

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA PROPORCIÓN DE TIPOS DE FIBRAS Y DE LA CAPILARIDAD DEL *M. Gluteus medius* EN EQUINOS Y BOVINOS

Comparative Study of Fibre Type Proportion and Capillarity on *Gluteus medius* Muscle in Equines and Bovines

Noelina Hernández¹, Sonia H. Torres¹, María Magdalena Pulido¹ y Luis E. Sucre P.²

¹Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Apartado 50587. Caracas 1050, Venezuela. Tele-Fax: +58-212.6627611. E-mail: hernandn@camelot.rect.ucv.ve.

²Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela

RESUMEN

Se conoce ampliamente que la actividad o la inactividad producen adaptaciones en el músculo esquelético de humanos y animales, tendientes al mantenimiento de un metabolismo acorde con el desempeño físico. En la presente investigación, se hicieron comparaciones de los tipos de fibras y la capilaridad del *M. gluteus medius* entre dos especies de masa corporal similar y diferente actividad física: caballos pura sangre (n=12) y vacas mestizas (n=40). La clasificación de las fibras fue hecha a partir de coloraciones con la reacción de la adenosina trifosfatasa (ATPasa) miofibrilar en secciones transversales de músculos preincubadas a pH ácido (4,37; 4,6 y 4,8) y pH alcalino (10,3), y la cuantificación de los capilares con la reacción α -amilasa-PAS. Se encontró en el *M. gluteus medius* tres tipos de fibras, siendo la proporción de fibras tipo I mayor en el grupo de bovinos, la de las IIA mayor en el grupo de equinos y la proporción de fibras tipo IIB, similar en ambos grupos de animales. La densidad capilar, el índice capilar y los capilares adyacentes a las fibras tipo I, IIA y IIB, fueron significativamente mayores en los músculos de los equinos que en los bovinos. En conclusión, se puede afirmar que los animales más activos, con masa corporal similar, presentan características morfológicas musculares que se traducen en un incremento del potencial oxidativo, lo cual en el caso del músculo locomotor *gluteus medius*, se manifiesta en una mayor capilaridad y el predominio de las fibras rápidas oxidativas-glicolíticas IIA.

Palabras clave: Histoquímica, músculo esquelético, capilares, equinos, bovinos

ABSTRACT

It is widely known that human and animal skeletal muscle adapts to activity or inactivity, matching metabolism to demands in performance. In this paper, fiber types and capillarity of the *gluteus medius* muscle were compared between two species of similar body mass and different physical activity: thoroughbred horses (n=12) and hybrid cows (n=40). The myofibrillar adenosin triphosphatase (ATPase) reaction was used to classify fiber types in transversal muscle sections at acid pH pre-incubation (4.37, 4.6 and 4.8) and at alkaline pH pre-incubation (10.3); for capillary quantification the α -amylase-PAS reaction was used. In *gluteus medius* muscle three fiber types were found. Type I fiber proportion was higher in bovine muscle, type IIA fiber was higher in equine muscle and type IIB fiber proportion was similar in both groups of animals. Capillary density, capillary per fiber index and capillaries adjacent to each fiber type (I, IIA and IIB) were significantly higher in horse than in cow muscle. In conclusion, at similar body masses, more active animals present morphological muscle characteristics that allow higher oxidative potential; in the present case of a locomotor muscle such as *gluteus medius*, this is manifested as a predominant proportion of fast-oxidative-glycolytic IIA fibers and higher capillarity.

Key words: Histochemistry, skeletal muscle, capillaries, equines, bovines.

INTRODUCCIÓN

En 1955 Padykula y Herman [15] describieron una técnica de coloración histoquímica para la ATPasa miofibrilar la cual sirvió para discriminar entre los diferentes tipos de fibras.

Engel [5], tomando como base el patrón de coloración después de la preincubación alcalina, clasifica a las fibras musculares en dos tipos básicos: tipo I y II. Posteriormente Brooke y Kaiser [2] y Dubowitz y Brooke [4] notaron que cuando la coloración para la ATPasa miofibrilar se realizaba preincubando a diferentes valores de pH, las fibras II podían subdividirse en los subgrupos IIA, IIB y IIC. Investigaciones basadas en características mecánicas, histoquímicas y estructurales, han demostrado que la gran mayoría de los músculos esqueléticos de los mamíferos, está constituido por proporciones variables, en forma de mosaico, por tres tipos de fibras [2, 7, 17, 23]. La composición fibrilar va a estar estrechamente relacionada con la función que realizan dichos músculos. No obstante de existir numerosas subdivisiones de las fibras musculares, histoquímicamente se pueden describir básicamente tres tipos de fibras musculares bien diferenciados, según su metabolismo: las fibras de contracción lenta oxidativas (SO), las de contracción rápida oxidativas-glicolíticas (FOG) y las de contracción rápida glicolíticas (FG) [16]. Las fibras tipo SO corresponden al tipo I, pero las fibras FOG y FG no se corresponden exactamente con las fibras tipo IIA y IIB, al menos en la rata [3, 9] y en bovinos [17]. Las fibras IIC normalmente son escasas, menos del 1%, observándose aumentadas en estados de transición o patológicos [9]. La existencia de distintas isoformas de miosina en las fibras musculares brindan patrones de coloración diferentes con la ATPasa de la miosina, lo cual ha sido comprobado inmunohistoquímicamente con el uso de anticuerpos monoclonales [13, 20].

Algunos animales domésticos son expuestos por el hombre a una gran actividad, por ejemplo el caballo que se utiliza en carreras, mientras que otros animales domésticos, como las vacas, pueden considerarse inactivos en comparación con los caballos de carrera [6]. De ahí que la clasificación de los tipos de fibras en el caballo pura sangre de carrera, considerado un animal atleta élite, es importante porque ha demostrado poseer una alta capacidad aeróbica en sus fibras musculares esqueléticas tipo I y IIA [22, 23], mientras que la clasificación de las fibras musculares de los bovinos tiene interés particular para la industria de alimentos debido a que la terneza de la carne depende, en parte, de la proporción de los diferentes tipos de fibras [17].

En el presente trabajo, se compararon algunos parámetros histoquímicos que caracterizan a un músculo que interviene activamente en la locomoción, el *M. gluteus medius*, de dos especies de tamaño corporal similar, pero que realizan una actividad diferente: un grupo de caballos pura sangre, destinados a competencias de carrera, y un grupo de vacas mestizas, destinadas a la cría.

MATERIALES Y MÉTODOS

Grupos estudiados

Se utilizó un grupo de doce (12) caballos pura sangre, entrenados activamente: cuatro (4) provenientes del hipódromo

“La Rinconada de Caracas” y ocho (8) del hipódromo de “Valencia”, con edades comprendidas entre 3 a 5 años, y un grupo de cuarenta (40) vacas mestizas, provenientes de una finca del estado Guárico. Las vacas pastaban libremente.

Toma de biopsias

Previa inyección por vía subcutánea con 3 ml de Clorhidrato de procaína (Novocaína[®], solución al 2%), se tomaron biopsias por punción percutánea, utilizando una aguja de Bergström, aproximadamente del mismo sitio del *M. gluteus medius* y procurando que todas las muestras se obtuvieran a una profundidad de 6 cm, según lo describen Sucre y col. [23]. Las muestras fueron embebidas en OCT (Ames Tissue Tek II) y congeladas en isopentano enfriado en nitrógeno líquido. Todas las muestras se almacenaron a -70°C hasta su procesamiento.

Análisis histoquímico

Se cortaron en el criostato a -20°C, secciones transversales seriadas de 10 µm. Se realizó la reacción de la adenosina trifosfatasa (ATP-asa) miofibrilar, previa incubación en pH ácido (4,37; 4,6 y 4,8) y alcalino (10,3), según la técnica de Brooke and Kaiser [2]. Basándose en el análisis comparativo entre las diferentes tinciones, se clasificaron las fibras musculares en tipo I, IIA y IIB. Los capilares fueron visualizados con la reacción α -amilasa-PAS [1]. No menos de 200 fibras fueron clasificadas en cada músculo. Como cada fibra puede ser identificada en secciones teñidas con la ATPasa y la α -amilasa-PAS, la clasificación puede ser transferida a fotomicrografías de secciones teñidas con α -amilasa-PAS, las cuales son usadas para medir el área de las fibras. Un área de las fotomicrografías fue delimitada y medida por planimetría, y las fibras y los capilares fueron contados para calcular el área promedio de las fibras, capilares/mm², y la relación capilar/fibra. Todas las fibras de un tipo en cada fotomicrografía fueron copiadas en un papel transparente, una al lado de otra y el área fue medida por planimetría para calcular el área promedio de cada tipo de fibra. Los resultados se expresaron en µm².

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron estadísticamente utilizando la “t” de Student para muestras no pareadas. La hipótesis nula fue rechazada a un nivel de probabilidad del 0,05. Los resultados fueron expresados como la media \pm error estándar de la media.

RESULTADOS

Tomando como base la reacción de la ATPasa miofibrilar a diferentes pH de preincubación (ácido y alcalino), en estos dos grupos de animales se identificaron tres fenotipos básicos de fibras, denominados por Brooke y Kaiser [2], como tipo I, IIA y IIB. En la FIG. 1 se muestra la tinción de la ATPasa

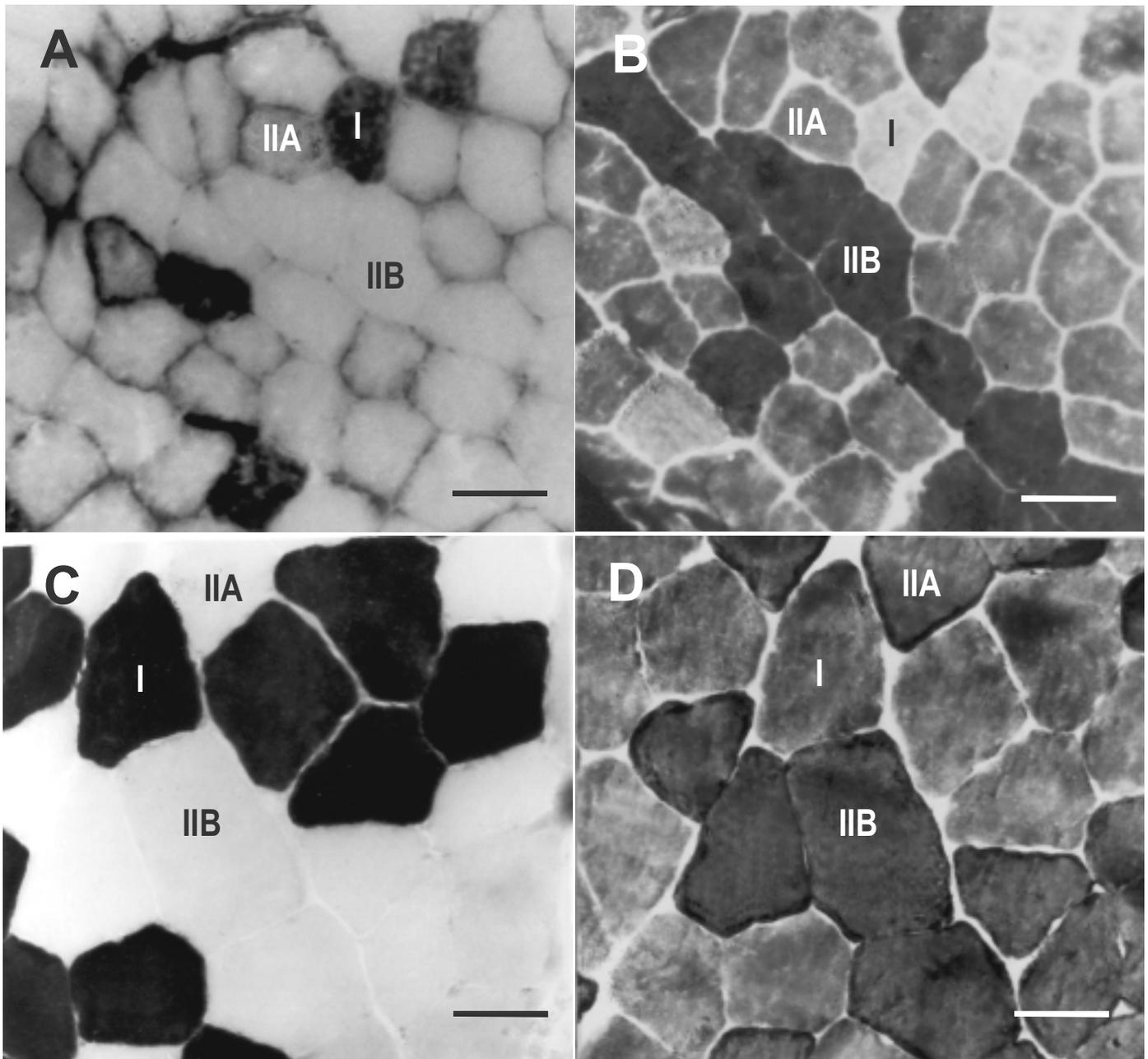


FIGURA 1. MICROGRAFÍAS DE SECCIONES TRANSVERSALES SERIADAS DEL *M. gluteus medius* TEÑIDAS CON LA REACCIÓN DE LA ATPasa MIOFIBRILAR PREINCUBADAS A DIFERENTES pH. A: CABALLOS (pH 4,37); B: CABALLOS (pH 4,6); C: VACAS (pH 4,37); D: VACAS (pH: 4,6). EN LAS MICROGRAFÍAS SE IDENTIFICAN LOS TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES I, IIA Y IIB. LA BARRA REPRESENTA 75 µm.

miofibrilar a pH 4,37 y 4,6 en el *M. gluteus medius* de caballos pura sangre (A y B) y de vacas (C y D). Como se observa en la micrografía A, con la tinción a pH 4,37 las fibras tipo I están teñidas de oscuro, las IIB son las más claras, mientras que las IIA son las de color intermedio. En la micrografía B con un pH de preincubación de 4,6 se observa un patrón inverso de coloración. En los bovinos, el patrón de coloración fue diferente. En la fotografía C utilizando la misma coloración a pH 4,37 se

observa que las fibras tipo I se tiñen de oscuro, mientras que las tipo II (IIA y IIB) aparecen claras. Estos subgrupos fueron identificados con la misma reacción con un pH de preincubación de 4,6 donde las fibras tipo IIB se tiñeron de oscuro y las fibras tipo I y IIA, fueron más claras (micrografía D).

La FIG. 2 representa la distribución porcentual de los tipos de fibras en el *M. gluteus medius* de los dos grupos de animales. Como se observa el porcentaje de fibras tipo IIB fue

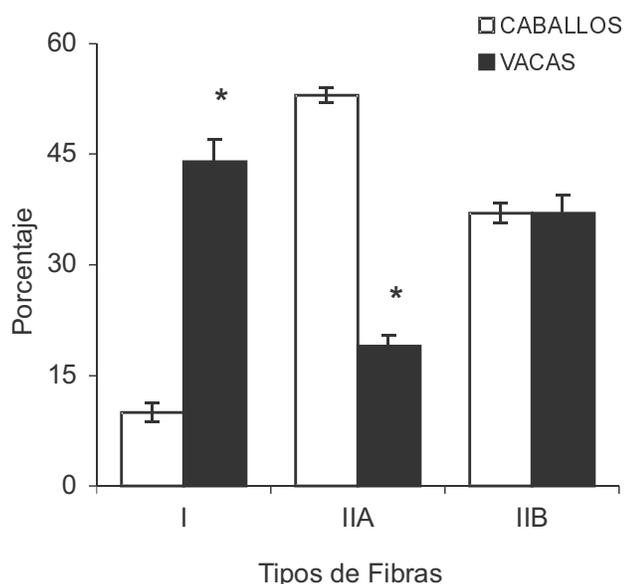


FIGURA 2. PROPORCIÓN DE LOS TIPOS DE FIBRAS I, IIA Y IIB, PRESENTES EN EL *M. gluteus medius* DE CABALLOS PURA SANGRE VENEZOLANOS (n=12) Y DE VACAS MESTIZAS (n=40). LOS PROMEDIOS ESTÁN EXPRESADOS EN PORCENTAJE ± ES. *P<0,0005.

similar en ambos grupos de animales, mientras que el valor de las fibras tipo I fue significativamente mayor en las vacas que en los caballos, y el tipo IIA mayor en los caballos que en las vacas. La relación porcentual de las fibras tipo IIA/IIB fue de 0,5 en las vacas y 1,55 en los caballos. En la TABLA I se observa que el área de todos los tipos de fibras fue similar en ambos grupos de animales.

En la FIG. 3 se observan las fotomicrografías correspondientes a cortes transversales del *M. gluteus medius* de un caballo (A) y de una vaca (B) teñidos con la reacción α -amilasa-PAS; con esta reacción, se tiñe la membrana de la fibra y el endotelio capilar, permitiendo localizar los capilares (señalados con flechas) alrededor de las fibras. En la TABLA II se observa que la densidad capilar, el índice capilar y los capilares adyacentes a cada tipo de fibra, fueron significativamente mayores en los caballos que en las vacas. Los datos de la TABLA III muestran la relación área/capilar de las fibras tipo I, IIA y IIB en el *M. gluteus medius* de las vacas y de los caballos.

DISCUSIÓN

Basado en el análisis de la ATPasa miofibrilar, se encontró que el *M. gluteus medius* de equinos y bovinos está constituido básicamente por tres tipos de fibras: I, IIA y IIB. No obstante, si se compara la distribución porcentual de los tipos de fibras en estos dos grupos de animales, se observa que en las vacas mestizas hay una mayor proporción de fibras tipo I (44±3%), que en los caballos pura sangre entrenados (10±1,28%); estos últimos con un alto contenido de fibras tipo IIA (53±1,08% en caballos vs. 19±1,5% en las vacas). El porcentaje de las fibras tipo IIB, fue similar en ambos grupos de animales (37±1,26% en los caballos vs. 37±2,5 % en las vacas).

En una comparación hecha entre músculos de tres caballos y tres bueyes de pesos similares [12] se encontró que en el *M. gluteus medius* de los bueyes hay una mayor proporción de fibras IIB y menor capilaridad, expresada como capilares/mm² y densidad capilar. La proporción de tipos de fibras en el caballo de carrera encontrada en el presente trabajo coincide con la de los caballos suecos [12], así como el índice de capilares/fibra; no obstante, el tamaño promedio de las fibras es mayor en los caballos venezolanos y por lo tanto la densidad capilar es menor. No sabemos si esto se deba al grado de entrenamiento, lo cual ciertamente podría explicar estas diferencias.

En las vacas el *M. gluteus medius* ha sido poco estudiado. Se ha reportado en un trabajo [6] una distribución de fibras con un predominio de las IIB (45%) y una menor proporción de fibras tipo I que en las vacas aquí reportadas (28% en las vacas suecas y 44% en las vacas mestizas venezolanas). Posiblemente esto sea debido a la diferencia en la raza estudiada. Los bueyes rojos y blancos suecos [12], tienen una distribución de fibras similar a la de las vacas suecas [12].

Numerosos investigadores han tomado como modelo al *M. gluteus medius* de equinos [6, 7, 8, 23], encontrándose una alta relación de fibras tipo IIA/IIB, en los caballos entrenados. En el presente trabajo los caballos estudiados, que también están entrenados, presentaron al igual que los escandinavos, una relación mayor de fibras tipo IIA/IIB.

Con respecto a la proporción de fibras tipo I, Essen-Gustavsson [6] encontró menor porcentaje de estas fibras en equinos que en bovinos. No obstante, en el presente grupo de ga-

TABLA I

ÁREA PROMEDIO DE LAS FIBRAS EN EL *M. gluteus medius* DE CABALLOS PURA SANGRE Y DE VACAS

Area de las Fibras (µm ²)	Caballos	Vacas	P
Promedio de todas las fibras	3392 ± 318	3989 ± 294	<0,1
Fibras Tipo I	2857 ± 224	3450 ± 319	<0,1
Fibras Tipo IIA	3123 ± 288	3227 ± 312	<0,4
Fibras Tipo IIB	4210 ± 401	5088 ± 389	<0,1

Valores = media ± error estándar Caballos: n=12 Vacas: n=40.

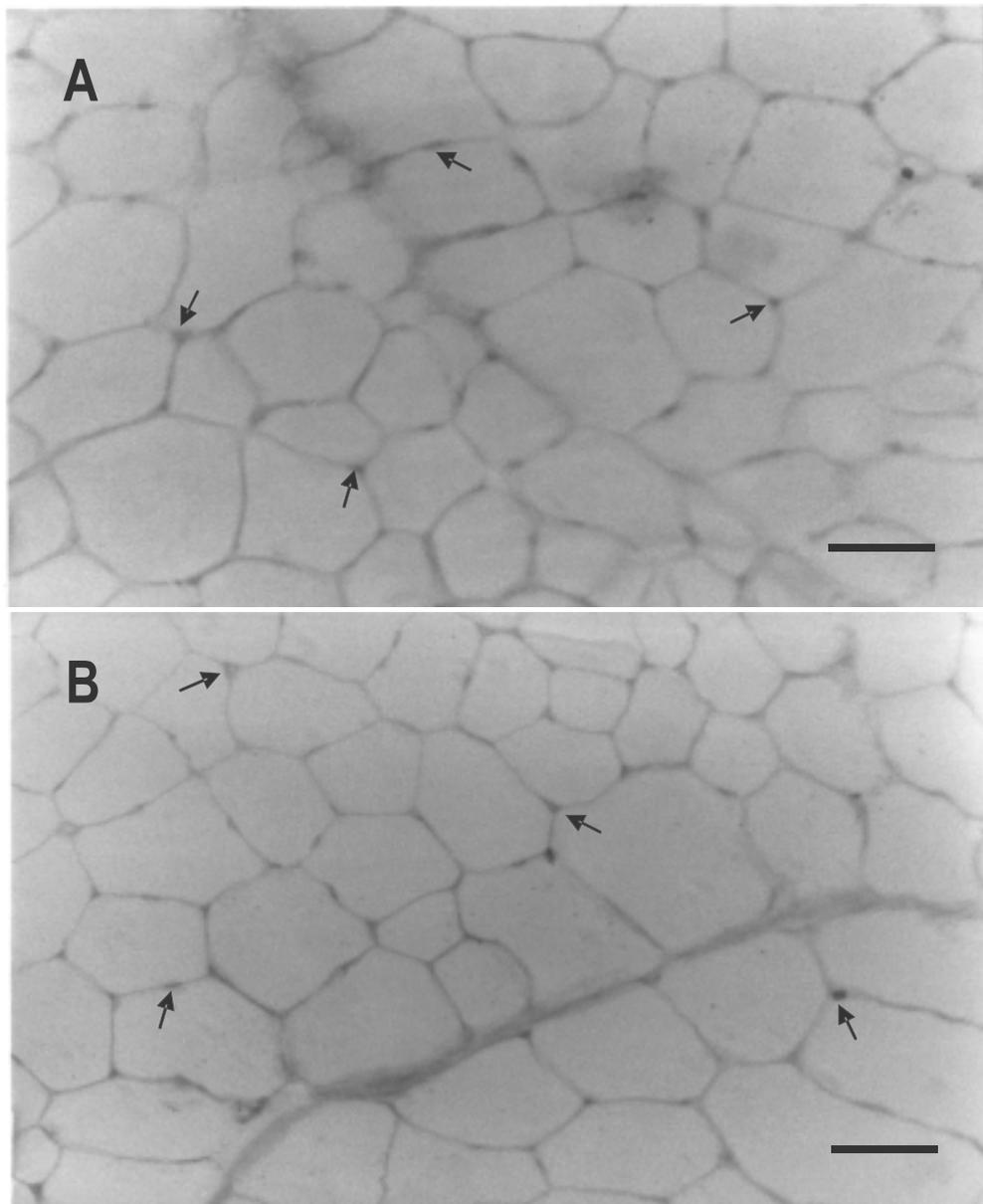


FIGURA 3. MICROGRAFÍAS DE SECCIONES TRANSVERSALES DEL *M. gluteus medius* DE UN CABALLO PURA SANGRE VENEZOLANO (A) Y UNA VACA MESTIZA VENEZOLANA (B), TEÑIDAS CON LA REACCIÓN α -AMILASA-PAS. LOS CAPILARES SE OBSERVAN COMO PUNTOS GRUESOS EN EL BORDE DE LAS FIBRAS MUSCULARES (FLECHAS). LA BARRA REPRESENTA 75 μ m.

**TABLA II
CAPILARIDAD DEL *M. gluteus medius* DE CABALLOS PURA SANGRE Y DE VACAS**

	Caballos	Vacas	P
Densidad capilar (Capilares/mm ²)	558 \pm 29,3	443 \pm 26	<0,005
Índice capilar (Capilares/fibra)	1,9 \pm 0,09	1,75 \pm 0,04	<0,01
Capilares adyacentes a las fibras tipo I	5,5 \pm 0,18	4,7 \pm 0,13	<0,005
Capilares adyacentes a las fibras tipo IIA	5,05 \pm 0,16	4,3 \pm 0,10	<0,0005
Capilares adyacentes a las fibras tipo IIB	4,96 \pm 0,12	4,4 \pm 0,13	<0,005

Valores = media \pm error estándar. Caballos: n=12. Vacas: n=40.

TABLA III
RELACIÓN ÁREA-CAPILAR POR CADA TIPO DE FIBRA EN SECCIONES TRANSVERSALES DEL *M. gluteus medius*
DE CABALLOS PURA SANGRE Y DE VACAS

Relación Área/Capilar (mm ² /capilar)	Caballos	Vacas	P
Fibras Tipo I	552 ± 33	754 ± 70	<0,01
Fibras Tipo IIA	616 ± 48	750 ± 66	<0,1
Fibras Tipo IIB	836 ± 81	1146 ± 73	<0,01

Valores = media ± error estándar. Caballos: n=12. Vacas: n=40.

nado vacuno se encontró un alto contenido de fibras tipo I, todavía mayor que en las vacas estudiadas por Essen-Gustavsson [6]; posiblemente esto se deba a la diferencia de raza, a la selección natural y/o a la carencia de pastos en los llanos venezolanos, lo cual obliga a estos animales que pastan libremente, a una actividad mayor, tanto en la búsqueda de alimentos, como en la búsqueda de un sitio adecuado para realizar la rumia del alimento consumido. Es posible que la sobrevivencia de los animales más aptos por esta selección natural, dependa (al menos en parte) de la posesión de una mayor proporción de fibras con características metabólicas de alta resistencia, como son las fibras tipo I.

La alta relación de fibras IIA/IIB (1,55) en el grupo de caballos estudiados en este trabajo, concuerda con la mayor fase de crecimiento alcanzada a la edad de 3 a 4 años, cuando los caballos comienzan a entrenarse intensamente y a competir [7]. Durante este período de vida, los caballos son capaces de alcanzar velocidades en las cuales se reclutan primero las fibras tipo I, luego las fibras tipo IIA, y por último las fibras tipo IIB [14]. De tal manera que el entrenamiento de carreras y la actividad física espontánea, puede producir transformación de las fibras tipo IIB a IIA, de ahí el incremento encontrado en la relación de fibras tipo IIA/IIB, concomitantemente con el aumento de la capacidad oxidativa en los caballos entrenados [23].

En cuanto a la capilaridad, los valores de los capilares/mm² son ligeramente superiores (650 en los caballos suecos vs. 558 en los caballos venezolanos); pero al calcular la relación de los capilares por área de fibra, en los músculos de los caballos suecos [6] comparados con los caballos venezolanos, los valores son similares (tipo I: 2 vs. 1,96; tipo IIA: 1,7 vs. 1,63; tipo IIB: 1,2 vs. 1,18; en caballos suecos vs. caballos venezolanos, respectivamente).

La alteración en la densidad capilar es una de las condiciones significativas previas a la adaptación muscular, ya que la captación máxima de oxígeno es proporcional a la capilarización [10]. Se sabe que en humanos un aumento regular de la carga, produce un aumento del grado de capilarización, aún cuando la persona sea mayor, ya que el organismo tiende a asegurar su oxigenación; mientras que la inactividad, o las lesiones neurogénicas, disminuyen la capilarización, debiendo ser normalizada la misma, para que el músculo se restablezca [10, 11]. De hecho, las especies más activas tienen una mayor

capilaridad en sus músculos, como se demuestra en el presente trabajo al encontrar que tanto la densidad capilar, como el índice capilares/fibra son significativamente mayores en el *M. gluteus medius* del caballo que en el de la vaca.

Se sabe que la actividad contráctil está asociada a la capilaridad del músculo. Esto lo podemos observar en estos dos grupos de animales, donde los más activos (caballos pura sangre) tienen una mayor capilaridad y por ende mayor capacidad oxidativa [23], en comparación con las vacas las cuales son menos activas, y quienes aún, con una mayor proporción de fibras tipo I, poseen menor capilaridad que los caballos pura sangre. Henckel [8], encontró aumento en el número de capilares por fibra, y proliferación del número de capilares de todos los tipos de fibras, en los caballos ejercitados durante seis meses, mientras que con la edad encontró disminución en la densidad capilar (número de capilares por mm²). Por otra parte, Rivero [19], aplicando análisis de componente principal, encontró que la variable más eficiente para describir la adaptación muscular al entrenamiento es el área de las fibras y el número de capilares en contacto con las fibras tipo I y IIA, particularmente en muestras musculares tomadas de la porción más profunda del músculo.

En el presente estudio el área promedio de las fibras fue similar en ambos grupos de animales. Comparando con el *M. gluteus medius* de caballos analizado por Essen-Gustavsson y col. [6], las áreas de las fibras encontradas por ellos son iguales o ligeramente mayores que las aquí presentadas (tipo I: 2700 vs. 2857 μm², tipo IIA: 3800 vs. 3123 μm², tipo IIB: 5800 vs. 4210 μm², en caballos suecos vs. caballos venezolanos, respectivamente).

Por otra parte, el área de las fibras parece estar relacionada con el tamaño del cuerpo (masa muscular), teniendo los animales más pequeños, menor área de sus fibras, que los animales más grandes. En la TABLA I, se aprecia que las vacas, las cuales generalmente tienen una masa muscular, un poco mayor que la de los caballos de edad similar, el área de cada tipo de fibra, fue ligeramente superior que la de los caballos, aunque esta diferencia no llegó a ser significativa. Esto por supuesto, también está relacionado con el nivel de actividad, ya que comparando a los animales de tamaño similar, los más activos tienen fibras musculares más pequeñas, observándose también que las fibras tipo I y IIA son más pequeñas que las fibras tipo IIB [6]; no obstante, Rivero y Henckel [18],

encuentran que los caballos con entrenamiento de resistencia ("endurance performance") tienen un alto porcentaje y área relativa de fibras tipo I y IIA, y un bajo porcentaje y área relativa de fibras tipo IIB, comparados con los caballos con entrenamiento moderado. Serrano y Rivero [21], en caballos de 4 años sometidos a entrenamiento consistente en arrastrar carruajes durante 8 meses, encontraron que el área media de las fibras tipo II no fue afectada, pero el área de las fibras tipo I se incrementó después de 3 meses, manteniéndose igual durante el resto del entrenamiento; mientras que el porcentaje de las fibras con alta capacidad oxidativa y la densidad capilar, se incrementaron.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se demuestra en animales de dos especies diferentes, como son los caballos pura sangre de carreras y las vacas mestizas, con peso corporal comparable, pero con un nivel de actividad física distinta, que el músculo *gluteus medius* difiere en la proporción de los tipos de fibras, siendo mayor el porcentaje de fibras tipo IIA en el caballo respecto a la vaca, con una mayor relación de fibras IIA/IIB. Además, la capilarización es mayor en el músculo del caballo que en la vaca, demostrada por varios parámetros que son altamente significativos en sus diferencias: densidad capilar (capilares/mm²), índice capilar (capilares/fibra), número de capilares adyacentes a cada tipo de fibra y área de cada tipo de fibra por capilar. El tamaño de las fibras es comparable, como se espera de animales con pesos corporales semejantes.

Considerando que la bibliografía relacionada con el músculo esquelético de la vaca es muy escasa, este trabajo constituye un aporte al conocimiento en esta área y contribuye al esclarecimiento de los factores que son determinantes en las características morfológicas y metabólicas del músculo esquelético, demostrando la importancia de la actividad en la variación del tipo de fibra y capilaridad, mientras que en el área de las fibras musculares es más importante el tamaño del animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANDERSEN, P. Capillary density in skeletal muscle of man. **Acta Physiol. Scand.** 95:203-205. 1975.
- [2] BROOKE, M.H.; KAISER, K.K. Muscle fiber types. How many and what kind? **Arch. Neurol.** 23:369-379. 1970.
- [3] DELP, M.D.; DUAN, C. Composition and size of type I, IIA, IID/X, and IIB fibers and citrate synthetase activity of rat muscle. **J. Appl. Physiol.** 80:261-270. 1996.
- [4] DUBOWITZ, V.; BROOKE, M. Muscle biopsy. **A Modern Approach.** W.B. Saunders Co. pp. 27-32. 1973.
- [5] ENGEL, W. The essentiality of histo- and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular disease. **Neurology.** 12:778-794. 1962.
- [6] ESSÉN-GUSTAVSSON, B. Activity- and inactivity-related muscle adaptation in the animal kingdom. **Biochemistry of Exercise VI.** International Series on Sport Sciences. Vol 16. Human Kinetics Publishers, Champaign, Illinois. 435-444p. 1986.
- [7] ESSEN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A. Muscle fibre characteristics of active and inactive standardbred horses. **Equine Vet. J.** 17:434-438. 1985.
- [8] HENCKEL, P. Training and growth induced changes in the middle gluteal muscle of young standardbred trotters. **Equine Vet.** 15: 134-140. 1983.
- [9] HERNÁNDEZ, N.; TORRES, S.H.; FINOL, H.J.; SOSA, A.; CIERCO, M. Capillary and muscle fiber type changes in DOCA-salt hypertensive rats. **Anat. Rec.** 246:208-216. 1996.
- [10] HUDLICKA, O.; EGGINTON, S.; BROWN, M. Capillary diffusion distances their importance for cardiac and skeletal muscle performance. **News Physiol. Sci.** 3:134-138. 1988.
- [11] JÓZSA, L.; RÉFFY, A.; DEMEL, Z.; BALINT, J. Analysis of skeletal muscle capillarization: Methodological problems. **Acta Physiol. Hung.** 66:161-168. 1985.
- [12] KARLSTROM, K.; ESSEN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A. Fibre type distribution, capillarization and enzymatic profile of locomotor and nonlocomotor muscle of horses and steers. **Acta Anat (Basel).** 151(2):97-106. 1994.
- [13] LEXELL, J.; HENRIKSSON-LARSÉN, K.; SJOSTROM, M. Distribution of different fibre types in human skeletal muscle. **Acta Physiol. Scand.** 117:115-122. 1983.
- [14] LINDHOLM, A.; BJERNELD, A.; SALTIN, B. Glycogen depletion pattern in muscle fibres of trotting horses. **Acta Physiol. Scand.** 90:475-484. 1974.
- [15] PADYKULA, H.; HERMAN, E. The specificity of the histochemical methods for adenosine triphosphatase. **J Histochem Cytochem.** 3:170-183. 1955.
- [16] PETER, J.B.; BARNARD, R.J.; EDGERTON, V.R.; GILLESPIE, C.A.; STEMPEL, K.E. Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. **Biochemistry.** 11(14):2627-2633. 1972.
- [17] PICARD, B.; DURIS, M.P.; JURIE, C. Classification of bovine muscle fibres by different histochemical techniques. **Histochem. J.** 30(7):473-9. 1998.
- [18] RIVERO, J.L.; HENCKEL, P. Muscle biopsy index for discriminating between endurance horses with different performance records. **Res. Vet. Sci.** 61:49-54. 1996.

- [19] RIVERO, J.L. Muscle biopsy as a tool assessing muscular adaptation to training in horses. **Am. J. Vet. Res.** 57:1412-1416. 1996.
- [20] SCHIAFFINO, S.; GORZA, L.; SARTORE, S; SAGGIN, L.; AUSONI, S.; VIANELLO, M.; GUNDERSEN, K.; LOMO, T. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal fibres. **J. Muscle Cell Motil.** 10:197-205. 1989.
- [21] SERRANO, A.L.; RIVERO, J.L. Myosin heavy chain profile of equine gluteus medius muscle following prolonged draught-exercise training and detraining. **J. Muscle Cell Motil.** 30:473-479. 2000.
- [22] SNOW, D.H. The horse and dog, elite athletes - why and how. **Proc. Nutrition Soc.** 44:267-272. 1985.
- [23] SUCRE, L.E.; HERNÁNDEZ, N.; HECKER-TORRES, S. Efecto del entrenamiento sobre actividades enzimáticas y composición fibrilar en el M. *Gluteus medius* de caballos pura sangre venezolanos. **Revista Científica, FCV-LUZ.** IX(6):489-501. 1999.