

DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD SÉRICA DE CREATIN QUINASA Y ASPARTATO
AMINOTRANSFERASA EN CABALLOS CRIOLLOS COLOMBIANOS EN PISTAS DE
EXPOSICIÓN.

Investigadora Principal

FANNY MORENO ESCOBAR

Coinvestigadoras

CAROLINA VELASQUEZ BELTRAN
ANA ISABEL MEJIA ARANGO

Área académica
Medicina veterinaria y zootecnia

Línea de investigación

Medicina y cirugía veterinaria
Grupo de investigación: INCA - CES

UNIVERSIDAD CES

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECHNIA
MEDELLÍN
2007

DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD SÉRICA DE CREATIN QUINASA Y ASPARTATO
AMINOTRANSFERASA EN CABALLOS CRIOLLOS COLOMBIANOS EN PISTAS DE
EXPOSICIÓN.

Investigadora Principal

FANNY MORENO ESCOBAR

Coinvestigadoras

CAROLINA VELASQUEZ BELTRAN
ANA ISABEL MEJIA ARANGO

Área académica:
Medicina veterinaria y zootecnia

Título Académico al que se aspira
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
MEDELLIN
2007

AGRADECIMIENTOS:

- Un profundo agradecimiento a mis padres que en todo momento me ayudaron y me apoyaron para que realizara el sueño de mi vida ser Médica Veterinaria y Zootecnista, en especial a mi madre quien fue la mejor mujer del mundo, me dedico lo mejor de su vida y me dio los mejores consejos para ser una mujer ejemplar como persona y profesional.
- A mi hermana Valentina quien esta empezando esta linda carrera, a ella le agradezco su compañía y apoyo.

“El que persevera alcanza con la fé
en Dios”...(Carmenza Beltrán Mora)

Carolina Velásquez B.

- A lo que me antecede: Toda mi familia, en especial mis padres y hermanos, en especial mi madre.
- A mi presente: Mi esposo John Jairo y mis hijas Isabella y Valentina, quienes han dado el sentido de mi búsqueda como mujer, esposa, madre y ahora como Médica Veterinaria y Zootecnista.

“Cuando el amor os llame, seguidlo, aunque sus veredas
sean tortuosas y escarpadas”... (Khalil Gibran, El Profeta)

Ana Isabel Mejía A.

- A Fanny Moreno Escobar siempre estuvo ahí incondicionalmente brindándonos su conocimiento y apoyo.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
PORTADA	
INTRODUCCION	
2. RESUMEN -----	7
3. ABSTRACT -----	8
4. FORMULACION DEL PROBLEMA -----	9
4.1. Planteamiento del problema-----	9
4.2. Justificación del problema-----	9
4.3. Pregunta de investigación-----	10
5. MARCO TEORICO -----	11
5.1. Fisiología del ejercicio-----	11
5.2. Generalidades del músculo-----	11
5.3. Organización funcional del músculo estriado esquelético-----	12
5.4. Cambios metabólicos del músculo estriado esquelético-----	14
5.5. Producción de energía por la célula muscular-----	15
5.6. Fosforilación oxidativa-----	16
5.7. Fosforilación anaeróbica-----	17
5.7.1. Fosfocreatina (CP) o sistema Fosfageno. (Sistema de recambio)----	17
5.7.2. Reacción de la mioquinaza (MK). -----	18
5.7.3. Glucólisis anaerobia. -----	18
5.8. Adaptación muscular al ejercicio y al entrenamiento-----	18
5.9. Contracción y relajación muscular-----	20
5.10. Adaptaciones musculares al ejercicio y entrenamiento-----	21
5.11. Adaptación de la fuente de energía al tipo de trabajo que realiza-----	22
5.11.1. Reposo.-----	22
5.11.2. Ejercicio.-----	22
5.12. Enzimas-----	25
5.13. Concepto, clasificación y nomenclatura de las enzimas-----	25
5.14. Regulación de la actividad enzimática-----	26
5.15. Enzimas musculares AST y CK-----	27
5.15.1. Aspartato aminotransferasa (AST)-----	27
5.15.2. Creatin quinasa (CK)-----	27
5.16. Metabolismo y aplicación al ejercicio de enzimas musculares-----	28
5.17. Método de laboratorio para el procesamiento de muestras enzimáticas--	32
5.17.1. Método colorimétrico para CK -----	32
5.17.2. Método colorimétrico para AST-----	34
5.18. Factores a considerar en la interpretación de los niveles plasmáticos de las enzimas musculares-----	35
6. HIPOTESIS -----	37

7. OBJETIVOS	38
7.1. General	38
7.2. Específicos	38
8. METODOLOGIA	39
8.1. Enfoque metodológico de la investigación	39
8.2. Tipo de estudio	39
8.3. Población	39
8.4. Diseño muestral	39
8.5. Descripción de variables	39
8.6. Técnicas de recolección de la información	40
8.7. Muestras de sangre	40
8.8. Control de errores y sesgos	40
8.9. Análisis estadístico	41
9. CONSIDERACIONES ETICAS	42
10. RESULTADOS	43
11. DISCUSION	46
12. CONCLUSIONES	49
13. BIBLIOGRAFIA	50
14. ANEXOS	54
Anexo 1. Representación por código de nivel de CK (Creatin Quinasa)	54
Anexo 2. Grafico de análisis de medias para CK (Creatin Quinasa)	54
Anexo 3. Grafico de cajas y bigotes de CK (Creatin Quinasa)	55
Anexo 4. Representación por código de nivel de AST (Aspartato Aminotransferasa)	55
Anexo 5. Grafico de cajas y bigotes de AST (Aspartato Aminotransferasa)	56
Anexo 6. Grafico de análisis de medias para AST (Aspartato Aminotransferasa)	56

INTRODUCCION

A pesar del amplio interés deportivo que se tiene sobre el caballo criollo colombiano y el alto valor económico de la mayoría de los ejemplares que participan en las diferentes competencias organizadas a lo largo del país, existen pocos antecedentes bibliográficos y no hay estudios científicos publicados en caballos criollos colombianos que entreguen información acerca de la capacidad atlética y el grado de adaptación bioquímica que presentan estos caballos durante las competencias.

En los caballos criollos colombianos destinados a competir en exposiciones, un adecuado conocimiento de los cambios bioquímicos de AST (aspartato aminotransferasa), y CK (creatin quinasa) que ocurren como resultado del esfuerzo muscular que realizan durante su ejercicio, puede contribuir a establecer las bases objetivas para mejorar las normas de manejo, los programas de entrenamiento y evaluar el potencial rendimiento del caballo.

El desempeño atlético de los caballos criollos colombianos en las pistas, depende del grado de preparación, entrenamiento, alimentación, manejo y genética que posea; entendiendo por pista al lugar comprendido desde donde los caballos criollos colombianos llegan a ser revisados sanitariamente por el Médico Veterinario (prepista), hasta el momento en que el ejemplar entra a competencia y realiza cada una de las pruebas individuales donde demuestra la calidad de sus movimientos y donde realiza el mayor esfuerzo físico aproximadamente durante veinte minutos. De manera que las alteraciones que se presenten en algunos de estos aspectos se van a ver reflejados en el comportamiento físico dentro de la competencia.

El caballo colombiano más que fuerza, posee características únicas que lo diferencian del resto de caballos en el mundo, con elegancia, energía, resistencia y buenos movimientos, reunidos conforman así el ejercicio característico del caballo criollo colombiano de pista.

2. RESUMEN

Se realizó un estudio a 30 caballos criollos colombianos, adultos, clínicamente sanos y sometidos a competencias de pista para caballos de exposición, con el objetivo de medir los niveles serológicos de CK (creatin quinasa) y AST (aspartato aminotransferasa) en pre competencia (pre pista) reposo y post competencia (30 minutos después).

Los resultados obtenidos para CK (creatin quinasa) y AST (aspartato aminotransferasa) en pre competencia y post competencia fueron significativamente menores ($P < 0,05$), permitiendo determinar, que los caballos criollos colombianos clínicamente sanos que participan en las pistas de exposición, no sufren un desgaste muscular determinado dentro de estas competencias. Estas medidas hacen parte de las herramientas diagnósticas para la evaluación del músculo en ejercicio y esfuerzo físico del caballo criollo colombiano.

Palabras claves: Creatin quinasa, Aspartato aminotransferasa, serológico, ejercicio, Caballo criollo colombiano,

3. ABSTRACT

A survey was conducted with 30 Typical Colombian horses clinically healthy and submitted to field competitions for competition horses with the goal of measuring their serology levels CK(creatin kinase) and AST (aspartate amino transferase) in pre competition (pre-field) and resting and post competition (30 minutes after).

The results obtained for CK(creatin kinase) and AST(aspartate amino transferase) in pre competition and post competition were significantly less ($P<0,05$) allowing to determine that clinical healthy Typical Colombian Horses which participate in the competition fields do not suffer muscular wear in these competitions. These measures are part of the diagnostic tools for the evaluation of the muscle in exercise and physical effort us the Typical Colombian horse.

Keys words: aspartate amino transferase, creatin kinase, serology, typical Colombian horse, exercise

4. FORMULACION DEL PROBLEMA

4.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La historia del caballo criollo colombiano, ha estado siempre ligada a retos físicos, con el desarrollo de los pueblos, el transporte de materiales y alimentos por diversos accidentes geográficos de nuestro país; ha sido también el transporte ideal en zona rural y a partir de esto se ha heredado la afición hacia largas cabalgatas y competencias que van desde pistas, hasta pruebas a campo abierto y carreras de aficionados en zonas rurales, sin preparación y sin acondicionamiento físico generalmente, pero con el mismo esfuerzo de cualquier competencia. La afición por los caballos y la exigencia a que son sometidos, son un reto que clínicamente se plantea desde su diagnóstico hasta su manejo.

En nuestro país, entre las competencias equinas se encuentran las exposiciones, las cuales han sido una manera directa y evaluativa del desempeño físico de los ejemplares criollos colombianos, dando importancia así, a su manejo y entrenamiento previo de cada competencia.

De acuerdo a la revisión del marco teórico sobre AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa), el establecer estos valores nos aproxima entre otros a un diagnóstico ligado con la fatiga o daño muscular, posterior a una competencia. No es de uso rutinario en nuestro país y por lo tanto es importante masificar en el gremio profesional, el uso de estos niveles séricos y establecer prioritariamente estos mismos niveles en nuestros caballos y en nuestras condiciones geográficas y climáticas como ayuda de referencia en el laboratorio clínico.

Aun no se han reportado niveles séricos de referencia en caballos criollos colombianos antes de la competencia y después de finalizada la competencia por lo que realizar este tipo de estudio es de gran ayuda para el gremio profesional y por consiguiente para la caballada nacional.

4.2. JUSTIFICACION DEL PROBLEMA

La química sanguínea es fundamental en el análisis clínico veterinario, para evaluar y establecer condiciones fisiológicas y metabólicas en los pacientes.

El caballo es un atleta por excelencia y no es ajeno a esta característica el caballo criollo Colombiano, que tiene desafíos físicos en el acondicionamiento y rendimiento en las pistas de exposición. Son sometidos a un gran estrés y a un máximo esfuerzo atlético en cada competencia sin importar el nivel y la calidad de entrenamiento que hayan tenido; debe ser entonces objeto de estudio permanente los cambios

fisiológicos y bioquímicos producidos cuando son sometidos a este reto competitivo con un gran desgaste físico.

Es necesario y de modo permanente profundizar en el estudio del caballo atleta y su rendimiento deportivo, aportando parámetros de ayudas clínicas como son la CK (creatin quinasa) y el AST (aspartato aminotransferasa), como ayudas directas en la evaluación del rendimiento muscular y sus posibles afecciones. Dada la representación clínica que tienen los niveles de CK (creatin quinasa), y AST (aspartato aminotransferasa) en el trabajo muscular bajo competencia, es importante conocer los niveles séricos normales y comunes en nuestros caballos criollos colombianos, para establecer criterios evaluativos de su desempeño atlético y especialmente al finalizar la competencia.

Con los resultados en el caballo criollo colombiano, es de esperar una ayuda diagnóstica de gran valor que en muchos casos permitirá, analizar las condiciones atléticas desmejoradas y no explicadas, que se muestran con el bajo rendimiento de muchos equinos en las siguientes competencias en las que participarán.

4.3. PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Que importancia tienen los valores serológicos de CK (creatin quinasa) y AST (aspartato aminotransferasa), en los caballos criollos colombianos sometidos a ejercicio en pistas de exposición?

5. MARCO TEORICO

5.1. FISIOLOGIA DEL EJERCICIO

En los mamíferos los músculos comprenden un conjunto de células altamente especializadas que transforman energía química en mecánica como respuesta a acontecimientos excitadores que ocurren en la membrana celular ^{(3)(4) (19)}.

Esta característica básica determina que los músculos se contraigan generando tensión y produciendo movimiento, lo que permite al animal realizar actividades tan opuestas como estar parado o correr, así como sustentar la función de los diferentes sistemas orgánicos ⁽¹⁹⁾.

El caballo es un animal con el doble de capacidad para el trabajo físico que el hombre lo que le ha permitido en el pasado sobrevivir a sus depredadores ⁽¹⁹⁾.

A pesar de esto, sus mecanismos fisiológicos básicos son esencialmente los mismos que en el hombre y otros animales, y solamente los aspectos fisiológicos cuantitativos hacen del caballo un ser físicamente superior ⁽³⁾⁽⁴⁾⁽¹⁹⁾.

5.2. GENERALIDADES DEL MÚSCULO

El músculo cumple funciones muy variables en el organismo, gracias a la retractilidad de las miofibrillas que lo constituyen. Entre dichas funciones está cambiar la dirección de los huesos articulados para llevar a cabo la locomoción, disminuir la luz vascular, bombear la sangre a través de la red vascular, hacer pasar el bolo alimenticio desde la boca hasta el orificio anal y expulsar al feto del útero al término de la gestación. La gran variedad de funciones específicas del tejido muscular se realiza por medio de la acción de miocitos morfológica e histoquímicamente diferentes, que se encuentran en proporciones variables según el tipo de músculo ⁽¹⁾.

El músculo esquelético constituye cerca del 40% del cuerpo y el músculo liso y el cardíaco casi 10% más ^{(3) (4)}.

Todos los movimientos son el resultado de la contracción de los músculos esqueléticos a través de una articulación movable ^{(3) (4)}.

El músculo y sus tendones se originan en un hueso y se insertan en otro diferente, al tiempo que rodea una articulación. Los huesos se mueven a nivel de la articulación conforme el músculo se contrae y acorta la distancia entre los tendones de origen y de inserción ^{(3) (4)}.

El músculo esquelético solo puede acortarse cuando el nervio motor lo activa. La mayor parte de las articulaciones posee uno o más músculos a ambos lados para disminuir su ángulo (flexión) y para aumentarlo (extensión) ^{(3) (4)}.

Los músculos estriados contienen el 75% de agua, 20% de proteínas y 5% de materia inorgánica, orgánica extraíble y carbohidratos. La unidad funcional del músculo es la fibra muscular o miocito que es una célula fusiforme, de extremos redondeados, con varios núcleos distribuidos excéntricamente a lo largo del citoplasma denominado sarcoplasma ⁽¹⁾.

5.3. ORGANIZACIÓN FUNCIONAL DEL MÚSCULO ESTRIADO ESQUELETICO

El músculo esquelético se organiza como un conjunto que agrupa a un número variable de células (100 - 10.000) denominadas fibras musculares (10 – 100µm de diámetro), las cuales se extienden a lo largo de un músculo desde un tendón a otro ⁽³⁾⁽⁴⁾.

Las fibras musculares son multinucleadas, ya que cada una de ellas proviene de la unión de las células más pequeñas, denominadas mioblastos ^{(3) (4)}.

Cada fibra muscular está formada por haces filamentosos, que recorren en toda su longitud, denominados miofibrillas (1µm de diámetro), las miofibrillas contienen los elementos esenciales para la actividad contráctil del músculo (filamentos contráctiles). Los filamentos son de dos tipos: gruesos (10 – 13 nm de diámetro y de 1,6 µm de longitud) y finos (5 –7 nm de diámetro y 1µm de longitud). A lo largo de las miofibrillas, orientadas transversalmente y a intervalos regulares (2 – 2,5 µm) ^{(3) (4)}.

Cada miofibrilla se compone de series repetidas de sarcómeros, que son la unidad contráctil de la fibra muscular. En este, hay tres ultra-estructuras más llamativas que son una de actina y dos de miosina, dispuestas de manera paralela pero que alterna siguiendo un patrón hexagonal ^{(1) (3) (4)}.

El sarcómero posee unas líneas estrechas a cada extremo denominadas líneas Z ⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾. Los filamentos finos se unen a ambos lados de la línea Z y, colocados entre ellos, se sitúan los filamentos gruesos, ocupando la zona central del sarcómero ^{(1)(3) (4)}.

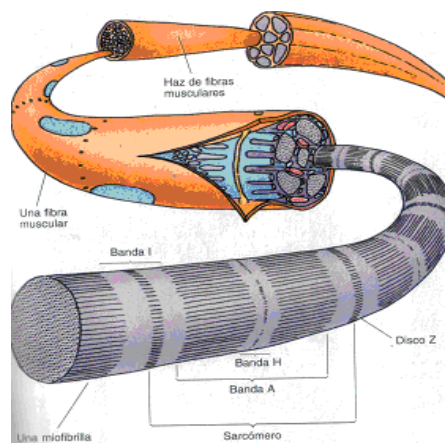
Las porciones adyacentes de dos sarcómeros sucesivos corresponden a la banda I que se observa con el microscopio de luz. Son fibrillas de miosina (isótropas) ^{(1) (3) (4)}.

La región de cada sarcómero que abarca toda la longitud de los filamentos gruesos es la banda A. y son fibrillas de actina (anisótropas) ^{(1) (3) (4)}.

La zona en la parte media de la banda A, que está desprovista de filamentos delgados, es la banda H ^{(1) (3) (4)}.

La banda H se encuentra disecada por la línea M, que consiste en miomesina, proteína C y otras proteínas que interconectan los filamentos ^{(1) (3) (4)}.

Figura 1. Esquema de la organización de las miofibrillas y los sarcómeros dentro de una célula del músculo esquelético. ⁽⁴⁾



La membrana celular se continua dentro de la fibra del músculo esquelético como numerosos túbulos T que son invaginaciones tubulares largas que se entremezclan con las miofibrillas ^{(1) (3) (4) (5)}.

Estos túbulos pasan en sentido transversal a través de la fibra y se encuentran específicamente en el plano de unión de las bandas A y I del músculo esquelético ⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾.

De aquí que cada sarcómero posea dos grupos de túbulos T, cada uno en cada interfase de las bandas A e I. Por lo tanto los túbulos T se extienden hacia la

profundidad en el interior de la fibra y facilitan la conducción de ondas de despolarización a lo largo del sarcolema ^{(1) (3) (4) (5)}.

Aparentemente, el estímulo nervioso que despolariza la placa neutral, situada en el sarcolema o membrana del miocito, se propaga a través del laberinto de túbulos membranosos conocidos como retículo sarcoplásmico que son la prolongación intracitoplasmática del sarcolema ⁽¹⁾.

El retículo encargado de almacenar calcio intracelular y regular la contracción muscular mediante secuestro (que produce la relajación) y descarga (que produce la contracción) de los iones de calcio dentro del sarcoplasma, se extiende entre las miofibrillas de actina y miosina comunicándolas entre sí, sobre todo en el área de banda Z en donde también hay abundantes cantidades de mitocondrias o sarcosomas y de vesículas de glucógeno. Así, el estímulo nervioso en presencia de ATP (adenosin trifosfato) y ADP (adenosin difosfato), junto con el oxígeno que es transportado por mioglobina, desencadena las reacciones químicas causales del deslizamiento de las fibrillas de miosina entre las de actina, produciéndose la contracción del miocito ^{(1) (3) (4) (5)}.

5.4. CAMBIOS METABÓLICOS DEL MUSCULO ESTRIADO ESQUELETICO

Para realizar un eficaz desempeño en una competencia el individuo depende de la capacidad de su metabolismo para convertir energía química en energía mecánica, lo cual se realiza a nivel muscular ⁽³⁾⁽¹⁹⁾.

Los componentes de esta conversión son: ⁽¹⁹⁾.

- Una completa y eficaz interacción entre metabolismos aeróbicos y anaeróbicos en el músculo.
- El suministro y la utilización de sustratos disponibles.

Debemos agregar otro factor que interviene en el desempeño, que es el proceso de fatiga, el cual comienza a tomar importancia al empezar a agotarse el combustible intramuscular; a pesar de que los sustratos son provistos vía circulación ⁽¹⁹⁾.

La capacidad de trabajo físico depende del valor del metabolismo aeróbico y de la capacidad del metabolismo anaeróbico de suministrar energía para la continua contracción muscular ⁽¹⁹⁾.

5.5. PRODUCCIÓN DE ENERGÍA POR LA CELULA MUSCULAR

La fuente inmediata para que la célula pueda desarrollar actividad aeróbica está representada por el ATP (adenosin trifosfato), cuyo lugar de síntesis es la Mitocondria⁽¹⁹⁾.

El ATP es hidrolizado en ADP (adenosin difosfato) y Pi mediante la enzima miosina ATP asa⁽¹⁹⁾.



Un mol de ATP (adenosin trifosfato) desdoblado proporciona un mol de ADP (adenosin difosfato) + 7000 calorías⁽¹⁹⁾.

Es importante considerar el grado de actividad del músculo que determinará el predominio de un metabolismo aeróbico o anaeróbico, con la consecuente variación en los productos finales de estas vías metabólicas. Por esto durante el reposo o en ejercicios moderados intervienen mecanismos aeróbicos con gran eficiencia en la producción de ATP⁽¹⁹⁾.

A medida que se va intensificando un déficit en el aporte de oxígeno, como consecuencia de una mayor actividad, se producen una serie de mecanismos anaeróbicos que deprimen la eficiencia en la producción de ATP y tiene como producto final el ácido láctico⁽¹⁹⁾.

Cuando la energía se usa para el movimiento; sólo un 25% de esta energía genera energía mecánica, el resto se pierde en forma de calor. Como resultado de esto, durante el movimiento, se produce el desdoblamiento de gran número de moléculas de ATP⁽¹⁹⁾.

La tabla que se muestra a continuación esta representada por los procesos de abastecimiento intracelular de ATP (adenosin trifosfato) y las diferencias existentes entre cada uno de los metabolismos celulares:

Tabla 1. MECANISMOS DE FOSFORILACION ⁽¹⁾ ⁽¹⁹⁾

Mecanismo aeróbico	Mecanismo Anaeróbico
A) Fosforilación oxidativa Sustratos:	B) Fosforilación anaeróbica Sustratos:
a) Ácidos grasos. No esterificados (AGL)	a) Fosfocreatina (CP)
b) Ciclo de Krebs NIVEL MITOCONDRIA	b) Glucosa plasmática
	c) Reservas de glucógenos locales
	GLUCOLISIS NIVEL CITOPLASMATICO CELULAR

5.6. FOSFORILACION OXIDATIVA

La mayor fuente de energía para la producción de ATP (adenosin trifosfato) se basa en la oxidación de Ácidos Grasos e Hidratos de Carbono, en la que intervienen enzimas mitocondriales específicas incorporadas en la cadena respiratoria ⁽¹⁾ ⁽¹⁹⁾.

Esta oxidación conduce a la producción de Átomos de Hidrógeno que serán captados por coenzimas tales como Nicotinamida Adenindinucleótido (NAD) y Flavín Adenindinucleótido (FAD) para la producción de ATP (adenosin trifosfato) ⁽¹⁾ ⁽¹⁹⁾.

Las fuentes de hidrógeno están dadas por los ácidos grasos y la glucosa. En la lipólisis se liberan ácidos grasos libres (AGL) que serán captados por el músculo esquelético a través de un gradiente de concentración ⁽¹⁾ ⁽¹⁹⁾.

Ya dentro de la célula sufren el proceso de la Beta Oxidación intramitocondrial dando átomos de hidrógeno que entran en la cadena respiratoria y dos carbonos destinados al ciclo del Ácido Cítrico como Acetil CoA ⁽¹⁾ ⁽¹⁹⁾.

La cantidad de energía obtenida de esta forma depende del número de átomos de carbono que presenta el ácido graso ^{(1) (19)}.

La importancia de la glucosa como fuente de iones hidrógeno está dada en la medida que se incrementa la actividad muscular. La utilización de este azúcar se ve favorecida por la presencia de exoquinasa activada por la Insulina, los procesos finales de la glucólisis son: dos iones hidrógeno y dos moléculas de piruvato ^{(1) (19)}.

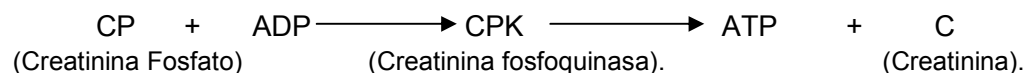
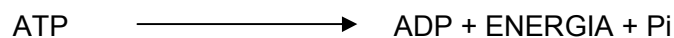
5.7. FOSFORILACION ANAERÓBICA.

Ante la instauración de un ejercicio donde el transporte de oxígeno es insuficiente se ponen en marcha una serie de mecanismos anaeróbicos como fuente de producción de ATP (adenosin trifosfato) ^{(1) (19)}.

- Fosfocreatina (CP).
- ADP
- AMP
- Glucólisis anaeróbica

5.7.1. FOSFOCREATINA (CP) O SISTEMA FOSFAGENO. (Sistema de recambio)

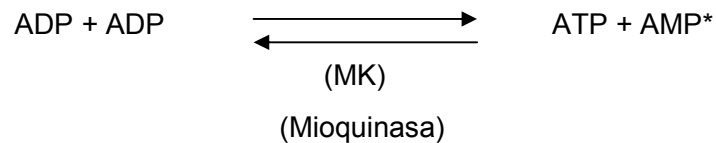
Órganos como cerebro, corazón y músculo esquelético contienen además de ATP otro compuesto de alta energía denominado Fosfocreatina, que no intervendría en forma directa como fuente de energía para la actividad muscular, sino que contribuiría a mantener una concentración adecuada de ATP, cuando éste se está utilizando. ^{(1) (19)}



De esta forma se obtiene una reserva adicional de compuesto de alta energía que es utilizada para episodios repentinos de intensa actividad muscular ^{(1) (19)}.

5.7.2. REACCION DE LA MIOQUINASA (MK)

Esta enzima cataliza la condensación de dos moléculas de ADP (adenosin difosfato) en un mol de ATP (adenosin trifosfato) y un mol de AMP ⁽¹⁾⁽¹⁹⁾.



Es válido aclarar que esta reacción se encuentra en un equilibrio hacia ambos lados en condiciones de reposo.

5.7.3. GLUCÓLISIS ANAEROBIA.

Cuando existe una disminución del aporte de oxígeno tisular se produce una transferencia de los iones Hidrógeno producidos por la Glucólisis al Piruvato, que daría como producto final el Ácido Láctico. La finalidad de esto es la liberación del NAD (Nicotinamida Adenindinucleótido) para ser reducido nuevamente ⁽¹⁾⁽¹⁹⁾.

Por cada mol de glucosa degradada en forma anaeróbica se obtienen dos moles de ATP (adenosin trifosfato) utilizable. Es de destacar que el gradual acumulo de Ácido Láctico intracelular y la concomitante disminución del pH resulta en una inhibición enzimática con una menor producción de ATP (adenosin trifosfato), (mecanismo de autorregulación) ⁽¹⁾⁽¹⁹⁾.

5.8. ADAPTACION MUSCULAR AL EJERCICIO Y AL ENTRENAMIENTO

La masa muscular del equino comprende la tercera parte del peso corporal total. Esta es parte integral que permite mantener la performance durante el ejercicio. Por otro lado el músculo esquelético es uno de los tejidos más plásticos del cuerpo, lo que le permite adaptarse a más rápidos cambios durante una actividad física ⁽¹⁹⁾.

Dentro del sistema locomotor la mayoría de los músculos están compuestos por un conjunto de “unidades motoras” de propiedades contráctiles diferentes. Dentro de ellas se consideran: ⁽¹⁹⁾.

- a) El tiempo necesario para llegar al pico de tensión máxima en una contracción nerviosa.
- b) La estrecha relación del tiempo necesario para llegar a la hemi relajación que le

sigue al inicio de un ciclo contráctil simple.

c) Esto nos permite identificar dos tipos de fibras musculares y por ende dos clases de “unidades motoras”:

Los músculos están compuestos por diferentes tipos de fibras basadas en las propiedades individuales, estas se dividen en 3 grupos: ^{(2) (20) (21) (25) (26)}.

- 1) De contracción (rápidas o lentas)
- 2) De fatiga (rápidas o lentas)
- 3) Según el metabolismo (oxidativo, glicolítico, mixto)

En 1970, la Federación Mundial de Neurología recomendó una básica división de las fibras musculares en tipo I y II ⁽²⁾.

En el siguiente cuadro se pretende explicar la clasificación de las fibras musculares del caballo y sus diferencias en cuanto a la fuente de energía, tamaño y función de las mismas dependiendo del tipo de trabajo que realice el equino en particular.

Tabla 2. TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES ^{(1) (2) (3) (4) (5) (20) (21) (25) (26)}

FIBRAS TIPO I “Fibra de Contracción Lenta”. (F.C.L)	FIBRAS TIPO IIA “Fibra de Contracción Rápida”. (F.C.R).	FIBRAS TIPO IIB “Fibra de Contracción Rápida”. (F.C.R).
- Menor actividad ATP–asa. - Fuente de ATP es la fosforilación oxidativa dependen del metabolismo aerobio. - Son fibras lentas debido a la velocidad de su acortamiento. - Ricas en mioglobina (rojas). - Mayor contenido mitocondrial y menor retículo sarcoplásmico. - Son fibras pequeñas. - Presentan mayor aporte sanguíneo.	- Fuente de ATP fosforilación oxidativa. - Ricas en mioglobina y abundante aporte capilar. - Tienen mayor actividad glicolítica que las fibras tipo I. - Estas fibras son inervadas por alfa – motoneuronas de diámetro intermedio. - Las unidades motoras tipo FF, que son unidades rápidas pero fatigables están conformadas por estas	- Mayor actividad ATP – asa que las fibras tipo I. - fuente energética la glucólisis. - Denominadas fibras blancas o rápidas. - Tienden a ser más grandes. - Presentan retículo endoplásmicos extensos para la liberación rápida de iones de calcio. - Menor aporte sanguíneo. - Menor contenido mitocondrial. - Estas fibras son

- Estas fibras son inervadas por alfa – motoneuronas de pequeño diámetro y bajo umbral de excitación. - Las unidades motoras tipo S o lentas están compuestas por estas fibras. - Lentas pero repetitivas; - No se fatigan con facilidad. - Los músculos implicados en actividades sostenidas están integrados por unidades motoras S.	- Estas unidades motoras están relacionadas con contracciones rápidas y potentes, pero solo durante breves periodos.	- inervadas por alfa – motoneuronas de gran diámetro y alto umbral de excitación. - Estas unidades motoras producen con rapidez fuerzas relativamente grandes y sostenidas. - Los músculos implicados en actividades sostenidas están integrados por unidades motoras FR. - Rápidas pero se fatigan con facilidad.
--	--	---

5.9. CONTRACCION Y RELAJACION MUSCULAR

La contracción reduce la longitud de las fibras musculares en reposo en un grado que es igual a la suma de todos los acortamientos que ocurren en todos los sarcómeros de esta célula muscular en particular ^{(3) (4) (5)}.

El proceso de contracción, desencadenado a menudo por impulsos nerviosos, obedece a “La ley del todo o nada” porque una sola fibra muscular se contraerá o no se contraerá como resultado de la estimulación. El estímulo se transfiere a nivel de la unión neuromuscular. Durante la contracción muscular los filamentos delgados se deslizan más allá de los filamentos gruesos ^{(3) (4) (5)}.

La sucesión de acontecimientos que sigue da por resultado contracción del músculo esquelético así: ^{(3) (4) (5)}.

1. El impulso, generado a lo largo del sarcolema, se transmite hacia el interior de la fibra por los túbulos T, en los que sigue transmitiéndose hasta las cisternas terminales del retículo sarcoplásmico.
2. Dejan las cisternas terminales iones de calcio a través de canales de descarga del calcio de compuerta de voltaje, entran en el citosol y se fijan a la subunidad de la Troponina, con lo que alteran su configuración.

3. El cambio de configuración de la troponina cambia a su vez la posición de la tropomiosina de más hacia la profundidad del surco, con lo que deja descubierto el sitio activo (sitio de fijación de la miosina) sobre la molécula de actina.
4. Hidroliza el ATP (adenosin trifosfato) presente sobre el fragmento S_1 de miosina, pero se quedan unidos a este fragmento tanto Difosfato de Adenosin (ADP) como el fosfato inorgánico (P_i), y el complejo se fija en el sitio activo sobre la actina.
5. Se descarga el P_i , lo que da por resultado no solo aumentando de la fuerza del enlace entre la actina y la miosina, sino también un cambio de la configuración del fragmento S_1 .
6. Se descarga además el ADP Difosfato de Adenosin, y se produce tracción sobre el filamento de actina hacia el centro del sarcómero (“descarga de fuerza”).
7. Se fija una nueva molécula de ATP (adenosin trifosfato) sobre el fragmento S_1 , lo que hace que se libere el enlace entre la actina y la miosina.

Los ciclos de inserción y liberación deben repetirse numerosas veces para que se complete la contracción. Cada inserción y cada liberación requirieren ATP para la conversión de la energía química en movimiento ^{(3) (4) (5)}.

5.10. ADAPTACIONES MUSCULARES AL EJERCICIO Y ENTRENAMIENTO.

En la mayoría de las contracciones musculares no se activan todas las fibras, pues ello no suele ser necesario para que el músculo genere la máxima tensión ⁽⁴⁾.

La magnitud de la tensión muscular desarrollada es controlada mediante el ordenado y controlado selectivo de las distintas unidades motoras. De acuerdo a su estimulación específica por las correspondientes alfa – motoneuronas. La intensidad y/o el ejercicio condiciona el uso preferente de los distintos tipos de fibras de la siguiente manera: ^{(4) (20) (21) (25)}.

- Durante la marcha al paso, solo intervienen las fibras tipo I y algunas IIA.
- En una actividad física prolongada y/o cuando aumenta la intensidad del ejercicio (raida de resistencia), son reclutadas todas las fibras tipo IIA, pero las fibras IIB no intervienen hasta que aquellas (tipo I y IIA) no agotan sus combustibles endógenos (glucógeno principalmente).

En el ejercicio de gran intensidad y corta duración (carreras de velocidad sobre corto trayecto, competiciones de esfuerzo, saltos hípicas, entre otros), se desarrollan

contracciones musculares rápidas y vigorosas, gracias a la participación desde el primer momento de todas las fibras tipo II, interviniendo en menor medida las fibras tipo I.

En los equinos existe un reclutamiento sistemático de las unidades motoras durante diferentes condiciones de ejercicio. En prolongados ejercicios (ej: cabalgata continua) se produce una reactivación que involucra al principio solamente F.C.L (fibras de contracción lenta) y algunas F.C.R (fibras de contracción rápida) sub A. En la medida que la duración o la intensidad del ejercicio aumenta, se incrementa el número de F.C.R sub A, a las que le sigue el reclutamiento de las F.C.R sub B, y cuando nos aproximamos al agotamiento todas las unidades motoras independientemente del tipo, han sido utilizadas ⁽¹⁹⁾.

La fisiología del músculo depende de los porcentajes de fibra que los integren. Así, dentro de una especie y raza, la composición fibrilar (fibras I, IIA y IIB) no es idéntica en todos sus músculos, sino que cada músculo, dependiendo de su significado funcional, tiene una población fibrilar característica ^{(4) (20) (21)}.

5.11. ADAPTACIÓN DE LA FUENTE DE ENERGÍA AL TIPO DE TRABAJO QUE SE REALIZA

Cuando un caballo trabaja puede utilizar más de una fuente de energía al mismo tiempo ⁽¹⁹⁾.

La cantidad relativa de las diferentes fuentes de energía para resíntesis de ATP (adenosin trifosfato) depende de factores como la intensidad del ejercicio, sudoración y el estado de forma del caballo ⁽¹⁹⁾.

5.11.1. Reposo

En condiciones de reposo alrededor de 2/3 partes del sustrato energético lo proporcionan las grasas y el otro tercio restante los carbohidratos. En estas condiciones, el único sistema energético que opera es el sistema aeróbico, ya que el sistema de transporte de oxígeno es capaz de suministrar a cada célula suficiente oxígeno para suplir las necesidades de ATP (adenosin trifosfato) en un estado de reposo ^{(4) (19)}.

5.11.2. Ejercicio

Todos los sistemas anaeróbicos como aeróbicos contribuyen a la formación de ATP, no obstante la relativa participación de cada uno de ellos depende del tipo de ejercicio que realicen ^{(4) (19)}.

a) Ejercicio de corta duración

En este tipo de ejercicio el principal sustrato energético son los carbohidratos y en menor proporción las grasas. El sistema metabólico predominante es el anaerobio. Como consecuencia el ATP (adenosin trifosfato) debe suministrarse vía Fosfágeno y Glucólisis Anaerobia ^{(4) (19)}.

Como el único sustrato energético en este tipo de ejercicio es el glucógeno muscular, al mismo tiempo que se produce su depleción, ocurre acumulación de ácido láctico. Estos dos hechos causan fatiga muscular ^{(4) (19)}.

b) Ejercicios prolongados

Para este tipo de ejercicio los sustratos energéticos empleados son los carbohidratos y las grasas. En un ejercicio prolongado (2 horas) el principal sustrato energético al comienzo del ejercicio es el glucógeno, mientras que al final son las grasas. El cambio de sustrato se hace de forma gradual, a la vez que se vacían los depósitos de glucógeno del hígado y los músculos ^{(4) (19)}.

A medida que el ejercicio se hace más intenso aumenta el porcentaje de glucosa utilizado y disminuye el de ácidos grasos, hasta que se llega a un nivel de intensidad de trabajo en que solo se utiliza la glucosa ^{(4) (19)}.

Este cambio de sustrato energético, de los ácidos grasos a la glucosa, se hace gradualmente, y se produce porque las células musculares de contracción rápida (F.C.R) no pueden obtener energías de los ácidos grasos y porque la glucosa proporciona en mayor rendimiento una disponibilidad dada de oxígeno ^{(4) (19)}.

Por lo tanto, en velocidades lentas, como el paso y el trote, cuanto más se prolongue el ejercicio, mayor será la proporción de ácidos grasos utilizados. La proporción de ácidos grasos utilizados a una velocidad dada es mayor en caballos con mayor entrenamiento ^{(4) (19)}.

La fatiga de los caballos se debe en parte a factores como: niveles bajos de glucosa por depleción de los depósitos de glucógeno hepático, fatiga muscular local por depleción de glucógeno muscular, deshidratación por pérdida de agua y electrolitos, con lo que se aumenta la temperatura corporal ^{(4) (19)}.

La capacidad de producir energía por el metabolismo aeróbico depende de la cantidad de oxígeno que pueda utilizar la mitocondria que es la cámara de combustión de las células, lo que depende que se haya liberado suficiente oxígeno a las células musculares. Como el oxígeno proviene del aire que el caballo respira, los factores que pueden influir en este aporte se pueden resumir en: ⁽¹⁹⁾

- Ventilación pulmonar.
- Paso del oxígeno de los pulmones a la sangre.
- Capacidad de transporte de oxígeno por la sangre.
- Paso del oxígeno de la sangre al músculo.

La cantidad de oxígeno que utiliza el organismo se denomina “consumo de oxígeno”. Se mide como el número de mililitros consumidos por kilogramos de peso por minuto (ml/KPV/min.) El consumo se expresa como VO₂ y la cantidad máxima que puede ser utilizada se denomina VO₂ máx. ⁽¹⁹⁾.

El VO₂ Máx. está determinado genéticamente, dependiendo fundamentalmente del entrenamiento y del tamaño corporal ⁽¹⁹⁾.

Cuando un caballo realiza un ejercicio, la cantidad de oxígeno que consume aumenta proporcionalmente a la velocidad del trabajo realizado, hasta alcanzar un nivel por encima del cual no hay aumento ⁽¹⁹⁾.

A partir de una velocidad de 40 Km./ h el empleo de oxígeno no se incrementa al aumentar la velocidad. En estos la VO₂ máx. es de 64,2 litros de O₂ / min. ⁽¹⁹⁾.

Estudios han demostrado que durante el ejercicio se producen diversos cambios en la composición y distribución de los constituyentes del plasma que reflejan el nivel de adaptación cardiorrespiratoria y metabólica destinados a lograr un adecuado aporte de oxígeno a los tejidos, favorecer la remoción de los productos metabólicos de

desecho y facilitar la pérdida de calor generado por el aumento de la actividad muscular ^{(6) (10)}.

Estos cambios guardan una estrecha relación con la intensidad del trabajo realizado, la velocidad desarrollada, el tiempo de ejercicio y el nivel de entrenamiento. Es por ello que el conocimiento adecuado de los fenómenos involucrados en la adaptación bioquímica al ejercicio puede proveer unas bases para mejorar el manejo, los programas de entrenamiento, la evaluación de la performance potencial y facilitar la comprensión de los procesos patológicos derivados del ejercicio ^{(6) (12)}.

Desde el punto de vista atlético, uno de los principales objetivos del entrenamiento es aumentar la capacidad de consumo de oxígeno, el cual en el equino en ejercicio, puede aumentar hasta 35 veces su valor de reposo ^{(9) (20)}.

Este mayor consumo de oxígeno se manifiesta, no solo como una intensificación del metabolismo en el ejercicio, sino también, por cambios adaptativos que se traducen en modificaciones de los niveles de algunos metabolitos sanguíneos en respuesta al ejercicio ^{(9) (20)}.

5.12. ENZIMAS

Las reacciones químicas que ocurren en los seres vivos son catalizadas por proteínas específicas denominadas enzimas, caracterizándose estas por presentar un elevado poder catalítico y una gran especificidad ^{(32) (34)}.

5.13. CONCEPTO, CLASIFICACION Y NOMENCLATURA DE LAS ENZIMAS.

Las proteínas especializadas en la función catalítica reciben el nombre de enzimas y las sustancias sobre las cuales actúan se denomina sustratos ^{(32) (34)}.

Lo que distingue a las enzimas de las demás proteínas es precisamente que, una vez producido el reconocimiento molecular del sustrato, se realiza la transformación de la sustancia reconocida, o sea, como consecuencia de diferentes interacciones entre la proteína enzimática y su sustrato, este experimenta un reordenamiento de sus elementos constituyentes debido a la ruptura y formación de algunos enlaces químicos. La que resulta de la acción de la enzima sobre el sustrato recibe el nombre de producto ^{(32) (34)}.

La existencia del complejo enzima-sustrato y la característica de que la mayoría de los sustratos presentan un tamaño varias veces menor que la estructura de la enzima, implica que la enzima solo entra en contacto con el sustrato en una pequeña zona específica de su voluminosa estructura ^{(32) (34)}.

Las proteínas enzimáticas presentan dos regiones o sitios importantes, uno de ellos reconoce y liga al sustrato (sitio de reconocimiento) y el otro cataliza la reacción (sitio catalítico) toda vez que el sustrato se ha unido. Estos dos sitios están adyacentes uno al otro en la forma activa de la enzima ^{(32) (34)}.

Las enzimas poseen dos propiedades fundamentales, derivándose estas de las características del centro activo: ^{(32) (34)}

- ✓ Gran eficiencia catalítica.
- ✓ Elevada especificidad.

Siendo esta última la que sirve de fundamento para establecer la clasificación y nomenclatura de las enzimas, en ocasiones, el sitio catalítico es parte del de reconocimiento, estas dos regiones en conjunto reciben el nombre de centro activo ^{(32) (34)}.

Se han establecido 6 grupos principales: ^{(32) (34)}

- Oxidoreductasas: Enzimas que catalizan reacciones de oxidación-reducción.
- Transferasas: Catalizan la transferencia de un grupo químico entre un donante y un aceptor, se excluyen aquellas que transfieren electrones o sus equivalentes, pues pertenecen a la clase anterior y aquellas en que el aceptor del grupo es el agua y pertenece a la clase siguiente.
- Hidrolasas: Catalizan la ruptura de enlaces químicos con la participación de las moléculas de agua.
- Liasas: Catalizan reacciones en las cuales se produce la adición o sustracción de grupos químicos a dobles enlaces.
- Isomerasas: Catalizan la interconversión de dos isómeros.
- Ligasas: Catalizan la unión covalente de dos sustratos mediante la energía de hidrólisis de nucleósidos trifosfatados, generalmente el ATP.

5.14. REGULACIÓN DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

La regulación enzimática se refiere a la posibilidad que tienen las enzimas de variar la velocidad de las reacciones que aquellas catalizan al producirse determinados cambios en el medio; esa posibilidad viene dado por características estructurales de las enzimas y que son una vez más manifestaciones del vínculo que existe entre la estructura y la función de las biomoléculas ^{(32) (34)}.

Los cambios de velocidad observados durante el proceso de adaptación son debido a cambios cuantitativos o cualitativos de los centros activos, y atendiendo a esto las formas básicas de la regulación enzimática se manifiestan por variación en la cantidad o la actividad de las enzimas ^{(32) (34)}.

5.15. ENZIMAS MUSCULARES AST Y CK

5.15.1. ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST)

La AST (aspartato aminotransferasa) cataliza la transferencia de un grupo α -amino del ácido aspártico al ácido α -cetoglutarico. Su valoración es muy útil en animales grandes como indicación de lesión muscular o necrosis hepática ^{(33) (34)}.

La enzima se eleva considerablemente en miopatías por ejercicio en caballos, distrofia muscular, durante el entrenamiento y en la enfermedad de los músculos blandos ^{(33) (34)}.

Esta enzima hialoplásmica se encuentra en la mayoría de las células del cuerpo, la mayor concentración esta en las fibras musculares, de ahí su elevación en la necrosis muscular ^{(33) (34)}.

5.15.2. CREATIN QUINASA (CK)

Esta enzima, cataliza la transferencia reversible de grupos fosfato entre la creatina y la fosfocreatina, así como entre el ADP (adenosin difosfato) y el ATP (adenosin trifosfato) ^{(33) (34)}.

Reside en mayor parte en el músculo esquelético, músculo cardíaco y tracto gastrointestinal, siendo el cerebro la única otra fuente importante ^{(33) (34)}.

La afectación aguda o progresiva del músculo esquelético da lugar a una elevación considerable de los niveles de CK (creatin quinasa). Las distrofias musculares provocan elevaciones persistentes de hasta 50 a 100 veces el valor normal ^{(33) (34)}.

La Creatin quinasa es una enzima altamente sensitiva de bajo peso molecular y es un indicador específico de daño muscular^{(35) (37) (39)}.

Comienza a elevarse a la media hora después de iniciado el dolor, existiendo un pico máximo a las 12 y declina a valores normales entre los 2 y 3 días^{(33) (34)}.

Reconociéndole tres isoenzimas denominadas MM, BB y MB, presente la primera en el músculo esquelético, la segunda en el cerebro y riñones y la tercera en el músculo cardíaco^{(33) (34)}.

La CK (creatin quinasa) total puede elevarse en: ^{(8) (33) (34)}

- Enfermedad del músculo esquelético.
- Intoxicación alcohólica.
- Diabetes mellitus.
- Trauma cardíaco.
- Convulsiones.
- Inyecciones intramusculares repetidas.
- Isquemia muscular
- Decúbitos prolongados
- Necrosis
- Ejercicios extenuantes

5.16. METABOLISMO Y APLICACIÓN AL EJERCICIO DE ENZIMAS MUSCULARES

El estudio de las actividades enzimáticas del metabolismo aeróbico y anaeróbico de la fibra muscular es importante para conocer las características de las principales rutas metabólicas y las adaptaciones que ocurren en el músculo esquelético en períodos en los cuales los equinos permanecen inactivos o están realizando un trabajo⁽²⁹⁾⁽²⁷⁾.

Las actividades enzimáticas utilizadas como marcadores del metabolismo aeróbico son la citrato sintetasa y la 3-hidroxi-acil-CoA-deshidrogenasa y del metabolismo anaeróbico, la deshidrogenasa láctica y la creatin quinasa, preferentemente. Estas actividades enzimáticas se correlacionan con el porcentaje y tamaño de las fibras musculares y son dependientes de la raza de los equinos⁽²⁸⁾.

Para que la actividad plasmática o sérica de enzimas musculares tenga una significancia patológica deben presentar un nivel de actividad mucho mayor que el esperado para la naturaleza del ejercicio y el nivel de aptitud física del caballo^{(6) (18)}.

El incremento de la actividad de enzimas musculares es una respuesta común observada en el caballo, cualquiera sea el ejercicio al cual es sometido. Así por ejemplo, incrementos significativos han sido observados posteriores a carreras de resistencia, competencias de polo y de salto ^{(6) (12) (13)}.

Se describe que el aumento en la actividad sérica de estas enzimas reflejan en forma importante las condiciones de ejercicio en cuanto a intensidad y duración, donde las variaciones en sus niveles de actividad pueden reflejar diferencias de entrenamiento y aptitud para la carrera ⁽¹⁰⁾.

Resultados similares han sido observados también en caballos de tiro sometidos a ejercicios de tracción de diferente intensidad y duración ^{(6) (14)}.

El aumento de los niveles séricos AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa) en respuesta al ejercicio, ha sido propuesto como índice de aptitud, donde aquellos animales físicamente menos acondicionados debieran presentar mayores incrementos en la actividad enzimática que aquellos que presentan una mejor condición física ⁽¹⁵⁾.

La determinación simultánea de AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa) son potencialmente valiosas como ayuda diagnóstica y pronóstica en las alteraciones musculares que se presenten. Cuando los niveles de CK (creatin quinasa) se encuentran elevados, indican que el daño muscular está activo o ha ocurrido recientemente, el aumento en la actividad sérica de las dos enzimas está asociado a daño tisular o necrosis celular, se puede alcanzar niveles séricos hasta 100 veces mayores que lo normal ^{(40) (49)}.

Como respuesta al ejercicio, la elevación de la actividad de AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa) no se ha aclarado satisfactoriamente, pudiendo estar asociada a cambios en la permeabilidad de la membrana, incremento de la síntesis enzimática, fallas en la remoción o depuración de la enzima o daño en la integridad del sarcolema ⁽⁴¹⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾.

La evaluación de AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa) en el caballo presenta una valiosa ayuda diagnóstica y pronóstica, de acuerdo a las diferencias en sus tasas de desaparición de su actividad plasmática o sérica. Así por ejemplo, cuando la AST (aspartato aminotransferasa) está elevada producto de

mionecrosis y la actividad de CK (creatin quinasa) está normal o disminuye indica que la destrucción de células musculares no está activa ^{(6) (17) (18)}.

Se reporta una correlación entre la actividad sérica de AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa) con el sexo de los animales, encontrando que las hembras presentaban mayor actividad sérica para ambas enzimas ⁽⁸⁾⁽³⁹⁾.

La CK (creatin quinasa) se encuentra presente en diversos tejidos; sin embargo, su mayor concentración se encuentra en el tejido muscular ⁽²²⁾, es una enzima evaluadora del metabolismo glicolítico de la fibra muscular ⁽²³⁾.

Aunque la CK (creatin quinasa) se encuentra en músculo cardíaco y esquelético, las elevaciones de esta enzima están más comúnmente asociadas a miopatías excepcionales (rabdomiolisis) y también se ven en miopatías músculo esqueléticas de enfermedad sistémica. Las inyecciones intramusculares así como el ejercicio vigoroso o el transporte prolongado resultan en liberaciones moderadas (hasta cuatro veces el valor de reposo) de la CK (creatin quinasa) a la circulación si producir evidencia histológica de daño muscular ^{(35) (37) (40) (49)}.

La vida media de esta enzima en la circulación es muy corta (2 horas), aun elevaciones marcadas pueden regresar a su valor normal entre 12 a 24 horas después de un fuerte desgaste muscular. Aunque la marcada elevación de la CK (creatin quinasa) puede ser un indicador de la extensión del daño muscular, la corta vida media y el potencial para continuar con la mionecrosis tiene una marcada influencia en la actividad de la enzima observada en cualquier punto en el tiempo ⁽³⁵⁾⁽³⁷⁾.

Una elevación de CK (creatin quinasa) es compatible con la presentación de signos clínicos de lesión muscular severa ⁽⁸⁾. La magnitud de su incremento depende de la intensidad y duración del ejercicio y esta primordialmente influenciada por el estado físico de los animales ⁽⁴²⁾, la relación entre la concentración de catecolaminas y cortisol y factores medio-ambientales ⁽⁸⁾⁽⁴¹⁾.

El ejercicio induce cambios en la actividad del sarcolema produciendo así la salida al plasma sanguíneo de las enzimas que se encuentran en la mitocondria, y en el mismo, por un aumento en la permeabilidad de la membrana celular a consecuencia de la hipoxia celular generada por el trabajo muscular anaeróbico ^{(6) (15) (41) (43) (50)}.

La CK elevada no provee la información sobre los factores responsables del daño muscular. La hemólisis puede producir valores altos falsos para la CK (creatin quinasa) ^{(35) (37)}.

Un incremento en CK (creatin quinasa) de 3 a 5 veces su valor basal equivale a una miolisis de unos 20 g de tejido ⁽⁴⁷⁾.

El rango de referencia va 60 UI a 330 UI/L ^{(36) (37)}.

Los resultados obtenidos en estudios en caballos de tiro pesados, no muestran actividades CK (creatin quinasa) significativas después del entrenamiento ⁽³⁰⁾.

La AST (aspartato aminotransferasa), es una enzima no órgano-específica ya que se encuentra en diferentes órganos del cuerpo, entre ellos el músculo estriado esquelético, así, la especificidad diagnóstica de esta enzima es baja, siendo necesario complementar el análisis con la actividad de otra enzima que esté asociada con la actividad del músculo estriado esquelético. Pese a ello, cuando el caballo ha sido sometido a un periodo de descanso prolongado y se renueva sus actividades atléticas, los niveles de esta enzima pueden elevarse dependiendo de la magnitud del ejercicio ⁽⁴¹⁾.

Se ha reportado aumentos no significantes de AST (aspartato aminotransferasa) en caballos post carrera de 100 millas ⁽¹¹⁾. En caballos repetidamente expuestos a diferentes ritmos de ejercicio se ha observado que la AST aumento pasados 16 horas post carrera, sin embargo no se observó signos de lesión muscular en los caballos ⁽¹⁰⁾.

Estudios han demostrado que durante el ejercicio se producen diversos cambios en la composición y distribución de los constituyentes del plasma que reflejan el nivel de adaptación cardiorrespiratoria y metabólica destinados a lograr un adecuado aporte de oxígeno a los tejidos, favorecer la remoción de los productos metabólicos de desecho y facilitar la pérdida de calor generado por el aumento de la actividad muscular ^{(6) (10)}.

Estos cambios guardan una estrecha relación con la intensidad del trabajo realizado, la velocidad desarrollada, el tiempo de ejercicio y el nivel de entrenamiento. Es por ello que el conocimiento adecuado de los fenómenos involucrados en la adaptación bioquímica al ejercicio puede proveer unas bases para mejorar el manejo, los programas de entrenamiento, la evaluación de la performance potencial y facilitar la comprensión de los procesos patológicos derivados del ejercicio ^{(6) (12)}.

Se ha demostrado que la adaptación que ocurre con el entrenamiento produce una menor liberación de enzimas producto de la reducción de la permeabilidad de la membrana de la célula muscular ^{(6) (16) (50)}.

La recuperación de la actividad enzimática a valores de reposo después de 24 horas parece indicar que su aumento de actividad en el plasma resulta de un cambio de permeabilidad de fibras intactas más que una alteración permanente en la integridad celular ⁽⁶⁾⁽¹⁶⁾. Sin embargo, no se puede descartar completamente la posibilidad de que en algunos caballos, el aumento de la actividad de las enzimas está asociado a daño celular como consecuencia de un mayor esfuerzo muscular. Esto puede explicar el aumento en la actividad de AST (aspartato aminotransferasa), la que por tratarse de una enzima mitocondrial y citosólica su presencia en el plasma es más tardía que CK (creatin quinasa), ya que su salida hacia la circulación general requiere de la presencia de daño celular ^{(6) (17)}.

5.17. METODOS DE LABORATORIO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS ENZIMATICAS

Procesos para CK (creatin quinasa)

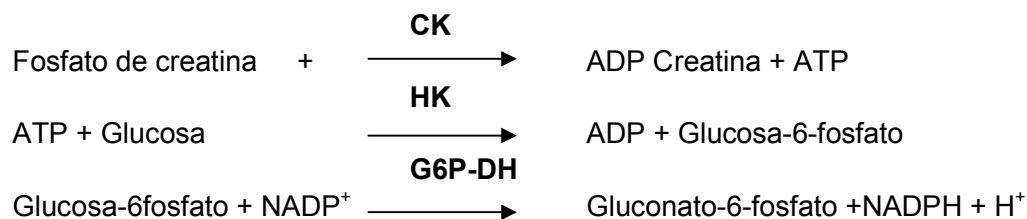
Los primeros métodos de medición de la CK (creatin quinasa) se basaron en la "reacción anterógrada" con creatina fosfato y adenosina difosfato (ADP) como los productos. La sensibilidad de estas pruebas se demostró que era baja debido a problemas con interferencias.

El procedimiento de elección utiliza la "reacción inversa" juntamente con una reacción que produce NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato), que se relaciona de manera directa con los niveles de CK (creatin quinasa).

5.17.1. METODO COLORIMETRICO (CK)

Fundamento del método

La creatin quinasa (CK) cataliza la fosforilación del ADP (adenosin difosfato) por el fosfato de creatina, obteniéndose creatina y ATP (adenosin trifosfato). La concentración catalítica determina empleando las reacciones acopladas de la hexoquinasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, a partir de la velocidad de formación del NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato), medido a 340nm ⁽⁵¹⁾.



▪ **Composición** ⁽⁵¹⁾

1. **Reactivo:** Imidazol 104 mmol/L, acetato de magnesio 10,4 mmol/L, D-glucosa 20,8 mmol/L, pH 6.6
2. **Reactivo:** Fosfato de creatina 31,2 mmol/L, ADP 2,08mmol/L, N-acetilcisteina 20,6 mmol/L, AMP 5,2 mmol/L, P1 P5 di(adenosina-5-) pentafofato 10,4 umol/L, hexoquinasas 3120 U/L, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa 2080 U/L, una vez reconstituido.

▪ **Conservación** ⁽⁵¹⁾

La solución 2 es estable de 2-8°C durante 4 meses y de 15-25°C durante 1 mes.

▪ **Equipo adicional** ⁽⁵¹⁾

1. Analizador, fotómetro con cubeta termostatizable a 25, 30, ó 37°C para lecturas a 340nm (nanometros).
2. Cubetas de 1cm de paso de luz.

▪ **Muestras** ⁽⁵¹⁾

1. Muestra con un volumen de 30 microlitros
2. Reactivo con un volumen de 300 microlitros

La creatin quinasa en suero es estable 7 días a 2-8°C

▪ **Procedimiento** ⁽⁵¹⁾

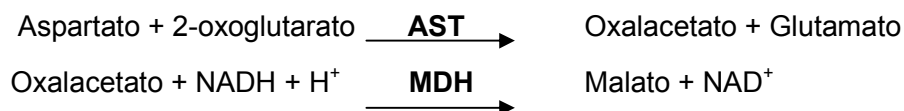
1. Precalentar el reactivo de trabajo y el instrumento a temperatura de reacción.

2. Pipetear en una cubeta las muestras y el reactivo.
3. Mezclar e insertar la cubeta en el fotómetro.
4. Se realizan 2 lecturas. La primera lectura tiene 3 ciclos de 48 segundos cada uno. Una segunda lectura con 6 ciclos de 120 segundos cada uno.
5. Se anota la absorbancia inicial, y después anotar las siguientes después de terminada cada lectura.
6. Se calcula el incremento de absorbancia por minuto promedio
7. Se calcula la concentración de CK en la muestra por medio de formulas de laboratorio. El resultado se expresa en U/L.

5.17.2. METODO COLORIMETRICO (AST)

Fundamento del método

La aspartato aminotransferasa (AST) cataliza la reacción entre el aspartato y el 2-oxoglutarato, dando oxalacetato y glutamato. El oxalacetato una vez formado reacciona inmediatamente con el NADH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) en presencia de la enzima malato deshidrogenasa (MDH) para dar malato y NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleótido). La velocidad de consumo del NADH se determina espectrofotométricamente a 340nm y es proporcional a la actividad de la AST en la muestra. (51)



▪ Composición ⁽⁵¹⁾

1. **Reactivo:** Tris 121 mmol/L, L-aspartato 362 mmol/L, deshidrogenasa malatica > 460 U/L, dehidrogenasa láctica > 660 U/L, hidroxido de sodio 265 mmol/L, pH 7.8
2. **Reactivo:** NADH 1,3 mmol/L, 2-oxoglutarato 75mmol/L, hidróxido de sodio 148 mmol/l, sodio ácido 9,5 g/L.

▪ Conservación ⁽⁵¹⁾

Conservar a 2-8°C

▪ **Equipo adicional** ⁽⁵¹⁾

1. Analizador, fotómetro con cubeta termostatizable a 25, 30, 0 37°C para lecturas a 340nm. (nanometros)
2. Cubetas de 1cm de paso de luz.

▪ **Muestras** ⁽⁵¹⁾

1. Muestra con un volumen de 25 microlitros
2. Reactivo con u volumen de 300 microlitros

La aspartato aminotransferasa en suero es estable 7 días a 2-8 °C

▪ **Procedimiento** ⁽⁵¹⁾

1. Precalentar el reactivo de trabajo y el instrumento a temperatura de reacción.
2. Pipetear en una cubeta las muestras y el reactivo.
3. Mezclar e insertar la cubeta en el fotómetro.
4. Se realizan 2 lecturas. La lectura inicial tiene 5 ciclos de 96 segundos cada una segunda lectura con 12 ciclos de 264 segundos cada uno.
5. Se anota la absorbancia inicial, y después anotar las siguientes después de terminada cada lectura.
6. Se calcula el incremento de absorbancia por minuto promedio
7. Se calcula la concentración de AST en la muestra por medio de formulas de laboratorio. El resultado se expresa en U/L

5.18. FACTORES A CONSIDERAR EN LA INTERPRETACIÓN DE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE LAS ENZIMAS MUSCULARES ⁽⁴⁷⁾ ⁽⁴⁸⁾

1. Raza
2. Nivel de entrenamiento del animal
3. Edad
4. Grado de lesión muscular
5. Sexo
6. Alimentación

Factores dependientes del ejercicio ⁽⁴⁷⁾ ⁽⁴⁸⁾

Dependiente de la Intensidad:

1. Duración de cada etapa
2. Velocidad de cada etapa
3. Número de etapas
4. Período de recuperación entre etapas

Factores dependientes del manejo y del procesamiento de la muestra ⁽⁴⁷⁾ ⁽⁴⁸⁾

1. Técnica de extracción
2. Mantenimiento de la muestra de sangre (4-8° C)
3. Tiempo desde la extracción hasta centrifugación (plasma)
4. Tiempo hasta el análisis (menor de 24 h si la muestra se mantiene refrigerada)

Acciones correctivas para resultados inaceptables ⁽⁵²⁾

5. Calibración del equipo. (Remitirse al manual del equipo).
6. Centrifugar muestras lo más rápido posible.
7. Cambio de lote de sueros multicalibradores y reactivos, realizar nueva calibración del equipo.
8. Verificar reactivos que correspondan a la prueba pedida y evitar agotamiento de los mismos.
9. Rechazar muestras hemolizadas e insuficientes.
10. Muestras que no se preparan el mismo día, refrigerar a 4°C.
11. Confirmar la linealidad de la prueba y si es necesario realizar las diluciones respectivas.
12. Asegurar el mantenimiento del equipo.

6. HIPOTESIS

Según los efectos que trae el ejercicio sobre la composición bioquímica sanguínea de los caballos atletas, y fundamentados en la bibliografía del trabajo de investigación, se espera obtener niveles serológicos basales de AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa) en pre pista y de igual manera los valores obtenidos post competencia se encuentren con mínimos cambios por encima de los niveles basales obtenidos con los ejemplares en reposo.

Se espera conocer la influencia que tienen las competencias en la liberación de enzimas musculares a la circulación sanguínea y estos resultados obtenidos deben arrojar datos significativos que puedan brindar información acerca del grado de desgaste o no de los tejidos musculares de los caballos criollos colombianos que participan en las competencias.

7. OBJETIVOS

7.1. General

Medir los niveles séricos de CK (creatin quinasa) y AST (aspartato aminotransferasa) en caballos criollos colombianos antes y después de la competencia.

7.2. Específicos

Obtener valores serológicos de CK (creatin quinasa) en caballos criollos colombianos de competencia y en pre-pista y treinta minutos posterior a la competencia en caballos aparentemente normales.

Obtener valores serológicos de AST (aspartato aminotransferasa) en caballos criollos colombianos de competencia en pre-pista y treinta minutos posteriores a la competencia en caballos aparentemente normales.

Establecer un rango de variabilidad entre los niveles séricos de AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa), como referencia de laboratorio para los caballos criollos colombianos.

8. METODOLOGIA

8.1. Enfoque metodológico de la investigación

El enfoque de la investigación es hipotético - deductivo, se propone la hipótesis y se comprueba por medios experimentales para así, llegar a conclusiones particulares. El objeto del trabajo fue realizar mediciones de AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa) en caballos criollos colombianos y observar y analizar los valores obtenidos en los resultados.

8.2. Tipo de estudio

Es un estudio analítico de tipo experimental, realizado a 30 caballos criollos colombianos en pre pista y post competencia. Se realizaron 2 sangrados pre y post competencia obteniéndose 2 mediciones para AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa), teniendo así 120 datos y/o resultados.

8.3. Población

La investigación se realizó en la ciudad de Pereira vereda Cerritos, en el marco de la Feria exposición equina grado A, la cual contaba con la participación 200 caballos criollos colombianos de los cuales 30 fueron los utilizados para el estudio.

8.4. Diseño muestral

Se extrajeron un total de 60 muestras de las cuales, 30 fueron obtenidas en pre-pista donde los caballos en pocos minutos entraban a competencia, el resto de las muestras se obtuvieron 30 minutos después de que cada ejemplar haya finalizado su respectiva competencia, las tomas se realizaban según las facilidades que otorgaba el montador.

8.5. Descripción de las variables

La creatin quinasa (CK) y aspartato aminotransferasa (AST) son enzimas provenientes de la degradación muscular durante el esfuerzo físico de los caballos.

Son enzimas que directamente no nos indican la causa de la alteración muscular sino que son una alarma que atender cuando están por encima de sus valores normales. Son herramientas diagnósticas de gran valor en patologías relacionadas al ejercicio.

Se espera encontrar en los resultados que los niveles de estas enzimas estén en su nivel basal cuando fueron tomadas en reposo (valor de referencia 113-333U/L para CK) y (valor de referencia 226-366 U/L para AST) y que de igual manera los valores obtenidos post competencia estén por encima o igual al nivel basal.

Valores mayores a 4 veces su nivel basal se considere junto con otros análisis y evaluaciones clínicas, un desgaste muscular severo que lleve al animal a padecer patologías musculares.

8.6. Técnicas de recolección de información

La realización del muestreo se realizó gracias a la colaboración de los propietarios y montadores, al permitir que la egresada de Medicina Veterinaria y Zootecnia del CES, Carolina Velásquez Beltrán, realizará el sangrado de los ejemplares, así como también, a la asociación encargada de realizar la exposición equina.

La muestra estuvo constituida por 30 caballos, cantidad de ejemplares facilitados por los propietarios, equivalen a un 15% de la población total de la exposición.

8.7. Muestras de sangre:

De cada caballo se extrajeron 3 ml de sangre por punción directa de la vena yugular con vacutainer y tubo tapa amarilla. Después de cada sangrado las muestras se dejaron reposar aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente para facilitar la coagulación y obtener así suero sanguíneo y determinar las concentraciones de AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa) respectivamente. Luego se almacenaron en una nevera con hielo hasta el arribo al laboratorio.

Las concentraciones de enzimas musculares AST (aspartato aminotransferasa) y CK (creatin quinasa) se determinaron con los métodos cinéticos y colorimétricos⁽⁵¹⁾, y las lecturas se realizaron a una absorbancia de 340nm en un fotómetro a una temperatura de 37°C. Empleando reactivos comerciales (Bio systems®), la actividad enzimática se expresó en U/L, y los valores de referencia para este estudio se tomaron a partir de información obtenida por el laboratorio de la universidad Ces, Medellín (Colombia).

8.8. Control de errores y sesgos

Las medidas para este control fueron:

- La realización de las tomas de sangre contó con la asepsia debida de acuerdo con el lugar y el ambiente que se manejaba.

- Se utilizaron guantes estériles, aguja para cada ejemplar, asepsia debida en el sitio de la venopunción.
- La toma las realizó una sola persona.
- Los tubos fueron marcados previamente.
- Se contó con una nevera para la refrigeración de las muestras.
- Una vez finalizado el muestreo se enviaron al laboratorio por el medio más efectivo disponible.

8.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Los análisis se expresaron como promedios $\pm$ desviación estándar, y las diferencias entre las medias se compararon mediante un análisis de varianza (ANAVA), y un contraste de rangos mediante el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD), con un nivel de significancia de $P < 0,05$ y una confiabilidad del 95%. Además se le realizó el test de Kruskal-Wallis para probar hipótesis nula de igualdad de las medianas.

9. CONSIDERACIONES ETICAS

La investigación se realizó teniendo en cuenta todos los aspectos contemplados en la resolución 008430 del 4 de octubre de 1993 por lo cual establece las normas científicas técnicos y administrativos para la investigación de la salud.

La realización de la prueba de campo no implico ningún riesgo de salud para los animales del estudio, los propietarios y montadores fueron informados acerca del procedimiento a realizar, así como también, la temática del proyecto que se llevaba a cabo y los resultados de sus respectivos caballos, facilitando así la realización del estudio.

10. RESULTADOS

Los datos que se muestran a continuación fueron obtenidos en el muestreo realizado en pre-pista 5 minutos antes de la competencia y media hora después de la misma a 30 equinos criollos colombianos, animales aparentemente sanos, con edades comprendidas entre los 33 meses y mayores de 72 meses, 11 machos y 19 hembras, provenientes de diferentes zonas geográficas de Colombia, inscritos en las diferentes categorías de las competencias de paso fino colombiano.

En la siguiente tabla, se presentan cada uno de los valores obtenidos para CK y AST en pre competencia y post competencia de los 30 caballos criollos colombianos escogidos al azar para la investigación. Los valores son expresados en U/L.

Tabla 3. Valores de enzimas musculares CK y AST en caballos criollos colombianos pre competencia y post competencia

V.R. (CK) 113 - 333 U/L⁽⁵³⁾ V.R. (AST) 226 - 366 U/L⁽⁵³⁾

PACIENTE	CK en U/L Pre competencia	CK en U/L Post-competencia	AST en U/L Pre-competencia	AST en U/L Post-competencia
1	449	1060	612	800
2	348	399	379	411
3	329	320	466	482
4	481	295	296	269
5	168	168	307	320
6	335	340	370	373
7	449	298	372	368
8	632	722	429	441
9	438	465	381	384
10	331	374	314	374
11	200	208	294	329
12	677	751	349	365
13	359	452	392	442
14	348	400	314	380
15	251	369	407	426
16	234	339	384	425
17	274	320	404	428
18	233	276	370	373
19	345	282	390	358
20	346	591	375	368
21	205	248	360	304
22	260	328	277	309
23	278	345	298	327
24	267	311	207	254
25	426	331	325	281
26	346	464	357	379
27	455	561	298	309
28	430	355	385	413
29	617	627	355	356
30	307	308	330	388

En la siguiente tabla se presentan los valores de promedio y desviación estándar de CK y AST previo y posterior a la competencia en los caballos criollos colombianos:

Tabla 4. Promedio y desviación estándar de actividad plasmática de enzimas CK y AST

	CK Pre competencia	CK Post-competencia	AST Pre- competencia	AST Post- competencia
Promedio	360,6	410,2	359,9	381,2
Desviación estándar	126,5	185,8	70,4	96,03

- La media para CK (creatin quinasa) en cada uno de los tiempos del muestreo, fue en pre competencia 360,6 U/L y en post competencia 410,2 U/L.
- El análisis de varianza para la media CK (creatin quinasa) en los dos tiempos de muestreo pre y post competencia, no presento diferencia estadísticamente significativa entre las CK medias ($P > 0.05$).
- En el Contraste de Kruskal-Wallis para CK según Muestra, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medianas a un nivel de confianza del 95,0%, puesto que el p-valor (0,411) es superior o igual a 0,05.
- La media para AST (aspartato aminotransferasa) en cada uno de los tiempos del muestreo, fue en pre competencia 359,9 U/L y en post competencia 381,2 U/L.
- El análisis de varianza para la media AST (aspartato aminotransferasa) en cada uno de los tiempos del muestreo pre y post competencia, no presento diferencia estadísticamente significativa entre las AST medias ($P > 0.05$).
- En el Contraste de Kruskal-Wallis para AST según Muestra, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medianas a un nivel de confianza del 95,0%, puesto que el p-valor (0,351) es superior o igual a 0,05.

11. DISCUSION

La actividad sérica promedio para la enzima CK (creatin quinasa) se encontró sobre el rango de referencia descrito por Meyer, Harvey; El laboratorio en Medicina Veterinaria Interpretación y Diagnostico. Argentina, Inter-médica; 2000, (113-333 U/L), como valor de referencia, independiente de la edad y el sexo dentro de la especie.

De acuerdo a Islas (1992), los incrementos en la actividad sérica de CK (creatin quinasa) se deberían a cambios en la permeabilidad celular, y no a un daño muscular, como se explica en este estudio, en donde los incrementos de CK (creatin quinasa) no son indicativos de daño muscular o patologías relacionadas a las fibras musculares de los caballos criollos colombianos en pre y post competencia, con excepción a un equino que presento valores para CK (creatin quinasa) pre competencia de 449 U/L y valores en post competencia de 1.060 U/L, donde si se puede decir con precisión que el ejemplar presento signos clínicos compatibles de lesión muscular severa, de acuerdo a Cardinet (1989) ya que al entrar a competencia presento una claudicación 3/5 por lo que el ejemplar fue retirado de competencia después de 15 minutos de iniciada la misma, estos resultados en particular nos pueden indicar que el daño muscular está activo o ha ocurrido recientemente.

La actividad sérica de CK, además de indicar la severidad del ejercicio, señala el grado de adaptación a éste (Rose 1986), y que en este estudio el 56% de los animales presentaron valores por sobre los rangos de referencia, se interpreta, que estos caballos criollos colombianos no lograron adecuarse completamente al ejercicio efectuado durante la competencia mas que tener una lesión muscular, con excepción al ejemplar ya mencionado.

Las tasas plasmáticas de CK (creatin quinasa) son muy sensibles al daño muscular, así que un daño muscular débil (transporte optimo, ejercicio físico moderado, inyección intramuscular, poco entrenamiento) es suficiente para producir un alza en la concentración plasmática de esta enzima, con una disminución rápida una vez finalizada la alteración muscular (antes de 72 horas) de acuerdo a Cardinet (1989) Hodnadel (1992) y Diaz (2004), como se puede notar en este estudio, los incrementos leves de CK (creatin quinasa) por sobre los valores de referencia se podrían atribuir a factores nombrados anteriormente y no a una severidad en el ejercicio que lleve a el caballo criollo colombiano a una patología muscular.

La adaptación al ejercicio puede ser medida de acuerdo al daño muscular que sufren los caballos criollos colombianos al realizar el ejercicio, de manera que los valores enzimáticos alcanzados por AST (aspartato aminotransferasa) en el estudio, reportan un 56% por sobre el valor de referencia establecidos para la especie (226 – 366 U/L) Meyer,

Harvey, 2000. Con excepción a un equino que presento una elevación considerable en los valores pre y post competencia (pre 612 U/L y post 800U/L), debido a la claudicación que presentaba al inicio de la competencia, de manera que se deduce que el ejemplar tenia algún tipo de patología músculo esquelética.

Estos valores obtenidos se podrían atribuir a la hemoconcentración causada por la disminución del volumen plasmático, o bien a la liberación de esta enzima desde otros tejidos a la circulación, debido a su carencia de especificidad de órgano, de acuerdo a Reed SM, Bayly WM (2000), por lo que su aumento en la actividad plasmática en los caballos criollos colombianos no nos sirve como ayuda diagnóstica en patologías músculo esqueléticas, siendo obligados a recurrir a otras enzimas musculares como la CK (creatin quinasa) para el análisis de cada caso, como en estudios reportados por Deldar (1982) y Rose RJ (1986).

El análisis conjunto de CK (creatin quinasa) y AST (aspartato aminotransferasa) permite precisar si existe y conocer el período en el que se encuentra la lesión muscular, ya que a diferencia de la AST, la CK es una enzima específica del tejido muscular y encefálico y se incrementa antes y por menos tiempo Stockham, (1995).

Sin embargo, el incremento moderado de CK (creatin quinasa) y AST (aspartato aminotransferasa) observado en los caballos criollos colombianos del presente estudio, no permite diferenciar si son de carácter fisiológico o fisiopatológico y, probablemente, están asociados a la falta de entrenamiento o aptitud física de los caballos criollos colombianos que participaron en el muestreo. Según Harris (1998), para que la actividad plasmática o sérica de enzimas musculares tenga una significancia patológica deben presentar un nivel de actividad mucho mayor que el esperado para la naturaleza del ejercicio y el nivel de aptitud física del caballo.

Dato muy importante atribuible a los caballos criollos colombianos de competencia, ya que el tiempo durante la misma no es significativa como para causar una patología muscular, con excepción de que el ejemplar entre a la competencia con algún tipo de claudicación en sus miembros que si altere el comportamiento sérico de dichas enzimas.

Se ha demostrado que la adaptación que ocurre con el entrenamiento produce una menor liberación de enzimas musculares producto de la reducción de la permeabilidad de la membrana de la célula muscular, R, Perez M.V (1997), Snow DH (1982) Islas (1992). De manera que el análisis de CK (creatin quinasa), AST (aspartato aminotransferasa) son de valiosa importancia diagnóstica para evaluar los programas de entrenamiento de los

caballos criollos colombianos dentro de los criaderos y las patologías músculo esqueléticas que se presenten con los equinos dentro de los mismos.

Queda de manifiesto que el daño muscular disminuye conforme avanza el entrenamiento, ya que cuando el aumento en la actividad sérica de ambas enzimas está asociado a daño tisular o necrosis celular, se puede alcanzar niveles séricos hasta 100 veces mayores que lo normal, de acuerdo a Michaux, JM (1987) y Stockham, (1995).

El aumento de los valores de la actividad de enzimas musculares es una respuesta común observada en el caballo, cualquiera sea el ejercicio al cual es sometido., incrementos significativos han sido observados posterior a carreras de resistencia (Lucke y Hall, 1978; Rose, 1986), competencias de polo (Craig y col., 1985) y de salto (Lekeux 1991). De igual forma datos similares han sido observados también en caballos de tiro sometidos a ejercicios de tracción de diferente intensidad y duración (Pérez 1992, 1996).

No se puede descartar completamente la posibilidad de que los valores de CK (creatin quinasa) y AST (aspartato aminotransferasa) para ciertos caballos criollos colombianos fueron mayores con relación a otros valores obtenidos, siendo posible asociar este aumento de la actividad de las enzimas a daño celular como consecuencia de un mayor esfuerzo muscular, pudiéndose explicar el aumento en la actividad de AST, la que por tratarse de una enzima mitocondrial y citosólica su presencia en el plasma es más tardía que CK, (Kaneko, 1989).

Seria importante el análisis en otras investigaciones, sobre la condición física y el desgaste que tienen los caballos criollos colombianos dentro de la competencia y durante el entrenamiento, para así tener una base mas sólida del grado de desgaste muscular que poseen estos equinos y así estandarizar valores séricos de referencia exactos para CK (creatin quinasa) y AST (aspartato aminotransferasa) con un mayor numero de muestras y conocer en realidad el efecto del ejercicio en las modificaciones que puedan sufrir los componentes sanguíneos estudiados.

12. CONCLUSIONES

- No existe una diferencia significativa entre los valores tomados en pre competencia (pre pista) y post competencia de las enzimas musculares CK (creatin quinasa) y AST (Aspartato aminotransferasa) en los caballos criollos colombianos.
- Los caballos criollos colombianos de pista, no sufren desgaste muscular determinado dentro de las competencias, independientemente del conocimiento en lo que se refiere al manejo, alimentación, nivel de entrenamiento y lugar de proveniencia, como para producir, un daño en el tejido muscular, reflejado en la actividad plasmática y en la cantidad liberada a la circulación de enzimas degradadoras del músculo expresadas en U/L.
- La medición de enzimas musculares CK (creatin quinasa) y AST (Aspartato aminotransferasa) es una de las herramientas diagnosticas valiosas para la evaluación del músculo en ejercicio y esfuerzo físico del caballo criollo colombiano
- Es importante para los Médicos Veterinarios tener conocimiento acerca de los valores enzimáticos de CK (creatin quinasa) y AST (Aspartato aminotransferasa) ésta información es una ayuda en la elaboración y evaluación de los programas de entrenamiento.

BIBLIOGRAFIA

1. J. Trigo Tabera, Francisco, MVZ. PATOLOGIA SISTEMICA VETERINARIA, México 2001.
2. Thomson's. ESPECIAL PATHOLOGY/[edited by] McDonald, Mc Gavin, William W. Carlton, James F. Zachary. 3^{ed} 2001.
3. Frundson R.D, spurge T.L.ANATOMIA Y FISIOLOGIA DE LOS ANIMALES DOMESTICOS 5^{ta} ed. Editorial Mc. Graw hill, interamericana 1995
4. A. Garcia Sacristan. FISIOLOGIA VETERINARIA 1ra ed. Mc. Graw Hill, interamericana 1995.
5. Leisie P. Gartner, James, Hiatt. HISTOLOGIA 1^{ra} ed. Mc. Graw Hill, interamericana 1997.
6. R. Perez, M.V., M. Sc.; C. Brevis, M.V.; M. Garcia, M.V.; V. Merino, B.Q., M. Sc. S. Valenzuela, B.Q.; R. Guzman, M.V.; A. Islas, M.V., M. Sc.; I. Cabezas, M.V. J C, Gonzales. Lic, cs vet. ACTIVIDAD FISICA Y CAMBIOS CARDIOVASCULARES Y BIOQUIMICOS DEL CABALLO CHILENO A LA COMPETENCIA DE RODEO,1997. *Arch. Med. Vet.* 29:221-234.
7. Htlm: <http://www.monografias.com>
8. Harris PA, Marlin DJ, Gray J. Plasma aspartate aminotransferase and creatin kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. *Vet J* 1998.
9. MARTINEZ, R. 1989 Bases fisiológicas para el manejo hípico del equino F.S.C., *Monografías Med. Vet...* 11:20-41.
10. DELDAR, A., F.G. FREGIN, J.C. BLOOM, Z. DAVANIPOUR, 1982. Changes in selected biochemical constituents of blood collected from horses participating in a 50 mile endurance ride, *Am. J. Vet. Res.* 43: 2239-2243.
11. ROSE, R. J. Endurance exercise in the horse- a review. Part I-II. *Brit: Vet. J.* 142: 532-552. 1986.
12. LEKEUX, P. T. ART A LINGEN, D. DESMECHT, H. AMORY, 1991. Heart rate, haematological and serum biogenical responses to show jumping equine exercise physiology.
13. LUKE, JN GM-HALL, 1978. Biochemical changes in horses during a 50 mile

endurance ride.

14. PEREZ, R.S, RECABARREN, P. VALDES, E, HETZ, 1992. Biochemical and physiological parameters and estimated work output in drought horses pulling loads for long periods.
15. MILNE, D.W. 1982. Biochemical parameters for assesment of conditioning in the horse, *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.* 28: 49-53.
16. SNOW, D.H., M.G., KERR, M.A., NIMMO, E.M., ABBOTT. 1982. Alterations in blood is weat, urine and muscle composition with training.
17. KANEKO, J. J. Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed. Harvey & Bruss (Edit.) 1997.
18. Harris PA, Marlin DJ, Gray J. Plasma aspartate aminotrasferase and creatin kinase activities in thorough bred race horse. *Vet J* 1991.
19. De Luca, Leonardo. J. Fisiología del ejercicio, htm Disponible en <http://www.produccion animal.com.ar/>
20. ENGENHARDT, W. v. 1977. Cardiovascular Effects of Exercise and Training in Horses, *Adv. Vet. Sci. & Comp. Med.* 21: 173-205.
21. A. ISLAS; J. L. LOPEZ-RIVERO; M. QUEZADA; G. MORA; V. MERINO; M. BRIONES; P. PEREZ; G. AGUIRRE; L. MARIN. Características histoquímicas y bioquímicas de las fibras del músculo *Gluteus medius* en equinos de tiro descendientes del Plan de Fomento Equino, *Arch. med. vet.*, 1997
22. GALITZER, S., F. OEHME. 1985. Creatine kinase isoenzymes in bovine tissue, *Am. J. Vet. Res.* 46: 1427-1429.
23. ESSEN-GUSTAVSSON, B., A. LINDHOLM. 1985. Muscle fiber characteristics of active and inactive Standard bred horses, *Equine Vet. J.* 17: 434-438.
24. ALP, P., E. NEWSHOLME , V. ZAMMIT. 1976. Activities of citrate synthase and NAD-linked and NADP-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates, *Biochem. J.* 154 : 689-700.
25. LOPEZ-RIVERO, J.L., A.M. DIZ, J.G. MONTERDE, E. AGÜERA. 1993. Intramuscular distribution of fibre types in the gluteus medius of the horse: A histochemical analysis, *Anat. Histol. Embryol.* 22: 233-240.
26. R. PEREZ, M.V., M. Sc.; C. BREVIS, M.V.; M. GARCIA, M.V.; V. MERINO, B. Q., M. Sc.; S. VALENZUELA, B. Q.; R. GUZMAN, M.V.; A. ISLAS, M.V., M. Sc.; I. CABEZAS, M.V. Composición fibrilar y densidad capilar del músculo *Gluteus medius* del caballo criollo chileno en reposo. *Arch. med. vet.*, 1997.
27. KLINE, K.H., P.J. BECHTEL. 1990. Changes in the metabolic profile of the equine

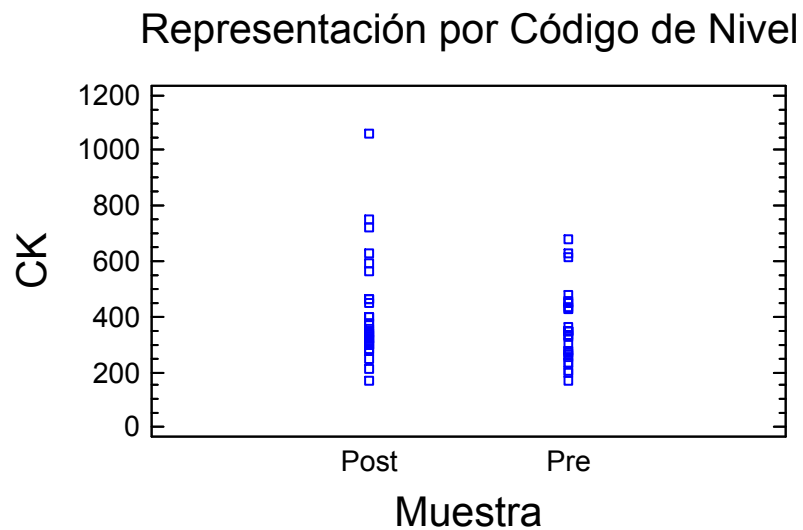
muscle from birth through 1 yr of age, *J. Appl. Physiol.* 68: 1299-1304.

28. SERRANO, A. L., J. L. L. RIVERO, P. HENCKEL. 1996. Distribución de los tipos de fibras, tamaño fibrilar y actividades enzimáticas del músculo *Gluteus medius* de caballos con distinto historial en carreras de resistencia. En: Características musculares y análisis de la locomoción del caballo. Adaptaciones con el entrenamiento y correlación con el rendimiento deportivo. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba, España, pp. 49-70.
29. LOPEZ-RIVERO, J. L. 1995. Efecto del entrenamiento sobre el músculo esquelético del equino, *Agro-Ciencia* 11 : 71-85.
30. HODGSON, D.R. , R.J. ROSE. 1987. Effects of a nine-month endurance training programme on muscle composition in the horse, *Vet. Rec.* 121 : 271-274.
31. A. ISLAS, M.V M.S. Características metabólicas del músculo *Gluteus medius* de equinos mestizos con aptitud de tiro. *Arch. med. vet.*, 1997
32. Lehninger Albert L. Principios de Bioquímica. Ed. Omega, S.A./Barcelona, 1991. Cap9 Enzimas. p209-216
33. Hodnadel C David. Clinical enzymology. Tilton C Richard, Balow Albert, Hodnadel C David, Reis F Robert. Clinical Laboratory Medicine. Copyright 1992 by Mosby-Year Book, Inc. USA. P190-207.
34. DIAZ. HERNANDEZ. BARBARA. Lic, LOPEZ. GONZALES. MARYLIN. Lic, BLANCO. BALBEITO. NUBIA. MSc.2004 Elementos de la actividad enzimática. Html Disponible en: <http://www.monografias.com>
35. SMITH, PB. Large animal internal medicine. Saint Louis mosby in 2002. Pag 460-461
36. EADES. S. Laboratory profiles of equine diseases. Saint Louis Mosby in 1997
37. MUTIS. BARRETO. CLAUDIA AIXA, PEREZ. JIMENEZ. TANIA ELENA. Determinación y análisis de valores de nitrógeno ureico en sangre, glucosa, CK y ácido láctico en una población de atletas equinos de salto en Bogotá D.C 2005. html Disponible en: <http://www.veterinaria.or/revistas/reduet/n020205>.
38. CONSTANZA GOMEZ, PATRICIO PETRON, MARCELA ANDAUR, RUBEN PEREZ, ROBERTO MATAMOROS. Medición post-ejercicio de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas en equinos de salto Holsteiner. Chile 2006.
39. RUDOLPH, W. Perfiles bioquímicos en animales domésticos. Monograf. Med. Vet. 7(2): 5-16. 1985.
40. MICHAUX, J. M.; RIUS, C.; ROCHE-FONDEUR, S. Particularites de la biochemie Equine (foie, rein, muscle), *Rec. Med. Vet.* 163: 1083-1089. 1987.

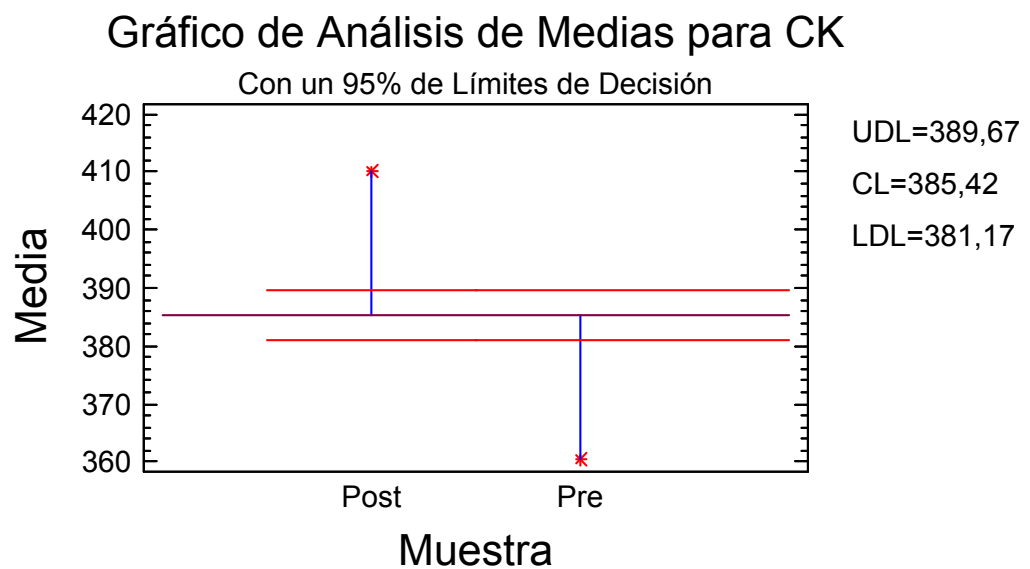
41. REED SM, BAYLY WM. Equine internal medicine. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000.
42. MAC LEAY JM, VALBERG SJ, PAGAN JD, XUE JL, DELA CORTE FD, ET AL. Effect of ration and exercise on plasma creatine kinase activity and lactate concentration in thoroughbred horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. Am J Vet Res 2000; 61:1390-1395.
43. STULL CL, RODIEK AV. Physiological responses of horse to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. J Anim Sci 2000; 78:1458-1466.
44. Beech J. Chronic exertional rhabdomyolysis. Vet Clin North Am: Eq Prac 1997; 13:145-168.
45. VALBERG, S. JÖNSSON, A. LINDHOLM, N. HOLMGREN. 1993. Muscle histopathology and plasma aspartate aminotransferase, creatine kinase and myoglobin changes with exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis, *Equine Vet. J.* 25 : 11-16.
46. Clinical and laboratory standards institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document wayne. PA: 2002
47. VOLFINGER L, LASSOUND V, MICHAUX M, BRAUND JP, TOUTAIN PL. Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of amount of creatine kinase released, 1994. Am J Physiol.
48. A. MUNOS, R. G. LUCAS, K. SATUE, M. BENITO. Miopatías en el caballo I. Rhabdomiolisis agudas y recurrentes. Med Vet 2002; vol.19 (3) 32-46.
49. STOCKHAM S, 1995. Interpretation of equine serum biochemical profile results "veterinary clinics of North America.
50. ISLAS, A, R. PEREZ, R. ROJAS, C. JORA, G. MORA, S. RECABA RRE, E. HEZTZ, 1992. Actividad sérica de creatina fosfoquinasa, aspartato aminotransferasa, deshidrogenasa láctica y fosfatasa alcalina en equinos mestizos de tiro sometidos a esfuerzo prolongado de tracción.
51. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes, 1989
52. WILLIAN MEDWAY D: VM phd, JAMES, E PRIER. JOHN, S, WILKINSON. Patología clínica veterinaria. editorial VTEHA, Mexico 1990.
53. MEYER, HARVEY; EL LABORATORIO EN MEDICINA VETERINARIA INTERPRETACIÓN Y DIAGNOSTICO. Argentina, Inter-médica; 2000

14. ANEXOS

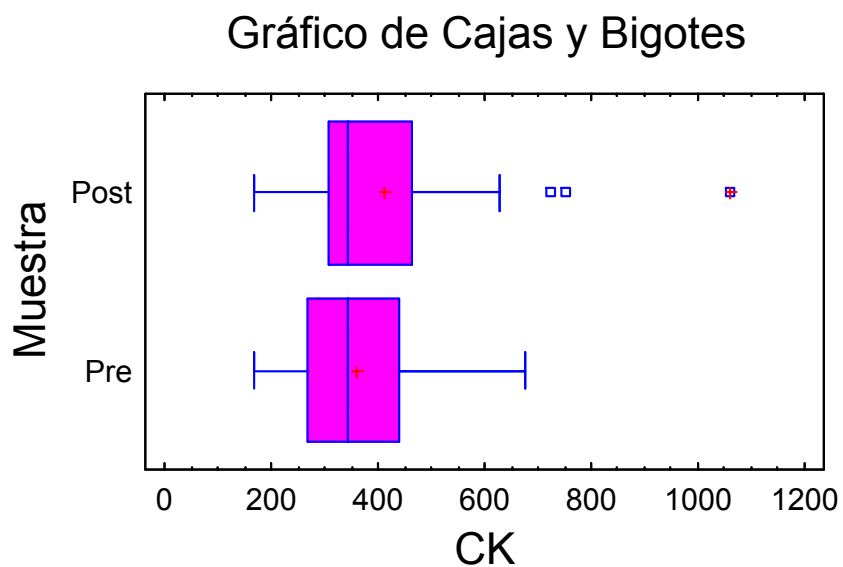
Anexo 1. Representación por código de nivel de CK (Creatin Quinasa)



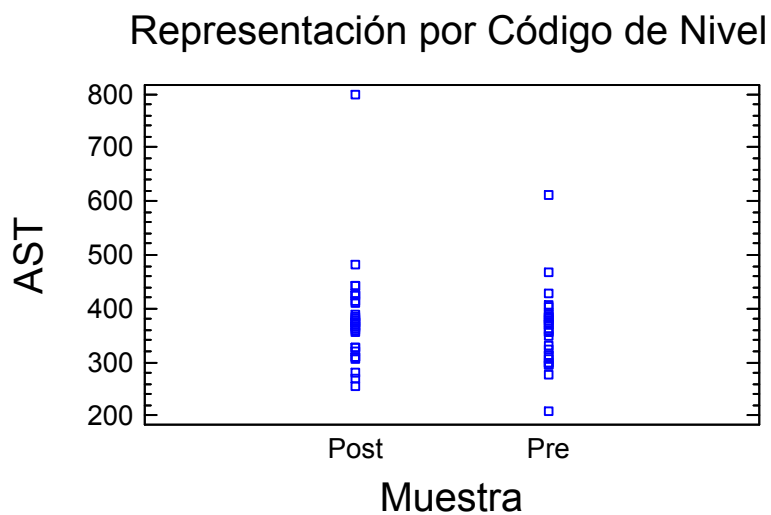
Anexo 2. Gráfico de análisis de medias para CK (Creatin Quinasa)



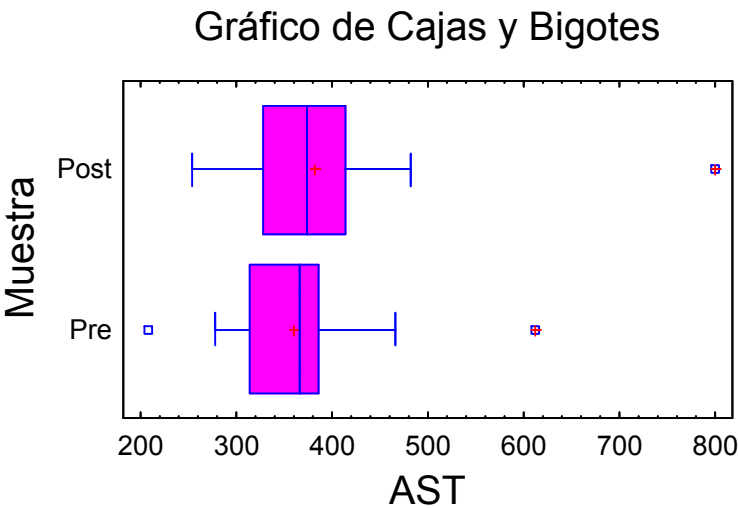
Anexo 3. Gráfico de cajas y bigotes de CK (Creatin Quinasa)



Anexo 4. Representación por código de nivel de AST (Aspartato Aminotransferasa)



Anexo 5. Grafico de cajas y bigotes de AST (Aspartato Aminotransferasa)



Anexo 6. Grafico de análisis de medias para AST (Aspartato Aminotransferasa)

