamente con la edad (Davis et al., 1989). La degradación de proteínas se eleva ligeramente durante la vida temprana y los cambios con la edad son relativamente pequeños.

La tasa de síntesis de proteínas es dependiente sobre el número de ribosomas en un tejido y la eficiencia con que los ribosomas traducen ARNm en proteína. La elevada capacidad para la síntesis de proteína muscular en el cerdo neonatal es impulsado por un alto contenido de ribosoma y un aumento de la eficiencia del proceso de traducción (Davis et al., 2001). El crecimiento del músculo es dependiente de la proliferación celular por lo menos de dos mecanismos del satélite y la tasa de acreción de proteínas (Allen et al., 1979), el

último es la diferencia entre la tasa de síntesis de proteínas y la tasa de degradación de proteínas. Desde la proliferación de células satélite aumenta la cantidad total de ADN en un músculo (Oksbjerg et al., 2002), y la capacidad de síntesis de proteínas se refleja en los niveles de ARN (Millward et al., 1973). Los componentes básicos para la síntesis de proteínas incluyen las grandes y pequeñas subunidades ribosomales (60 y 40, respectivamente), ARNm que codifican para proteínas individuales, ARN de transferencia (ARNt) para los aminoácidos individuales, y más de una docena de proteínas catalíticas (Kimball, 2001).

## 2.6 DETERMINACIÓN DE TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES Y EXPRESIÓN DE MIOSINA

Los métodos para determinar los tipos de fibras musculares se basan en perfiles de miosina específica, especialmente miosina de cadena pesada (MyHC) tales como adenosina trifosfatasa miofibrilar (mATPasa), histoquímica, inmunohistoquímica utilizando anticuerpos específicos para cada isoforma de MyHC. Estos métodos han incrementado la comprensión de la diversidad de tipos de fibras y su naturaleza dinámica. A su vez, estos enfoques metodológicos han puesto de manifiesto la existencia de fibras musculares que bien contienen una isoforma de MyHC (tipos de fibras puras) y dos o más isoformas de MyHC (tipo de fibras híbridas), (Pette and Staron., 2000).

La tipificación de la fibra muscular convencional y el recuento por el método histoquímico es un muy laborioso y lento, que tiene una serie de problemas técnicos (Rehfeldt et al., 2008). Es sometido a un alto nivel de error cuando las

fibras musculares se escriben y se cuentan por serie de la sección transversal de las fibras musculares (Bee, 2004). Muchos factores pueden estar involucrados, tales como el número de la muestra o submuestra, el muestreo de ubicación entre los músculos y en los músculos y la subjetividad de las mediciones (Cerisuelo et al., 2007). Estos factores podrían afectar crucialmente repetibilidad y precisión. Por lo tanto, diversas metodologías de escribir y contar fibras musculares se deben intentar para disminuir estos problemas (Rehfeldt et al., 2008).

Hay otros métodos de tipificación de la fibra muscular convencional utilizando la enzima mitocondrial, succinato deshidrogenasa (SDH), y la reducción de nicotinamida dinucleótido de tetrazolio reductasa-adenina (Baker & Santer, 1990; Rahelic y Puac, 1981). El análisis inmunohistoquímico con anticuerpos monoclonales contra isoformas de MHC de fibra permite la tipificación según la expresión de las isoformas de MHC, y este método facilita la delineación objetivo de híbrido (co-expresión de dos o más isoformas de MHC) fibras (Schiaffino et al., 1989). Trabajos moleculares tales como el uso de anticuerpos, técnicas genómicas utilizando ARNm o siRNA y metabolómica, pueden ser herramientas útiles para superar estos problemas (Ennion., et al 1995; Smerdu., et al 1994).

Los datos reportados por (Gunawan et al., 2007) muestran que la expresión de las isoformas MyHC en el músculo esquelético de cerdos difiere en gran medida con su ubicación y función anatómica. La expresión de estos genes fue altamente correlacionado con la cantidad relativa de la proteína correspondiente contenida dentro de cada músculo. Debido a la cantidad de tiempo requerido para llevar a cabo estudios de tipificación convencional de la fibra del músculo y la dificultad para separar estas isoformas de proteínas en el músculo porcino, la

expresión génica de la MyHC puede ser una alternativa confiable para la definición de composición del tipo de fibra muscular en los músculos esqueléticos del cerdo. Se han realizado estudios de la expresión de las isoformas de miosina de cadena pesada y diferenciado estas en los músculos LD y SM, sin embargo no se ha encontrado alguna información relacionada con la expresión y cuantificación de miosina en los diferentes músculos de la pierna del cerdo. Por tanto, la presente investigación permitirá cuantificar la expresión de miosina en los diferentes músculos de la pierna del cerdo y relacionarlo con el crecimiento muscular en diferentes etapas de crecimiento de éstos.

### III. HIPÓTESIS

La expresión (cuantificación) del RNA mensajero que codifica la síntesis de miosina de cadena pesada (MyHC) es diferente en los distintos músculos de la pierna del cerdo en cada una de sus etapas de crecimiento.

### IV. OBJETIVOS

1. Cuantificar la expresión del RNA mensajero que codifica la síntesis de los músculos *Biceps Femoris*, *Gluteus Medius*, *Semimembranosus*, *Semitendinosus*, *Tensor Fasciae Latae* y establecer su relación con el crecimiento de estos en cerdos con pesos livianos, medios y pesados.
2. Identificar el músculo que mejor se relacione con la expresión de miosina.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 LOCALIZACIÓN

El experimento fue conducido en el laboratorio de Fisiología y Metabolismo del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California. El análisis de las muestras se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular del mismo instituto. El cuidado de los cerdos utilizados se hizo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-Z00-1999, 2001).

### 5.2 ANIMALES Y ALOJAMIENTO

El experimento se condujo con 19 cerdos híbridos (Landrace x Hampshire x Duroc). Los cerdos se distribuyeron en tres grupos basados en su peso corporal inicial clasificados como ligeros (5 animales, 15.2 kg), medios (7 animales, 18.2 kg) y pesados (7 animales, 21.3 kg) alojados en grupos de 2 animales por jaulas metabólicas (1.2 x 1.2 m) equipados con un bebedero tipo chupón y un comedero tipo tolva. El agua y alimento se proporcionó a libre acceso. Después de permanecer 15 días en experimento los cerdos se pesaron y sacrificaron semanalmente comenzando por livianos, medios y pesados con pesos finales de 20.5 kg, 26.8 kg, 38.2 kg respectivamente; esto para calcular ganancia diaria de peso (GDP) y consumo diario de alimento (CDA). Todos los cerdos recibieron la misma dieta comercial formulada con trigo (72.98%), pasta de soya (23.55%), y adicionada con lisina (1.59%), treonina (0.64%), metionina (0.48%), vitaminas y

minerales. Esta dieta cubría los requerimientos nutricionales de cerdos en la etapa de crecimiento (NRC, 2012).

### 5.3 COLECCIÓN DE TEJIDOS

El sacrificio de los cerdos se realizó en el laboratorio de carnes de este instituto; éste se hizo cada 7 días empezando por los livianos y sucesivamente hasta terminar con los pesados. Los cerdos se insensibilizaron con la ayuda de un “electroshock” previo al sacrificio por desangrado a través de la yugular. Inmediatamente después se retiraron las vísceras, la cabeza, y la canal resultante se dividió en sus dos medias canales. La pierna de la media canal derecha de todos los animales se conservó para hacer los trabajos de disección y recolección de muestras de cada músculo. Se separaron manualmente todos los músculos de la pierna con la ayuda de bisturí solo para cortar los restos de tejido conectivo y ligamentos unidos al fémur. Una vez separados los músculos se pesaron individualmente y se registró su peso. Al mismo tiempo se tomaron muestras de cada músculo (aproximadamente 1 g) y se congelaron en nitrógeno líquido hasta que finalizó la colecta de muestras. Posteriormente se almacenaron a -80°C en el laboratorio de biología molecular para su posterior análisis. Los músculos analizados fueron el *Biceps femoris* (BF), *Gluteus medius* (GM), *Semimembranosus* (SM), *Semitendinosus* (SMT), *Tensor Fasciae Latae* (TFL) y *longissimus dorssi* (LD).

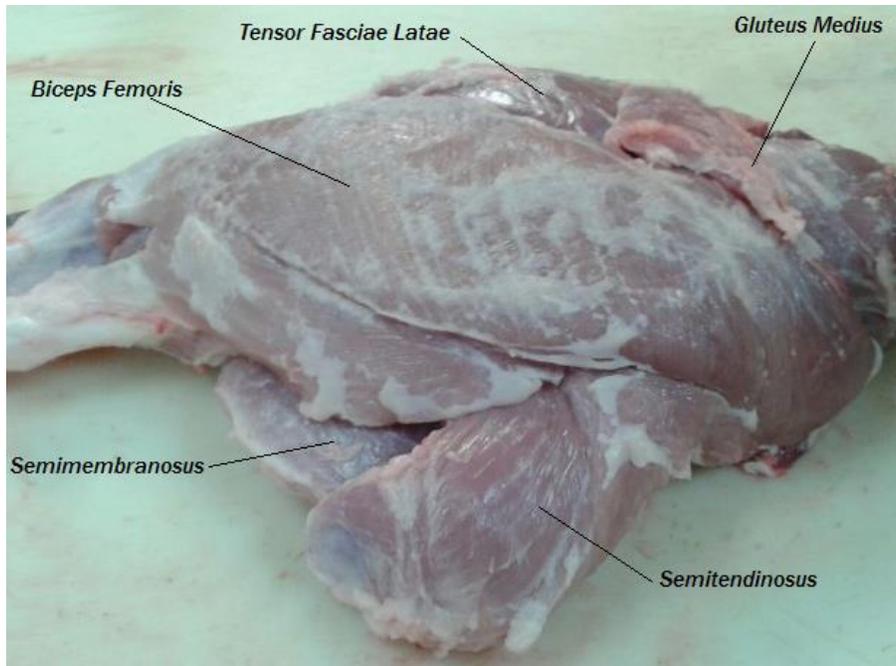


Figura 4. Disección de músculos de la pierna utilizados en este estudio.

#### 5.4 EXTRACCIÓN DE ARN

Las muestras de los músculos recolectados fueron tratados para la extracción de ARN total por pulverización en nitrógeno líquido y purificación con Trizol reagent (Invitrogen, Corp.), siguiendo la metodología descrita anteriormente por Méndez et al. (2011). Inmediatamente, el ARN purificado fue diluido en 13  $\mu$ l de agua destilada libre de nucleasas y almacenado a  $-80^{\circ}\text{C}$ . La concentración de ARN total fue determinada por espectrofotometría a 260 nm. La integridad del ARN total fue evaluada por electroforesis en gel de agarosa al 1%. Todas las muestras fueron de buena calidad con una relación del rRNA de 28S:18S alrededor de 2:1 (Sambrook and Russell, 2001).

## 5.5 TRANSCRIPCIÓN REVERSA

Aproximadamente 2 µg del RNA total fue tratado con 1U de ADNasa I (1 U/ml; Invitrogen) y 6 µl de buffer 5x para transcripción reversa en una mezcla de la reacción llevada de 30 µl con agua tratada con DEPC, la reacción se mantuvo durante 15 min a temperatura ambiente y después 15 min a 75°C. La transcripción reversa se inició con las muestras de ARN tratadas con ADNasa, se adiciono 1 µl de random primers (150 ng por µl, Invitrogen) y 1 µl de solución de dNTPs (cada uno 10 µm), la reacción se incubó a temperatura ambiente y enseguida se enfrió en hielo durante 5 min; se agregó a la reacción 2 µl de transcriptasa reversa buffer 5x y se incubo a 42° C durante 2 minutos para estabilizar la reacción antes de la adición de 1 µl de enzima transcriptasa reversa (200 U por µl; RT-Superscrip III, Invitrogen). La reacción se incubó a 42° C durante 50 minutos. La mezcla se incubó a 70°C durante 15 minutos. Las muestras de ADN complementario (ADNc) se cuantificaron por espectrofotometría y diluyeron a una concentración final de 50 ng por µl.

## 5.6 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA CUANTITATIVO (qPCR)

Se diseñaron oligonucleótidos específicos para miosina (isoforma IIB de cadena pesada) de acuerdo con sus secuencias en el Genbank (Sentido-5' CTTCCCAAGCAGAATCCTTT3'; Antisentido- 5' CTCCTCTCCATCATCTTCC3'). El tipo de fibras IIB representan aproximadamente el 80% de las fibras totales en

algunos músculos del cerdos y son extensamente expresados en MST y LD de cerdos (Lefaucher et al., 2002). Antes de iniciar, se realizó PCR de punto final para estandarizar las condiciones de amplificación para el par de oligonucleótidos, con el fin de confirmar la especificidad de los productos de PCR en relación con su ARNm.

La expresión de miosina se estimó por PCR cuantitativo (qPCR) usando SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Scientific, Inc.). La curva estándar se obtuvo usando una concentración conocida de ADNc de ARN ribosomal 18S de cerdo clonado en vector TOPO 4.0 (Invitrogen), y diluciones seriadas del mismo. Las reacciones qPCR cuantitativo contenían 75 ng de ANDc, 2  $\mu$ l de cada oligonucleótido específico (concentración inicial de 0.5  $\mu$ M), 12.5  $\mu$ l de 2x SYBR Green/Rox qPCR Master Mix y agua libre de nucleasas para completar el volumen final de 25  $\mu$ l. Las condiciones de qPCR utilizadas en la amplificación y cuantificación consistieron en una etapa inicial de desnaturalización (95° C por 1 min), seguida de 45 ciclos de amplificación (desnaturalización a 95° C, durante 30 segundos, alineación 56° C por 15 segundos y extensión a 72° C durante 30 segundos). La fluorescencia se midió al final de cada ciclo y cada 0.2° C durante el programa de desnaturalización al final del programa de qPCR.

## 5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza utilizando el procedimiento Satatistix 9.0. Se realizaron comparaciones de medias usando una prueba de *Tukey*. Los niveles de probabilidad de  $P \leq 0.05$ , se definieron como diferencias significativas.

## VI. RESULTADOS

En la Figura 5 se presentan los resultados de peso vivo y la ganancia diaria de peso de los cerdos. En promedio, los pesos para los cerdos livianos, medios y pesados fueron de 20.6, 26.7 y 38.3 kg, respectivamente. En este mismo orden, la ganancia diaria de peso promedio fue de 484, 646 y 804 g/d, la cual incrementó de acuerdo con el aumento en el peso vivo de los animales ( $P < 0.05$ ). En general, la ganancia de peso reflejó las diferencias en el peso vivo de los animales en los tres grupos formados ( $r = 0.82$ ;  $P < 0.001$ ).

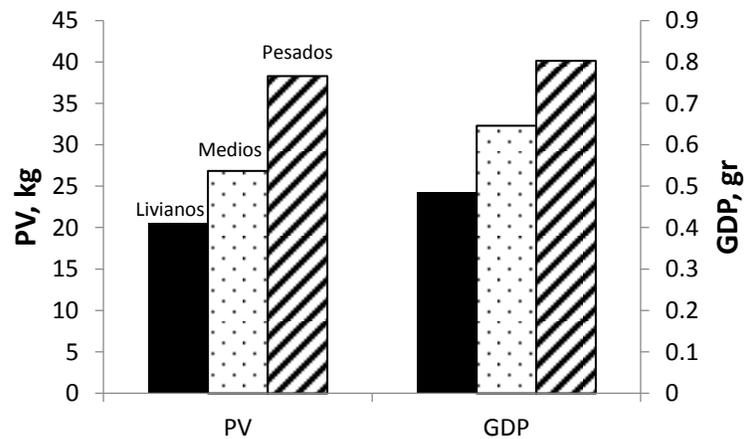


Figura 5. Peso vivo (PV) y ganancia diaria de peso (GDP) en cerdos en crecimiento

El Cuadro 2 se muestra el peso de los diferentes músculos analizados. El peso de los músculos también incrementó ( $P<0.05$ ) conforme aumentó el peso vivo de los animales. En los cerdos Livianos y Medios, el SM fue el músculo más pesado seguido por el BF, pero en los cerdos Pesados, el BF fue el de mayor peso seguido por el SM. Por otra parte, el músculo SMT fue el de menor peso en los tres grupos de cerdos.

Cuadro 2. Peso individual de músculos analizados para cada grupo de cerdos (kg)

Músculo	Grupo de cerdos			Valor $P=$
	Livianos	Medios	Pesados	
<b><i>Biceps Femoris</i></b>	269.3	339.0	512.0	<0.01
<b><i>Gluteus Medius</i></b>	125.8	179.3	268.1	<0.01
<b><i>Semimembranosus</i></b>	299.1	384.1	468.9	<0.01
<b><i>Semitendinosus</i></b>	77.1	107.0	139.0	<0.01
<b><i>Tensor Fasciae Latae</i></b>	165.1	258.1	389.0	<0.01

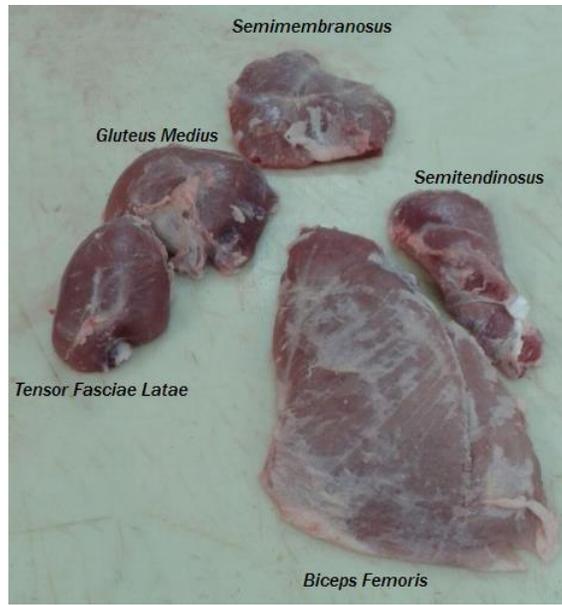


Figura 6. Separación e identificación de músculos de la pierna del cerdo

En el Cuadro 3 se presentan los valores de correlación entre el peso vivo, la ganancia de peso y el peso de cada músculo. El peso vivo de los cerdos estuvo altamente correlacionado con el peso de todos los músculos ( $r > 0.85$ ;  $P < 0.001$ ). Asimismo, la ganancia diaria de peso aunque en menor medida, se correlacionó con el peso de todos los músculos ( $r > 0.65$ ;  $P < 0.01$ ). Los músculos que mejor se correlacionaron con el peso vivo y la ganancia de peso fueron el BF y el SMT. El peso de cada músculo en particular se correlacionó altamente con el peso de los demás músculos ( $r > 0.70$ ;  $P < 0.001$ ).

Cuadro 3. Valores de correlación entre el peso vivo (PV), ganancia diaria de peso (GDP) y pesos de los músculos *Biceps femoris* (BF), *Gluteus medius* (GM), *Semimembranosus* (SM), *Semitendinosus* (SMT) y *Tensor Fasciae Latae* (TFL).

	Valor	Músculo					
		PV	GDP	BF	GM	SM	STM
GDP	r=	0.816					
	P=	<0.001					
BF		0.973	0.793				
		<0.001	<0.001				
GM		0.934	0.652	0.939			
		<0.001	0.002	<0.001			
SM		0.853	0.694	0.868	0.875		
		<0.001	0.001	<0.001	<0.001		
SMT		0.968	0.807	0.930	0.903	0.828	
		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
TFL		0.898	0.751	0.873	0.813	0.699	0.882
		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

En el cuadro 4 se presenta el peso de cada músculo expresado como porcentaje de peso vivo de cada cerdo en cada periodo. El peso relativo de BF tuvo una disminución para el grupo de cerdos medios ( $P=0.29$ ); sin embargo, para el grupo de cerdos pesado se incrementó el peso en comparación con el grupo de cerdos livianos. El peso relativo de GM se incrementó conforme el peso de los animales para cada grupo de cerdos. El peso relativo de SM disminuyó ( $P=0.01$ )

conforme aumentaba el peso de los animales para cada grupo de cerdos. El peso relativo de SMT tuvo un incremento ( $P=<0.01$ ) en el grupo de cerdos medios y para el grupo de cerdos pesados disminuyó el peso relativo del músculo comparado con el grupo de cerdos livianos. El peso relativo del músculo TFL se incrementó ( $P=0.05$ ) conforme incrementaba el peso de cada grupo de cerdos. Así, SM y BF fueron los músculos con mayor peso relativo expresado como porcentaje de peso vivo de cada cerdo para todos los grupos de cerdos ( $P=<0.01$ ).

Cuadro 4. Peso de cada músculo expresado como porcentaje de peso vivo de cada cerdo en animales livianos, medios y pesados (kg)

Músculo	Grupo de cerdos			P =
	Livianos	Medios	Pesados	
<b><i>Biceps Femoris</i></b>	1.309	1.260	1.338	0.29
<b><i>Gluteus Medius</i></b>	0.605	0.670	0.701	0.14
<b><i>Semimembranosus</i></b>	1.457	1.429	1.223	0.01
<b><i>Semitendinosus</i></b>	0.375	0.398	0.364	<0.01
<b><i>Tensor Fasciae Latae</i></b>	0.812	0.965	1.019	0.05

En el cuadro 5 se presenta la ganancia diaria de peso de cada músculo expresada como porcentaje de su respectivo peso. La ganancia diaria de peso de los músculos BF, GM y TFL expresados como porcentaje de peso de cada uno de estos se incrementó ( $P=<0.01$ ) conforme se incrementaba el crecimiento de los

animales para cada grupo de cerdos. Sin embargo, el peso relativo de los músculos SM y SMT no se modificó ( $P=0.99$ ) con el aumento en el peso vivo de los cerdos.

Cuadro 5. Ganancia de peso (g/d) de cada músculo en cerdos medios y pesados

Músculo	Grupo de cerdos		P =
	Medios	Pesados	
Ganancia Diaria de Peso			
<b><i>Biceps Femoris</i></b>	9.956	24.714	<0.01
<b><i>Gluteus Medius</i></b>	7.643	12.694	0.01
<b><i>Semimembranosus</i></b>	12.155	12.102	0.99
<b><i>Semitendinosus</i></b>	4.271	4.569	0.65
<b><i>Tensor Fasciae Latae</i></b>	13.274	31.980	<0.01

En el Cuadro 6 se presentan los datos de expresión de miosina para cada uno de los músculos. Se consideró  $P \leq 0.05$  y  $P > 0.05$  como valores estadísticamente diferente y no diferentes respectivamente. En los cerdos livianos, los valores de expresión más altos de miosina se encontraron en BF y SM ( $P < 0.05$ ) mientras que los más bajos fueron para GM, LD y SMT. En los cerdos medios y pesados, el SM siguió siendo el de mayor expresión de miosina, aunque en los pesados, BF y GM tuvieron valores de expresión semejantes al SM. En

todos los cerdos, los valores más bajos de expresión de miosina fueron para los músculos LD, SMT y TFL.

La expresión de miosina para los cerdos livianos fue menor comparada con el grupo de cerdos medios; pero para el grupo de cerdos pesados en algunos músculos como SMT y SM. No se observó un incremento exponencial como se presentaba en los otros dos grupos de cerdos. La expresión de miosina en BF se incrementó conforme al peso de los animales para cada grupo de cerdos. La expresión de miosina en GM para los cerdos livianos fue baja, en comparación con los cerdos medios y pesados para estos dos grupos de cerdos la expresión se incrementó conforme el peso de los animales. La expresión de miosina en SM se incrementó en el grupo de cerdos medios pero para los cerdos pesados disminuyó la expresión de miosina. Para SMT la expresión de miosina fue baja en el grupo de cerdos livianos, tuvo un incremento para el grupo de cerdos medios y una disminución de la expresión de miosina en el grupo de cerdos pesados. La expresión de miosina del músculo TFL se incrementó conforme al peso de los animales. La expresión de miosina para el musculo LD en los cerdos livianos tuvo una baja expresión comparada con los cerdos medios y pesados la cual fue mayor y exponencial conforme aumentaba el peso de los cerdos medios y pesados.

Cuadro 6. Expresión de miosina en cada uno de los músculos de la pierna y en cada grupo de cerdos periodo (unidades arbitrarias; proporción de RNAm: 18S rRNA)

Músculo	Grupo de cerdos		
	Livianos	Medios	Pesados
<b><i>Biceps Femoris</i></b>	0.031 <sup>a</sup>	0.057	0.123 <sup>ab</sup>
<b><i>Gluteus Medius</i></b>	0.006 <sup>b</sup>	0.091	0.129 <sup>a</sup>
<b><i>Semimembranosus</i></b>	0.029 <sup>b</sup>	0.130	0.115 <sup>ab</sup>
<b><i>Semitendinosus</i></b>	0.009 <sup>a</sup>	0.075	0.063 <sup>ab</sup>
<b><i>Tensor Fasciae Latae</i></b>	0.016 <sup>b</sup>	0.088	0.100 <sup>b</sup>
<b><i>Longissimus Dorsi</i></b>	0.005 <sup>ab</sup>	0.083	0.089 <sup>ab</sup>

Valores en columnas con diferente literal ( $P < 0.05$ )

Los valores de correlación entre el peso vivo, ganancia diaria de peso y expresión de miosina en los músculos analizados se presentan en el Cuadro 7. En todos los casos, los valores de correlación fueron positivos. El peso vivo se correlacionó con el BF, GM, LD y TFL ( $P < 0.01$ ); de éstos, el mayor valor se observó para el BF ( $r = 0.80$ ). En contraste, el peso vivo no se correlacionó con la expresión de miosina en SM y SMT ( $P > 0.05$ ). La ganancia de peso se correlacionó con la expresión de miosina en todos los músculos ( $P < 0.05$ ), aunque los valores más elevados fueron para el LD ( $r = 0.65$ ) y el BF ( $r = 0.59$ ).

Cuadro 7. Valores de correlación entre el peso vivo (PV), ganancia diaria de peso (GDP) y expresión de miosina en los músculos *Biceps femoris* (BF), *Gluteus medius* (GM), *Longissimus dorsi* (LD), *Semimembranosus* (SM), *Semitendinosus* (SMT) y *Tensor Fasciae Latae* (TFL).

	Valor	PV	GDP	Músculo				
				BF	GM	LD	SM	STM
GDP	r=	0.816						
	P=	<0.001						
BF		0.795	0.587					
		<0.001	0.008					
GM		0.582	0.510	0.567				
		0.009	0.025	0.011				
LD		0.646	0.649	0.651	0.720			
		0.003	0.003	0.003	<0.001			
SM		0.447	0.456	0.285	0.586	0.705		
		0.088	0.050	0.237	0.008	0.000		
SMT		0.402	0.458	0.316	0.671	0.662	0.699	
		0.088	0.048	0.188	0.002	0.002	<0.001	
TFL		0.560	0.586	0.597	0.723	0.724	0.598	0.751
		0.013	0.008	0.007	<0.001	<0.001	0.007	<0.001

Los valores de correlación entre el peso de los músculos con la expresión de miosina de su músculo correspondiente fueron variables. Los valores de correlación entre peso y expresión de miosina fueron significativos ( $P < 0.05$ ) para todos los músculos. El mayor valor de correlación ( $r = 0.75$ ;  $P = < 0.001$ ) se observó para el BF, seguido del TFL ( $r = 0.54$ ;  $P = 0.017$ ), SMT ( $r = 0.50$ ;  $P = 0.030$ ), GM ( $r = 0.46$ ;  $P = 0.046$ ) y SM ( $r = 0.45$ ;  $P = 0.050$ ).

En las Figuras 7 y 8 se presentan los valores de peso y expresión de miosina en los músculos BF y GM, respectivamente. En ambos casos, la expresión de miosina se incrementó conforme aumentó el peso de los animales analizados ( $P < 0.05$ ).

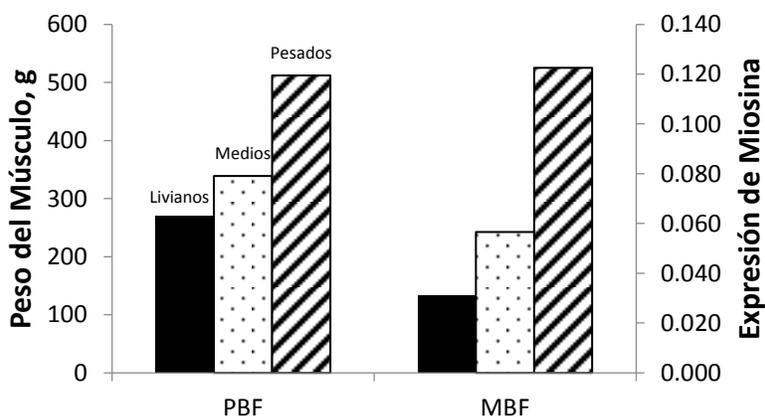


Figura 7. Peso (PBF) y expresión de miosina (MBF) del músculo *Biceps Femoris* en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos

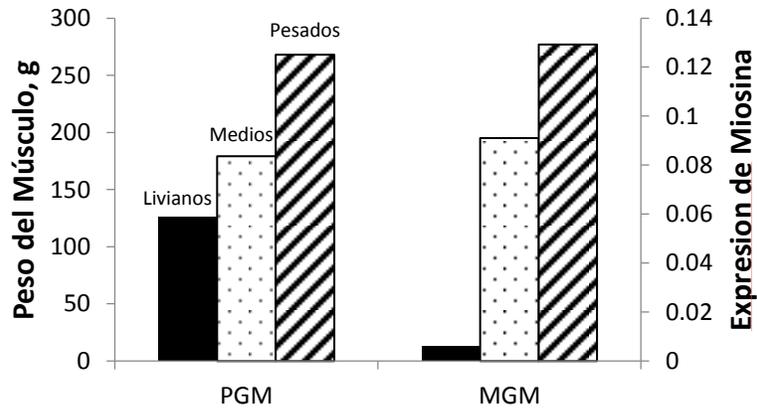


Figura 8. Peso (PGM) y expresión de miosina (MGM) del músculo *Gluteus Medius* en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos

En la Figuras 9, 10 y 11 se muestran los valores de peso y expresión de miosina de los músculos SM, SMT y TFL, respectivamente. En los tres músculos, el peso se incrementó conforme aumentó el peso de los animales ( $P < 0.01$ ). La expresión de miosina se incrementó claramente en los cerdos medios comparados con los livianos ( $P < 0.05$ ), pero no fue diferente cuando se comparó con los cerdos pesados ( $P > 0.10$ ).

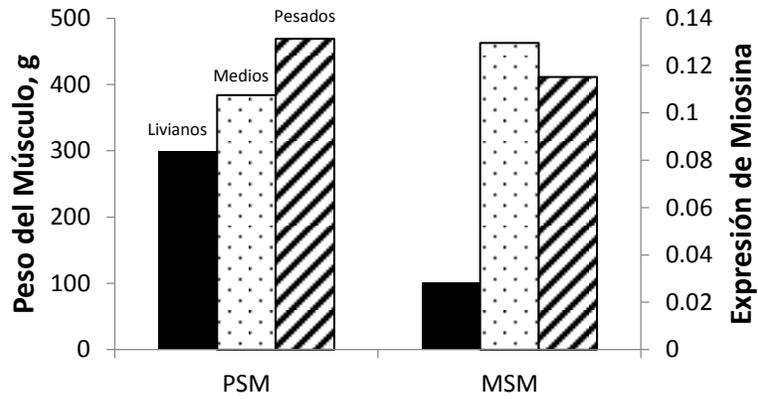


Figura 9. Peso (PSM) y expresión de miosina (MSM) del músculo *Semimembranosus* en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos

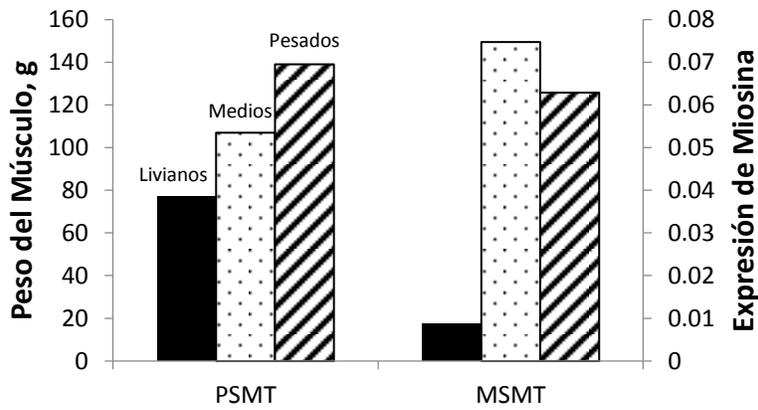


Figura 10. Peso (PSMT) y expresión de miosina (MSMT) del músculo *Semitendinosus* en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos

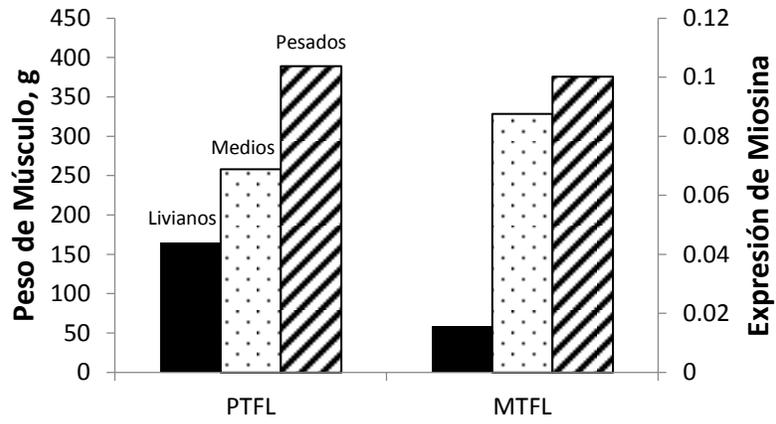


Figura 11. Peso (PTFL) y expresión de miosina (MTFL) del músculo *Tensor Fasciae Latae* en los tres diferentes grupos de peso de los cerdos

## VII. DISCUSIÓN

Este trabajo se realizó para analizar la relación entre el peso vivo, ganancia de peso vivo y peso de los diferentes músculos de la pierna de cerdos en la expresión de miosina. Además, con este trabajo se trató de identificar al músculo que mejor refleja la relación entre crecimiento y expresión de miosina. Como se esperaba, la ganancia de peso fue mayor a medida que aumentó el peso de los animales. Por lo anterior, el diseño experimental resultó útil para establecer las eventuales relaciones que pudieran existir entre la expresión de miosina y las variables de comportamiento.

Con esto podemos decir que el peso de los músculos fue mayor a medida que el peso de los animales aumentaba y así el músculo que presentó un peso superior a los otros, fue el SM en los cerdos livianos y medios; sin embargo, para el grupo de cerdos pesados el músculo con un peso superior a los demás fue BF este dato de peso concuerda con Fisher et al., (2003) que reportaron que para cerdos de 33 kg el músculo con un peso superior a los otros músculos de la pierna es BF. Al establecer la correlación entre el PV, GDP y peso de cada músculo, podemos mencionar que esta correlación es alta pues a medida que aumentaba el peso vivo de los cerdos aumentaba el peso de los músculos y por tanto la ganancia diaria de peso de los animales.

Cuando se presentan los datos de peso de cada músculo expresado como porcentaje de peso vivo de cada cerdo, los músculos que incrementaron su peso son BF y SM, pues estos mismos son los músculos de mayor peso en los tres grupos de cerdos y los que incrementaban conforme aumentaba el peso de los

animales, para Fisher et al., (2003) el músculo con mayor peso es BF dato que concuerda con este estudio; sin embargo para este autor el SMT es el segundo músculo más pesado y comparado con SM solo existe una diferencia mínima en el peso de ambos, por tanto los resultados presentados pueden sustentar que SM es uno de los músculo más pesado en la pierna del cerdo.

Los músculos BF y GM fueron los más pesados de la pierna de los cerdos, este resultado coinciden con lo reportado por Fisher et al. (2003), quienes también observaron que estos dos músculos son los de mayor peso en cerdos de entre 11-33 kg de peso (Cuadro 2).

Como se ha demostrado en estudios anteriores, el porcentaje de fibras más abundante en el musculo esquelético son las fibras de tipo IIB (60-80% Chang et al., 2003). En consecuencia, en este estudio la expresión de miosina se basó en la cuantificación de la expresión del tipo de fibra IIB en cada uno de los músculos de la pierna. El cerdo doméstico es una especie productora de carne que ha sido seleccionado genéticamente de manera intensa por su velocidad de crecimiento y musculatura. Por lo tanto, se ha sugerido que la alta expresión isoforma MyHC-IIB está relacionada con las condiciones de mejoramiento genético (Lefaucheur et al., 2002).

El cerdo doméstico es el único gran mamífero en el que se han demostrado hasta ahora las tres isoformas de MyHC rápidas (IIA, IIX, IIB). Las isoformas de miosina de cadena pesada IIB son las más numerosas, especialmente en los llamados músculos blancos en la región periférica de los fascículos musculares (Lefaucheur et al., 1998; Graziotti et al., 2001). Se desconocen los motivos de la alta expresión de la isoforma de miosina IIB en músculos de cerdos domésticos.

Sin embargo los resultados presentados en este trabajo demuestran algunos cambios en la expresión de la isoforma IIB de miosina en los músculos de la pierna de los cerdos

Gunawan et al. (2007) reportaron que la expresión de miosina IIB fue mayor en músculo LD de cerdos, en comparación con el músculo SMT, los resultados mostrados en este estudio presentaron los mismos resultados, y tomando en cuenta que se realizó para cada grupo de cerdos la expresión de miosina para el músculo LD fue incrementando conforme incrementaba el peso de los animales.

Los músculos BF y GM son de tipo rápido-glucolítico (Fisher et al., 2003), por tanto estos músculos presentan una mayor proporción de fibras de tipo IIB (Pette and Staron., 2000) y especulamos que su expresión de miosina debiera ser mayor; De acuerdo con la expresión de miosina de estos músculos los resultados presentados en este estudio concuerdan con esta información puesto que estos músculos son los que tuvieron una mayor expresión de miosina en los tres grupos de cerdos.

## VIII. CONCLUSIÓN

En el presente estudio se demostró que, aunque el peso de cada músculo de la pierna incrementó con el aumento en la ganancia diaria y el peso de los cerdos, los músculos BF y SMT estuvieron mejor correlacionados con la ganancia diaria y el peso de los animales. Además, el peso vivo y la ganancia diaria de peso de los animales se correlacionaron mejor con la expresión de miosina en el BF y LD. Por tanto, se puede concluir que BF, SMT y LD son los músculos cuyo crecimiento está mejor asociado a la expresión de miosina.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Allen, R. E., Merkel, R. A and. Young R. B. 1979. Cellular aspect of muscle growth: Myogenic cell proliferation. *J. Anim. Sci.* 49:115–127.
- Andersen, P., and Henriksson J. 1977. Training induced changes in subgroups of human type II skeletal muscle fibers. *Acta Physiol., Scand. Anim. Sci.* 99:123–125.
- Baker, D.M., Santer, R.M., 1990. Development of a quantitative histochemical method for determination of succinate dehydrogenase activity in autonomic neurons and its application to the study of aging in the autonomic nervous system. *J. Histochem. Cytochem.* 38, 525–531.
- Bee, G. 2004. Effect of early gestation feeding, birth weight, and gender of progeny on muscle fiber characteristics of pigs at slaughter. *J. Anim. Sci.* 82:826–836.
- Bottinelli, R., and Reggiani, C. 2000. Human skeletal muscle fibres: Molecular and functional diversity. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, 73, 195–262.
- Brocks, L., Hulsegge, B. y Merkus, G. 1998. Histochemical characteristics in relation to meat quality properties in the longissimus lumborum of fast and lean growing lines of large white pigs. *Meat Science* 50(4):411-420.
- Cerisuelo, A., Sala, R., Nurnberg, G., Baucells, M., and Rehfeldt, C. 2007. How many muscle samples are required to obtain reliable estimations of muscle fibre characteristics from pig longissimus muscle? *Meat Science*, 76, 583–587.

- Cervantes-Ramírez M., Méndez-Trujillo V, Araiza-Piña B.A., Barrera-Silva M.A., González-Mendoza, D and Morales-Trejo, A. 2013. Supplemental leucine and isoleucine affect expression of cationic amino acid transporters and myosin, serum concentration of amino acids, and growth performance of pigs. *Genetics and Molecular Research*; 12 (1): 115-126.
- Chang K. C., da Costa N., Blackley R., Southwood O., Evans G., Plastow G., Wood J. D., Richardson R. I. 2003. Relationships of myosin heavy chain fibre types to meat quality traits in traditional and modern pigs. *Meat Science*. 64: 93–103.
- Davis, T. A., Fiorotto, M. L. Beckett, P. R. Burrin, D. G. Reeds, P. J. Wray-Cahen, D. and Nguyen H. V. 2001. Differential effects of insulin on peripheral and visceral tissue protein synthesis in neonatal pigs. *Am. J. Physiol.* 280:E770–E779.
- Davis, T. A., Fiorotto, M. L. Nguyen, H. V. and Reeds P. J. 1989. Protein turnover in skeletal muscle of suckling rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 257:R1141–R1146.
- Denne, S. C., and S. C. Kalhan. 1987. Leucine metabolism in human newborns. *Am. J. Physiol.* 253:E608–E615.
- Dubowitz, V., and Pearse, A. G. E. 1960. Reciprocal relationship of phosphorylase and oxidative enzymes in skeletal muscle. *Nature*, 185, 701–702.
- Ennion S, Sant'ana P. J, Sargeant A. J, Young A, Goldspink G. 1995. Characterization of human skeletal muscle fibres according to the myosin heavy chains they express. *J Muscle Res Cell Motil*; 16: 35–43.

- Fazarinc G, Matjaž U, Vesna G. K, Tajana T. V, Martin S, Meta Č. P. 2013. Expression of myosin heavy chain isoforms in lon gissimus muscle of domestic and wild pig. *Slov Vet Res*; 50 (2): 67-74.
- Fisher A.V., Greenb, D. M., Whittemoreb, C. T., Wooda, J. D., Schofield C. P. 2003. Growth of carcass components and its relation with conformation in pigs of three types. *Meat Science*. 65: 639–650.
- Frandsen R.D., Lee Wilke W. and Fails D. A. 2006. *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. Sixth edition.
- García-Villalobos H, Morales-Trejo A, Araiza-Piña B A., John K. Htoo and Cervantes-Ramírez M. 2012. Effects of dietary protein and amino acid levels on the expression of selected cationic amino acid transporters and serum amino acid concentration in growing pigs. *Archives of Animal Nutrition*, 1–14.
- Goll, D. E., Neti, G., Mares, S. W., and Thompson, V. F. 2008. Myofibrillar protein turnover: The proteasome and the calpains. *Journal of Animal Science*, 86, E19–E35.
- Graziotti G. H, Ríos C. M, Rivero J. L.2001. Evidence for three fast myosin heavy chain isoforms in type II skeletal muscle fibers in the adult llama (*Lama glama*). *J Histochem Cytochem*; 49: 1033–44.
- Graziotti, G., Ríos, C. y Basso, L. 2000. Las fibras musculares esqueléticas y la producción de carne en el cerdo. *Rev. Arg. de Prod. Animal, Bs. As.*, 20(2):145-159.

- Gunawan A. M, Park S. K, Pleitner J. M, Feliciano L, et al. 2007. Contractile protein content reflects myosin heavy-chain isoform gene expression. *J. Anim. Sci.* 85: 1247-1256.
- Ijkema-Paassen, J., and Gramsbergen, A. 2005. Development of postural muscles and their innervation. *Neural Plast* 12, 141-151.
- Jurie, C., Picard, B., and Geay, Y. 1999. Changes in the metabolic and contractile characteristics of muscle in male cattle between 10 and 16 months of age. *The Histochemical Journal*, 31, 117–122.
- Kaman, J. 1995. Postnatal morphological and histochemical type differentiation of the porcine muscle fibres. *Acta Vet. Bmo* 64: 211-224.
- Kimball S. R, Jefferson L. S. Regulation of protein synthesis by branched chain amino acids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2001;4:39–43.
- Klont, R. E., Brocks, L., and Eikelenboom, G. 1998. Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science*, 49, S219–S229.
- Layne E. N and Donald K. L. 2006. Leucine Regulates Translation Initiation of Protein Synthesis in Skeletal Muscle after Exercise. *J. Nutr.* 136: 533S–S537.
- Lefaucheur L, Ecolan P, Plantard L, Gueguen N. 2002 New insights into muscle fiber types in the pig. *J Histochem Cytochem*; 50: 719–30.
- Lefaucheur L, Hoffman R. K, Gerrard D. E, Okamura C. S, Rubinstein N, Kelly A. 1998. Evidence for three adult fast myosin heavy chain isoforms in type II skeletal muscle fibers in pigs. *J Anim Sci*; 76: 1584–93.
- Lefaucheur, L. 2010. A second look into fibre typing — Relation to meat quality. *Meat Science*, 84, 257–270.

- Lefaucheur, L., and Gerrard.D. 2000. Muscle fiber plasticity in farm mammals. *J. Anim. Sci.* 77 (E Suppl.):1–19.
- Lefaucheur, L.1989. Les differents types de fibres musculaires chez le porc. INRA. *Prod. Anim.* 2 (3): 205-213.
- Lutz G. J and Lieber R. L. 2000. Myosin Isoforms in Anuran Skeletal Muscle: Their Influence on Contractile Properties and In Vivo Muscle Function. *Microsc. Res. Tech.* 50:443–457.
- Méndez, V., Avelar, E., Morales, A., Cervantes, M., Araiza, A., González, D., 2011. A rapid protocol for purification of total RNA for tissues collected from pigs at a slaughterhouse. *Genet. Mol. Res.* 10, 3251-3255.
- Millward, D. J., P. J. Garlick, W. P. T. James, D. O. Nnanyelugo, and J. S. Ryatt. 1973. Relationship between protein synthesis and RNA content in skeletal muscle. *Nature (Lond.)* 241:204–205.
- Monje C. J. D. 2006. Producción Porcina. 1 era Reimp. Pag 48-50.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). 2001. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Ochoa MLI. Ed. Diario Oficial de la Federación. México (DF), México.
- NRC, 2012. Nutrient Requirements of Pigs, Ninth Revised Edition. National Academy Press, Washington, D.C.
- Oksbjerg, N., Sorensen, M. T. and Vestergaard, M.2002. Compensatory growth and its effect on muscularit and technological meat quality in growing pigs. *Acta Agric. Scand. Sect. A Anim. Sci.* 52:85–90.
- Ozawa, S., Mitsuhashi, T., Mitsumoto, M., Matsumoto, S., Itoh, N., Itagaki, K., et al. 2000. The characteristics of muscle fiber types of longissimus thoracis

- muscle and their influences on the quantity and quality of meat from Japanese Black steers. *Meat Science*, 54, 65–70.
- Peter, J. B., Gillespi, Ca., Barnard, R. J., Stempel, K. E., and Edgerton, V. R. 1972. Metabolic profiles of 3 fiber types of skeletal-muscle in guinea-pigs and rabbits. *Biochemistry*, 11, 2627–2633.
- Petersen, J. Henckel, S., P. Oksbjerg, N and Sorensen, M. T. 1998. Adaptations in muscle fiber characteristics induced by physical activity in pigs. *Anim. Sci.* 66:733–740.
- Petersen, J. S., Henckel, P. Maribo, H. Oksbjerg, N and Sorensen M. T. 1997a. Muscle metabolism, post mortem pH-decline and meat quality in pigs subjected to regular physical training and spontaneous activity. *Meat Sci.* 46:259–275.
- Pette D, Staron R. S. 1990. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 116:1–76.
- Pette D, Staron R. S. 2000. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc Res Tech*; 50: 500–9.
- Rahelic, S., Puac, S.1981. Fibre types in longissimus dorsi from wild and highly selected pig breeds. *Meat Sci.* 5, 439–450.
- Rehfeldt, C., Tuchscherer, A.,Hartung,M., & Kuhn, G. 2008. A second look at the influence of birth weight on carcass and meat quality in pigs. *Meat Science*, 78, 170–175.
- Ruusunen, M. 1996. Composition and cross sectional area of muscle fibre types in relation to daily gain and fat content of carcass in Landrace and Yorkshire pigs. *Agricultural and Food Science In Finiand.* 5: 593-600.

- Ryu, Y. C., & Kim, B. C. 2005. The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, 71, 351–357.
- SAGARPA 2012. Situación actual y perspectiva de la producción de carne de cerdo en México.
- Sambrook, J., Russel, D.W., 2001. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 3rd ed. New York. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schiaffino, S., Gorza, L., Sartore, S., Saggin, L., Ausoni, S., Vianello, M. 1989. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibres. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 10, 197–205.
- Sisson S-Getty Robert, Grossman J D. 2008. *Anatomía de los Animales Domésticos*. Tomo II. Editorial. Salvat. 5ª Edition.
- Smerdu, V., Karsch-Mizrachi, I., Campione, M., Leinwand, L., Schiaffino, S.1994. Type IIx myosin heavy chain transcripts are expressed in type IIb fibers of human skeletal muscles. *Am. J. Physiol.* 267, 1723–1728.
- Taber, L. A. 1998. Biomechanical growth laws for muscle tissue. *Journal of Theoretical Biology*, 193, 201–213.