

CARACTERÍSTICAS HISTOQUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS DEL *M.G. medius* DE LOS CABALLOS PURA SANGRE VENEZOLANOS EN RELACIÓN A LA EDAD

Muscle Histochemical and Biochemical of *M.G. medius* of Venezuelan Thoroughbred Horses in Relation to Age

Luis Eduardo Sucre P.¹, Sonia Hecker de Torres² y Noelina Hernández²

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Apartado 4563. Maracay 2101, Edo. Aragua, Venezuela.

²Instituto de Medicina Experimental, Sección de Adaptación Muscular, Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Apartado 50587. Caracas 1050, Venezuela.

RESUMEN

Los Caballos Pura Sangre usualmente son entrenados a partir de una edad temprana y en muchos estudios se ha dificultado separar los cambios en el músculo debido al entrenamiento de aquellos producidos por el crecimiento. Se utilizó un grupo de 46 -caballos pura sangre venezolanos (41 yeguas y 5 machos) que se encontraban en condiciones de pre-entrenamiento o inactivos al menos por un período de 3 meses (mantenidos en el haras con fines reproductivos). La técnica de biopsia por aguja se usó para obtener muestras musculares del *M.G. medius*. Los caballos se agruparon por edades: Grupo I: 1-2 años (n = 5); Grupo II: 3-4 años (n = 10); Grupo III: 5-10 años (n= 19) y Grupo IV: 11-21 años (n=12). Reacciones para la ATPasa a pHs 10,3; 4,6 y 4,37 se usaron para tipificar las fibras; NADH-diaforasa (NADH-d) se utilizó para analizar la capacidad oxidativa; α -glycerophosphato deshydrogenasa (α -GPDH) para estudiar la capacidad glicolítica y la reacción histoquímica para la α -amilasa PAS para examinar los capilares y medir el grosor de las fibras. Se realizaron determinaciones bioquímicas de las enzimas β -hydroxiacil-CoA-dehydrogenasa (HAD), hexoquinase (HK) y citrato sintasa (CS). Los caballos del Grupo II presentaron 18,6 \pm 6,0% fibras tipo I, 48,1 \pm 6,1 % tipo IIA y 40,0 \pm 11,9 tipo IIB. La proporción de las fibras no difirió de los otros grupos, pero el cociente IIA/IIB fue más alto en el Group II que en el Group I. El grosor de las fibras no cambió significativamente con la edad. El porcentaje de fibras con reacción alta para la NADH-d fue mas alto en el Grupo II (P<0,01) y disminuyó en los caballos más viejos. El Grupo III presentó una más alta proporción (P<0,01) de fibras que reac-

cionan intensamente a la α -GPDH comparándolos con el Group II. Los niveles de actividad de la CS fueron más alto (P<0,001) en le Group II. Se observó una correlación entre los niveles de HAD y CS, HAD y HK, y CS y HK para todos los grupos de caballos. En conclusión, los caballos de 3-4 años presentaron una mayor capacidad oxidativa, con el incremento de la edad, se produjo un aumento en la capacidad glicolítica y una disminución en la capacidad oxidativa, además en el Grupo de caballos más viejos, se evidenció una disminución en la capilaridad. Las actividades de las enzimas HK, CS y HAD se mantuvieron en proporciones constantes en le músculo de estos caballos más viejos.

Palabras clave: Caballos pura sangre de carrera, músculo esquelético, tipos de fibras, histoquímica, bioquímica, edad.

ABSTRACT

Thoroughbred race horses are usually trained from an early age and in most studies it is difficult to separate the muscle changes due to training from those produced by growth. Advantage was taken of a group of 46 Venezuelan Thoroughbred (41 males and 5 stallions) that were either in pre-training state or inactive for at least 3 months, kept for reproductive purposes at the Stud. The needle biopsy technique was used to obtain muscle samples of *M.G. medius*. Horses were grouped by age: Group I: 1-2 years (n = 5); Group II: 3-4 years (n = 10); Group III: 5-10 years (n= 19) and Group IV: 11-21 years (n=12). ATPase stain at pH 10.3, 4.6 and 4.37 was used for fibre typing; NADH-diaforase (NADH-d) was used to assess oxidative capacity; α -glycerophosphate deshydrogenase (α -GDPH) for glycolytic capacity and α -amylase PAS histochemical reaction for

examination of capillaries and fibre size measurement. Biochemical determination of β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (HAD), hexokinase (HK) and citrate synthase (CS) were performed. Horses In-Group II had 18.6 ± 6.0 % type I fibres, 48.1 ± 6.1 % type IIA and 40.0 ± 11.9 type IIB. The proportion of fibres did not differ from the other Groups but IIA/IIB relation was higher In-Group II than In-Group I. Fibre size did not change significantly with the age was. The percentage of fibres with dark stain for NADH-d was higher ($P < 0,001$) In Group II and decreased in older horses. Group III had a higher proportion ($P < 0,01$) of dark stained fibres for α -GPDH compared to Group II. The level of CS was higher ($P < 0,001$) in Group II. There was found correlation between the levels of HAD and CS, HAD and HK, and CS and HK for all the Groups together. In conclusion, horses of 3-4 years had the highest oxidative capacity, ageing produced an increase in glycoytic capacity, a decrease in oxidative capacity and in the oldest Group a decrease in capillarity, HK, CS and HAD seem to maintain constant proportions in the muscle of these older horses.

Key words: Thoroughbred, skeletal muscle, fibre types, histochemical, biochemical, age.

INTRODUCCIÓN

Desde 1678 Stefano Lorenini, quien comentó sobre los diferentes tipos de músculos en animales tomando como base sus diferencias de color (músculos rojos y blancos) [16], hasta Ranvier [65] quien reportó la existencia de una relación entre los cambios de tonalidad de los músculos y las velocidades de contracción y relajación (los de apariencia roja se contraían en forma lenta, mientras que los de apariencia blanca lo hacían en forma rápida), ha ido emergiendo la idea de que la fibra muscular esquelética constituye un ejemplo de adaptación de la estructura a su función [75]. Tal aseveración se fundamenta en el hecho de que la fibra muscular estriada posee un conjunto de especializaciones estructurales, adecuadas a los procesos de excitación-contracción, como son las placas motoras y los sistemas contráctiles y sarcotubulares que al accionarse, hacen que la fibra muscular esquelética funcione como una unidad anatomo-fisiológica indivisible [8, 75].

Otros componentes de la fibra muscular lo constituyen las mitocondrias, las partículas de glucógeno, las gotas lipídicas y los mionúcleos. Estos últimos se encuentran en la región subsarcolémica, alrededor de los mionúcleos, se pueden encontrar además de las mitocondrias, polisomas libres y un complejo de Golgi poco desarrollado [22].

La mayoría de los músculos esqueléticos están compuestos por fibras con diferentes propiedades contráctiles y metabólicas, las cuales satisfacen requerimientos específicos de ellos [38]. El uso de técnicas como la *histoquímica* [6, 11, 16, 27, 45, 47, 58, 64, 87, 95] la *bioquímica* [16, 45, 47, 65], la *inmunocitoquímica* [21, 31, 51, 54, 56, 58, 70, 71, 80, 83], y la

ultraestructura (microscopía electrónica de transmisión (TEM) [22, 36, 37, 88] y microscopía electrónica de barrido SEM [63], han permitido caracterizar estas fibras y concluir que el músculo esquelético de los animales vertebrados, está compuesto básicamente por dos tipos de fibras musculares, fibras Tipo I y fibras Tipo II [7, 11, 16, 17, 23, 58, 87], las cuales se diferencian entre otras cosas por sus velocidades relativas de contracción, siendo referidas genéricamente como fibras de *contracción lenta* (tipo I), y fibras de *contracción rápida* (tipo II). Complementando esta información, con la utilización de la inmunocitoquímica principalmente, se han evidenciado miofenotipos intermedios de fibras relacionadas a las fibras tipo II [21, 31, 51, 54, 56, 58, 70, 71, 80, 83], cuyo número y peculiaridades constituyen tema de controversia.

La tipificación histoquímica de las fibras musculares se logró fundamentalmente mediante el análisis de tres grupos de enzimas, quienes juegan un rol de considerable importancia tanto en el metabolismo oxidativo y glicolítico de las fibras musculares, como en el funcionamiento de la maquinaria contráctil. Ellas son entre otras: La Nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH-diaforasa), la -Glicerolfosfato deshidrogenasa (α -GPDH) y la ATPasa miofibrilar [4, 11, 16, 27, 47, 61, 87, 95].

La utilización del sistema de clasificación de las fibras musculares esqueléticas basado en la actividad de la ATPasa a diferentes pH de preincubación representó un gran avance, ya que se pudo correlacionar las velocidades de contracción con la actividad de la ATPasa que presentaban las fibra tipo I y fibras tipo II [5]. Engel [17] describió una alta concentración de la ATPasa miofibrilar a pH alcalino en las fibras tipo II, mientras que en las fibras tipo I ésta era baja. Brooke y Kaiser [11], basándose en las diferencias de sensibilidad al pH de la ATPasa miosínica, encontraron que las fibras tipo II, se podían subclasificar después de preincubación ácida, en tres subtipos IIA (no reacciona a pH por debajo de 4,5); IIB (no reacciona a pH por debajo de 4,3) y IIC (no reacciona a pH por debajo de 3,9). El significado de este último tipo de fibra, aún no se ha aclarado con precisión [18, 47]. Se les han considerado, como células indiferenciadas en estados de desarrollo, siendo su tamaño y capacidad oxidativa es intermedio entre las I y II [18, 60, 87], FIG. 1, pero su presencia es muy escasa en los músculos de animales adultos [18, 47, 58]; sin embargo, un porcentaje considerable de este tipo de fibra, está presente en los músculos fetales y de animales jóvenes [6, 47, 58, 73].

Snow [87] describió las IIAB en el músculo del caballo, señalando como características de este tipo de fibra, la de poseer una estructura molecular de miosina intermedia entre las IIA y IIB. Además de esto, Ingjer [37], indicó que este tipo de fibra, posee un diámetro intermedio y abastecimiento intermedio de capilares, al compararlas con las IIA y IIB.

Por otra parte, la utilización de los niveles de las enzimas oxidativas y glicolíticas ha permitido mostrar que las fibras de contracción lenta o del tipo I (tipo I: lenta oxidativa o lenta

tónica), poseen altas concentraciones de enzimas asociadas con la oxidación del sustrato terminal, el sistema de transporte de electrones y la β -oxidación de los ácidos [4, 16, 30, 35, 58, 61, 65, 77, 81, 95].

El estudio ultraestructural de este tipo de fibra ha demostrado que está ricamente dotada de mitocondrias [22, 36, 37, 63, 68, 88] y tiene por ende, alta capacidad de consumo de oxígeno. Es importante destacar que tanto las I como las IIA, presentan una mayor irrigación sanguínea que, las IIB, debido al menor diámetro de las primeras [40, 88].

Las fibras de contracción rápida o del tipo II, se pueden subdividir, en fibras que poseen un potencial elevado de consumo de oxígeno y presentan además un abundante contenido de mitocondrias, IIA (rápida/oxidativa/glicolítica o rápida/tónica/altamente oxidativa), y un segundo grupo con un número limitado de mitocondrias, IIB (rápida glicolítica o rápida/tónica). Ambas tienen altas concentraciones de enzimas glicolíticas [4, 15, 16, 18, 58, 65, 81, 87, 95].

Resumiendo, las fibras Tipo I están bien dotadas estructural, funcional y bioquímicamente para resistir la fatiga, por lo que resultan esenciales en las actividades musculares de larga duración y baja intensidad (por ejemplo: funciones relacionadas con el mantenimiento de las posturas corporales, ejercicios de resistencia). Estas cualidades le permiten rendir una alta tasa energética desde rutas aeróbicas, utilizando sustratos extracelulares (glucosa y ácidos grasos sanguíneos), lo que justifica su mayor índice de fatigoresistencia [6, 16, 47, 58, 65, 87]. Por el contrario, las fibras Tipo II, son de contracción rápida y vigorosa, más adecuadas para el ejercicio de corta duración y alta intensidad (deportes de velocidad y fuerza). Su utilización energética acontece normalmente desde rutas anaeróbicas, usando combustibles intramusculares (glucógeno y triglicéridos). Tienen, por consiguiente, un potencial más alto de consumo y ren-

dimiento, pero a costa de una de una capacidad de resistencia más limitada [16,47, 58, 65, 87], FIG. 1.

Las fibras tipo IIA se encuentran en una proporción considerable en el músculo equino [15, 18, 38, 47, 58, 87], además de experimentar contracción rápida, tienen una considerable capacidad de resistencia, "la más codiciable condición para que un caballo de carrera corra las distancias medias" [58]. Por su parte, las fibras tipo IIB son de contracción rápida y explosiva, capaces de generar gran fuerza muscular pero sólo durante breve tiempo, pues su potencial para resistir la fatiga es muy limitado [16, 47, 58, 65, 87].

Es interesante hacer la acotación de que la distribución de los tipos de fibras musculares, varían entre especies, razas, individuos, en cada músculo, e incluso en el mismo músculo [6, 31, 47, 79, 87]. Con relación a las variaciones interindividuales en la composición fibrilar, autores como Gollnick y Motoba [24], Prince y col. [66] y Tesch y Karlsson [90], han indicado que la composición de los tipos de fibras que posean los músculos de un individuo, podría darle ciertas ventajas para la realización con éxito una determinada actividad física, y por lo tanto, este parámetro podría ser un pronosticador de su desempeño atlético.

La composición y diámetro de los tipos de fibras de un músculo esquelético en un animal adulto, son el resultado de la interacción de diferentes factores, entre los cuales el componente genético juega papel de preponderante importancia, ya que determina la presencia de los tipos de fibras musculares esqueléticas de primera (fibras lentas), o segunda (fibras rápidas) generación [16, 47, 49, 58, 65, 73, 74, 85]. Además de la influencia de la carga genética, la inervación, así como la presencia o ausencia de algunos factores hormonales, pueden tener también influencia crucial en los procesos de diferenciación fibrilar [6, 13, 14, 16, 17, 22, 39, 42, 58, 65, 68, 87].

TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES

TIPOS DE MIOSINA (pH 4.37)	CONTRACCIÓN LENTA	CONTRACCIÓN RÁPIDA		
ÁREAS	I	IIA	IIB	IIC
METABOLISMO Y SUSTRATOS OXIDATIVO ENZIMAS LÍPIDOS				
GLUCOLÍTICO ENZIMAS				
GLUCÓGENO				
ULTRAESTRUCTURA CAPILARES MITOCONDRIAS MIOGLOBINA				

FIGURA 1. ILUSTRACIÓN DE LAS PRINCIPALES PROPIEDADES DE LOS TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES ESQUELÉTICAS DEL CABALLO, Mc MIKEN [58].

Debido a la plasticidad de cambio que poseen las fibras musculares esqueléticas [9, 16, 23, 39, 42, 47, 65, 68], éstas son capaces de responder a factores tales como: ambientales extremas (en condiciones de hipóxicas) [82], entrenamiento [2, 4, 10, 15, 19, 20, 25, 26, 29, 30, 32, 33, 34, 35, 40, 44, 47, 50, 51, 58, 59, 66, 69, 77, 78, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 94], edad [1, 8, 12, 13, 18, 19, 23, 29, 42, 47, 49, 58, 73, 91, 92, 93], el sexo [15, 58, 73, 74, 76] y estados nutricionales (deficiencia de fósforo) [57], mediante modificación o remodelación en sus características funcionales morfológicas y metabólicas, como mecanismo de adaptación [47, 87]. Esta respuesta del músculo esquelético, guarda relación íntima con cambios en el grosor de las fibras, densidad de los diferentes miofenotipos de fibras, y en las adaptaciones circulatorias de los diferentes miofenotipos de fibras musculares esqueléticas [47, 58, 87].

De los factores intrínsecos capaces de influir sobre el músculo esquelético, la edad constituye uno de los más importantes ya que permite evaluar las variaciones en el músculo esquelético del equino por efecto del crecimiento y la maduración [73], y utilizar estas transformaciones, como índice del grado de madurez para promover nuevas adaptaciones musculares, implantando regímenes de entrenamiento específico a cada animal [1]. Con esto, se estaría evitando la aparición futura de eventuales daños en el sistema locomotor, y muy particularmente en el músculo esquelético [88].

Enmarcado en estas ideas, la presente investigación tuvo como objetivo primordial, analizar el efecto de la edad sobre las características y potenciales metabólicas de las fibras musculares esqueléticas en los Caballos Pura Sangre de Carrera venezolanos (CPSC).

MATERIALES Y MÉTODOS

Población

Para la realización de la presente investigación, se tomaron biopsias por punción percutánea al *M.G. medius* de cuarenta y seis (46) CPSC venezolanos, clínicamente sanos y de edades comprendidas entre 1-21 años (5 machos y 41 hembras). En cuanto al estado de entrenamiento, fueron seleccionaron animales que para el momento de la biopsia, se encontraran en inactividad (por un período mínimo 90 días) o previo al entrenamiento.

Para la toma de los especímenes de biopsia muscular, se seleccionó al *M.G. medius*, porque existen experiencias anteriores indicativas de que la región de la grupa no involucra riesgo, para la práctica de inyecciones profundas, ni para la toma de la biopsia muscular [38, 45, 87, 88]. Además a estos aspectos, se consideró el papel ejercido por este músculo en la propulsión del cuerpo en el espacio durante la locomoción [84], por lo cual este músculo, constituye un interesante modelo, para el análisis de las transformaciones que eventualmente

podieran sufrir las fibras musculares esqueléticas por efecto del ejercicio físico y de la edad [73].

Toma de las biopsias musculares

En todos los casos, las biopsias fueron tomadas permaneciendo los caballos en estación sin traquilización previa. Para ello, se tomaron referencias anatómicas concretas, realizándose las biopsias sobre el área que dista 3 cm dorsal al límite entre los tercios craneal y medio de la línea que une el centro de la espina ilíaca ventral con el punto más culminante de la porción caudal del trocánter mayor del fémur [52]. La zona seleccionada, se rasuró y asepsizó un área de 5-10 cm², luego, se inyectaron por vía subcutánea 3 ml de clorhidrato de procaína (Novocaína[®], solución al 2%) con aguja recta de 0,8 mm x 25 mm a lo largo de la línea prevista, la cual puede afectar a la piel y la fascia de revestimiento externo del músculo, pero no al tejido muscular subyacente, pues ello puede alterar las características de la muestra [45, 52, 87, 88]. Transcurridos entre 3 y 5 minutos de la infiltración anestésica, se procedió a la intervención propiamente dicha. Para ello se incidió (aproximadamente 5 mm) la piel, tejido subcutáneo y fascia glútea con la hojilla de un bisturí N° 4. De inmediato, la aguja de biopsia muscular diseñada por Bergström [7], se insertó en el espesor del músculo (procurando que todas las muestras, se obtuvieran a una profundidad de 6 cm) con dirección ventromedial y con la ventana de la aguja dirigida hacia arriba o hacia un lado. Para ello, se retiró parcialmente el cilindro interno cortante, al tiempo que la aguja, se comprimió con suavidad contra la masa muscular mediante un movimiento de palanca, para favorecer así la entrada del tejido muscular a través de la ventana. En este momento, el cilindro interno cortante se introdujo en forma decidida produciéndose con este movimiento la sección de muestra muscular.

Antes de extraer la aguja, esta operación se repitió de 2 a 3 veces, a objeto de obtener una cantidad suficiente de tejido muscular (aprox. 50-200 mg de tejido). Finalmente, la aguja se extrajo con delicadeza del músculo, y la muestra (ya con la aguja fuera del músculo) se extrajo del interior del cilindro interno cortante con la ayuda del estilete. Al extraer la aguja, se empapó la superficie de la piel con un algodón embebido en alcohol isopropílico, haciendo presión con los dedos índice y pulgar sobre el área, con el propósito de hacer hemostasis. La operación no requiere sutura cutánea y concluye con la disposición sobre la herida quirúrgica de sustancias cicatrizantes y antisépticas.

Posterior a los procedimientos de recolección de biopsias, los caballos fueron sometidos a inspección visual, a objeto de determinar algún grado de claudicación o alteraciones en el caminar atribuible a los procedimientos de extracción de los especímenes de biopsia muscular. Una vez obtenidos, se dividieron en dos porciones, para los análisis histoquímicos y bioquímicos propuestos para esta investigación.

Análisis histoquímico

Los especímenes de biopsia muscular destinados para histoquímica, se montaron en discos de corcho cubiertos con papel de aluminio y se cubrieron con el medio de embebimiento OCT (Tissue tek., Miles Sci USA) sumergiéndose luego en isopentano en frío (-60°C) por 2-3 minutos. Posteriormente, las muestras se mantuvieron en nitrógeno líquido hasta su procesamiento. Se realizaron secciones transversales seriadas de un espesor de 10 μ en un criostato a -20°C, siendo montadas sobre una laminilla o cubreobjeto, para realizar las reacciones histoquímicas, para la Adenosina trifosfatasa miofibrilar (ATPasa miosínica), a un pH de preincubación alcalino (10,3) [64] y pHs de preincubación ácido (4,8; 4,6 y 4,37) [11], para la Nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH-diaforasa) [61], para α -Glicerofosfato deshidrogenasa (α -GPDH) [95].

Los capilares, se visualizaron utilizando el método recomendado por Henckel [28, 29], basado en la presencia de mucopolisacáridos que reaccionan con el PAS, tiñéndose tanto el glucógeno de las fibras como la membrana basal del endotelio capilar. Para observar los capilares, el glucógeno es digerido previamente por la α -amilasa-PAS, quedando identificados los mucopolisacáridos de la membrana basal de las fibras y de los capilares [2].

Sobre las micrografías tomadas en blanco y negro, a esta reacción (α -amilasa-PAS) y con la ayuda de un analizador de imágenes (LADD Microcomputer Graphic Data Analyser System), se determinó el área promedio de cada tipo de fibra (I, IIA y IIB). La densidad capilar (capilares/mm²), el índice capilar (N° de capilares/N° de fibras), el N° de capilares adyacentes a cada fenotipo de fibra (I, IIA y IIB) y se analizaron, siguiendo el protocolo descrito por Brodal y col. [10]. Adicionalmente, se calculó el área promedio capilar adyacente a cada tipo de fibra (I, IIA y IIB).

La clasificación de los miofenotipos de fibras, se realizó según la nomenclatura propuesta por Brooke y Kaiser [11] (I, IIA y IIB). Además, también se tomó en consideración las recomendaciones de Andrews y Spurgeon [3], contándose un mínimo de 200 fibras en cada muestra.

El potencial metabólico oxidativo y glicolítico de las fibras musculares esqueléticas, se estimaron como alto o bajo,

dependiendo de las intensidades de reacción para la Nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH-diaforasa) y α -Glicerofosfato deshidrogenasa (α -GPDH) respectivamente.

Análisis bioquímico

Las muestras destinadas para este fin, se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se colocaron en papel de aluminio, luego se almacenaron en nitrógeno líquido hasta su análisis.

Las actividades de las enzimas analizadas fueron: citrato sintetasa (CS: En 4.1.3.7) (como un marcador del potencial oxidativo mitocondrial), la β -Hidroxiacil.CoA-deshidrogenasa (HAD: En 1.1.1.35) (como un marcador del potencial lipolítico) y la hexoquinasa (HK: En 2.7.1.1) (como un marcador del potencial glicolítico).

Las actividades de estas tres enzimas, se analizaron usando la técnica fluoro- métrica descrita por Lowry y Passoneau [53], a 25°C, expresando los resultados en: μ M/min. X gramo de peso húmedo de tejido.

Análisis estadístico

El análisis de las diferencias de los cuatro grupos etarios, se realizó con el test de rango múltiple de Student Newman-Keuls [62]. Para comparar las parejas de grupos, se utilizó el test "t" de Student. Las correlaciones, se obtuvieron por el método de los cuadrados mínimos [62].

RESULTADOS

Análisis histoquímico

Tipos de fibras: La identificación de los tipos de fibras musculares esqueléticas, basándose en las reacciones de la ATPasa miosínica a pHs de preincubación ácido y alcalino, permitió establecer en las muestras analizadas, tres miofenotipos básicos de fibras musculares que de acuerdo a la nomenclatura propuesta por Brooke y Kaiser [11], corresponden a las fibras Tipo I, IIA y IIB. Se observó en los cuatro grupos etarios, un predominio (80-84%) de las fibras tipo II o de contracción rápida, TABLA I, no distinguiéndose diferencias significativas

TABLA I

PROMEDIO \pm ds DE LOS TIPOS DE FIBRAS EXPRESADOS EN PORCENTAJE (%) EXISTENTES EN EL *M.G. medius* DE UNA MUESTRA DE CUARENTA Y SEIS (46) CABALLOS PURA SANGRE DE CARRERA VENEZOLANOS, DE EDADES DIFERENTES

Grupos Etarios	Tipos de Fibras			
	Tipo I (%)	Tipo IIA (%)	Tipo IIB (%)	Tipo IIC (%)
Grupo I (n = 5)	15,3 \pm 3,08	40,12 \pm 5,6	43,6 \pm 3,72	1
Grupo II (n = 10)	18,6 \pm 1,9	48,1 \pm 6,1	40 \pm 11,9	
Grupo III (n = 19)	18,6 \pm 3,1	43,5 \pm 1,86	37,9 \pm 2,48	
Grupo IV (n = 12)	16,8 \pm 2,17	45,96 \pm 1,86	37,33 \pm 3,10	

1-2 años (Grupo I), 3-4 años (Grupo II), 5-10 años (Grupo III) y 11-21 años (Grupo IV).

TABLA II
PROMEDIO ± ds ÀREA PROMEDIO DE LOS TIPOS DE FIBRAS (I, IIA Y IIB) EXPRESADAS EN µm² EXISTENTES EN EL *M.G. medius* DE UNA MUESTRA DE CUARENTA Y SEIS (46) CABALLOS PURA SANGRE DE CARRERA VENEZOLANOS, DE EDADES DIFERENTES

Grupos Etarios	Area Promedio de los Tipos de Fibras		
	Tipo I (µm²)	Tipo IIA (µm²)	Tipo IIB (µm²)
Grupo I (n= 5)	1.650,5 ± 392,15	2.330,1 ± 343,13	3.725,5 ± 294,11
Grupo II (n= 10)	2.035,4 ± 242,7	2.879,9 ± 291,26	4.068,27 ± 192,03
Grupo III (n= 19)	1.960,8 ± 194,2	2.549,01 ± 145,63	4.117,64 ± 291,3
Grupo IV (n= 12)	1.960,8 ± 339,8	2.745,1 ± 196,07	4.019,6 ± 194,17

1-2 años (Grupo I), 3-4 años (Grupo II), 5-10 años (Grupo III) y 11-21 años (Grupo IV).

TABLA III
PROMEDIO ± ds NÚMERO DE CAPILARES ADYACENTES A CADA TIPO DE FIBRA (I, IIA Y IIB) EXISTENTES EN EL *M.G. medius* DE UNA MUESTRA DE CUARENTA Y SEIS (46) CABALLOS PURA SANGRE DE CARRERA VENEZOLANOS, DE EDADES DIFERENTES

Grupos Etarios	Capilaridad Adyacente a Cada Tipo de Fibra		
	Tipo I	Tipo IIA	TIPO IIB
Grupo I (n= 5)	5,08 ± 0,06	4,83 ± 0,12	4,96 ± 0,31
Grupo II (n= 10)	4,34 ± 0,18	4,52 ± 0,55	5,58 ± 0,31
Grupo III (n= 19)	5,51 ± 0,03	5,42 ± 0,27	5,76 ± 0,43
Grupo IV (n= 12)	4,27 ± 0,18	4,89 ± 0,06	4,89 ± 0,24

1-2 años (Grupo I), 3-4 años (Grupo II), 5-10 años (Grupo III) y 11-21 años (Grupo IV).

entre edades para los tipos de fibras. Sin embargo, en muy pocos casos, principalmente en los caballos muy jóvenes (1-2 años), se encontró un porcentaje pequeño (1%) de las fibras tipo IIC.

Área promedio de los tipos de fibras: El análisis de las micrografías realizadas a la reacción α-amilasa-PAS, determinó que no existen diferencias significativas para esta variable entre las muestras de los grupos etarios estudiados, aunque es distinguible una tendencia a ser menor en el área promedio de las fibras Tipo I, fibras Tipo IIA y fibras Tipo IIB, correspondientes a los potros del Grupo I (1-2 años), con relación al resto de las muestras estudiadas, TABLA II.

Capilaridad: El número de capilares adyacentes a cada tipo de fibra (I, IIA y IIB), la densidad capilar (cap./mm²), el índice capilar (N°cap./N°de fibras) y el área calculada por capilar adyacente a cada tipo de fibra (área prom./cap. ady. a cada tipo de fibra), se aprecian en las TABLAS III, IV y V. El análisis de tales variables, reveló que existe solo una diferencia significativa (P>0,05) para el índice capilar, correspondiente a los ejemplares de 11-21 años, con respecto al resto de las muestras estudiadas.

Potencial metabólico oxidativo y glicolítico: En las TABLAS VI y VII, se exhiben los resultados del análisis cualitativo (expresado en %), de los potenciales metabólicos oxidativo y glicolítico de las fibras musculares esqueléticas de los especímenes estudiados. En la TABLA VI, se puede apreciar

TABLA IV
PROMEDIO ± ds DE LA DENSIDAD CAPILAR (cap./mm²) E ÍNDICE CAPILAR (N° cap./N° fibras), EXISTENTES EN EL *M.G. medius* DE UNA MUESTRA DE CUARENTA Y SEIS (46) CABALLOS PURA SANGRE DE CARRERA VENEZOLANOS, DE EDADES DIFERENTES

Grupos Etarios	Densidad Capilar (cap./mm²)	Índice Capilar (N° cap./N° fibras)
Grupo I (n = 5)	567,08 ± 111,39	2,06 ± 0,05
Grupo II (n = 10)	587,34 ± 20,25	2,04 ± 0,04
Grupo III (n = 19)	597,46 ± 40,50	2,1 ± 0,09
Grupo IV (n = 12)	506,32 ± 30,37	1,87 ± 0,04*

* P<0,05. 1-2 años (Grupo I), 3-4 años (Grupo II), 5-10 años (Grupo III) y 11-21 años (Grupo IV).

que en los ejemplares pre-entrenados (Grupo II: 3-4 años), el porcentaje de fibras que reaccionan en forma intensa a la NADH-diaforasa, es significativamente mayor (P>0,001) que el correspondiente a los ejemplares inactivos de los Grupos III (5-10 años) y IV (11-21 años). Así mismo, el % de fibras que reaccionan de forma baja a la NADH-diaforasa en el Grupo II, fue significativamente menor (P<0,001), al comparar este porcentaje de fibras con el correspondiente a los caballos de los

TABLA V

PROMEDIO \pm ds ÀREA PROMEDIO CALCULADA POR CAPILAR ADYACENTE A CADA TIPO DE FIBRA (I, IIA Y IIB), EXPRESADAS EN μmm^2 EXISTENTES EN EL *M.G. medius* DE UNA MUESTRA DE CUARENTA Y SEIS (46) CABALLOS PURA SANGRE DE CARRERA VENEZOLANOS, DE EDADES DIFERENTES

Grupos Etarios	Area Promedio Calculada por Capilaridad Adyacente		
	Tipo I (μMm^2)	Tipo IIA (μMm^2)	Tipo IIB (μMm^2)
Grupo I (n = 5)	328,6 \pm 71,4	485,71 \pm 50	714,3 \pm 43
Grupo II (n = 10)	314,3 \pm 71,42	450,14 \pm 50	728,6 \pm 60
Grupo III (n = 19)	204,1 \pm 28,6	485,71 \pm 35,7	742,9 \pm 57,24
Grupo IV (n = 12)	457,1,4 \pm 50	557,14 \pm 64,3	814,3 \pm 57,14

TABLA VI

PROMEDIO \pm ds REACCIÓN HISTOQUÍMICA DE LAS FIBRAS MUSCULARES ESQUELÉTICAS A LA ENZIMA NADH-DIAFORASA, EXPRESADO EN PORCENTAJE (%) EXISTENTES EN EL *M.G. medius* DE UNA MUESTRA DE CUARENTA Y SEIS (46) CABALLOS PURA SANGRE DE CARRERA VENEZOLANOS, DE EDADES DIFERENTES

Grupos Etarios	NADH-diaforasa		
	Alta %	Media (%)	Baja (%)
Grupo I (n = 5)	31,55 \pm 2,4	36,85 \pm 5,13	31,6 \pm 0,39
Grupo II (n = 10)	32,0 \pm 3,94*	42,18 \pm 0,78	25,82 \pm 0,78*
Grupo III (n = 19)	24,5 \pm 1,6	45,13 \pm 2,76	30,37 \pm 1,2
Grupo IV (n = 12)	23,68 \pm 2,8	44,35 \pm 2,8	31,97 \pm 3,15

*P<0,001. 1-2 años (Grupo I), 3-4 años (Grupo II), 5-10 años (Grupo III) y 11-21 años (Grupo IV).

TABLA VII

PROMEDIO \pm ds REACCIÓN HISTOQUÍMICA DE LAS FIBRAS MUSCULARES ESQUELÉTICAS A LA ENZIMA α -GPDH, EXPRESADO EN PORCENTAJE (%) EXISTENTES EN EL *M.G. medius* DE UNA MUESTRA DE CUARENTA Y SEIS (46) CABALLOS PURA SANGRE DE CARRERA VENEZOLANOS, DE EDADES DIFERENTES

Grupos Etarios	α -GPDH		
	Alta (%)	Media (%)	Baja (%)
Grupo I (n = 5)	21,71 \pm 7,9	53,23 \pm 6,71	25,06 \pm 6,51
Grupo II (n = 10)	19,34 \pm 1,8*	50,3 \pm 2,8	30,4 \pm 2,4
Grupo III (n = 19)	26,64 \pm 1,4	52,84 \pm 2,76	20,52 \pm 2,4 **
Grupo IV (n = 12)	28,02 \pm 1,97	51,3 \pm 3,15	20,68 \pm 2,36

**P<0,001. *P<0,01. 1-2 años (Grupo I), 3-4 años (Grupo II), 5-10 años (Grupo III) y 11-21 años (Grupo IV).

Grupos III y IV. Por otra parte, en la TABLA VII, se puede observar en los ejemplares de los Grupos III y IV, el porcentaje (%) de fibras que reaccionan intensa a la α -GPDH, son significativamente (P<0,01) mayores, al compararlos con los caballos de Grupo II. El Grupo III y IV presentó un porcentaje significativamente menor (P<0,001) de fibras que reaccionan en forma baja a la α -GPDH, al compararlos con las correspondientes del Grupo II de caballos. Este armónico cambio del metabolismo (\uparrow en la concentración de las enzimas glicolíticas y \downarrow en la concentración de las enzimas oxidativas) de las fibras musculares por efecto de la edad, se muestra en la relación inversa entre la sumatoria de los porcentajes de fibras que reaccionan en forma alta (A) y media (M) a la NADH-diaforasa y α -GPDH, TABLA IX.

Análisis bioquímico

En la TABLA VIII, muestra las actividades de las enzimas claves del metabolismo aeróbico (HAD y CS) y anaeróbico (HK) estudiadas. En dicha figura, es evidente un pico de actividad para las enzimas HAD y CS en los ejemplares del Grupo II que sobresale del resto de los grupos etarios estudiados, siendo el pico correspondiente de la CS, altamente significativo (P<0,001).

Al establecer las correlaciones de las actividades de las enzimas claves CS, HAD y HK entre sí, se observó que las mismas eran positivas y significativas (P<0,01) y altamente significativas (P<0,005) respectivamente, TABLA IX. Esto último podría indicar, que las actividades de éstas tres enzimas,

TABLA VIII

PROMEDIO \pm ds DE LAS ACTIVIDADES DE LAS ENZIMAS MUSCULARES HEXOQUINASA (HK), CITRATO SINTETASA (CS) Y β -OH-ACYL-CoA DESHIDROGENASA (HAD), EXPRESADAS EN (μ Mol/g/minuto), EXISTENTES EN EL *M.G. medius* DE UNA MUESTRA DE CUARENTA Y SEIS (46) CABALLOS PURA SANGRE DE CARRERA VENEZOLANOS, DE EDADES DIFERENTES

Grupos Etarios	Enzimas (μ Mol/g de peso húmedo de tejido/minuto)		
	HK	CS	HAD
Grupo I (n = 5)	0,57 \pm 0,28	18,46 \pm 7,69	11,38 \pm 1,23
Grupo II (n = 10)	0,71 \pm 0,14	26,46 \pm 4,61**	16,76 \pm 2,46
Grupo III (n = 19)	0,85 \pm 0,28	21,23 \pm 2,38	11,38 \pm 0,92
Grupo IV (n = 12)	0,71 \pm 0,14	22,92 \pm 2,15	10,15 \pm 1,07

* P<0,001. 1-2 años (Grupo I), 3-4 años (Grupo II), 5-10 años (Grupo III) y 11-21 años (Grupo IV).

TABLA IX
CUADRO MATRIZ DE CORRELACIONES

%		Tipos de Fibras			Enzimas		NADH-d	
		I	IIA	IIB	CS	HK	HAD	A+M
Tipos de Fibras	IIA	-,21						
	IIB	-,45**	-,47**					
Enzimas	CS	,10	,28	-,31				
	HK	,18	,03	-,18	,39*			
	HAD	,02	,30	-,22	,49**	,32*		
NADH-d	A	,20		,27	,16		,22	
	M		,46**					
	B	-,29		,32*				
	A+M				,25		,17	
α -GPDH	A	-,17		,17	-,18		-,26	
	M		,07					
	B	,27		-,33*	,28		,38*	
	A+M					-,26		-,37*

**P< 0,01. *P<0,05.

son importantes para la obtención de energía a través de la oxidación del piruvato y de la β -oxidación de los ácidos grasos.

DISCUSIÓN

Está bien documentado que los cambios en las proporciones de fibras de contracción rápida (Tipo II) y de contracción lenta (Tipo I), ocurren en forma natural durante el crecimiento de los animales después del nacimiento [6, 23, 42, 49, 73]. Así mismo, varios estudios en mamíferos han demostrado que el incremento en el cociente de fibras I / II, ocurre a través de la vía de los Tipos de fibras IIC (II \rightarrow IIC \rightarrow I) [23, 42, 49, 72]. Esta característica de labilidad de transformación que poseen las fibras Tipo IIC, de poder convertirse en fibras Tipo I, se debe a que las mismas poseen una miosina intermedia (lenta y rápida) [47, 60, 88]. Al completarse el año de vida en los caballos, la proporción de fibras Tipo IIC, puede llegar al 1 ó 2%

del total de fibras [18, 29, 47,73, 87]. En concordancia con estos planteamientos, en la presente investigación se observó en los potros de 1-2 años, un porcentaje de fibras Tipo IIC del 1% TABLA I.

El incremento en el porcentaje de las fibras tipo IIA y el consiguiente descenso proporcional de fibras tipo IIB, observado en el presente estudio en los ejemplares del Grupo II (3-4 años), al compararlos con los ejemplares del Grupo I (1-2 años), ha sido extensamente reportado en los equinos jóvenes sometidos a regímenes de entrenamiento [15, 18, 19,26, 28, 29, 32, 34, 44, 45, 50, 58, 78, 86, 89, 94], los citados trabajos señalan que la transformación IIB \rightarrow IIA, se debe en gran medida, al efecto facilitador del entrenamiento al que fueron sometidos estos animales.

Inger [37] y Snow [87], han indicado que el aumento en el cociente de fibras Tipo IIA /IIB, se realiza a través de la vía de un tipo intermedio de fibras denominado IIAB (IIB \rightarrow IIAB \rightarrow

IIA), la cual se caracteriza entre otras cosas, por poseer una estructura molecular de miosina intermedia entre los tipos de fibras IIA y IIB [37, 47, 87].

Se podría atribuir que la transformación de las fibras tipo IIB→IIA, observadas en el presente trabajo, en los animales del Grupoll (pre-entrenados), TABLA I, podría estar involucrada, como se ha indicado en otros trabajos previos [15, 73], a la actividad física espontánea desarrollada por estos animales durante el período de crecimiento y maduración (2-2 ½ años). Además, también se ha indicado que en este período de crecimiento y maduración, los caballos pueden llegar a obtener casi en la totalidad (80%) de su peso adulto, pueden alcanzar su mayor fase de crecimiento y comienzan a competir [20, 85], y además, sus músculos de contracción fásico-rápida son capaces de reclutar (dependiendo de la intensidad y duración de los ejercicios) todos los miofenotipos de fibras musculares esqueléticas [15, 34, 73], en el orden siguiente I→IIA→IIB [46].

La actividad física espontánea cotidiana desarrollada por estos animales, aunada al incremento en el peso final que alcanzan durante esta fase de crecimiento y maduración, puede tener una gran connotación en el ámbito muscular, dado que el aumento en el peso corporal, incrementa en forma proporcional el área promedio de los tipos de fibras [87], y el efecto del reclutamiento de todos los tipos de fibras durante la ejecución de una actividad física, puede provocar a la postre, si se realiza de una manera sistemática, hipertrofia [15, 18, 19, 28, 29, 44, 45, 50, 58, 86, 89, 90] y/o disminución en el grosor [20] de los miofenotipos de fibras (I, IA y IIB). También se han señalado incrementos en la capilaridad [2, 10, 20, 28, 39], así como cambios metabólicos en los tipos de fibras [1, 4, 15, 18, 19, 20, 25, 26, 28, 29, 30, 32, 33, 34, 35, 41, 44, 45, 58, 59, 69, 77, 78, 86, 87, 94] por efecto del entrenamiento.

Con relación a tales aseveraciones y quizás por el efecto de la actividad física espontánea desarrollada durante el período de crecimiento y maduración, en la presente investigación, se observó en los caballos del Grupo II una tendencia al aumento en las áreas promedios de los miofenotipos de fibras (I: 1.9990,29 ± 242,7; IIA: 2.352,94 ± 291,26; IIB: 4.068,27 ± 129,03) al comparar dichas áreas con las correspondientes a los caballos del Grupo I (I: 1.650,48 ± 392,15; IIA: 2.330,09 ± 343,13; IIB: 3.725,49 ± 294,11). No obstante, dicho incremento en las áreas promedios (hipertrofia) de los tipos de fibras, no se acompañó con proliferación de nuevos capilares, lo cual quiere decir que no se encontraron diferencias entre los ejemplares de los Grupos II y I para las variables capilares adyacentes a cada tipo de fibra TABLA III, índice capilar y densidad capilar TABLA IV y área promedio calculada por capilar adyacente TABLA V. con relación a estos parámetros. Los resultados obtenidos coinciden con los de Henckel [29] y Karlström [40] que trabajaron con caballos trotones en crecimiento e inactivos y discrepa con los de Cotter [14] que analizó el *M. Extensor digitorum longus* en conejos también en crecimiento. Con relación a estas discrepancias señaladas entre especies, es importante indicar que Kalström [40] indicó que existe una

correlación inversa entre el grosor de las fibras musculares esqueléticas y el número de capilares por fibra. En este sentido, la diferencia indicada entre especies podría obedecer a que el área promedio de los tipos de fibras del conejo, son de menor grosor a las observadas en los equinos.

En cuanto a los cambios metabólicos inducidos por la ejecución cotidiana de la actividad física espontánea (referida por Cutmore y col. [15] como: caminatas, trotes y medio galopes de duración por más de 2 minutos), se observó en los caballos del Grupo II (3-4 años) aumentos en la actividad de las enzimas β -Hidroxiacil-CoA-deshidrogenasa (HAD) y citrato sintetasa (CS), al comparar la actividad de estas enzimas, con las correspondientes a los caballos del Grupo I (1-2 años) TABLA VIII.

Los incrementos proporcionales en la actividad de las enzimas HAD y CS, se exhiben en la TABLA IX. Esta correlación positiva y altamente significativa ($P < 0,01$) entre ambas enzimas, indica que existe un crecimiento armónico entre las distintas enzimas asociadas con la oxidación del sustrato terminal y la β -oxidación de los ácidos grasos.

Al igual que se ha descrito en el equino [15, 33, 34, 47, 86, 87, 94] y en otras especies [4, 35, 59], se evidenció que los picos de actividad de la HAD y CS, evidenciados en los ejemplares del Grupo II (3-4 años) TABLA VIII, se acompañó con aumentos significativos ($P < 0,001$) en el porcentaje de las fibras que reaccionan de forma intensa a la NADH-diaforasa, al comparar dicha proporción con la presentaron el grupo de caballos desentrenados (Grupo III: 5-10 años y IV: 11-21 años), TABLA VI. Concomitante con las observaciones indicadas en el Grupo II, se observó una disminución significativa ($P < 0,001$) en el porcentaje de fibras que reaccionan en forma baja a la NADH-diaforasa, al comparar con las correspondientes a los ejemplares de los Grupos III y IV. Tales observaciones corroboran lo planteado por otros autores [15, 34, 59, 69, 86] quienes han señalado que los incrementos en las actividades de las enzimas involucradas en la oxidación del sustrato terminal, la β -oxidación de los ácidos grasos y la cadena respiratoria, ocurren en paralelo, manteniendo las proporciones constantes de estas enzimas.

Por otra parte, de acuerdo con Singel y Pette [81], la HK mostró en el presente trabajo, ser inversamente proporcional a las enzimas glicolíticas, esto mismo se observó, al analizar el cálculo de las correlaciones entre la sumatoria de los porcentajes de las fibras que reaccionan alta y medianamente a la NADH-diaforasa y sus homónimas que reaccionan a la α -GDPH, TABLA IX; y entre las actividades de las enzimas CS y HAD y las fibras que reaccionan en forma intensa a la enzima α -GDPH, TABLA IX. Esto último, se corresponde con lo planteado por otros autores [15, 26, 34, 59, 86], en cuanto que el aumento de las enzimas oxidativas, trae una disminución de las enzimas glucogenolíticas y glicolíticas.

Adicionalmente la actividad de la HK en el presente trabajo, no se alteró por efecto de la maduración y el crecimiento

TABLA VIII, lo cual discrepa con los resultados obtenidos por Henckel [29], en caballos trotones en crecimiento.

Essén-Gustavsson y Lindholm [20] y Agüera y col. [1], han señalado que el significado fisiológico de las transformaciones tipo fibrilar antes analizadas en los caballos jóvenes, emana del mayor índice de fatigoresistencia de las fibras Tipo IIA, mientras conservan su rápida velocidad de contracción. Adicionalmente, El análisis comparativo de las características histoquímicas y metabólicas del *M.G. medius* de los C.P.S. venezolanos con relación a la edad demuestra que los ejemplares de 3-4 años muestran que el músculo esquelético de estos animales ha conquistado un grado satisfactorio de madurez funcional, reflejado por el incremento del cociente de fibras Tipo IIA/IIB, aumento en los niveles de las enzimas claves del metabolismo aeróbico citrato sintetasa (CS) y β -Hidroxiacil-CoA-deshidrogenasa (HAD), así como de la capacidad oxidativa de las fibras

En cuanto a los ejemplares inactivos (5-10 y de 11-21 años), la distribución porcentual de los miofenotipos de fibras I, IIA y IIB, fue virtualmente la misma que presentada por los caballos del Grupo II (3-4 años). Lo cual corrobora lo indicado por otros investigadores [26, 41, 50], en el sentido de que con el desentrenamiento, dichos valores retornan a los niveles de pre-entrenamiento. De manera similar, lo mencionado también es válido para el área promedio de los tipos los tipos de fibras I, IIA y IIB, no observándose diferencias, al comparar dichas áreas entre los grupos de caballos II, III y IV, TABLA II. Estos hallazgos, coinciden con los presentados por otros autores [29, 50]. En contraposición a lo anterior, Henckel [29] y Karlström [40] observaron en los caballos trotones viejos desentrenados, mayor grosor de las fibras que en los jóvenes no entrenados. Por su parte, algunos autores señalan que el envejecimiento en los ratones [13] y en el hombre [91], la inactividad en el hombre [41, 90] y en los caballos [88] y el desuso en los conejillos de indias [43] y en el hombre [9], pueden provocar disminución en el grosor de los tipos de fibras, por debajo incluso, de los valores observados en condiciones de pre-entrenamiento [41, 88]. Esta discrepancia en los resultados, podría estar relacionada con diferencias interespecie, y de razas de equinos.

Al analizar las variables que según Andersen y Herikson [2] describen la capilaridad de un músculo, no se evidenciaron diferencias significativas con el Grupo II TABLAS III, IV y V. Sin embargo, en los caballos de 11-21 años, se observó una tendencia a la disminución en la densidad capilar TABLA IV, así como también una reducción en el número de capilares adyacentes a cada tipo de fibra y una disminución significativa ($P < 0,01$) del índice capilar TABLAS III y IV. Del mismo modo, estos ejemplares presentaron una tendencia al aumento en el área promedio calculada por capilar adyacentes a cada tipo de fibra TABLA V. La indicada reducción en la capilaridad de estos ejemplares, concuerda con hallazgos similares reportados por Brodal y col. [10], en donde estos autores analizaron el músculo esquelético de individuos desen-

trenado. La disminución en la capilaridad, se acompañó con adaptaciones metabólicas en las fibras musculares. En este sentido, se observó en los caballos de los Grupos III (5-10 años) y IV (11-21 años), un incremento significativo ($P < 0,001$) en el porcentaje de fibras que reaccionan de forma intensa a la α -GPDH, al comparar este porcentaje con el correspondiente a los ejemplares del Grupo II, TABLA VII. Así mismo se evidenció que los caballos de los Grupos II y IV presentan un porcentaje de fibras altamente oxidativas significativamente ($P < 0,05$) menor que el correspondiente a los caballos de Grupo II (3-4 años), TABLAS VI. En concordancia con estos cambios metabólicos, al establecer la correlación entre la sumatoria de las fibras que reaccionan alta (A) y medianamente (M) a la enzima NADH-diaforasa, con sus homónimas que reaccionan alta y medianamente a la enzima y α -GPDH, se evidenció que era negativa y significativa ($P < 0,01$), TABLA IX. Adicionalmente a estos cambios, en estos caballos desentrenados (Grupo II y IV), la CS presentó niveles de actividad significativamente menores ($P < 0,001$), en comparación con la observada en los pre-entrenados de 3-4 años, TABLA VIII. Adaptaciones metabólicas similares en las fibras musculares por efecto del desentrenamiento, han sido reportadas por otros autores [12, 20, 26, 30, 41, 86] quienes han acotado que tales características en las fibras musculares esqueléticas, podrían ser utilizadas como criterios indicativos de una menor capacidad de resistencia física.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos demuestran que en los Caballos Pura Sangre de 3-4 años, el crecimiento y la actividad física espontánea desarrollada por estos animales, provocó sus músculos esqueléticos un grado satisfactorio de madurez funcional, reflejado por el incremento del cociente de fibras IIA/IIB, incremento en el grosor de los tipos de fibras, aumento en los niveles de las enzimas claves del metabolismo aeróbico citrato sintetasa (CS) y β -Hidroxiacil-CoA-deshidrogenasa (HAD), así como de la capacidad oxidativa de las fibras.

Por otra parte los resultados también indican que con el desentrenamiento, así como el incremento de la edad, producen una transformación en metabolismo de las fibras aumentando la capacidad glicolítica, y disminuyendo concomitante la capacidad oxidativa. Así mismo el efecto del desentrenamiento y la edad en los caballos, se reflejó en una disminución en la capilaridad. Tales características en las fibras musculares esqueléticas en los animales inactivos, podrían ser utilizadas como criterios indicativos de una menor capacidad de resistencia física en estos animales.

Debido a la gran utilidad práctica en los estudios miológicos que representa la biopsia por punción percutánea, así como de las técnicas que de ella se derivan, se recomienda realizar en los animales pre-entrenados, un análisis de la composición de los principales miofenotipos de fibras, a objeto de

ajustar el régimen de entrenamiento, a las características propias que posean los músculos esqueléticos de cada ejemplar, y de esta forma, asegurar su óptimo desempeño como atleta. Así mismo, es importante estudiar las transformaciones producidas en los tipos de fibras posterior al período de entrenamiento, con la idea de evaluar tales cambios y realizar los ajustes necesarios en el régimen de entrenamiento aplicado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGÜERA, E.; MARTÍNEZ-GALISTEO, A.; LÓPEZ-RIVERO, J.L. Evolución del cociente fibrilar IIA/IIB en el músculo esquelético del caballo en función de la edad. **An. Anat.**, 36: 3-5. 1990.
- [2] ANDERSEN, P.; HERIKSON, J. Capillary supply of the quadriceps femoris muscle of man: Adaptive response to exercise. **J. Physiol.**, 270: 677-690. 1977.
- [3] ANDREWS, F.M.; SPURGEON, T.L. Histochemical staining characteristic of normal horse skeletal muscle. **Am. J. Vet. Res.**, 47: 1843-1852. 1986.
- [4] BALDWIN, K.M.; KLINFERFUSS, G.H.; TERJUNG, R.L.; MOLÉ, P.A.; HOLLOSZY, J.O. Respiratory capacity of white, red and intermediate muscle fibres: Adaptive response to exercise. **Am. J. Physiol.**, 222:373-378. 1972.
- [5] BÁRANY, M. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. **J. Gen. Physiol.**, 50: 17-218. 1967.
- [6] BECHTEL, P.J.; KLINE, K.H. Muscle fibre type changes in the middle gluteal of quarter an standardbred horses from birth throughh one year of age In: **Equine Exercise Physiology 2**. J.R. Gillespie and N.E. Robinson, Eds. ICEEEP Publications, Davis California: 265-270. 1987.
- [7] BERGSTRÖM, J. Muscle electrolytes in man: Determined by neutron activation analysis on needle biopsy specimens: a study in normal subjects, kidney patients, and patients with chronic diarrhoea. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, 14 Suppl. 68: 1. 1962.
- [8] BLOT, S. Myopathies in domestic carnivores. Part.1. The skeletal muscle: structure, function and symptomatology. **Pract. Méd. Chjr. Anim. Comp.**, 30: 11-25. 1995.
- [9] BOOTH, F. W.; SEIDER, M. J.; HUGMAN, G. R. Effects of disuse by limb immobilization of diferent muscle fiber types. In: **Plasticity of Muscle**. D. Pette, Walter de Gruyter, Ed. Berlin-New York:373-383. 1980.
- [10] BRODAL, P.; INGJER, F.; HERMMANSEN, L. Capillary supply of skeletal muscle fibres in untrained and endurance-trained men. **Am. J. Physiol.**, 242: 705-712. 1977.
- [11] BROOKE, M.H.; KAISER, K.K. Three "myosin ATPase" systems: The nature of their pH lability and sulphhydryl dependence. **J. Histochem. Cytochem.**, 18: 670-672. 1970.
- [12] CARMELLI, E.; REZNICK, A.Z. The physiology and biochemistry of skeletal muscle atrophy as a function of age. **Proc Soc. Exp. Biol. Med.**, 206: 103-113. 1994.
- [13] CARRY, M.R.; HORAN, S.E.; REED, S.H.; FARELL, R.V. Structure, innervation, and age-associated changes of mouse forearm muscle. **Anat. Rec.**, 237: 345-357. 1993.
- [14] COTTER, M.A. A study of the interrelationships between the vascular supply and metabolism of skeletal muscle fibres in the course of devilmnt, and during chronic simulation of adult muscle. University of Birmingham. (PhD. Thesis):7-70 1975.
- [15] CUTMORE, C.M.M.; SNOW, D.H.; NEWSHOLME, E.A. Activities of key enzymes of aerobic metabolism in middle gluteal muscle from trained and untrained horses. **Equine Vet. J.**, 5: 354-356. 1985.
- [16] DUBOWITZ, V. Normal muscle In: **Muscle Biopsy. A practical approach** Chap. 3 and 4, Bailliere Tindall. London, Philadelphia, Toronto. Sec. Edit.: 41-129. 1985.
- [17] ENGEL, W.K., (1962). The essentiality of histo and cytochemical studies of skeletal muscles in the investigation of neuromuscular diseases. **Arch. Neurol.**, 22: 97-117.
- [18] ESSÉN, B.; LINDHOLM, A.; THORTON, J. Histochemical properties of muscle fibre types and activities in skeletal muscles of Standardbred trotters of different ages. **Equine Vet. J.**, 12: 175-180. 1980.
- [19] ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A.; MC MIKEN, D.; PERSSON, S.; THORTON, J.R. Skeletal muscle characteristic of young Standardbreds in relation to growth and early training. In: **Equine Exercise Physiology**, D.H. Snow, S.G.B. Persson and R.J. ROSE, Eds. Granta Editions, Cambridge,:200-210. 1983.
- [20] ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A. Muscle fibre characteristic of active and inactive Standardbred horses. **Equine Vet. J.**, 17: 434.438. 1985.
- [21] ECO-PRINCE, M; HILL, M.; BROWN, W. Immunocytochemical demostration of myosin heavy chain expression in human muscle. **J. Neurol. Sci.**, 91: 71-78. 1989.
- [22] FINOL, H.J. Contribución al estudio de los tipos de fibras en la musculatura estriada de los vertebrados. Universidad Central de Venezuela. (Trabajo de Ascenso):23-30. 1980.
- [23] GAUTHIER, G.F.; LOWEY, S.; HOBBS, A.W. Fast and slow myosin in developing muscle fibres, **Nature**, 274:25-29.
- [24] GOLLNICK P.D.; MOTOBA H. The muscle fiber composition of skeletal muscle as a predictor of athletic success. An overview. **Am. J. Sports. Med.**, 12: 212. 1984.

- [25] GOLLNICK, P.D.; SALTIN, B. Significance of skeletal muscle oxidative enhancement with endurance training. **Clin. Physiol.**, 2: 1-12. 1982.
- [26] GUY I.; SNOW, D.H. The effect of training and detraining on muscle composition in the horse. **J. Physiol (Lond.)**, 269: 33-51. 1977.
- [27] GUTH, I.; SAMAHA, F.J. Quantitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. **Expl. Neurol.**, 25: 138-152. 1969.
- [28] HENCKEL, P. A histochemical assessment of capillary blood supply of the middle gluteal muscle of Thoroughbred horses. In: **Equine Exercise Physiology**. D.H. Snow, S.G.B. Persson and R.J. Rose Eds. Granta Edition, Cambridge: 225-228. 1983.
- [29] HENCKEL, P. Training and growth induced changes in the middle gluteal muscle of young standardbred trotters. **Equine Vet. J.**, 15: 134-140. 1983b.
- [30] HERIKSSON, J.; RETMAN, J.S. Time course of changes in human skeletal muscle succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activities and maximal oxygen uptake with physical activity and inactivity. **Acta Physiol. Scand.**, 99: 91-97. 1977.
- [31] HERMANSON, J.W.; HEGEMANN-MONANCELLI, M.T.; DAAOD, M.J.; LAFROMBOI, W.A. Correlation of myosin isoforms with anatomical divisions in equine musculus biceps brachii. **Acta Anat.**, 141: 369-376. 1991.
- [32] HIGARA, A.; KAI, M.; KUBO, K.; ERICKSON, B.K. The effect of long slow distance training on aerobic work capacity in young Thoroughbred horses. **J. Equine Sci.**, 6: 1-6. 1995.
- [33] HODGSON, D.R. An update in equine exercise physiology research in North America and throughout the world. **California Vet.**, 41: 7-28. 1987.
- [34] HODGSON, D.R.; ROSE, R.; DIMAURO, J.; ALLEN, R. Effects of submaximal treadmill training programme on histochemical properties, enzyme activities and glycogen utilisation of skeletal muscle in horse. **Equine Vet. J.**, 17: 300-305. 1985.
- [35] HOLLOSZY, J.O.; OSCAI, L.B.; DON, I.J.; MOLÉ, P.A. Mitochondrial citric acid cycle and related enzymes: Adaptive response to exercise. **Biochem. Biophys. Commun Res.**, 40: 1368-1373. 1970.
- [36] HOPPELER, H.; CLAASEN, H.; HOWAL, H.; STRAUB, R. Correlated histochemistry and morphometry in equine skeletal muscle. In: **Equine Exercise Physiology**. D.H. Snow, S.G.B. Persson and R.J. Rose, Eds. Granta Editions, Cambridge, pp. 184-192. 1983.
- [37] INGER, F. A method for correlating ultrastructural and histochemical data from individual muscle fibres. **Histochemistry**, 54: 169-172. 1977.
- [38] ISLAS, A.; LÓPEZ-RIVERO, J.; QUEZADA, M.; MORA, G.; AEDO, V.; BRIONES, M.; MARÍN, L. Características histoquímicas de las fibras del músculo *Gluteus medius* en equinos de tiro. **Arch. Med. Vet.**, 28: 83-91. 1996.
- [39] JARVIS, J. C.; MOKRUSCH, T.; KEWENDE, M.M.N.; SUTHERLAND, H.; SALMONS, A. Fast-to-slow transformation in stimulated rat muscle. **Muscle Nerve**, 19: 1469-1474. 1996.
- [40] KARLSTRÖM, K. Capillary supply, fibre type composition and enzymatic profile of equine, bovine and porcine locomotor and nonlocomotor muscles. **Sveriges Lantbruksuniversitet**: 1-80. 1995.
- [41] KLAUSEN, K.; ANDERSEM, L.B.; PELLE, I. Adaptive changes in work capacity skeletal muscle capillarization and enzyme levels during training and detraining. **Acta Physiol. Scand.** 113: 9-16. 1981.
- [42] KUGELBERG, E. Adaptive transformation of rat soleus motor units during growth: Histochemistry and contraction speed. **J. Neurol. Sci.**, 27: 269-289. 1976.
- [43] LEIVSTH, G.; TINDALL, A.; MYKLEBUST, R. Changes in guinea pig muscle histology in response to reduced motility. **Muscle Nerve**, 10: 410-414. 1987.
- [44] LINDHOLM, A.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; MC MIKEN, D.; PERSSON, S.; THORTON, J.R. Muscle histochemistry of Thoroughbred horses during growth and training. In: **Equine Exercise Physiology**. D.H. Snow S.G.B. Persson and R.J. ROSE. Eds. Granta Edition, Cambridge: 211-217. 1983.
- [45] LINDHOLM, A.; PIEHL, K. Fibre composition enzyme activity and concentrations of metabolites and electrolytes in muscles of Standardbred horses. **Acta Vet. Scand.**, 15: 287-309. 1974.
- [46] LINDHOLM, A.; BJEMELD, A.; SALTIN, B. Glycogen depletion pattern in muscle fibres of trotting horses. **Acta Physiol., Scand.**, 90: 475-484. 1974.
- [47] LÓPEZ, J.L. Características histoquímicas, bioquímicas y morfológicas del músculo esquelético del equino. **Agro-Ciencia**, 9: 113-132. 1993.
- [48] LÓPEZ-RIVERO, J.L.; AGÜERA, J.G.; MONTERDE, J.G.; RODRÍGUEZ-BARBUDO, M.V.; MIRÓ, F. Comparative study of muscle fiber type composition in the middle gluteal muscle of Andalusian, Thoroughbred and Arabian horses. **J. Equine Vet. Sci.**, 9: 337-340. 1993.
- [49] LÓPEZ-RIVERO, J.L.; GALISTEO, A.M.; SERRANO, A.L.; MORALES, J.L. Influencia del semental sobre tipo y composición de fibra muscular en caballos árabes y

- andaluces en diferentes estados de desarrollo postnatal. **Agro-Ciencia**, 9: 43-48. 1993.
- [50] LÓPEZ-RIVERO, J.L.; RUZ, M.C.; SERRANO, A.L.; GALISTEO, A.M. Efecto del entrenamiento y desentrenamiento sobre el tamaño de los tipos de fibras musculares en diferentes razas de caballos. **Arch. Med. Vet.**, 25: 127-136. 1993c.
- [51] LÓPEZ-RIVERO, J.L.; AGÜERA, E.; MONTERDE, J.V.; RODRÍGUEZ-BARBUDO, M.V. Skeletal muscle fiber size in untrained and endurance-trained horses. **Am. J. Vet. Res.**, 53: 847-850. 1992.
- [52] LÓPEZ-RIVERO, J.L.; MONTERDE, J.G.; MIRÓ, F.; DIZ, A.; MARTÍNEZ-GALISTEO, A. Biopsia muscular con aguja percutánea en el caballo: descripción y aplicaciones. **One 2ª época**, 81: 26-28. 1989.
- [53] LOWRY, O.H.; PASSONEAU, J.V. A flexible system of enzymatic analysis. **Academic Press. N.Y.:** 1.1972.
- [54] MANABE, N.; AZUMA, Y.; FURUYA, Y.; KURAMITSU, K.; NAGANO, N.; MIYAMOTO, H. Immunohistochemical quantification of fast-myosin in frozen histological section of goat limb muscles. **Animal Sci.**, 62: 325-335.1996.
- [55] MANSOUR, T.E. Studies on heart phosphofrutokinase active and inactive forms of the enzyme. **J. Biol. Chem.**, 240: 2165-2172. 1965.
- [56] MATSUMOTO, N.; NAKAMURA, T.; YASUI, Y.; TORII, J. Immunohistochemical differentiation of fiber types in human skeletal muscle using monoclonal antibodies to slow and fast isoforms of tropin I subunit. **Biotechnic Histo.** 1052: 191-197. 1997.
- [57] MEDINA-LÓPEZ, N.; FINOL, H.J.; MARÍN, C. Patología ultraestructural del músculo esquelético en el síndrome parapléjico bovino. **Acta Cient. Venez.**, 45: 120-126. 1994.
- [58] MC MIKEN, D.F. Muscle-fiber types and horse performance **Equine Practice**, 8: 6-14. 1986.
- [59] MOLÉ, P.A.; OSCAL, L.B.; HOLLOSZY, J.O. Adaptation of muscle to exercise. Increased in levels of Palmityl-CoA-Syntetase, Carnitine palmytil transferase, and Palmityl-CoA deshydrogenase and in the capacity to fatty acids. **J. Clin. Invest.** 50: 2323-2330. 1971.
- [60] MÓRALES-LÓPEZ, J.L.; AGÜERA, E.; VIVO, J.; LÓPEZ-RIVERO, J.L. Type IIC fibres in certain muscles of the adult rat (sedentary and exercised). **Histol. Histo-pathol.** 5: 213-217. 1990.
- [61] NOVIKOFF, A.B.; SHINE, W.; DRUCKER, J. Mitochondrial localisation of oxidation enzymes: Stain results with two tetrazolium salts. **J. Biophys. Biochem.**, 9: 47-61. 1961.
- [62] NORMAN, R.G.; STREINER, D.L. Regresión simple y correlación. Comparar dos grupos. El test de la T. En: **Bioestadística**. Mc Graw-Hill, Latinoamericana, Madrid-España: 59-215. 1995.
- [63] OGATA, T.; YAMASAKI, Y. Ultra-high-resolution scanning electron microscopy of mitochondria and sarcoplasmic reticulum arrangement in human red, white, and intermediate muscle fibres. **Anat. Rec.**, 248: 214-223. 1997.
- [64] PADYKULA, H.A.; HERMAN, E. The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. **J. Histochem. Cytochem.**, 3: 170-195. 1955.
- [65] PETTE, K.; SPAMER, C. Metabolic properties of muscle fibres. **Federation Proc.**, 45: 2910-2914. 1986.
- [66] PRINCE, F.P.; HIKIDA, R.S.; HAGERMAN, F.C. Human muscle fibre types in power lifters, distance runners and untrained subjects. **Pflügers Arch.**, 363: 19-26. 1976.
- [67] RANVIER, L. Note sur les vaisseaux sanguis el la circulation dans les muscles rouges. **C.R. Seances Soc. Biol. Fil.**, 28:31. 1874.
- [68] REICHMAN, H.; HOPPELER, H.; MATHIEU-COSTELLO, O.; VON BERGEN, F.; PETTE, D. Biochemical and ultrastructural changes of skeletal muscle mitochondria after chronic electrical stimulation in rabbits. **Pflügers Arch.**, 404: 1-9.1985.
- [69] RICHTER, E.A.; SONNE, B.; PLOUG, T.; KJAER, M.; MIKIES, K.; GALBO, H. Regulation of carbohydrate metabolism during exercise. In: **Biochemistry of Exercise** Ed B. Saltin, Chanpaingn, IL Vol. 14: 151-166.1986.
- [70] RIVERO, J.L.L. Fast myosin heavy chains isoforms in horse skeletal muscle: an immunohistochemical and electrophoretic study. **Pferdeheikunde**, 12: 523-527. 1996.
- [71] RIVERO, J.L.L. Immunohistochemistry versus traditional myofibrillar ATPase histochemistry for identification of muscle fibre types in horses. **Pferdeheikunde**, 12: 518-522. 1996.
- [72] RIVERO, J.L.L.; TALMADGE, R., J.; EDGERTON, R. Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in equine skeletal muscle and the influence of training **Anat. Rec.**, 264: 195-207. 1996.
- [73] RIVERO, J.L.L.; GALISTEO, A.M.; AGÜERA, E.; MIRÓ, F. Skeletal muscle histochemistry in male and female Andalusina and Arabian horses of different ages. **Res. Vet. Sci.**, 54: 160-169. 1993.
- [74] RIVERO, J.L.L.; DIZ, A.M. Características histoquímicas del músculo esquelético en caballos andaluces: Estudio comparado con otras razas. **Arch. Zootec.**,41: 505-512. 1992.

- [75] ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. El aparato locomotor. En: **Patología Estructural y Funcional**. 3ra edición; S.L., Robbins, R.S., Cotran V. Kumar. Nueva Editorial Interamericana, S.A., México: 1279-1291. 1987.
- [76] RONÉUS, N. Muscle characteristic in Standardbreds of different ages and sexes. **Equine Vet. J.**, 25: 143-146. 1993.
- [77] RONÉUS, N.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B. Skeletal muscle characteristic and metabolic response to exercise in young Standardbreds. **Am. J. Vet. Res.**, 58: 167-170. 1997.
- [78] RONÉUS, M.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A.; PERSSON, S.G.B. Skeletal muscle characteristics in young trained and untrained Standardbred trotters. **Equine Vet. J.**, 24: 292-294. 1992.
- [79] RYAN, J.M.; COBB, M.A.; Hermanson, J.W. Elbow extensor muscles of the horse: Postural and dynamic implications. **Acta Anat.**, 144: 71-79. 1992.
- [80] SERRANO, A.L.; PETRIE, J.L.; RIVERO, J.L.J.; HERMANSON, J.W. Myosin isoforms and muscle fiber characteristic in equine gluteus medius muscle. **Anat. Rec.**, 244: 444-451. 1996.
- [81] SIGEL, P.; PETTE, D. Intracelular localization of glycolytic enzyme in white and red rabbit skeletal muscle: A gel film method for couple enzyme reaction in histochemistry. **Histochem Cytochem.**, 4: 225-237. 1969.
- [82] SILLAU, A.H.; BANCHERO, N. Effects of hipoxia on capillary density and fiber composition in rat skeletal muscle. **Pflügers Arch.**, 30: 227-232. 1977.
- [83] SINHA, A.K.; ROSE, R.J. Indirect myosin immunocytochemistry for the identification of fibre types in equine skeletal muscle. **Res. Vet. Sci.**, 53: 25-31. 1992.
- [84] SISSON, S.; GROSSMAN, J.D. Miología de los equinos En: **Anatomía de los animales domésticos** (Tomo I). 5ª edición, Editores: C.E. Rosenbaum, N.G. Ghoshal and D. Hillman, Salvat Editores S.A. España: 423-507. 1985.
- [85] SJÖSTRÖM, M.; FRIDÉN, J.; EKBLÖM, B. Endurance what is it? Muscle morphology after and extremely long distance run. **Acta Physiol. Scand.**, 130: 513-520. 1987.
- [86] SNOW, D.H.; GUY, P.S. Te effect of training and detraining on several enzymes in horse skeletal muscle. **Arch. Int. Physiol. Biochem.**, 87: 87-93. 1979
- [87] SNOW, D.H. Skeletal muscle adaptations: A review, In: **Equine Exercise Physiology**. D.H. Snow, S.G.B. Persson and R.J. Rose, Eds. Granta Editions, Cambridge: 160-183. 1983.
- [88] SUCRE, L. Rbdomiólisis en el equino. Análisis Ultraestructural, Histoquímico, Bioquímico y Hematológico. Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. (Tesis Doctoral). 1991.
- [89] TAYLOR, A.W.; BRASSARD, L. Skeletal muscle fiber distribution and area in trained and stalled standardbred horses. **Can. J. Anim. Sci.**, 61: 601-605. 1981.
- [90] TESCH, P.; KARLSSON, J. Muscle fibre types and size in trained and untrained muscles of elite athletes. **J. Appl. Physiol.**, 59: 1716-1720. 1985.
- [91] TOMLINSON, B.E.; WALTSON, J.N.; REBEIZ, J.J. The effects of ageing and cachexia upon skeletal muscle. A histopathological study. **J. Neurol. Sci.**, 9: 321-346. 1969.
- [92] THORTON, J.R.; TAYLOR, A.W. Skeletal muscle characteristics of foal and two to four weeks and eight months of age. In: **Equine Exercise Physiology**. D.H. Snow, S.G.B. Persson and R.J. Rose, Eds. Granta Editions, Cambridge.: 218-224. 1983.
- [93] UEHARA, N. SAWAZAKI, H.; MOCHIZUKI, K. Changes in the skeletal muscle volume in horse with growth. **Jpn. J. Vet. Sci.**, 47: 161-163. 1985.
- [94] VALBERG, S. Metabolic response to racing and properties of skeletal muscle in Standardbred and Thoroughbred horses. **Equine Vet. J.**, 7: 6-12. 1987.
- [95] WATTENBERG, L.W.; LEONG, J.L. Effects of coenzyme Q10 and menadiones on succinate dehydrogenase activity as measured by tetrazolium salt reduction. **J. Histochem. Cytochem.** 8: 269-303. 1960.