



Archivos de Medicina Veterinaria
ISSN: 0301-732X
archmv@uach.cl
Universidad Austral de Chile
Chile

ISLAS, A.; QUEZADA, M.; MORA, G.; LÓPEZ-RIVERO, J. L.; MERINO, V.; ROJAS, H.; CARRILLO, C.; ROJAS E, M.; ZEGPIG, A.

Caracterización de las fibras del músculo gluteus medius en equinos por métodos histoquímicos e inmunohistoquímicos

Archivos de Medicina Veterinaria, vol. 33, núm. 1, 2001, pp. 55-62

Universidad Austral de Chile

Valdivia, Chile

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=173013744006>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



Inicio Web Revistas

Web Biblioteca Contacto

Artículos Búsqueda artículos

Tabla de contenido Anterior Próximo Autor Materia Búsqueda Inicio Lista

Revistas Electrónicas UACH

Sistema de Bibliotecas UACH

Archivos de Medicina Veterinaria

ISSN 0301-732X versión impresa

Como citar este artículo

Agregar a favoritos

Enviar a e-mail

Imprimir HTML

Arch. med. vet. v.33 n.1 Valdivia 2001

Caracterización de las fibras del músculo *gluteus medius* en equinos por métodos histoquímicos e inmunohistoquímicos

Characterization of fibers from *gluteus medius* muscle in horses by histochemical and immunohistochemical methods

A. ISLAS¹, M.V, MS, M. QUEZADA¹, M. V, Dr. Met.Vet; G. MORA¹, MV, MS, J. L LÓPEZ-RIVERO³, M.V., Dr. Med. Vet., V. MERINO¹, BQ, MS; H. ROJAS¹, MV, C. CARRILLO¹; M. ROJAS E¹; A. ZEGPIG²

¹ Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Casilla 537, Chillán.

² Escuela de Equitación del Ejército de Chile, Quillota.

³ Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, España.

SUMMARY

Biopsies were taken at a depth of 4cm from the *Gluteus medius* muscle of 16 horses. The animals were 6 years old and had not been trained during 3 months before the study. The samples were analyzed by mATPase miofibrillar technique to determine the fibrillar composition by NADH-TR technique to determine the oxidative capacity of the fibres and immunohistochemistry to determine the fibre type. The histochemical study revealed an average fibrillar composition of 14, 39, 30 and 17 % for fibres typed I, IIA, IIX oxidative and IIX no oxidative and the immunohistochemistry study showed 16, 35, 29 y 20% for fibres type I, IIA, IIX and IIA-IIX.

The statistical analyses showed a good relationship between the histochemical and

Palabras claves: músculo, histoquímica, inmunohistoquímica, caballos

Key words: muscle, histochemistry, immunohistochemistry, horses.

INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre las características histoquímicas de los músculos esqueléticos de los equinos desarrollados en los últimos 25 años han establecido que estos son altamente complejos y que las propiedades contráctiles y metabólicas de ellos pueden determinar las cualidades funcionales y la capacidad de un individuo.

Tradicionalmente, la técnica histoquímica miosina adenina trifosfata miofibrilar (mATPasa) ha sido la metodología usada convencionalmente para la identificación de las fibras musculares ([López-Rivero y col., 1993](#)), determinándose fibras tipo I, IIA y IIB, según las propiedades contráctiles y metabólicas de ellas, clasificándose en fibras lentas, rápidas e intermedias. La capacidad metabólica de las fibras se evalúa con la tinción nicotin adenina dinucleótido tetrazolium reductasa (NADH-TR), que permite clasificar las fibras tipo IIB en oxidativa y no oxidativa, según la intensidad de la tinción ([Brooke y Kaiser 1970](#); [Valberg y col., 1988](#)).

Se ha demostrado que las propiedades contráctiles del músculo e intensidad de la tinción con mATPasa dependen de las cadenas pesadas de miosina de las fibras ([Bottinelli y col., 1994](#)) y que las técnicas histoquímicas no permiten identificar algunos tipos de fibras, en particular las híbridas que presentan coexpresión de las cadenas pesadas de miosina, ([Shina y col., 1992](#)) existiendo una alta diversificación de los porcentajes de los subtipos de las fibras rápidas en las regiones más superficiales del músculo *Gluteus medius* en equinos jóvenes ([López-Rivero y col., 1999](#)).

La molécula de miosina es el componente primario de los miofilamentos y es la principal proteína contráctil de la fibra muscular. Esta molécula está compuesta por dos cadenas pesadas de miosina (MHC, Myosine Heavy Chain) y cuatro cadenas livianas de miosina (MLC Myosine Light Chain), identificándose en el músculo esquelético de los mamíferos distintas isoformas ([Serrano y col., 1996](#)).

Las técnicas de electroforesis e inmuno-histoquímicas utilizando anticuerpos mono-clonales han permitido una identificación más específica de las MHC de las fibras musculares ([Pette y Staron 1990](#)). En estos estudios se ha demostrado que existen 4 formas de MHC en músculos de algunos mamíferos (I, IIA, IIX/IID y IIB), ([Bärr y Pette, 1988](#)), y fibras tipo I, IIA y IIX en músculos humanos ([Smerdu y col., 1994](#)), fibras puras tipo I, IIA y IIX y fibras mixtas (I+IIA y IIA+IIX) en equinos ([Linnane y col., 1999](#)), lo que indicaría que esta técnica permite una clasificación más objetiva de las fibras al compararla con la técnica histoquímica. Con la técnica inmuno-histoquímica las fibras denominadas IIX y IIA+IIX corresponden a las fibras clasificadas como IIB oxidativas y IIB no oxidativas utilizando la técnica mATPasa,

Este estudio tiene como objetivo comparar las técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas en la clasificación de la composición fibrilar del músculo *Gluteus medius* en caballos adultos

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio se emplearon 16 equinos seleccionados para participar en prueba de competencia completa, 8 fina sangre de carrera y 8 mestizos fina sangre Selp francés (50% y 50%) con una edad promedio de 6 años, pertenecientes a la Escuela de Equitación de la Escuela de Caballería Blindada de Quillota. Los animales, durante los últimos tres meses, previo a la obtención de la muestra, no habían realizado entrenamiento para competencia de prueba completa y se mantenían en pesebreras y en un patio de ejercicio.

Biopsias musculares. De cada caballo se obtuvo 1 biopsia muscular a 4 cm de profundidad. Las biopsias fueron tomadas con una aguja percutánea de 6 mm de diámetro interno ([Henckel, 1983](#)), de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente por [Islas y col. \(1997\)](#).

Una vez obtenidas las muestras fueron colocadas sobre placas de poliestireno, bañadas en OCT para

Las biopsias fueron almacenadas en un termo de nitrógeno a una temperatura de -196°C hasta su posterior procesamiento. Para disminuir la alteración que sufre el tamaño fibrilar debido a la contracción que experimentan las muestras obtenidas con aguja de biopsia, se dejaron transcurrir 2 a 3 minutos desde la obtención hasta su congelación ([López-Rivero y col., 1993](#)).

Métodos histoquímicos. De cada muestra se obtuvieron cortes seriados en un criostato (Microm HM 500) a -20°C, de 10 mm de grosor que fueron incubados para demostrar la actividad mATPasa (E:C:3.6.1.3.) a pH 4,38. La capacidad oxidativa de las fibras se evaluó en cortes seriados teñidos mediante NADH-TR (E.C. 1.6.99.3) ([Dubowitz, 1985](#)).

Según los patrones de tinción de mATPasa las fibras fueron clasificadas como tipo I (contracción lenta) o tipo IIA y tipo IIB (contracción rápida) ([Brooke y Kaiser, 1970](#)). Las fibras tipo IIB de acuerdo a la intensidad de la tinción con NADH-TR se clasificaron en oxidativas y no oxidativas.

Composición fibrilar. Se determinó la proporción de cada tipo de fibra muscular del tejido obtenido de la biopsia. Un área representativa de cada biopsia conteniendo al menos 200 fibras fue examinada sistemáticamente en las microfotografías en blanco y negro (x100) de los cortes teñidos con mATPasa.

Para obtener los porcentajes se examinó un área representativa de cada biopsia y se determinaron las frecuencias relativas de las fibras tipos I, IIA y IIB. Los tipos IIB oxidativas y IIB no oxidativas fueron calculadas sobre las microfotografías en blanco y negro (X100) en los cortes teñidos con NADH-TR mediante el cómputo de 200 fibras /biopsia.

Inmunohistoquímica. Cortes de 10 mm fueron colocados en portaobjetos con L-lisina y rehidratados con PBS por 10 minutos. Posteriormente, se lavaron con PBS por 10 minutos y se dejaron con solución de bloqueo (suero normal de cabra al 10% en PBS (Vector S1000) durante 30 minutos en una cámara húmeda a temperatura ambiente (20 - 25°C). Se sacaron los cubreobjetos y se les aplicó la solución de bloqueo y luego los anticuerpos monoclonales que reaccionan con las isoformas de la MHC Slow, SIGMA M8421), Fast, (SIGMA M8276), 35 y H2 durante 2 horas en diluciones 1:200, 1:500, 1:2000 y 1:200; respectivamente. Se lavaron los portaobjetos con PBS durante 10 minutos 3 veces y se aplicó el segundo anticuerpo (Anti-inmunoglobulina G de ratón biotinilada en cabras) en dilución de PBS 1/200 por 60 minutos a temperatura ambiente. Se lavó con PBS durante 5 minutos 3 veces y se aplicó el complejo ABC (DAKO) por 1 hora a temperatura ambiente en cámara oscura. Se lavó con PBS durante 5 minutos 2 veces, se agregó la solución de diaminobencidina por 2 a 3 minutos (DAB, SIGMA D5637) y se reveló con peróxido de hidrógeno (MERCK 24/1865/410). Posteriormente, se lavaron las muestras con PBS por 5 minutos, se deshidrataron con etanol al 100% por 5 minutos dos veces y con xilol al 100% por 5 minutos. Las preparaciones selladas con entellan se guardaron en lugar oscuro hasta la obtención de las fotografías, determinándose el porcentaje de fibras positivas y negativas para cada anticuerpo en 200 fibras por biopsia en fotografía a color.

Análisis estadístico. Los resultados se expresaron en porcentaje y se aplicaron pruebas estadísticas convencionales para obtener la media y desviación estándar de cada variable. Las diferencias entre las medias fueron valoradas por medio de una prueba "t" de Student, correlación y la prueba de concordancia estimada por la diferencia de las medias y la desviación estandar de las diferencias ([Bland y Altman 1986](#)).

RESULTADOS

Todas las secciones transversales de las fibras teñidas con la técnica mATPasa, mostraron apariencia normal distribuidas en forma de mosaico, no observándose alteraciones patológicas. Basado en la reacción mATPasa posterior a la incubación a pH ácido (4,38) las fibras musculares se clasificaron en 3 categorías: I (Negras), IIA (Blancas), IIB (Intermedias) (las fibras IIB son clasificadas actualmente como IIX). Los subgrupos de las fibras IIX fueron determinados con la tinción NADH-TR ([fig. 3 E](#)) en fibras oxidativas y no oxidativas. No se determinó la presencia de fibras tipo IIC, las cuales tienen una moderada reacción con la mATPasa, situación que fue corroborada con la inmunohistoquímica, ya que estas fibras son análogas a las clasificadas como híbridas I + IIA. En el estudio se realizó un recuento promedio de 200 fibras para cada una de las biopsias para ambos métodos histoquímicos, siendo los porcentajes y desviaciones estándar obtenidos para la fibra tipo I 14 % \pm 3,2, IIA 39% \pm 3,7 IIX oxidativa 30% \pm 5,3 y 17% \pm 5,5 IIX para las fibras no oxidativas. ([fig.1](#)). Con la técnica inmunohistoquímica se observaron tres poblaciones de fibras que contienen MHC, fibras lentas tipo I (1) y fibras rápidas IIA (2) y IIX (3) y una población de fibras que contienen IIA + IIX (4) ([fig. 3A-D](#)),

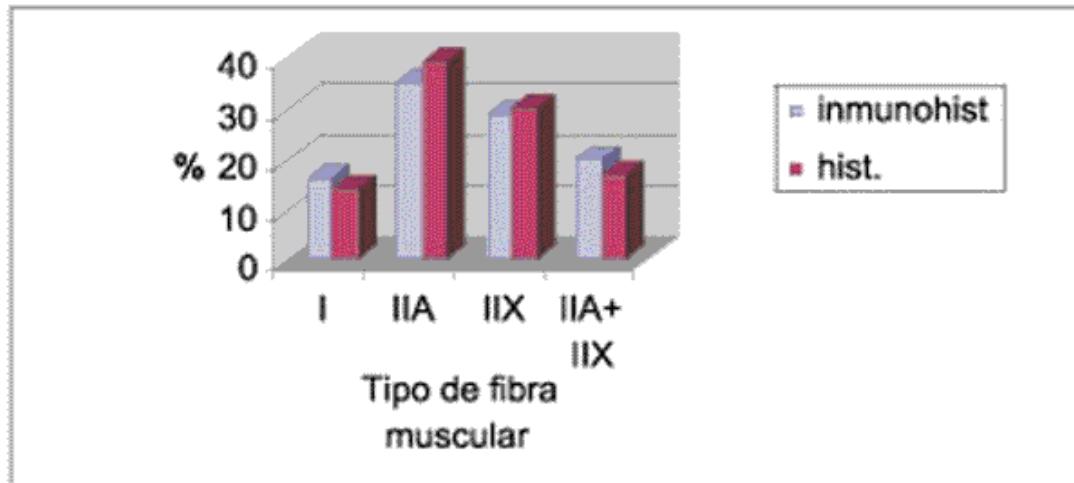


Figura 1. Composición histoquímica e inmunohistoquímica de las fibras musculares de acuerdo con el contenido de las cadenas pesadas de miosina (mhc) expresados como porcentaje (promedio y desviación estándar).

Histochemical and immunohistochemical composition of muscle fibre types according the mhc content showed as average and standard deviation.

La reactividad de las fibras a los anticuerpos monoclonales utilizados contra la cadena pesada de miosina y sus isoformas se presenta en la [figura 1](#), revelando el estudio inmunohistoquímico un promedio y desviación estándar de $16\% \pm 3,7$ para las fibras tipo I, un $35\% \pm 6,8$ tipo IIA, un $29\% \pm 8,1$ tipo IIX y un $20\% \pm 5,8$ IIA + IIX ([fig. 1](#)). El análisis de correlación determinó que existe correlación entre ambas técnicas solamente para las fibras tipo I ($p < 0,05$). Sin embargo, la prueba de t y la prueba de concordancia determinaron al comparar ambas técnicas que no existen diferencias significativas en los porcentajes de las fibras tipo I, IIA IIX y IIA +IIX ($p > 0,05$), obteniéndose entre ambas técnicas una concordancia de 94% (15/16), 100 (16/16), 94% (15/16) y 94% (15/16) respectivamente. En la [figura 2](#) se presentan los gráficos de las diferencias para las técnicas histoquímicas e inmuno-histoquímicas entre las fibras tipo I (A), tipo IIA (B), tipo IIX (C), y tipo IIA+IIXA (D).

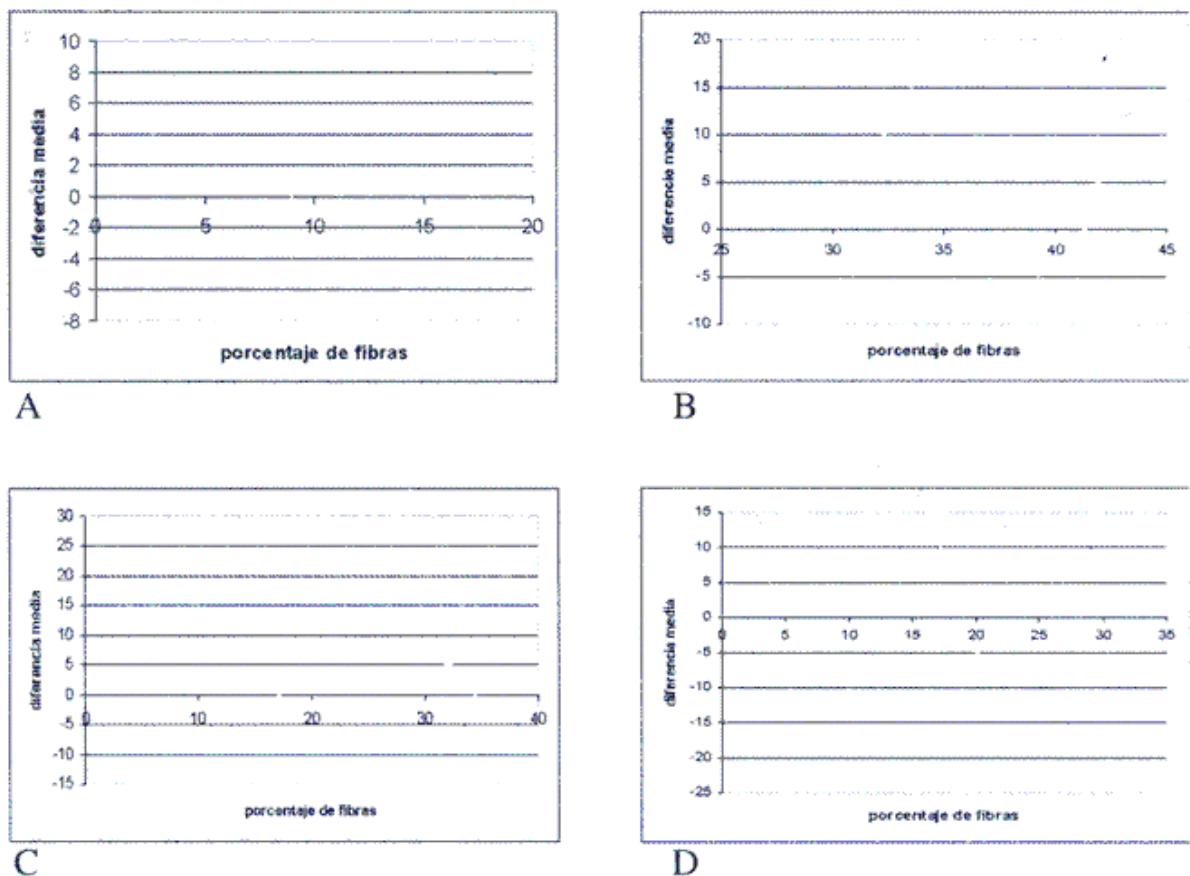


Figura 2. Valores de concordancia entre las técnicas histoquímica e inmunohistiquímica para las fibras tipo i

0000000(a), tipo iia (b), tipo iix (c) y tipo iia+iix (d). presentados como porcentajes de fibras y 0000000medias.

0000000Agreement values between histochemical and immunohistochemical thecnics for fiber type i (a), type iia (b), type

0000000x (c) and type iia+iix (.d). present as percentage of fibres and mean diference).

DISCUSIÓN

La mayoría de los músculos esqueléticos están compuestos por fibras con diferentes propiedades contráctiles y metabólicas y el uso de técnicas histoquímicas apropiadas ha permitido la caracterización de los distintos tipos de fibras. La tipificación de las fibras musculares se ha basado durante muchos años en la técnica mATPasa; sin embargo, este procedimiento tradicional, como lo han probado las técnicas electro-foréticas e inmunohistoquímicas, tiene algunas limitaciones

por el hecho que un número considerable de fibras tiene una composición de la miosina mixta y esta técnica no permite determinarlas en forma precisa ([Staron, 1991](#); [Andersen y col., 1994](#)).

La inmunohistoquímica utilizando anticuerpos mono-clonales permite una identificación más acertada de las diferentes isoformas de la MHC presentes en el músculo esquelético y sus resultados serían más confiables que los obtenidos por la histoquímica tradicional ([Linnane y col., 1999](#)). Por otra parte, si bien el método inmunohisto-químico es cualitativo, es altamente sensible, por lo que fibras con pequeñas o grandes cantidades de MHC pueden ser identificadas con esta técnica ([Pette y Staron, 1997](#)).

En este estudio se analizó un total de 3.200 fibras por las técnicas histoquímicas e inmuno-

tipo IIA, IIX y IIA+IIX entre ambas técnicas, resultados similares a los obtenidos por [Shina y col. \(1992\)](#) y [Serrano y col. \(1996\)](#) en trabajos realizados en esta especie. Las fibras clasificadas como tipo I y IIA por la técnica histoquímica estarían formadas por miosina lenta y rápida, Respectivamente, y son identificadas con los anticuerpos monoclonales respectivos utilizando la técnica inmunohistoquímica. Trabajos realizados en atletas humanos han demostrado la coexistencia de isoformas de MCH I y IIA en algunas fibras ([Klittgaard y col. 1990](#)) que con la técnica histoquímica se determinan como tipo AB, reafirmándose la utilidad de la determinación de la inmunohistoquímica cuando se trata de identificar fibras híbridas

La reactividad de las fibras a los anticuerpos monoclonales utilizados contra la cadena pesada de miosina y sus isoformas se presenta en el [Cuadro 1](#) y [fig.3](#). En este estudio, del total de fibras analizadas se demostró que no existen diferencias significativas en la clasificación de los diferentes tipos entre ambas técnicas.

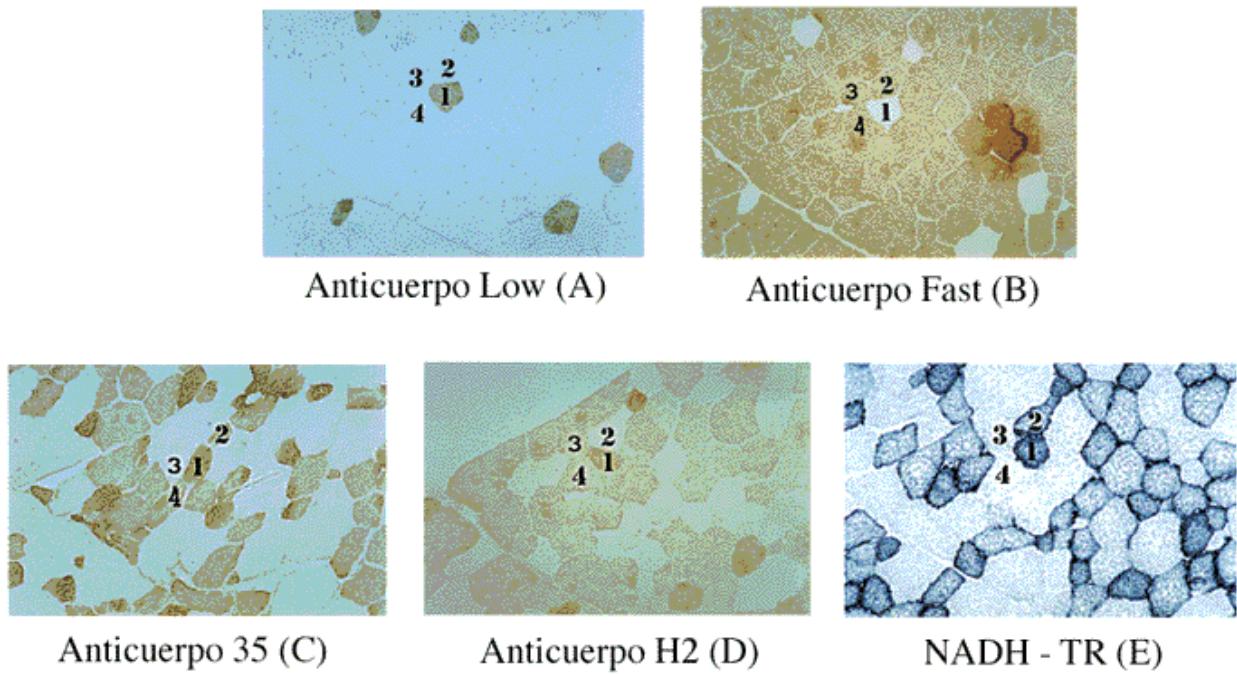


Figura 3. Cortes seriados de las biopsias del músculo Gluteus medius tomadas a 4 cm de profundidad.

A-D inmunohistoquímica anticuerpos low, fast 35 y H2; E Tinción con NADH-TR.

Las fibras marcadas 1, 2, 3 y 4 tienen anticuerpos MHC-1, MHC-2A; MHC 2X; MHC 2A+2X, respectivamente, cuando son identificadas por la inmunohistoquímica y se corresponden con las fibras tipo I, tipo IIA, tipo IIX ox; tipo IIX no ox.

Serial sections of Gluteus medius muscle biopsies at 4cm of depth.

A-D immunohistochemical antibodies low fast 35 and H2; E NADH-TR staining

The fibres labelled 1, 2, 3 and 4 have MHC-I, MHC-IIA; MHC-IIX; MHCIIA + IIX antibodies, respectively, and correspond with fibres type I, type IIA, type IIX oxidative and IIX non oxidative.

Cuadro 1. Especificidad de anticuerpos monoclonales para determinar isoformas de la cadena pesada de miosina mhc en fibras musculares de equino .

0000000000Specificity of monoclonal antibodies to determine isoform of the myosin heavy chain mhc in muscular

0000000000fibres of horses.

Tipos de fibra basados en MHC	ANTICUERPOS MONOCLONALES			
	Slow	Fast	IIB	IIX
I + IIA	+	+	+	+
IIA	+	+	+	+
IIA+IIX	+	+	+	-
IIX	+	+	-	+

La técnica NADH-TR permite clasificar las fibras en oxidativas y no oxidativas según la intensidad de la tinción en forma subjetiva, lo que induce a una determinación poco precisa de las fibras, a diferencia de la inmuno-histoquímica, en la cual la identificación de las fibras IIX y IIA + IIX se basa en la cuantificación de fibras inmunoneñidas o no, frente a los anticuerpos monoclonales. Usando estos anticuerpos se puede determinar en forma objetiva las fibras tipo IIX y las IIA+IIX (denominadas fibras tipo IIB oxidativas y no oxidativas respectivamente según la reacción a las NADH-TR ([Linnane y col., 1999](#))). Así se logra una clasificación más exacta de ellas, esto se debe a que existen fibras que presentan fenotipos mixtos de la MHC, lo que se demuestra en una alta diversificación de los porcentajes de los subtipos de las fibras rápidas en las regiones más superficiales del músculo *Gluteus medius* en caballos jóvenes ([López-Rivero y col., 1996](#)), situación que no se observa en estos animales debido a que son adultos.

Este estudio confirma que existe una buena concordancia superior al 95% entre los métodos histoquímicos e inmunohistoquímicos de las fibras I, IIA, IIX y IIA+IIX, sin embargo, solo se obtuvo correlación entre ambas técnicas en la determinación de las fibras tipo I, situación que se presenta en algunas oportunidades y es por ello que la realización de la prueba de concordancia sería más adecuada para comparación de parámetros que la correlación en algunas situaciones ([Bland y Altman, 1986](#)). Las diferencias observadas en los resultados se deberían a la presencia, en una misma fibra, de dos isoformas de MHC ([Staron y Pette, 1986; Staron, 1991](#)). Por otra parte, trabajos realizados por [Siek y col. \(1995\)](#) y [Botinelli y col., \(1994\)](#) han demostrado que las fibras con cantidad homogénea de MHC tienen un gradiente respecto a su reactividad con la mATPasa. Por lo tanto, las isoformas de MHC y el contenido de ellas en la fibra pueden influir en la reacción histoquímica de la mATPasa y su posible limitación en la diferenciación objetiva de las fibras musculares por esta técnica.

La técnica inmunohistoquímica permite una clasificación más exacta de la población fibrilar del músculo *Gluteus medius* del equino, ya que se puede realizar la cuantificación de las fibras IIX y IIA + IIX que con la técnica mATPasa son clasificadas como IIX. Además, si en el futuro se cuenta con nuevos anticuerpos monoclonales se podría llegar a diferenciar isoformas de MHC del equino como ya se ha logrado en otros especies.

Los resultados obtenidos permiten concluir, que, si bien, existe concordancia entre ambas técnicas en los animales estudiados, la inmunohistiquimica permite una cuantificación más exacta de las fibras musculares, corrigiendo errores que se producen al utilizar la técnica histoquímica en la clasificación de fibras híbridas y tipo IIB. La determinación de una correcta composición fibrilar del músculos es importante cuando se desea seleccionar equinos para prepararlos para un deporte en particular.

RESUMEN

Se tomó una biopsia a cuatro centímetros de profundidad en el músculo *Gluteus medius* de 16 equinos. Los animales tenían una edad promedio de 6 años y durante 3 meses previo a la toma de la biopsia no habían realizado entrenamiento. Las muestras fueron analizadas por medio de la técnica mATPasa miofibrilar, NADH-TR e inmuno-histoquímica. Los porcentajes de fibras tipo I, IIA, IIB oxidativas y no oxidativas fueron de un 14, 39, 30 y 17%, respectivamente, para la técnica histoquímica y un 16, 35, 29 y 20% para las fibras tipo I, IIA, IIX y IIA+IIX para la técnica inmuno-histoquímica. El análisis estadístico demostró que no existen diferencias signifi-cativas entre ambas técnicas para la determinación de las fibras. Los resultados obtenidos permiten concluir que la inmunohistoquímica es una técnica que permite realizar una clasificación adecuada de la población fibrilar del músculo *Gluteus medius* en equinos adultos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración brindada por la Escuela de Equitación del Regimiento de Caballería Blindada de Quillota.

BIBLIOGRAFÍA

- Andersen, J. L, H. Klitgaard, B. Saltin. 1994. Myosin heavy chain isoforms in single fibres from *m. vastus lateralis* of sprinters: influence of training. *Acta Physiologica Scandinavica* 151: 135-142.
- Bär , A., D. Pette. 1988. Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 235: 153-155.
- Bland, J. M., D. G. Altman. 1986. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The Lancet*, N ° 2: 307-310 .
- Bottinelli R, M. Canepari, C. Reggiani, G. J. M. Stienen. 1994. Myofibrillar ATPase activity during isometric contraction and isomyosin composition in rat single skinned muscle fibres. *J. Physiol. London* 481: 663-675.
- Brooke, M. H., K. K. Kaiser. 1970. Three "myosin adenosine triphosphatase" systems: the nature of their pH lability and sulphhydryl dependence. *J. Histochem. Cytochem:* 18: 670-672.
- Dubowitz, V., 1985. Muscle biopsy: A practical approach. 2nd. Ed., Baillière Tindall, London.
- Henckel, P., 1983. Training and growth induced changes in the middle gluteal muscle of young Standardbred trotters. *Equine Vet. J.* 15: 134-140.
- Klitgaard, H., O. Bergman, R. Betto, G. Salvatini, S. Schiaffino, T. Clausen, B Saltin. 1990. Coexistence of miosine heavy chain I and IIa isoforms in human and skeletal muscle fibres with endurance training. *Pflugers Arch.* 416: 470-472.
- Islas, A., J. López-Rivero, M. Quezada, G. Mora, V. Merino, M. Briones, R. Pérez, L. Marín. 1997. Características histoquímicas y bioquímicas de las fibras del músculo *Gluteus medius* en equinos descendientes del plan de fomento equino. *Arch. Med. Vet.* 29: 35-43
- Linnane L., A. Serrano, J. L. Rivero. 1999. Distribution of fast heavy chain- based muscle fibres in the *Gluteus medius* of untrained horses: mismatch between antigenic and mATPase determinants. *J. Anat.* 194: 362-372.
- López-Rivero, J. L., A. M. Díaz, J. G. Monterde, E. Agüera, 1993. Intramuscular distribution of fibre types in the *Gluteus medius* of the horse: An histochemical analysis. *Anat. Histol. Embryol.* 22: 233-240.
- López-Rivero, J. L, R. J. Talmadge, V. R. Edgerton. 1996. Myosin heavy chain isoforms in adult equine skeletal muscle: an immuno-histochemical and electrophoretic study. *Anat. Rec.* 246: 185-194.
- Pette D, R. S. Staron. 1990. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Review in Physiology Biochemistry and Pharmacology* 116: 1-76.
- Pette D., S.R. Staron. 1997. Mammalian skeletal muscle fibers type transitions. *International Review on Cytology* 170: 143-223.
- Serrano A. L, J. L. Petrie, J. L. Rivero, J. W. Hermanson. 1996. Myosin isoforms and muscle fiber characteristics in equine *Gluteus medius* muscle. *Anat. Rec.* 224: 444-451.
- Sieck G. C, W. Zhan, Y. S. Prakash, M. J. Daood, J. F. Watchoko. 1995 SDH and actomyosin ATPase activities of different fiber types in rat diaphragm muscle. *Journal of Applied Physiology* 79: 1629-1639.
- Sinha, A.K., R. J. Rose, Y. Pozgaj, J. F. Y. Hoh, 1992. Indirect myosin immunocyto-chemistry for the identification of fibre types in equine skeletal muscle. *Res. Vet. Sci.* 53: 25-31

chain transcripts are expressed in type IIB fibers of human skeletal muscle. *American Journal of Physiology* 267 (Cell Physiology), C 1723-1728.

Staron, R. S. 1991. Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in single human muscle fibres. *Histochemistry* 96: 21-24.

Staron, R. S, D. Pette. 1986. Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in rabbit muscle fibres. *Histochemistry* 86: 19-23.

Aceptado: 06.03.2001