

## Diferencias en el perfil enzimático muscular y respuesta metabólica a la lidia en toros de uno a tres años de edad

Differences in muscle enzyme profile and metabolic response to fighting in bulls from one to three years old

A Muñoz<sup>1\*</sup>, F M Castejón<sup>2</sup>, E I Agüera<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Universidad Cardenal Herrera-CEU. Moncada, Valencia, España.

<sup>2</sup> Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología. Universidad de Córdoba, España.

### SUMMARY

The metabolic response to exercise is partially linked to muscle enzyme profile, and both factors might be influenced by ageing. This research aims: 1) To analyze the differences in muscle characteristics of fighting bulls of different ages; and 2) To assess whether the muscle enzyme profile is affected by ageing in the same way it affects other bovine breeds. Muscle biopsies from gluteus medius and semitendinosus muscles were withdrawn immediately after bullfighting, at depths of 3 and 5 cm, from a total of 24 animals, belonging to three age groups: A (1-year-olds; n=6), B (2-year-olds; n=6) and C (3-year-olds; n=12). Muscle concentrations of glycogen, lactate, adenosin triphosphate and glucose-6-P were determined. In addition, activities of citrate synthase, 3-OH-acyl-dehydrogenase, glycogen phosphorylase, lactate dehydrogenase and hexokinase were measured. No significant differences were found between the two analyzed muscles and neither between depths for any of the muscle parameters. Group A showed lower muscle lactate accumulation, with positive correlations between oxidative and glycolytic enzymes, reflecting a balance between both metabolic pathways. Group B was the most oxidative, whereas group C was the most glycolytic. Therefore, muscle oxidative potential achieved its maximum at 2 years of age, whereas the glycolytic capacity increased progressively with ageing. These results are different from those showed by other bovine breeds, with a progressive reduction in oxidative potential from birth. In conclusion, age significantly influences metabolic response to fighting as well as muscle enzyme profile in bulls.

*Palabras clave:* bovinos, ejercicio, metabolismo, músculo.

*Key words:* bovine, exercise, muscle, metabolism.

### INTRODUCCION

El crecimiento físico promueve diversas adaptaciones sistémicas que afectan los pasos de la cadena de transporte de oxígeno, de modo que la relación entre las vías oxidativas y glucolíticas para la síntesis energética muscular varía, tanto en reposo como durante el ejercicio (Lindholm y col 1983, Persson y col 1983, Rowland y Green 1988, Seeherman y Morris 1991).

La respuesta metabólica muscular al ejercicio depende parcialmente de la composición fibrilar, propiedades metabólicas y contráctiles de las miofibras y perfil enzimático, características que varían con la edad (Essén y col 1980, Rivero y Piercy 2004). Ronés y col (1991) y Ronés (1993) mostraron en caballos Pura Sangre Inglés y Standardbred de carreras respectivamente que el porcentaje de fibras tipo I (contracción

lenta) se incrementa con la edad, independientemente del sexo del animal. En consecuencia, la proporción de fibras tipo II (contracción rápida) se reduce. Estas modificaciones estuvieron asociadas a un incremento en la capacidad oxidativa, confirmado por la mayor actividad de las enzimas citrato sintasa, 3-OH-acyl-CoA deshidrogenasa y hexokinasa. En bovinos, el crecimiento físico se caracteriza por un incremento en la proporción relativa de fibras tipo I, con conversión de fibras tipo IIA (contracción rápida y metabolismo oxidativo-glucolítico) hacia IIB (contracción rápida y metabolismo glucolítico), aumento de la capacidad glucolítica y del área fibrilar (Picard y col 1995, Wegner y col 2000). Sin embargo, Agüera y col (2001) no encontraron ninguna diferencia significativa en la composición fibrilar del músculo glúteo medio al comparar entre toros de lidia de 3 y 4 años de edad.

La respuesta metabólica muscular a la lidia y el patrón de depleción glucogénica han sido evaluados previamente en toros bravos adultos. Durante la lidia, se produce una intervención marcada de las vías metabólicas glucolíticas, con desdoblamiento de glucógeno, formación de lactato y acidosis muscular (Castejón y col 1997). El patrón de depleción glucogénica muestra un orden de

Aceptado: 08.08.2006

\* Autor para correspondencia: Dra. Ana Muñoz Juzado. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Universidad Cardenal Herrera-CEU. Edif. Seminari-CEU, Avda. Seminario s/n, 46113, Moncada, Valencia, España. Tfo: + 34 96 136 9000; Fax: + 34 96 139 52 72; E-mail: amjuzado@uch.ceu.es

contracción fibrilar I→IIA→IIB. El contenido total de glucógeno muscular tras la lidia depende principalmente del porcentaje de fibras tipo II con una concentración elevada en glucógeno (García-Lima 1999). Aunque los toros bravos son lidiados cuando tienen entre 3 y 5 años de edad, existen plazas que lidian animales más jóvenes. Por este motivo, la presente investigación tiene dos objetivos: 1) Analizar si la respuesta metabólica a la lidia y el perfil enzimático muscular varían de forma significativa entre animales de diferentes edades; 2) Evaluar si el perfil enzimático muscular se modifica con la edad de una forma similar a la descrita para otras razas bovinas, consideradas, en principio, más sedentarias que el toro de lidia.

## MATERIAL Y METODOS

*Animales.* Se han incluido 24 animales en esta investigación, divididos en tres grupos de edad: A (1 año de edad; n=6), B (2 años de edad; n=6) y C (3 años de edad; n=12). Todos ellos estaban sanos, listos para su lidia y cumplieron los requisitos legales para una plaza de primera categoría.

*Extracción de biopsias musculares.* Se obtuvieron biopsias musculares dentro de los 3 min iniciales tras la lidia, según la técnica de biopsia percutánea, con una aguja de Bergström modificada para toros bravos. No fue posible la extracción de biopsias musculares en condiciones de reposo, previamente a la lidia, debido a la negativa de los propietarios. De cada animal se recogieron 4 biopsias: 2 del músculo glúteo medio (MGM) y 2 del semitendinoso (MST), a profundidades absolutas de 3 y 5 cm. Una vez obtenidas, las muestras fueron introducidas en viales criogénicos y almacenadas en nitrógeno líquido durante su transporte al laboratorio. Desde este momento hasta su posterior análisis, las biopsias permanecieron a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

*Procesamiento y análisis de las biopsias musculares.* Las biopsias fueron liofilizadas (Freeze-Dryer Hetosic Type CSD2, HETO Laboratory Equipment, Gydevang, Denmark), diseccionadas, eliminándose la sangre, grasa y tejido conectivo. Las fibras musculares fueron pesadas (Calin, USA) y divididas en tres fracciones, con pesos medios comprendidos entre 1,2 y 1,8 mg. La fracción 1 fue destinada a la determinación de la concentración muscular de glucógeno (GLU). Para ello, la muestra fue sometida a ebullición en HCl 0,1M durante 2 h para hidrolizar el GLU nativo. Los residuos glucosídicos liberados fueron analizados mediante fluorimetría (Essén y col 1980) y las concentraciones de GLU se expresaron en mmol/kg p.s. (peso seco). La fracción 2 fue destinada a la determinación de algunos sustratos y metabolitos musculares, siendo procesada previamente mediante precipitación de las proteínas con una solución de ácido perclórico 1,5M y

centrifugada a  $4^{\circ}\text{C}$ . Tras extraer el sobrenadante, se adicionó bicarbonato potásico 2M y se dejó sedimentar. En esta muestra se analizaron las concentraciones musculares de lactato (LA), glucosa-6-P (G6P) y adenosina trifosfato (ATP) mediante fluorimetría, expresadas en mmol/kg p.s. (Lowry y Passonneau, 1973, Essén y col 1980). Finalmente, la fracción 3 fue utilizada para la determinación de las enzimas musculares, tras la homogeneización de la muestra con un disruptor de ultrasonidos (Branson B-15P, Connecticut, USA) en una solución buffer P 0,1M a pH 7,3, a una dilución 1:400. Se cuantificaron las actividades de las enzimas citrato cintasa (CS), 3-OH-acetil coenzima A deshidrogenasa (HAD), lactato deshidrogenasa (LDH), glucógeno fosforilasa (PHOS) y hexokinasa (HK) mediante fluorimetría (Lowry y Passonneau 1973; Essén y col 1980). Estas enzimas son marcadores de la actividad del ciclo de los ácidos tricarbónicos (CS),  $\beta$ -oxidación lipídica (HAD), reducción del piruvato con formación de LA (LDH), desdoblamiento del GLU muscular (PHOS) y fosforilación de la glucosa de origen extrafibrilar (HK). En todos los casos, las actividades enzimáticas fueron determinadas a  $25^{\circ}\text{C}$  y expresadas en mmol/kg p.s./min.

*Análisis estadístico.* Los resultados se han expresado como medias  $\pm$  DE. En primer lugar, se comprobó la normalidad de las variables mediante un test de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de la varianza u homocedasticidad con un test de Levene. La concentración de GLU no mostró una distribución normal y el resto de las variables fueron heterocedásticas. Por ello, se llevaron a cabo transformaciones logarítmicas, consiguiendo la normalidad y la homocedasticidad de las variables.

Seguidamente, se realizó un análisis multivariante, para comprobar las diferentes interacciones entre tres factores: músculo (MGM, MST), profundidad de extracción de la biopsia (3, 5 cm) y grupos de edad (A, B y C). El análisis comparativo de las variables estudiadas, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y un test de comparación de medias (Post-hoc comparison of means, Tukey HSD). Finalmente, las correlaciones entre los diversos parámetros se evaluaron mediante un test de correlación lineal (Pearson product moment correlation test). El nivel de significación fue de  $P < 0,05$ . El estudio estadístico se realizó mediante el programa Statistica para Windows, vs. 6.0 (Statsoft Inc, Tulsa, Oklahoma, USA).

## RESULTADOS

Según el análisis multivariante, el músculo y la profundidad de extracción de la muestra no influenciaron los resultados. La edad fue el principal factor implicado en las diferencias obtenidas en la presente investigación. La interacción entre músculo y profundidad de extracción no fue significativa en ningún caso. Las variables que presentaron diferencias significativas en cuanto a la interacción músculo-

lo x edad fueron: GLU, LA, CS, HAD, LDH y PHOS. Las variables que mostraron diferencias significativas en la interacción profundidad de extracción x edad fueron: GLU, LA, CS, HAD, LDH, HK y PHOS. Finalmente, la interacción de los tres factores considerados fue significativa para las siguientes variables: LA, LDH y PHOS.

Debido a la inexistencia de diferencias en cuanto al músculo biopsado y a la profundidad, todos los datos fueron procesados de forma conjunta, considerando únicamente el grupo de edad al que pertenecía el animal. Las concentraciones musculares post-lidia de GLU, LA, G6P y ATP se representan en el cuadro 1 para los tres grupos de edad. No se apreciaron diferencias significativas para GLU entre los grupos A y B y ambos mostraron concentraciones medias significativamente superiores a los del grupo C. En cuando al LA, se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos, perteneciendo las concentraciones máximas al grupo C. La concentración de G6P fue significativamente menor en el grupo B que en el C. Por otro lado, la concentración de ATP fue significativamente inferior en el grupo A que en el B, sin existir diferencias entre B y C (cuadro 1).

Las actividades musculares de las 5 enzimas analizadas se presentan en el cuadro 2. La actividad CS fue significativamente más elevada en el grupo B que en A y C. Las actividades más elevadas de la actividad HAD se

encontraron en los grupos A y B. El grupo A mostró actividades significativamente inferiores de HK, PHOS y LDH que los grupos B y C. No se detectaron diferencias significativas entre los grupos B y C para la enzima HK, pero sí para LDH y PHOS (cuadro 2).

Finalmente, los coeficientes de correlación lineal entre la respuesta metabólica a la lidia y el perfil enzimático se presentan para los tres grupos de edad en los cuadros 3, 4 y 5.

## DISCUSION

La presente investigación analiza las diferencias en la respuesta metabólica a la lidia y en el perfil enzimático muscular en toros bravos con edades comprendidas entre 1 y 3 años. Se ha encontrado que la capacidad oxidativa es más marcada en el grupo B (2 años de edad), mientras que la capacidad glucolítica se incrementa progresivamente con la edad. Estos resultados contrastan con los presentados por otros autores en otras razas bovinas. Así, el potencial oxidativo decrece desde el nacimiento hasta los 16 meses de edad en las razas Saler y Limousin y el metabolismo glucolítico se acentúa (Jurie y col 1999, Picard y col 2002). La diferente evolución del potencial oxidativo muscular en el toro bravo en comparación con bovinos de producción cárnica podría deberse al efecto

**Cuadro 1.** Concentraciones musculares medias ( $\pm$ DE) de GLU, LA, G6P y ATP tras la lidia en toros bravos de tres grupos de edad (AB: diferencias significativas entre grupos A y B; AC: diferencias significativas entre grupos A y C; BC: diferencias significativas entre grupos B y C).  $P < 0,05$ .

Mean muscle concentrations ( $\pm$ SD) of GLU, LA, G6P and ATP after bullfighting in bulls of three different age groups (AB: significant differences between groups A and B; AC: significant differences between groups A and C; BC: significant differences between groups B and C).  $P < 0,05$ .

| Grupo de edad | GLU (mmol/kg p.s)               | LA (mmol/kg p.s)                   | G6P (mmol/kg p.s)               | ATP (mmol/kg p.s)               |
|---------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| A             | 80,82 $\pm$ 25,74 <sup>AC</sup> | 29,86 $\pm$ 24,94 <sup>AB,AC</sup> | 3,402 $\pm$ 1,389               | 6,730 $\pm$ 3,808 <sup>AB</sup> |
| B             | 71,26 $\pm$ 48,29 <sup>BC</sup> | 149,9 $\pm$ 17,78 <sup>BC</sup>    | 2,246 $\pm$ 1,544 <sup>BC</sup> | 9,860 $\pm$ 5,034               |
| C             | 63,28 $\pm$ 35,94               | 157,0 $\pm$ 16,51                  | 5,789 $\pm$ 5,253               | 8,365 $\pm$ 3,673               |

(GLU: glucógeno; LA: lactato; G6P: glucosa-6-P; ATP: adenosina trifosfato).

**Cuadro 2.** Actividades musculares medias ( $\pm$ DE) de CS, HAD, LDH, HK y PHOS tras la lidia en toros bravos de tres grupos de edad (AB: diferencias significativas entre grupos A y B; AC: diferencias significativas entre grupos A y C; BC: diferencias significativas entre grupos B y C).  $P < 0,05$ .

Mean muscle activities ( $\pm$ SD) of CS, HAD, LDH, HK and PHOS after bullfighting in bulls of three different age groups (AB: significant differences between groups A and B; AC: significant differences between groups A and C; BC: significant differences between groups B and C).  $P < 0,05$ .

| Grupo de edad | CS (mmol/kg p.s/min)               | HAD (mmol/kg p.s/min)           | LDH (mmol/kg p.s/min)          | HK (mmol/kg p.s/min)               | PHOS (mmol/kg p.s/min)          |
|---------------|------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| A             | 24,03 $\pm$ 9,693 <sup>AB,AC</sup> | 19,51 $\pm$ 3,384 <sup>AC</sup> | 1093 $\pm$ 210,5 <sup>AB</sup> | 0,910 $\pm$ 0,214 <sup>AB,AC</sup> | 32,20 $\pm$ 11,79 <sup>AB</sup> |
| B             | 36,22 $\pm$ 9,455                  | 24,96 $\pm$ 6,996 <sup>BC</sup> | 1375 $\pm$ 235,2 <sup>BC</sup> | 1,324 $\pm$ 0,216                  | 49,43 $\pm$ 12,50 <sup>BC</sup> |
| C             | 21,37 $\pm$ 5,547                  | 14,46 $\pm$ 3,620               | 1724 $\pm$ 431,0               | 1,106 $\pm$ 0,282                  | 52,86 $\pm$ 25,44               |

(CS: citrato sintasa; HAD: 3-OH-acil coenzima A deshidrogenasa; LDH: lactato deshidrogenasa; HK: hexokinasa; PHOS: glucógeno fosforilasa).

**Cuadro 3.** Coeficientes de correlación entre la respuesta metabólica muscular a la lidia y el perfil enzimático en los toros de 1 año de edad ( $P < 0,05$ ). Las correlaciones significativas se indican en negrita.

Correlation coefficients between muscle metabolic response to fighting and enzyme profile in one-year-old bulls ( $P < 0,05$ ). Significant correlations are shown in bold.

|      | GLU          | LA           | G6P    | ATP    | CS           | HAD          | LDH          | HK     |
|------|--------------|--------------|--------|--------|--------------|--------------|--------------|--------|
| LA   | 0,250        |              |        |        |              |              |              |        |
| G6P  | <b>0,690</b> | <b>0,520</b> |        |        |              |              |              |        |
| ATP  | 0,190        | -0,210       | 0,140  |        |              |              |              |        |
| CS   | 0,300        | -0,410       | -0,800 | 0,150  |              |              |              |        |
| HAD  | 0,110        | 0,001        | -0,700 | -0,400 | 0,200        |              |              |        |
| LDH  | <b>0,600</b> | 0,210        | 0,270  | 0,150  | <b>0,520</b> | 0,240        |              |        |
| HK   | 0,020        | -0,100       | -0,120 | -0,180 | -0,210       | 0,170        | -0,320       |        |
| PHOS | <b>0,530</b> | 0,010        | 0,200  | 0,320  | <b>0,460</b> | <b>0,460</b> | <b>0,580</b> | -0,040 |

(GLU: glucógeno; LA: lactato; G6P: glucosa-6-P; ATP: adenosina trifosfato; CS: citrato sintasa; HAD: 3-OH-acil coenzima A deshidrogenasa; LDH: lactato deshidrogenasa; HK: hexokinasa; PHOS: glucógeno fosforilasa).

**Cuadro 4.** Coeficientes de correlación entre la respuesta metabólica muscular a la lidia y el perfil enzimático en los toros de 2 años de edad ( $P < 0,05$ ). Las correlaciones significativas se indican en negrita.

Correlation coefficients between muscle metabolic response to fighting and enzyme profile in two-year-old bulls ( $P < 0,05$ ). Significant correlations are shown in bold.

|      | GLU          | LA            | G6P    | ATP    | CS            | HAD    | LDH           | HK    |
|------|--------------|---------------|--------|--------|---------------|--------|---------------|-------|
| LA   | -0,070       |               |        |        |               |        |               |       |
| G6P  | 0,350        | -0,030        |        |        |               |        |               |       |
| ATP  | 0,250        | <b>-0,550</b> | 0,170  |        |               |        |               |       |
| CS   | 0,080        | -0,010        | 0,250  | -0,060 |               |        |               |       |
| HAD  | -0,020       | -0,020        | 0,390  | 0,100  | <b>0,530</b>  |        |               |       |
| LDH  | -0,080       | 0,250         | -0,001 | 0,230  | <b>-0,430</b> | -0,070 |               |       |
| HK   | -0,010       | -0,380        | -0,010 | 0,090  | 0,220         | 0,180  | <b>-0,430</b> |       |
| PHOS | <b>0,470</b> | -0,014        | 0,140  | 0,380  | 0,150         | 0,120  | -0,060        | 0,280 |

(GLU: glucógeno; LA: lactato; G6P: glucosa-6-P; ATP: adenosina trifosfato; CS: citrato sintasa; HAD: 3-OH-acil coenzima A deshidrogenasa; LDH: lactato deshidrogenasa; HK: hexokinasa; PHOS: glucógeno fosforilasa).

**Cuadro 5.** Coeficientes de correlación entre la respuesta metabólica muscular a la lidia y el perfil enzimático en los toros de 3 años de edad ( $P < 0,05$ ). Las correlaciones significativas se indican en negrita.

Correlation coefficients between muscle metabolic response to fighting and enzyme profile in three-year-old bulls ( $P < 0,05$ ). Significant correlations are shown in bold.

|      | GLU           | LA            | G6P           | ATP           | CS            | HAD           | LDH           | HK     |
|------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------|
| LA   | -0,110        |               |               |               |               |               |               |        |
| G6P  | <b>0,550</b>  | <b>-0,300</b> |               |               |               |               |               |        |
| ATP  | 0,370         | <b>-0,290</b> | <b>0,650</b>  |               |               |               |               |        |
| CS   | 0,270         | <b>-0,310</b> | 0,140         | -0,100        |               |               |               |        |
| HAD  | -0,010        | -0,170        | 0,001         | -0,200        | <b>0,570</b>  |               |               |        |
| LDH  | <b>-0,560</b> | <b>0,420</b>  | <b>-0,630</b> | <b>-0,380</b> | <b>-0,420</b> | <b>-0,330</b> |               |        |
| HK   | 0,060         | 0,190         | -0,170        | -0,070        | 0,110         | -0,090        | 0,160         |        |
| PHOS | <b>0,550</b>  | -0,280        | <b>0,680</b>  | 0,250         | <b>0,320</b>  | 0,170         | <b>-0,730</b> | -0,040 |

(GLU: glucógeno; LA: lactato; G6P: glucosa-6-P; ATP: adenosina trifosfato; CS: citrato sintasa; HAD: 3-OH-acil coenzima A deshidrogenasa; LDH: lactato deshidrogenasa; HK: hexokinasa; PHOS: glucógeno fosforilasa).

de dos factores: raza (Lefaucheur y Gerrard 1998) y actividad física diaria. Veestergaard y col (2000) confirmaron que los novillos en explotación extensiva poseían un porcentaje superior de fibras de contracción lenta, una mayor vascularización muscular y más potencial oxidativo que los animales criados de forma intensiva y los toros de lidia permanecen en condiciones extensivas o semiextensivas. Además, una investigación paralela reciente reveló que un programa de entrenamiento de 24 semanas de duración en toros bravos da lugar a una mejoría de la capacidad oxidativa junto con un incremento de los mecanismos antioxidantes, valorados a partir de la acumulación de productos de lipooxidación y otros marcadores antioxidantes, como glutatión y catalasa plasmática (Agüera y col 2005).

El grupo de edad A se caracterizó por presentar concentraciones post-lidia superiores de GLU e inferiores de ATP y LA junto con actividades enzimáticas reducidas, en comparación con los otros grupos. Se ha sugerido que la pérdida de ATP del músculo y/o la incapacidad para su resíntesis es uno de los factores involucrados en el desarrollo de la fatiga muscular (Harris y col 1991), ya que el ATP es la fuente energética inmediata para la contracción muscular (Schuback y col 1999). Según estas ideas, los animales del grupo A habrían experimentado una mayor fatiga o bien estos resultados podrían reflejar una peor adaptación al ejercicio físico, quizá ligado a su corta edad o al desarrollo muscular incompleto. Se pueden proponer dos explicaciones para las concentraciones inferiores de ATP en el grupo A: la escasez de precursores energéticos y la limitación en las vías de resíntesis energética. La existencia de unas concentraciones superiores de GLU en el grupo A tras la lidia rechaza la primera explicación. La limitación de las vías de resíntesis energética podría estar asociada a un desarrollo muscular incompleto por la corta edad de estos animales, ya que este grupo mostró menor actividad de las enzimas HK, PHOS y LDH. No obstante, no se encontraron correlaciones significativas entre las concentraciones de ATP y las actividades de las enzimas musculares. Por otro lado, las correlaciones positivas entre ambos grupos de enzimas (glucolíticas y aerobias) sugieren un equilibrio entre las rutas oxidativas y anaerobias. Estas afirmaciones se ven limitadas por el procedimiento analítico, que fue realizado en un conjunto de fibras, no en pools de miofibras con capacidades contráctiles y metabólicas similares y se ha documentado que las concentraciones de ATP tras el ejercicio varían con el tipo de fibras (Essén-Gustavsson y col 1997).

El grupo de edad B mostró concentraciones elevadas de ATP y LA, así como actividades CS, HAD y HK superiores a los otros grupos. Un resultado sorprendente fue la correlación negativa entre ATP y LA, detectada en este conjunto de animales, ya que resulta lógico pensar que la resíntesis energética vino determinada por el metabolismo glucolítico del GLU intramuscular con forma-

ción intensa de LA. La correlación negativa entre ambos compuestos lleva a pensar en la posible influencia de la acidosis sobre el flujo energético muscular durante la lidia. Se ha descrito que la acidosis ejerce una regulación negativa sobre ciertas enzimas claves en las vías glucolíticas, concretamente sobre la fosfofructokinasa (Snow y col 1985). Sin embargo, este punto no ha podido ser confirmado en la presente investigación, ya que no se observó una correlación negativa entre acumulación muscular de LA y G6P. Asimismo, a pesar de la marcada elevación del LA muscular, las concentraciones de G6P no estuvieron incrementadas de una forma proporcional. No es posible proponer una justificación plausible para esta aparente limitación de las vías glucolíticas, con una acumulación inferior a la esperada de hexosas monofosfato durante la lidia. En caballos Pura Sangre Inglés de carrera se ha descrito una reducción progresiva de G6P en el momento de aparición de fatiga muscular, junto con activación del ciclo de nucleótidos de purina, acidosis muscular y acumulación plasmática de amoníaco y ácido úrico (Snow y col 1985, Geor y col 1999). Posiblemente estas mismas circunstancias de fatiga y estrés metabólico muscular acontezcan durante la lidia.

En los grupos B y C se observaron correlaciones significativas negativas entre las actividades de enzimas oxidativas y glucolíticas, resultado similar a los presentados para seres humanos (Boisseau y Delamarche 2000), caballos (Essén-Gustavsson y col 1997) y toros de lidia adultos (Muñoz y col 1997). Estos datos revelan que un incremento en el potencial oxidativo estaría asociado a un descenso de la capacidad glucolítica en toros bravos a partir de los 2 años de edad.

El grupo de edad C se caracterizó por la respuesta metabólica glucolítica más intensa, con concentraciones de GLU inferiores tras la lidia y acumulaciones importantes de LA y G6P. Sin embargo, a pesar de ello, la concentración de ATP no fue más alta que en el grupo B. Por tanto, se puede sugerir que la intensidad absoluta de esfuerzo realizada por este grupo de animales fue mayor, circunstancia que podría derivar de un ejercicio más intenso y de un peso corporal superior, con el consiguiente gasto energético más elevado. Por otro lado, este grupo de animales presentó las actividades enzimáticas mínimas de CS y HAD y máximas de LDH. De este modo, los toros de lidia a partir de los 2 años de edad experimentan una evolución en el perfil muscular con una tendencia hacia un desarrollo glucolítico mayor, proceso que también se produce en las razas bovinas de carne, si bien a edades más tempranas (Jurie y col 1999, Picard y col 2002).

La composición fibrilar y, por tanto, el perfil enzimático y el metabolismo durante un ejercicio también dependen del tipo de músculo, localización, función y profundidad de extracción de las muestras. De forma genérica, los músculos profundos poseen una función postural y son más oxidativos que los músculos más superficiales, implicados en los movimientos rápidos

(Kline y Bechtel 1988, Ono y col 1995). En la presente investigación no se han encontrado diferencias significativas entre las dos profundidades de extracción de biopsia, 3 y 5 cm, lo cual parece sugerir que ambas profundidades pertenecieron a la misma parte del músculo. Del mismo modo, la ausencia de diferencias significativas entre MGM y MST refleja que ambos músculos poseen una intervención similar en las actividades físicas diarias y en el ejercicio de la lidia, a pesar de que el músculo MGM es extensor y el MST es flexor. Estos resultados difieren de los presentados en caballos trottones Standardbred. Gottlieb y col (1988) describieron que la actividad CS es un 37% superior en el MGM que en el MST.

En resumen, el grupo de edad A mostró una respuesta menos glucolítica a la lidia, con una acumulación muscular de LA inferior. Además, las correlaciones significativas positivas entre las enzimas oxidativas y glucolíticas sugieren un equilibrio entre ambas rutas de resíntesis energética. El grupo B fue el más oxidativo, con actividades CS y HAD superiores a los otros grupos. Finalmente, el grupo C fue el más glucolítico, con una producción más intensa de LA, actividades CS y HAD inferiores y LDH más elevadas. No se observaron diferencias entre los dos músculos analizados, ni tampoco entre las dos profundidades de extracción de biopsia. En conclusión, el potencial oxidativo del músculo locomotor del toro de lidia alcanza su máximo a los 2 años, mientras que la capacidad glucolítica se incrementa de forma progresiva con la edad, desde el año hasta los 3 años.

## RESUMEN

La respuesta metabólica al ejercicio depende parcialmente del perfil enzimático muscular y ambos factores pueden verse modificados por la edad. Los objetivos de esta investigación son: 1) Analizar las diferencias en las características musculares de toros de lidia de diferente edad y 2) Valorar si el perfil enzimático muscular se modifica con la edad de forma similar a la descrita en otras razas bovinas. Se extrajeron biopsias inmediatamente tras la lidia –de los músculos glúteo medio y semitendinoso–, a profundidades de 3 y 5 cm, en un total de 24 toros bravos, distribuidos en tres grupos de edad: A (1 año; n=6), B (2 años; n=6) y C (3 años; n=12). Se determinaron las concentraciones de glucógeno, lactato, adenosina trifosfato y glucosa-6-P. Además, se cuantificaron las actividades de las enzimas citrato cintasa, 3-OH-acil-deshidrogenasa, glucógeno fosforilasa, lactato deshidrogenasa y hexokinasa. No se encontraron diferencias significativas entre los dos músculos ni tampoco entre las dos profundidades de extracción de biopsia. El grupo A mostró una menor acumulación muscular de lactato, con correlaciones positivas entre las enzimas oxidativas y glucolíticas, sugiriendo un equilibrio entre ambas vías energéticas. El grupo B fue el más oxidativo, mientras que el grupo C fue el más glucolítico. Por tanto, el potencial oxidativo del músculo locomotor del toro de lidia alcanza su máximo a los 2 años, mientras que la capacidad glucolítica se incrementa progresivamente con la edad. Estos resultados difieren de los presentados en bovinos de carne, en los que existe una reducción del potencial oxidativo desde el momento del nacimiento. En conclusión, la edad influye en la respuesta metabólica a la lidia y el perfil enzimático muscular en toros bravos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a los miembros del Hospital de Grandes Animales de la Facultad de Veterinaria de Uppsala en Suecia, especialmente a la Dra. Birgitta Essén-Gustavsson por su ayuda en los procedimientos analíticos. Asimismo, queremos exponer nuestro agradecimiento al personal de las plazas de toros en las que se recogieron las muestras, en España.

## REFERENCIAS

- Agüera EI, BM Escribano, MD Rubio, R De Miguel, F Requena, P Tovar. 2005. Valoración de los biomarcadores oxidantes y antioxidantes en toros bravos sometidos a un programa de entrenamiento. *Resúmenes del VII Symposium del Toro de Lidia*, Zafra, Badajoz, España, Pp 27.
- Agüera EI, A Muñoz, FM Castejón, B Essén-Gustavsson. 2001. Skeletal muscle fibre characteristics in young and old bulls and metabolic response after a bullfight. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 48, 313-319.
- Boisseau N, P Delamarche. 2000. Metabolic and hormonal responses to exercise in children and adolescents. *Sports Med* 30, 405-422.
- Castejón FM, A Muñoz, EI Agüera, MS Gómez-Torraco, B Essén-Gustavsson. 1997. *Diferencias en la respuesta metabólica del músculo del toro bravo a la lidia*. *Resúmenes del II Congreso Mundial Taurino de Veterinaria*, Córdoba, España, Pp 207-210.
- Essén B, A Lindholm, J Thornton. 1980. Histochemical properties of muscle fibre types and enzyme activities in skeletal muscle of Standardbred trotters of different ages. *Equine Vet J* 12, 175-180.
- Essén-Gustavsson B, N Ronéus, R Pösö. 1997. Metabolic response in skeletal muscle fibres of Standardbred trotters during racing. *Comp Biochem Physiol* 117B, 431-436.
- García-Lima ML. 1999. Características fibrilares y patrón de depleción glucogénica y su relación con el metabolismo energético en el toro bravo. *Tesina de licenciatura*, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba.
- Geor RJ, J McCutcheon, H Shen. 1999. Muscular and metabolic responses to moderate-intensity short-term training. *Equine Vet J* 30, 311-317.
- Gottlieb M, B Essén-Gustavsson, A Lindholm, SG Persson. 1988. Circulatory and muscle metabolic responses to draught work compared to increasing trotting velocities. *Equine Vet J* 20, 430-434.
- Harris RC, DJ Marlin, DH Snow, RA Harkness. 1991. Muscle ATP loss and lactate accumulation at different work intensities in the exercising Thoroughbred horse. *Eur J Appl Physiol* 62, 235-244.
- Jurie C, B Picard, Y Geay. 1999. Changes in the metabolic and contractile characteristics of muscle in male cattle between 10 and 16 months of age. *Histochem J* 31, 117-122.
- Kline KH, DJ Bechtel. 1988. Changes in the metabolic profile of the equine gluteus medius as a function of sampling depth. *Comp Biochem Physiol* 91, 815-819.
- Lefaucheur L, D Gerrard. 1998. Muscle fiber plasticity in farm mammals. *Proceedings of the American Society of Animal Science*. Denver, Colorado, USA, Pp 1-19.
- Lindholm A, B Essén-Gustavsson, D McMiken, SGB Persson, JR Thornton. 1983. Muscle histochemistry and biochemistry of Thoroughbred horses during growth and training. En: Snow DH, Persson SGB, Rose RJ (eds). *Equine Exercise Physiology*. Granta Editions, Cambridge, U.K., Pp 211-217.
- Lowry OH, JV Passonneau. 1973. *A flexible system of enzymatic analysis*. New York: Academic Press.
- Muñoz A, FM Castejón, EI Agüera, MS Gómez-Torraco, B Essén-Gustavsson. 1997. Estudio comparativo del perfil enzimático muscular en toros bravos de diversas ganaderías. *Resúmenes del II Congreso Mundial Taurino de Veterinaria*, Córdoba, España, Pp 203-206.

- Ono Y, MB Solomon, CM Evock-Clover, NC Steele, K Maruyama. 1995. Effects of porcine somatotropin administration on porcine muscles located within different regions of the body. *J Anim Sci* 73, 2282-2288.
- Persson SBG, B Essén-Gustavsson, A Lindholm, D McMiken, JR Thornton. 1983. Cardiorespiratory and metabolic effects of training Standardbred yearlings. En: Snow DH, Persson SGB, Rose RJ (eds). *Equine Exercise Physiology*. Granta Editions, Cambridge, U.K., Pp 458-469.
- Picard B, H Gagnière, Y Geay, JF Hocquette, J Robelin. 1995. Study of the influence of age and weaning on the contractile and metabolic characteristics of bovine muscles. *Reprod Nutr Dev* 35, 71-84.
- Picard B, L Lefaucheur, C Berri, MJ Duclos. 2002. Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. *Reprod Nutr Dev* 42, 415-431.
- Rivero JLL, RJ Piercy. 2004. Muscle physiology: responses to exercise and training. En: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ (eds). *Equine sports medicine and surgery*. Saunders Co. USA, Pp 45-76.
- Ronéus M, A Lindholm, A Asheim. 1991. Muscle characteristics in Thoroughbreds of different ages and sexes. *Equine Vet J* 23, 207-210.
- Ronéus M. 1993. Muscle characteristics in standardbreds of different ages and sexes. *Equine Vet J* 25, 143-146.
- Rowland TW, GM Green. 1988. Physiological responses to treadmill exercise in females: adult-child differences. *Med Sci Sports Exerc* 20, 474-478.
- Schuback K, B Essén-Gustavsson, SGB Persson. 1999. Incremental treadmill exercise until onset of fatigue and its relationship to metabolic response and locomotion pattern. *Equine Vet J* 30, 337-341.
- Seeherman HJ, EA Morris. 1991. Comparison of yearling, two-year-old and adults Thoroughbred using a standardised exercise test. *Equine Vet J* 23, 175-184.
- Snow DH, RC Harris, P Gash. 1985. Metabolic response of equine muscle to intermittent maximal exercise. *J Appl Physiol* 58, 1689-1697.
- Veestergaard M, N Oksbjerg, P Henkel. 2000. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on muscle fibre characteristics and meat color of semitendinous, longissimus dorsi and supraspinatus muscle of young bulls. *Meat Sci* 54, 177-186.
- Wegner J, E Albrecht, I Fiedler, F Teuscher, HJ Papstein, K Ender. 2000. Growth- and breed-related changes of muscle fiber characteristics in cattle. *J Anim Sci* 78, 1485-1496.