

Actividad de la aspartato aminotransferasa y la creatinquinasa y su relación con la actividad de la glutatión peroxidasa en caballos Pura Sangre Inglés, antes y después de una carrera de 1100 metros

Luisa F Arias¹, MVZ; Nicolás Mejía¹, MVZ; Camilo Sánchez¹, MVZ; Catalina Peláez¹, MVZ; Alejandro Ceballos¹, MVZ, MSc.

¹Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria, Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, A.A. 275. Manizales, Colombia.
aleceballos@ucaldas.edu.co

(Recibido: 28 marzo, 2003; aceptado: 10 mayo, 2004)

Resumen

Para describir los cambios en la actividad de la aspartato aminotransferasa (AST; EC 2.6.1.1), la creatinquinasa (CK; EC 2.7.3.2) y su relación con glutatión peroxidasa (GSH-Px; EC 1.15.1.1) en caballos Pura Sangre Inglés (PSI) que corrieran 1100 metros en pista de arena, se seleccionaron 29 caballos entre 3 y 5 años de edad del Hipódromo "Los Comuneros" en el municipio de Guarne (6°17'LN-75°24'LO), Antioquia. Se tomaron 10 mL de sangre heparinizada e igual cantidad sin anticoagulante 12 horas antes de la carrera, al momento de terminarla y 12 horas después. Se determinó concentración de hemoglobina, actividad de AST, CK y GSH-Px. Los datos se analizaron mediante estadística descriptiva y las comparaciones entre grupos se realizaron mediante un ANOVA, se obtuvo la frecuencia de valores alterados para cada variable. La actividad de AST fue similar entre el reposo y posterior a la carrera ($p > 0.05$). La actividad promedio de CK previa a la carrera fue 320 ± 193 U/L aumentando hasta alcanzar valores de 705 ± 528 U/L ($p < 0.05$). La GSH-Px se encontró dentro de valores compatibles con un balance de selenio adecuado, su actividad fue similar entre el término de la carrera y el reposo posterior ($p > 0.05$). La actividad de las enzimas AST y CK siguen siendo una herramienta diagnóstica útil para evaluar lesiones musculares en equinos. La actividad antioxidante y su relación con la actividad de las enzimas AST y CK no arrojó resultados concluyentes, ya que no hubo asociación entre dichas variables, lo que señalaría que la defensa antioxidante del músculo puede depender de otras sustancias diferentes a la GSH-Px.

Palabras clave: *ejercicio, enzimas, estrés oxidativo, músculo, rhabdomiolisis.*

Introducción

La rhabdomiolisis es la miopatía más frecuente en los equinos. Alrededor del 5% de los caballos PSI la padecen hacia los tres años de edad, lo que ocasiona grandes pérdidas económicas y retrasos en los programas de entrenamiento al impedirles estar en las mejores condiciones físicas para correr los premios importantes (6,7). La etiopatogenia es hasta el momento desconocida; sin embargo, se han asociado algunos factores como posibles causas: alteraciones genéticas relacionadas con un defecto en el metabolismo muscular (8), la ingestión de dietas ricas en carbohidratos con el consecuente aumento en la cantidad de glucógeno almacenado en el músculo (17), los períodos de quietud prolongados con un posterior

esfuerzo físico intenso y repentino (1); además, el sexo y la edad también están asociados, estando más predispuestas las hembras y los animales jóvenes que están iniciando su entrenamiento (4,7).

Un factor asociado que cada vez cobra mayor importancia es el consumo de antioxidantes en la dieta. Un desequilibrio entre prooxidantes-antioxidantes con un aumento de los primeros, se conoce como estrés oxidativo el cual se ha asociado con la presencia de miopatías en equinos (3) y caninos (10). El bajo consumo de antioxidantes está asociado con una reducción de la resistencia muscular a un estrés repentino inducido por el ejercicio intenso (2,3).

El diagnóstico de la rhabdomiólisis se realiza con base en la historia, pruebas de laboratorio complementarias y examen clínico completo, encontrándose rigidez muscular en la región de la grupa, el animal rehusa a desplazarse, sudoración y muerte (1,15,16); bioquímicamente, se encuentra aumento de la actividad plasmática o sérica, de las enzimas consideradas como marcadoras de lesión muscular: la creatinquinasa (CK; EC 2.7.3.2) y la aspartato aminotransferasa (AST; EC 2.6.1.1) (6,8), también puede determinarse la presencia de mioglobina en suero u orina (pigmenturia) (1,6,16). En forma complementaria puede determinarse cuál es la capacidad antioxidante determinando la actividad de las enzimas antioxidantes, la glutatión peroxidasa (GSH-Px; EC 1.11.1.9) y la superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1), las que se encuentran relacionadas con el balance metabólico nutricional de selenio (Se) y otros minerales como cobre (Cu) y zinc (Zn) (2,3).

Considerando lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la actividad sérica de AST y CK en caballos PSI antes, durante y después de una carrera de 1100 metros en pista de arena, y establecer su eventual relación con la actividad sanguínea de GSH-Px.

Materiales y métodos

Ubicación y animales

La selección de los animales se realizó en el Hipódromo “Los Comuneros”, que se encuentra ubicado en el municipio de Guarne (6° 17' LN y 75° 24' LO), Antioquia a una altitud de 2100 msnm. En el segundo semestre del año 2002, se seleccionaron 29 caballos PSI según su aptitud para la carrera, es decir animales que estuvieran en entrenamiento para correr 1100 metros de distancia en pista de arena.

Muestras

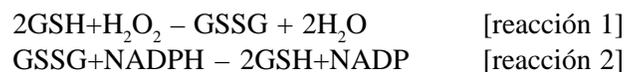
De cada caballo se obtuvieron 10 mL de sangre heparinizada e igual cantidad de sangre sin anticoagulante, ambas mediante venopunción yugular empleando el sistema de tubos al vacío (Vacutainer®, Franklin Lakes, New Jersey, USA). Para la obtención de las muestras se determinó la fecha de la carrera de cada uno de los caballos seleccionados, y las muestras fueron obtenidas así: 1) previo a la carrera: 12 horas

antes, 2) carrera: al momento de terminarla sin mediar un período de reposo del caballo, y 3) posterior a la carrera: 12 horas después.

Cada muestra tomada sin anticoagulante se centrifugó para separar el suero, empacándolo en tubos de reacción debidamente rotulados y se remitieron junto con la sangre heparinizada dentro de las siguientes 12 horas al Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Universidad de Caldas.

Análisis

En las muestras de sangre heparinizada se determinó la concentración de hemoglobina (Hb) mediante el método de la cianometahemoglobina; luego se tomaron 80 µL de sangre para hemolizarlos y determinar la actividad de GSH-Px en los eritrocitos. La actividad es determinada mediante la utilización de una técnica cinética compuesta NADPH-dependiente basada en determinar la oxidación de glutatión reducido (GSH) por peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en una reacción catalizada por la GSH-Px contenida en el hemolizado (reacción 1). El GSH se mantiene constante durante la reacción mediante la adición de glutatión reductasa (GR; EC 1.6.4.2) y fosfato de nicotinamida adenindinucleótido (NADPH), así se reduce el glutatión oxidado (GSSG) y el NADPH se oxida y consume durante la reacción (reacción 2).



La formación de GSH se monitorea durante 60 segundos mediante la disminución en la absorbancia al consumirse el NADPH a una l de 340 nm a una temperatura de 37°C. La diferencia en el consumo de NADPH entre el blanco de reacción y la muestra determina la actividad de GSH-Px, la que es proporcional a la disminución en la absorbancia de la reacción. Para esta determinación se introdujo una modificación de la técnica descrita inicialmente por Paglia y Valentine que consistió en permitir una estabilización de la reacción durante 30 segundos y posteriormente leer el cambio de absorbancia durante 2 minutos, además se utilizó cumene hidroperóxido en lugar de peróxido de hidrógeno como sustrato según lo descrito por (2,3). Para los análisis se utilizó un reactivo comercial (Ransel®, Laboratorios Randox Ltda., Crumlin, Irlanda del Norte, UK).

En el suero se determinó la actividad de AST y CK empleando para ellos reactivos comerciales (BioSystems SA, Costa Brava, Barcelona, España).

Análisis estadístico

Inicialmente se determinó el tipo de distribución de los datos para seleccionar el método estadístico para analizar los resultados obtenidos. Se obtuvieron el rango y las estimadas promedio (\bar{x}) y desviación estándar (DE); así mismo, se obtuvo el intervalo de confianza (IC) al 95% y el coeficiente de variación (CV) para cada una de las variables analizadas. Igualmente, se obtuvo la frecuencia de individuos con valores de AST, CK y GSH-Px alterados, considerando como patológicos aquellos valores superiores a 480 U/L, 200 U/L e inferiores a 100 U/g Hb, respectivamente (2,3).

Las comparaciones entre grupos, considerando como factor de variación el momento de la toma de la muestra con respecto a la carrera, se realizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) paramétrico o no paramétrico simple, según correspondiera, y se realizaron pruebas de comparación múltiple (Pruebas de Newman-Keuls o Dunn) para establecer las eventuales diferencias entre los grupos, se fijó como nivel de significancia $p < 0.05$.

Se obtuvieron correlaciones simples entre la actividad de AST y CK con GSH-Px para establecer el grado de asociación entre el esfuerzo muscular y el estado antioxidante evaluado mediante el balance metabólico nutricional de selenio, fijándose el mismo nivel de significancia.

Resultados

Hemoglobina

La concentración media de Hb previo a la carrera fue 13.8 ± 2.0 mg/dL, valor que se incrementó durante la carrera y posteriormente declinó hasta valores similares a los observados antes de la carrera, encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los diferentes momentos en los cuales se tomó la muestra (véase Figura 1).

Aspartato aminotransferasa

La actividad promedio de AST previo a la carrera fue 153 ± 77 U/L, la cual se incrementó durante la

carrera y continuó su aumento no observándose diferencias ($p > 0.05$) entre los períodos considerados para la toma de la muestra (véase Figura 2).

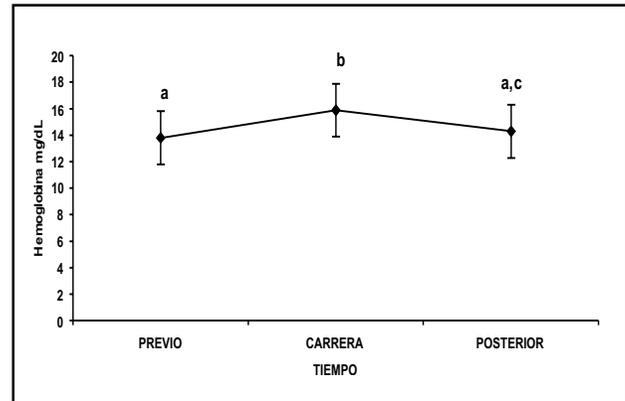


Figura 1. Concentración de hemoglobina ($\bar{x} \pm DE$) en caballos PSI antes, durante y después de una carrera de 1100 metros. Letras diferentes: $p < 0.05$.

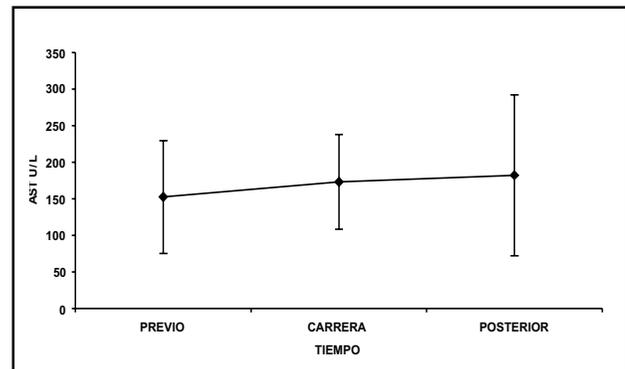


Figura 2. Actividad sérica de AST ($\bar{x} \pm DE$) en caballos PSI antes, durante y después de una carrera ($p > 0.05$) de 1100 metros.

Creatinquinasa

La actividad promedio previo a la carrera fue 320 ± 193 U/L, aumentando con el ejercicio hasta alcanzar valores cercanos a 705 U/L ($p < 0.05$) y declinó posteriormente (véase Figura 3). Previo a la carrera se observó un 70% de los animales con valores superiores a 200 U/L, frecuencia que aumentó al término y 12 horas después de terminada, alcanzando a afectar el 86% de los animales.

Glutación peroxidasa

El promedio en la actividad de GSH-Px previo a la carrera fue 585 ± 148 U/g Hb, incrementándose a su

término y 12 horas después ($p > 0.05$). Al correlacionar la actividad de AST y CK con el balance metabólico nutricional de Se evaluado mediante la determinación de la actividad eritrocitaria de la enzima antioxidante GSH-Px, no se obtuvieron correlaciones significativas (véase Tabla 1).

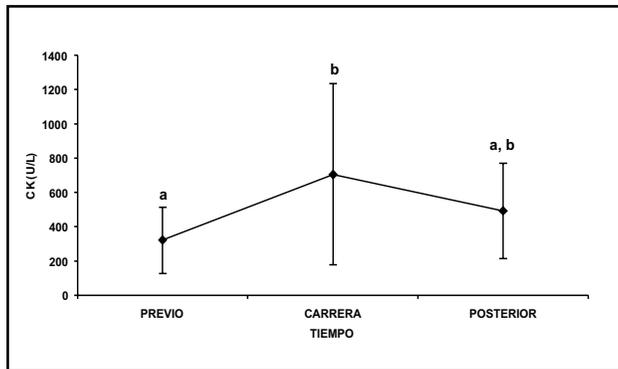


Figura 3. Actividad de CK ($\bar{X} \pm DE$) en caballos PSI antes, durante y después de una carrera de 1100 metros. Letras diferentes: $p < 0.05$

Tabla 1. Valores de correlación y probabilidad entre la actividad sérica de AST y CK con la actividad eritrocítica de GSH-Px en caballos PSI entrenados para carreras de 1100 metros.

	GSH-Px	p
AST	-0.08	0.50
CK	+0.09	0.41

Discusión

Los valores de hemoglobina se encontraban dentro del rango de referencia reportado para caballos PSI en reposo (13). Se observó una elevación en la concentración promedio de hemoglobina inmediatamente después de la carrera. Debe considerarse que los caballos PSI tienen valores de hematocrito y hemoglobina más altos que las demás razas equinas, haciéndolos más aptos para correr que los caballos de otras razas. La elevación de la hemoglobina guarda también relación con un aumento en la demanda de oxígeno por parte del músculo y la liberación de catecolaminas durante la carrera, lo que induce una esplenotomía con la consecuente liberación de eritrocitos a la circulación sanguínea induciendo así un aumento de la hemoglobina y el hematocrito (13).

Los valores de AST se encontraron por debajo del límite superior de referencia para la actividad de esta enzima (480 U/L), sin observarse diferencias significativas entre los tres períodos de muestreo. La AST es una enzima que no es 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 musculatura estriada esquelética.

El aumento de la actividad de la enzima con respecto al valor previo a la carrera, no fue significativo ($p > 0.05$, véase Figura 2), lo que podría estar indicando que la lesión muscular en los caballos de este estudio fue leve o que el ejercicio después de la carrera de 1100 metros no fue suficiente para inducir un mayor aumento de la actividad enzimática. Además, la AST logra su mayor actividad 24 horas después de finalizado el ejercicio (4,12); así, el hecho de tomar la muestra 12 horas después de finalizada la carrera, puede ser un tiempo insuficiente para que la enzima alcance su máxima actividad.

En otros estudios donde se ha empleado la actividad de AST como marcador de lesión muscular, se han observado resultados similares a los obtenidos en este trabajo, indicando que la actividad de esta enzima no se eleva a valores fuera de la referencia después de finalizado el ejercicio (4,17). Lo anterior estaría indicando una utilidad limitada de la determinación de AST como marcador de casos potenciales de rhabdomiolisis (16), siendo necesario acompañar el análisis de la actividad de esta enzima con otros indicadores. Pese a ello, cuando el caballo ha sido sometido a un período de descanso prolongado o no ha presentado con anterioridad episodios de rhabdomiolisis, la actividad de AST puede elevarse dependiendo de la magnitud del ejercicio (11,15).

Los valores de CK presentaron diferencias significativas entre el período previo y la carrera, lo que podría estar indicando algún grado de lesión muscular; no obstante, una elevación de la actividad de CK es compatible con la presentación de signos clínicos de lesión muscular severa (4). La magnitud de su incremento depende de la intensidad y duración del ejercicio y está primordialmente influenciada por el estado físico de los animales (7), la relación entre la concentración de catecolaminas y cortisol (16) y

factores medioambientales (4,11). El ejercicio induce cambios en la integridad 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 de la permeabilidad de la membrana (11,15).

La elevación de CK es más rápida que la de AST, alcanzando su máxima elevación entre 4 y 6 horas después de terminado el ejercicio (4,7,12). Lo anterior, estaría relacionado con los resultados que se obtuvieron en este estudio, donde se observó que la actividad de CK es mayor al momento de terminar la carrera y debido a una depuración plasmática más rápida que la observada para AST (4), sus valores descienden más rápidamente.

La CK también se puede encontrar elevada en otros casos diferentes a los de rhabdomiolisis, se han señalado como causantes de esta elevación la isquemia muscular, necrosis, decúbitos prolongados y ejercicios extenuantes (4). Por lo anterior, cuando se trata de interpretar valores de CK en equinos, debe tenerse en cuenta la historia clínica del paciente, la frecuencia de presentación de episodios clínicos de rhabdomiolisis y el grado de entrenamiento (4).

Como respuesta al ejercicio, la elevación de la actividad de AST y CK no se ha aclarado satisfactoriamente hasta el momento, pudiendo estar asociada a factores como 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 (1,11,16); concluyendo en algunas oportunidades que la elevación, especialmente de CK, es una manifestación del daño más que un indicador directo (4).

Las actividades de las enzimas AST y CK ofrecen una alternativa diagnóstica para la evaluación de las lesiones musculares en el caballo, pese a observarse en algunos estudios resultados contradictorios con respecto a la falta de relación entre el grado de elevación de la actividad enzimática y la magnitud de los signos clínicos observados en el animal (1). Se ha sugerido que la utilidad diagnóstica de estas enzimas estaría en la evaluación de pacientes que no han presentado signos de rhabdomiolisis en oportunidades anteriores a la realización del examen, mientras que su utilidad es limitada cuando el caballo ha presentado episodios previos (16).

Los caballos muestreados en el estudio presentaron valores superiores a 100 U/g Hb de GSH-Px, no encontrándose diferencias en la actividad entre los diferentes momentos de la toma de la muestra. Se ha indicado que los valores para la actividad de GSH-Px que se encuentran por encima de 100 U/g Hb son compatibles con un balance metabólico nutricional de Se adecuado, siendo deseable tener una actividad en eritrocitos por encima de 130 U/g Hb, habiéndose observado en este estudio una actividad de 585 ± 148 U/g Hb. El requerimiento de Se en la dieta para equinos de deporte se encuentra en 0.1 ppm, lo que puede lograrse con la suplementación con alimentos concentrados y la utilización de sales mineralizadas, tal como pudo observarse en el manejo de la alimentación de los caballos del hipódromo.

Se ha sugerido que durante el ejercicio hay una elevación importante de radicales libres que conllevan a la presentación de un estrés oxidativo. En trabajos realizados con otras especies, se ha observado que la evaluación del estado antioxidante no produjo diferencias entre los animales suplementados con antioxidantes y los no suplementados (10). Además, se observó que la elevación en la actividad de CK inducida por el ejercicio, puede no estar mediada por el estrés oxidativo, corroborándose con la falta de diferencias en el contenido de antioxidantes musculares entre los animales suplementados y los no suplementados.

La falta de relación entre la actividad de GSH-Px y las enzimas marcadoras de lesión muscular (véase Tabla 1), estaría indicando que la defensa antioxidante del músculo frente a una elevación repentina de los radicales libres dependería de otros sistemas de defensa que actúen en forma más inmediata y no en el tiempo como podría serlo la GSH-Px. No obstante, la deficiencia de GSH-Px puede inducir alteraciones musculares como miopatías de origen nutricional en el caballo conocidas como enfermedad de la grasa amarilla y enfermedad del músculo blanco (5,11). Esta afirmación requiere la realización de estudios posteriores que permitan determinar la concentración muscular de antioxidantes de acción más rápida como vitaminas, entre otros.

En consideración a las condiciones bajo las cuales se realizó este estudio, podría señalarse que la actividad de las enzimas AST y CK continúan siendo una herramienta diagnóstica útil para la evaluación de las lesiones musculares en los equinos, pero tienen como

limitante que no permiten predecir cuál es el riesgo potencial de presentación de la enfermedad en un caballo en particular mientras no se conozca la historia clínica del mismo.

Con respecto a la actividad antioxidante y su relación con la actividad de las enzimas AST y CK no hay resultados concluyentes, ya que no se observó asociación entre dichas variables, lo que señalaría que

la defensa antioxidante del músculo frente a un ejercicio fuerte y repentino, puede depender de otras sustancias diferentes a la GSH-Px. De otro lado, sí fue posible determinar que el balance metabólico nutricional de Se en los caballos sometidos a un manejo similar, es adecuado y podría mantener la integridad muscular disminuyendo el riesgo de presentación de degeneraciones musculares en caballos de carreras.

Agradecimientos

Los autores desean expresar sus agradecimientos a los propietarios y preparadores de los caballos que fueron utilizados para la realización de este estudio, y a la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados de la Universidad de Caldas por su apoyo financiero para culminar esta investigación.

Summary

Aspartate aminotransferase and creatin kinase activity and their relationship with glutathione peroxidase blood activity in Thoroughbred racehorses before and after a race of 1100 meters.

To describe the changes in the activity of aspartate aminotransferase (AST; EC 2.6.1.1), creatine kinase (CK; EC 2.7.3.2) and their relationship with glutathione peroxidase (GSH-Px; EC 1.15.1.1) in Thoroughbred racehorses trained to run a race of 1100 meters in a sand track, twenty nine horses were selected in the race track "Los Comuneros" located in Guarne (6°17'N-75°24'W), Antioquia. Non-heparinized and heparinized blood samples were taken from each horse, at rest, before exercise, after the race finished, and 12 hours after exercise. The concentration of hemoglobin and the activity of AST, CK and GSH-Px were determined. Data were analyzed by descriptive methods, and the comparisons among groups were made by ANOVA test. The frequency of values outside the reference range was obtained. The activity of AST was similar between rest and after the exercise ($p > 0.05$). The mean of CK activity before race was 320 ± 193 U/L, and reached up to 705 ± 528 U/L after race ($p < 0.05$). GSH-Px indicating an adequate selenium (Se) intake, and there was not any difference before or after race ($p > 0.05$). There was a lack of relationship between the activity of AST and CK in serum and GSH-Px blood activity. The evaluation of the activity of AST and CK in racehorses is a useful indicator of muscular injuries. The Se-status evaluated by means of GSH-Px activity was not related to the adaptation to exercise evaluated by means of serum activity of AST and CK, and the antioxidant activity of the muscle may be related to another kind of antioxidant defense during the exercise, but this suggestion requires further investigation.

Key words: *enzymes, exercise, muscle, oxidative stress, rhabdomyolysis.*

Referencias

1. Beech J. Chronic exertional rhabdomyolysis. *Vet Clin North Am: Eq Prac* 1997; 13:145-168.
2. Ceballos A, Wittwer F, Andaur M, Böhmwald H. Glutathión peroxidasa y superóxido dismutasa en equinos a pastoreo y su relación con la actividad de aspartato aminotrasferasa y creatinquinasa. *Arch Med Vet* 1997; 30:339-340.
3. Ceballos A, Wittwer M, Andaur M, Böhmwald H. Actividad sanguínea de glutathión peroxidasa y superóxido dismutasa en equinos en el sur de Chile

- mantenidos en pastoreo. Arch Med Vet 1997; 30:340-341.
4. 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; 155:295-304.
 5. Lofstedt J. White muscle disease of foals. Vet Clin North Am: Eq Prac 1997; 13:169-185.
 6. MacLeay JM, Sorum SA, Valberg SJ, Marsh WE, Sorum MD. Epidemiologic analysis of factors influencing exertional rhabdomyolysis in thoroughbreds. Am J Vet Res 1999; 60:1562-1566.
 7. MacLeay JM, Valberg SJ, Pagan JD, Xue JL, De La 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.
 8. MacLeay JM, Valberg SJ, Sorum SA, Sorum MD, Kassube T, et al. Heritability of recurrent exertional rhabdomyolysis in thoroughbred racehorse. Am J Vet Res 1999; 60:250-255.
 9. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. 25th ed. Stamford: Appleton&Lange, Stamford; 2000. 927p.
 10. Piercy RJ, Hinchcliff KW, Di Silvestro RA, Reinhart GA, Baskin CR, et al. Effect of dietary supplements containing antioxidants on attenuation of muscle damage in exercising sled dogs. Am J Vet Res 2000; 61:1438-1445.
 11. Reed SM, Bayly WM. Equine internal medicine. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000. 1092p.
 12. Robinson NE. Current therapy in equine medicine 4. Philadelphia: WB Saunders Company; 1997. 800 p.
 13. Rose RJ. Symposium on exercise physiology. Vet Clin North Am: Eq Prac 1985; 1: 461-476.
 14. Sellnow L. Exertional rhabdomyolysis. The Horse 1997(June); p:16-23.
 15. 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.
 16. Valberg S, Jonsson L, Lindholm A, Holmgren N. Muscle histopathology and plasma aspartate aminotransferase, creatine kinase and myoglobin changes with exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. Eq Vet J 1993; 25:11-16.
 17. Valentine BA, Hintz HF, Freels KM, Reynolds AJ, Thompson KN. Dietary control of exertional rhabdomyolysis in horse. J Am Vet Med Ass 1998; 212:1588-1593.