

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**TREINAMENTO DE CAVALOS DE ENDURO FEI*:
ABORDAGEM FISIOLÓGICA**

Nara Saraiva Bernardi
Médica Veterinária

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**TREINAMENTO DE CAVALOS DE ENDURO FEI*:
ABORDAGEM FISIOLÓGICA**

Nara Saraiva Bernardi

**Orientador: Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto
Coorientadora: Prof. Dra. Lina Maria Wehrle Gomide**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Medicina Veterinária (Clínica
Médica Veterinária)**

2013

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

NARA SARAIVA BERNARDI, nascida em São Paulo – SP, no dia 4 de agosto de 1986, filha de Walter Sebastião da Silveira Bernardi e Angela de Melo Saraiva. Médica Veterinária formada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista em janeiro de 2010. Mestre em Medicina Veterinária, área de concentração Clínica Médica Veterinária pela mesma instituição, atua nas áreas de Fisiologia do Exercício e Medicina Esportiva Equina. Participa de diversos projetos nas áreas de Clínica Médica e Cirurgia Veterinária, focados principalmente na compreensão da fisiopatogenia da Síndrome Cólica e da Laminite. Na área de Fisiologia do Exercício, o foco dos estudos são os exercícios de longa duração. A pesquisadora é responsável pelos testes de esforço progressivo, hemogasometria e biópsia muscular. Ministra palestras sobre o aparelho locomotor equino e suas afecções. Realizou diversos estágios na área de medicina esportiva equina e também um período de treinamento na École Veterinaire D'Alfort, na França, sob orientação do Professor Jean Marie Denoix, atualmente considerado o mais importante pesquisador da área. Também realizou estágio na Clinéquine da École Veterinaire de Lyon, onde aprofundou os seus conhecimentos.

Agradeço...

...inicialmente aos meus amados pais, Angela e Tião, pelo eterno apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

...ao meu querido orientador, Prof. Juca, que me orienta desde minhas iniciações científicas pelas oportunidades dadas, pela confiança, paciência e conselhos que me fizeram crescer pessoalmente e profissionalmente.

...à minha equipe de trabalho Lina, Deborah (Derbys), André (Rufião), Ana Maria (Aninha), Kamila, Vinícius, Álvaro (Marruco), Cristina, Samira, Daniela (Tekila), Gabriela (Fiinha), Luana (Pêga) pela ajuda e principalmente pela amizade.

...à Flora pela ajuda imensurável no processamento das biópsias musculares, e também ao Walter (Pirigosu), Elis e Edmar.

...à Josiane Lage, pela ajuda na realização dos exames ultrassonográficos.

...aos Professores Guilherme de Camargo Ferraz e Antônio de Queiroz Neto, da FCAV – UNESP, inicialmente pela amizade e, por terem aberto as portas do departamento disponibilizando equipe e equipamentos e também pelos esclarecimentos indispensáveis para a realização deste trabalho.

...ao Prof. Dr. Marcos Jun Watanabe, da FMVZ – UNESP – Botucatu, pelos conselhos e correções.

...às minhas filhas caninas tão amadas Cacau e Dakota, pela companhia, carinho e olhar doce em todos os momentos!!!!

...a todos os animais que fizeram e fazem parte da minha vida, especialmente as éguas Chantal e Amora e ao cavalo Walker, e as cadelas Mel, Jujuba e Laika, que me fizeram amar os animais incondicionalmente e, a dedicar uma vida inteira a eles.

...às minhas queridas amigas Raquel e Ana Paula, pela ajuda, paciência e principalmente pela sincera amizade.

...aos amigos da Fazenda Serra da Prata, Francisco Arruda, Tony Malta e Fernando pela cessão dos cavalos, e de todo o espaço para que este trabalho fosse realizado.

...aos cavalos Acaso, Al Dahrmey, Aman, Aristarco, El Fayum, El Kebir, Iarin, Jellaby, Lagan, Marchella, Shadid sem os quais este trabalho não existiria...

...à FAPESP pelo apoio a pesquisa e bolsa concedida.

SUMÁRIO

	Página
SUMÁRIO.....	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
 CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	
1.1. Introdução.....	1
1.2. Objetivos específicos.....	2
1.3. Revisão de Literatura.....	3
1.4. Referências.....	17
 CAPÍTULO 2 - TESTES INCREMENTAIS REALIZADOS A CAMPO NA AVALIAÇÃO DO TREINAMENTO DE EQUINOS DE ENDURO FEI*	
Resumo.....	31
2.1. Introdução.....	32
2.2. Material e Métodos.....	35
2.2.1. Animais.....	36
2.2.2. Treinamento.....	36
2.2.4. Variáveis Sanguíneas.....	37
2.2.5. Biópsias Musculares.....	39
2.2.6. Análises Histológicas.....	40
2.2.7. Avaliação Ultrassonográfica.....	41
2.2.8. Enduro FEI*.....	41
2.2.9. Análise Estatística.....	42
2.3. Resultados.....	42
2.3.1. Treinamento.....	42
2.3.2. Teste incremental.....	42
2.3.3. Frequência Cardíaca.....	43
2.3.4. Hemoglobina e Hematócrito.....	44
2.3.5. Glicose e Lactato.....	44
2.3.6. Eletrólitos, gases sanguíneos e proteína total.....	47
2.3.7. Biópsia Muscular.....	50

2.3.8. Avaliação Ultrassonográfica.....	52
2.3.9. Enduro FEI*	53
2.4. Discussão.....	54
2.5. Conclusão.....	61
2.6. Referências.....	62

CAPÍTULO 3 - EQUILÍBRIO ÁCIDO BASE E HIDROELETROLÍTICO EM EQUINOS SUBMETIDOS À UMA SIMULAÇÃO DE ENDURO FEI*

Resumo.....	71
3.1. Introdução.....	72
3.2. Material e Métodos.....	74
3.2.1. Animais.....	74
3.2.2. Treinamento.....	75
3.2.3. Teste de longa distância.....	76
3.2.4. Análise Estatística.....	78
3.3. Resultados.....	78
3.3.1. Teste de longa distância.....	78
3.3.2. Exame físico e perda de água.....	78
3.3.3. Hemogasometria venosa.....	79
3.3.4. Lactato sanguíneo.....	84
3.4. Discussão.....	85
3.5. Conclusão.....	90
3.6. Referências.....	91

TREINAMENTO DE CAVALOS DE ENDURO FEI*: ABORDAGEM FISIOLÓGICA

RESUMO - O presente estudo avaliou o condicionamento físico de equinos por meio de alterações musculares e metabólicas observadas antes e após treinamento de resistência, correlacionando tais alterações com o desempenho durante uma competição de enduro. Onze equinos da raça Puro Sangue Árabe foram submetidos a dois testes incrementais (TIs) a campo para determinação das concentrações sanguíneas de lactato, e hemogasometria antes e após período de três meses de treinamento em trilha com duas sessões semanais predominantemente ao passo, e uma sessão semanal com predomínio do galope. Antes e após o treinamento também foi realizada avaliação ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi* e *Gluteus medius* e, avaliação histológica e histoquímica do músculo *Gluteus medius* colhido por biópsia percutânea. Após o término do período de treinamento, os animais realizaram um teste de resistência de 80 km a campo. Foram colhidas amostras de sangue no repouso, durante a competição e no período de recuperação, para realização de análises hematológicas, bioquímicas e hemogasométricas. As variáveis estudadas foram submetidas à Análise de Variância e os valores médios comparados pelo teste *Tukey* ($P < 0,05$). Foram encontradas diferenças nas concentrações de lactato entre os testes, os valores máximos de lactato no TI1 foram superiores aos encontrados no TI2, esse aumento foi seguido por diminuições nos valores do pH. A área total relativa das fibras musculares do tipo IIX aumentou em detrimento das fibras do tipo I. Durante o enduro de 80 km, os cavalos apresentaram quadro de alcalose metabólica mista, por meio do desenvolvimento de alcalose metabólica hipoclorêmica e alcalose respiratória. Baixas concentrações sanguíneas de lactato demonstraram predomínio do metabolismo aeróbico durante todo o enduro, como esperado para esta modalidade. Sugeriu-se que as alterações musculares e metabólicas observadas antes e após o treinamento foram possivelmente relacionadas, demonstrando que o protocolo estabelecido foi efetivo em preparar os animais para uma competição de enduro.

Palavras-chave: biópsia muscular, enduro, equino, gases sanguíneos, lactato, ultrassom

TRAINING OF FEI* ENDURANCE HORSES: PHYSIOLOGICAL APPROACH

ABSTRACT – The purpose of the present study was to assess the physical conditioning of horses through muscle and metabolic variables evaluated before and after one resistance training program, as well as correlate these findings with performance during an endurance competition. Eleven Arabian horses performed two incremental exercise tests (IETs) in the field for determination of blood lactate and blood gases. The tests were carried out before and after a training program of 3 months duration, consisted by two weekly sessions on track predominantly walking, and one weekly session with a predominance of canter. After the end of training and the second IET, the horses participated of an 80 km endurance test (FEI*). Blood samples were collected during competition and at recovery phase to analyze hematological, biochemical and blood gases. Ultrasonographic measurements of the *Longissimus dorsi* and muscles were also harvested before and after training. Furthermore, muscular tissue was obtained from *Gluteus medius* through percutaneous biopsy for microscopic and histochemical analysis. The variables were subjected to ANOVA and mean values compared by Tukey test ($p < 0.05$). Maximal lactate values increased during the second IET comparing to the first IET, and this increasing was followed by decreased values of pH. The total relative area of type IIX muscular fibers increased over type I fibers. Ultrasound did not show differences. During the 80 km endurance, horses showed a mixed alkalosis, through development of hypochloremic metabolic alkalosis and respiratory alkalosis. A predominance of aerobic metabolism throughout the track was detected via lactate analysis, as expected for this modality. It was suggested that muscle and metabolic changes observed before and after training were possibly related to each other, demonstrating that the protocol was effective to prepare the horses for the proposed endurance competition.

Keywords: blood gases, endurance, horse, lactate, muscle biopsy, ultrasound

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2 – Testes Incrementais realizados a Campo na avaliação do treinamento de equinos de Enduro FEI*

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão da média da FC (bpm) durante os testes de esforços progressivos, antes (TI1) e depois (TI2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....	43
Tabela 2. Valores médios $\pm$ desvio padrão da média do hematócrito (%) e hemoglobina g/dL) durante e após os testes de esforços progressivos, antes (TI 1) e depois (TI 2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....	44
Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvio padrão da concentração de glicose (mg/dL) durante e após os exercícios testes incrementais, antes (ETI 1) e depois (ETI 2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....	44
Tabela 4. Valores médios $\pm$ desvio padrão da média do lactato (mmol/L) durante e após os testes de esforços progressivos, antes (TI1) e depois (TI2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....	45
Tabela 5. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis hemogasométricas pH, pressão de dióxido de carbono (mmHg), pressão de oxigênio (mmHg), saturação de oxigênio (%), excesso de base e temperatura (°C) durante e após os exercícios testes incrementais, antes (ETI 1) e depois (ETI 2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....	48
Tabela 6. Valores médios $\pm$ desvio padrão da média dos eletrólitos cloreto (mmol/L), sódio (mmol/L), bicarbonato (mmol/L), potássio (mmol/L), cálcio ionizado (mmol/L) e proteína (g/dL) durante e após a realização dos testes de esforços progressivos, antes (TI 1) e depois (TI 2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....	49

Tabela 7. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis obtidas por meio de biópsia muscular percutânea antes e após o período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.50

Tabela 8. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis obtidas por meio de avaliação ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi* antes e após o período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.52

Tabela 9. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis obtidas por meio de por meio de avaliação ultrassonográfica do músculo *Gluteus medius* antes e após o período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....53

CAPÍTULO 3 – Equilíbrio ácido base e hidroeletrolítico em equinos submetidos a uma simulação de enduro FEI*

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis hemogasométricas pH, pressão de dióxido de carbono (mmHg), pressão de oxigênio (mmHg), saturação de oxigênio (%), hematócrito (%), hemoglobina (g/dL), excesso de base e temperatura retal (°C) durante e após o exercício de longa duração. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....80

Tabela 2. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis eletrolíticas sódio (mmol/L), potássio (mmol/L), cálcio ionizado (mmol/L), bicarbonato (mmol/L) e glicose (mg/dL) durante o exercício de longa duração. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....82

Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvio padrão da variável cloreto (durante e após o exercício de longa duração. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....83

Tabela 4. Valores médios $\pm$ desvio padrão da variável proteína durante e após o exercício de longa duração. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....84

Tabela 5. Valores médios $\pm$ desvio padrão da variável lactato durante e após o exercício de longa duração. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....85

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2 – Testes Incrementais realizados a Campo na avaliação do treinamento de equinos de Enduro FEI*

- Figura 1.** Linha do tempo demonstrando o protocolo de exercício teste realizado por equinos antes e após o treinamento, o desenho das seringas representa os momentos onde realizou-se coletas sanguíneas. FCAV/UNESP, Jaboticabal – 2013.....38
- Figura 2.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM da FC (bpm) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício incremental em testes realizados antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....43
- Figura 3.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de glicose (mg/dL) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício incremental em testes realizados antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....45
- Figura 4.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de lactato (mmol/L) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício incremental em testes realizados antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....46
- Figura 5.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM dos valores calculados mediante regressão exponencial para V1,5, V2 e V4 (km/h), de equinos obtidos durante realização de exercício incremental em testes realizados antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....46
- Figura 6.** Cortes de fragmento do músculo *Gluteus medius* de equino, antes (A) e após (B) período de 90 dias de treinamento corados por histoquímica para análise da atividade da NADH. Fibras tipo I: roxo escuro, tipo IIA: roxo intermediário e tipo IIX: roxo claro; 200X.. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....50
- Figura 7.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM da frequência(%) de cada tipo de fibra muscular (I, IIA e IIX) de equinos colhido por meio de biópsia percutânea antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....51

- Figura 8.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM da área de secção transversal (μm^2) de cada tipo de fibra muscular (I, IIA e IIX) de equinos colhido por meio de biópsia percutânea antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....51
- Figura 9.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM da área total relativa(%) ocupada por cada tipo de fibra muscular (I, IIA e IIX) de equinos colhido por meio de biópsia percutânea antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....51
- Figura 10.** Imagem ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi* de um equino antes (A) e após (B) o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....52
- Figura 11.** Imagem ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi* de um equino antes (A) e após (B) o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....53

CAPÍTULO 3 – Equilíbrio ácido base e hidroeletrólítico em equinos submetidos a uma simulação de enduro FEI*

- Figura 1.** Linha do tempo demonstrando os momentos de coleta sanguínea antes, durante e após a realização do enduro. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....76
- Figura 2.** Valores médios da perda de água em cada anel de equinos durante realização de um enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....79
- Figura 3.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM do pH durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....81
- Figura 4.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM da $p\text{CO}_2$ (mmHg) durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013...81
- Figura 5.** Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de bicarbonato (mmol/L) durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de

letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P<0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.82

Figura 6. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de glicose (mg/dL) durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P<0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.83

Figura 7. Variação dos valores médios $\pm$ EPM do cloreto (mmol/L) durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P<0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....84

Figura 8. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de lactato sanguíneo durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P<0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....85

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1.1. Introdução

O Brasil possui a terceira maior tropa equina do mundo e ocupa a sétima posição entre os promotores de eventos equestres internacionais, atrás apenas de países com tradição no hipismo a longa data, como França, Inglaterra, Bélgica e Estados Unidos. O último levantamento realizado sobre o agronegócio cavalo diz que este movimenta cerca de R\$ 7,3 bilhões anualmente e, adicionalmente estima-se que 3,2 milhões de pessoas trabalham nesta indústria, somando os empregos diretos e indiretos (SOUZA LIMA, 2006).

A prática de esportes equestres vem aumentando intensamente no Brasil e no mundo, sendo os equinos vistos cada vez mais como atletas e submetidos a intensos protocolos de treinamento visando aperfeiçoar seu desempenho físico. Independentemente da atividade esportiva ou da espécie, a habilidade atlética é determinada por quatro fatores principais: genética, ambiente, saúde e treinamento. Destes quatro fatores, depois dos fatores genéticos, o treinamento seria a variável mais importante para determinar o sucesso desportivo do atleta hígido. Neste sentido, os programas de treinamento de equinos devem objetivar o aumento da capacidade do cavalo ao exercício, postergar o tempo de início das manifestações de fadiga, melhorar o desempenho através de aumentos na destreza, força, velocidade e resistência do indivíduo, além de diminuir os riscos de lesões.

Assim sendo, o papel do médico veterinário é avaliar o treinamento por meio da mensuração de variáveis fisiológicas que se alteram com o exercício para verificar se o programa de treinamento estabelecido foi realmente adequado, com o intuito principal de evitar lesões que culminariam com a retirada do animal do esporte.

A fisiologia do exercício em equinos refere-se aos estudos de como um cavalo responde ao exercício, e como essas respostas são modificadas após diferentes intervenções. Estas intervenções incluem treinamento, períodos de descanso (destreinamento) e mudanças na dieta. Estudos de fisiologia do exercício frequentemente envolvem medições da temperatura corporal, frequência cardíaca

(FC), concentração sanguínea de lactato e consumo de oxigênio no cavalo em exercício. Estas medições ajudam os cientistas a descrever a intensidade de exercício, e são fundamentais para a maioria das medidas de condicionamento físico. Em centros de formação dedicados à preparação e acompanhamento de atletas de elite humanos estas medições são frequentemente usadas para orientar a intensidade do treinamento, e para demonstrar melhorias no condicionamento físico individual (EVANS, 2000).

A presente proposta se baseia no fato de que poucos trabalhos foram realizados em condições reais de campo, com o intuito de avaliar conjuntamente as variáveis orgânicas que sofrem alterações em decorrência do exercício e treinamento, por meio de dois testes incrementais e um exercício de longa duração. Outrossim, estudo envolvendo conjuntamente variáveis hematológicas, hemogasométricas e avaliações musculares ainda não foi realizado.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o condicionamento físico de equinos por meio de avaliações morfofuncionais da musculatura, assim como de parâmetros metabólicos antes e após treinamento de resistência. Ademais, o estudo se complementa com a avaliação do desempenho dos mesmos animais durante uma competição de enduro de 80 km.

Hipotetizando que os testes incrementais, a biópsia e a avaliação ultrassonográfica da musculatura esquelética dos equinos mostrem-se eficazes na avaliação a campo do treinamento de equinos, este estudo servirá de base para a orientação conjunta de veterinários e treinadores sobre como avaliar adequadamente um treinamento por meio de testes realizados a campo.

1.2. Objetivos específicos

- Avaliar a eficácia de um treinamento de resistência a campo por meio de dois testes incrementais, realizados antes e após o período de 90 dias de treinamento;
- Analisar características do tecido muscular obtido por meio de biópsia do músculo *Gluteus Medius* realizada antes e após o treinamento de resistência para realização de uma prova de enduro FEI*;

- Analisar variáveis metabólicas de equinos obtidas durante testes incrementais, realizados antes e após o treinamento de resistência para realização de uma prova de enduro FEI*;
- Realizar medidas dos músculos *Gluteus medius* e *Longissimus dorsi* de equinos da raça Puro Sangue Árabes submetidos a treinamento de resistência, por meio de avaliação ultrassonográfica;
- Avaliar alterações no equilíbrio ácido base e hidroeletrolítico em equinos submetidos a uma prova de enduro com 80 km de extensão.

1.3. Revisão de literatura

As provas equestres podem ser classificadas em dois grupos: as que exigem grande potência muscular e as que requerem resistência (PRINCE et al., 2002). Considerando os extremos, de um lado estão corridas disputadas por cavalos da raça Quarto de Milha, com extensões ao redor de 400 metros. Do outro lado encontram-se as provas de enduro, com extensões de até 160 km, vencidas de forma costumaz por equinos da raça Puro Sangue Árabe (LACERDA-NETO, 2004). As necessidades metabólicas destes dois tipos de atletas são marcadamente distintas, visto que as provas de potência exigem rápida produção de energia pela fibra muscular (HINCHCLIFF et al., 2002) e as provas de resistência tem como exigência estrita, além da grande demanda energética, a mobilização de inúmeros sistemas de regulação da homeostasia.

Durante o exercício, respostas coordenadas dos sistemas corpóreos determinam a participação das vias aeróbias e anaeróbias para a síntese de ATP, manutenção do equilíbrio ácido base e da temperatura corporal (ART & VAN ERCK, 2008). Com o início do exercício as catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) atuam no fígado e músculos aumentando a taxa de quebra do glicogênio (glicogenólise) e, aumentando a glicose circulante (McKEEVER, 2002).

A energia necessária para a contração muscular é obtida por meio da hidrólise do ATP, liberando fosfato inorgânico, por meio da reação de hidrólise do ATP, abaixo representada:



As fontes para obtenção de ATP são a glicose, glicogênio, fosfocreatina, aminoácidos e ácidos graxos livres. A energia fornecida dessa equação é utilizada para manutenção da temperatura corpórea, e também no metabolismo de células nervosas e musculares, na distribuição de sódio e potássio pelo corpo e, na contração e relaxamento das células nos músculos em atividade. Sem um fornecimento adequado de energia, os filamentos musculares não podem ser energizados, as células não podem relaxar rapidamente, e o cálcio não pode ser "bombeado" para o seu local de armazenamento (retículo sarcoplasmático) no interior das células do músculo esquelético (EVANS, 2000). A produção de ATP é muito mais eficiente na presença do que na ausência de oxigênio. O metabolismo anaeróbico da glicose, apesar de ser menos eficiente que o aeróbico, representa um mecanismo rápido e importante na geração de energia (GOLLNICK et al., 1986).

A transdução da energia potencial para energia cinética requer o transporte do oxigênio da atmosfera para o interior das células musculares em trabalho, onde será utilizado nas vias metabólicas gerando ATP para ser utilizado como combustível. A adaptação ao exercício requer a coordenação de diversos sistemas, incluindo o respiratório, cardiovascular, muscular, tegumentar, renal, hepático, e órgãos do trato digestório (McKEEVER, 2002).

O sistema endócrino coordena a mobilização e utilização dos carboidratos e ácidos graxos livres. A necessidade de rápido fornecimento de substratos metabólicos para servirem de combustível para realização do exercício e prevenir fadigas é facilitado por disparos na atividade do sistema nervoso simpático aumentando a liberação de catecolaminas pela adrenal. O grau dessas respostas varia de acordo com a intensidade e duração do exercício.

Imediatamente após o início do exercício, as reservas de oxigênio na hemoglobina e mioglobina, e também os estoques de ATP e creatina fosfato (CP) são utilizados. Se houver oxigênio disponível o suficiente, ele reoxidará a maior parte do NADH_2 produzido e, a produção de energia continua principalmente através das vias aeróbias, porém se a demanda energética aumenta, haverá um declínio na fração ATP/ADP, fornecendo um estímulo contínuo para a via anaeróbia glicolítica, com um consequente aumento no NADH_2 , piruvato e lactato (FERRAZ et al., 2006).

O lactato não é apenas o produto final da glicólise, mas também um substrato oxidável (GLADDEN, 2004). O lactato é produzido nas fibras musculares glicolíticas (tipo II) e é oxidado no coração e nas fibras oxidativas (tipo I), e utilizado no fígado, na gliconeogênese (BONEN, 2001). Nos equinos, o lactato é transportado principalmente através das proteínas denominadas transportadores monocarboxilatos (MCT). O movimento de saída de lactato de uma célula muscular ou hemácia para o plasma e vice versa é realizado através desses transportadores, e cada molécula de lactato transportada carrega com ela um próton (PÖSÖ, 2002). Catorze isoformas de MCT foram identificadas e aparentemente duas são as principais pelo transporte do lactato na musculatura, MCT1 e MCT4, responsáveis respectivamente pela captação e extrusão das moléculas de lactato (BROOKS, 2000). Um estudo demonstrou que o treinamento de alta intensidade aumenta a concentração dessas isoformas na musculatura de equinos, otimizando o transporte do lactato durante o exercício (KITAOKA et al., 2011).

Para a quantificação do esforço dispendido por cavalos durante a atividade esportiva, é necessário determinar a intensidade e duração do exercício para melhor compreensão das mudanças nas variáveis fisiológicas (FERRAZ et al., 2010).

Especificamente, o estabelecimento de um programa de treinamento deve considerar a intensidade do exercício a ser imposta ao atleta, ou seja, a sobrecarga de esforço a qual serão submetidos os diferentes sistemas orgânicos (POWERS & HOWLEY, 1997). As variáveis típicas que refletem a sobrecarga incluem intensidade, duração e frequência do exercício (ISLER et al., 1982), além do desenvolvimento das habilidades próprias de cada modalidade (especificidade).

Para orientar o estabelecimento de tais princípios, considera-se a utilização de alguns parâmetros na avaliação do condicionamento e determinação da carga de trabalho. Dentre estes, destaca-se a dosagem do lactato, o qual tem sido o norteador de diferentes programas de treinamento a campo (COROUCÉ et al., 1997; GOMIDE, 2006; SILVA et al., 2007; CAMPBELL, 2011) ou em esteiras rolantes sob condições controladas (WERKMANN et al., 1996; TRILK et al., 2002; FERRAZ, 2006).

Durante o exercício, ocorre uma relação exponencial entre a concentração de lactato e a velocidade (SEEHERRMAN & MORRIS, 1990). A curva estabelecida pelas

concentrações sanguíneas de lactato determinadas de forma seriada em velocidades crescentes é denominada curva velocidade-lactato. A inclinação desta curva reflete o padrão metabólico predominante em intervalos subsequentes de velocidades crescentes e seu ponto de inflexão é denominado limiar anaeróbico (LA) (BAYLY, 1986). O limiar anaeróbio também pode ser definido como a máxima intensidade sustentável de um exercício no qual o consumo de oxigênio fornece a maior parte do requerimento energético (EVANS, 2000) e reflete o ponto onde ocorre a troca da predominância do metabolismo aeróbico para metabolismo anaeróbico (WASSERMAN et al., 1973). A inflexão da curva velocidade-lactato reflete o início do desequilíbrio no metabolismo de produção e remoção do lactato, indicando o início do acúmulo do lactato sanguíneo (em inglês “OBLA”, Onset of blood lactate accumulation) (MAZZEO et al., 1986). Supunha-se que a Máxima Fase Estável do Lactato (MFEL), definida como a máxima intensidade do exercício em que a concentração de lactato não aumenta além da concentração obtida no começo de um exercício de carga constante (TEGBUR et al., 1993), seria a intensidade de exercício na qual ocorre um estado estacionário dinâmico entre a produção e a remoção do lactato sanguíneo, sem que ocorra seu acúmulo (HECK et al., 1985). Todos esses conceitos ainda são bastante controversos. Estudos mais recentes demonstraram que para equinos o estado de equilíbrio ocorre na $V_{1,5}$ ou V_2 , ou seja, velocidade na qual a concentração de lactato é igual a 1,5 ou 2 mmol/L, respectivamente (LINDNER, 2010).

O limiar de lactato pode ser definido como o ponto onde o equilíbrio dinâmico entre a produção, utilização e remoção do lactato é perdido em decorrência do excesso de produção, e assim, as concentrações de lactato começam a crescer exponencialmente. O limiar de lactato relaciona-se ao ponto de inflexão da curva de glicose plasmática, confirmando que a glicose pode ser utilizada como indicador da capacidade aeróbia de cavalos (FERRAZ et al., 2008).

A realização e a manutenção da atividade física dependem da integração de diversos sistemas orgânicos, como citado anteriormente. Entretanto, não ocorre sem que haja produção de energia pela fibra muscular. A musculatura esquelética dos equinos é altamente desenvolvida, especialmente em raças atléticas. Na maioria dos mamíferos, 30 a 40% do peso corpóreo é constituído por músculos, já no cavalo de

corrida, por exemplo, esse valor sobe para mais da metade do peso corpóreo (55% em cavalos Puro Sangue Inglês) (GUNN, 1987). A baixa porcentagem de massa gorda e alta porcentagem de massa muscular refletem a adaptação pela qual esses animais passaram para realizar esportes de resistência e também de potência (KEARNS et al., 2002a). O fluxo sanguíneo muscular de um cavalo se exercitando no seu consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) é estimado em 78% do débito cardíaco total (ARMSTRONG et al., 1992). O oxigênio e outros metabólitos atingem as fibras musculares esqueléticas através dos sistemas respiratório, cardiovascular e hematológico e, em contra partida, os músculos produzem energia na forma de adenosina trifosfato (ATP) que, através do maquinário contrátil, é convertido em trabalho mecânico (POOLE et al., 2002).

O tecido muscular dos equinos possui alta plasticidade, permitindo-lhe adaptações de desenvolvimento rápido a estímulos externos, como por exemplo, o treinamento físico. Devido a essa característica, as biópsias musculares fornecem informações a respeito do efeito do exercício, treinamento, fornecimento de alguma dieta específica, não somente na musculatura, mas também a respeito do substrato energético que está sendo utilizado no metabolismo (VOTION et al., 2007).

A técnica de biópsia muscular por agulha percutânea foi introduzida por Bergström em humanos em 1962 e, desde 1974, tem sido utilizada para avaliação do músculo esquelético equino (LINDHOLM & PIEHL, 1974). A biópsia muscular fornece informações que auxiliam no diagnóstico e prognóstico das afecções musculares, na avaliação do treinamento atlético e na compreensão das adaptações que ocorrem durante o treinamento (WHITE & SNOW, 1987). É uma técnica simples e segura, e pode ser realizada durante o período de treinamento sem causar complicação ou efeito negativo no rendimento do cavalo (LINDHOLM & PIEHL, 1974; SNOW & GUY, 1976; SNOW & VALBERG, 1994; RIVERO, 1999).

É imprescindível que haja padronização do local e profundidade onde será coletada a biópsia visto que a musculatura esquelética equina possui uma distribuição heterogênea dos tipos de fibras musculares dentro do músculo (D'ANGELIS et al., 2008; RIVERO et al., 1993; SEWELL et al., 1994).

A escolha do músculo para a realização da biópsia deve ser criteriosa. Muitos autores utilizam o músculo glúteo médio (D'ANGELIS et al., 2005, MARTINS et al.,

2007) ou o semitendinoso (DINGBOOM et al., 2002) por serem importantes para a locomoção. Porém se o objetivo for analisar músculos que não sofrem alterações em decorrência do esforço físico podem ser usados o masseter ou tríceps braquial (KIM et al., 2005).

O músculo glúteo médio está localizado na região da garupa do cavalo e é o músculo mais pesado do membro pélvico (PAYNE et al., 2005). Sua função é estender a articulação do quadril e abduzir a coxa (SISSON, 1986). No cavalo esse músculo possui grande importância na locomoção devido à sua ação propulsora e tem sido utilizado em estudos de desempenho atlético para avaliar o grau de adaptação muscular ao treinamento. É bastante ativo em todos os andamentos e demonstrou, em diversos estudos, adaptação considerável ao treinamento. Sua localização facilita o acesso e o volume de sua massa é representativo (LINDHOLM & PIEHL, 1974; LINDHOLM et al., 1974; ESSÉN-GUSTAVSSON et al., 1989; BAYLY, 1991; RIVERO et al., 1993). A ausência de grandes artérias, veias e nervos também são fatores decisivos para a escolha desse músculo (HENCKEL, 1983; RIVERO et al., 1989).

Por meio de técnicas histoquímicas, é possível a diferenciação de três tipos de fibras consideradas “puras” no equino. As fibras do tipo I, IIA e IIX. Além dessas, foram demonstradas a ocorrência de dois tipos “híbridos” de fibras. Fibras do tipo C, que correspondem a fibras intermediárias entre I e IIA, e a tipo IIAX-XA, que são fibras intermediárias ou de transição entre IIA e IIX (RIVERO et al., 1996). De acordo com estudos de Serrano & Rivero (2000), a isoforma IIB é expressa em tecido muscular de humanos e ratos, porém não em equinos. Portanto, nos equinos são encontradas cinco tipos de fibras: I, C, IIA, IIAX-XA e a IIX. As fibras híbridas estão num estágio intermediário de um processo de transição, sendo que, as fibras híbridas C e IIAX-XA estão presentes em tecido muscular que apresentam processo de interconversão (SERRANO & RIVERO, 2000).

Em geral, as fibras do tipo I têm a maior capacidade oxidativa e estoques lipídicos, com menor capacidade glicolítica e estoques de glicogênio. Em contraste, as fibras do tipo IIX têm menor capacidade oxidativa e quantidade de lipídios e maior capacidade glicolítica e estoque de glicogênio. Fibras do tipo IIA são intermediárias nessas funções (RIVERO et al., 1999; QUIROZ-ROTHER & RIVERO, 2001).

Em repouso, fibras do tipo I são recrutadas principalmente para manutenção da postura e são mais encontradas em regiões mais profundas dos músculos. Seu tamanho menor, estoques lipídicos elevados, capacidade oxidativa elevada e alta densidade capilar as tornam idealmente adequadas para resistir à fadiga através do metabolismo oxidativo (VOTION et al., 2007).

A grande área de corte transversal das fibras do tipo IIX, bem como a seu elevado estoque de glicogênio e capacidade glicolítica, tornam-as idealmente adequadas para exercícios de intensidade máxima. São mais encontradas nas porções superficiais do músculo, indicando que esta região é mais envolvida com exercícios de curta duração e alta intensidade. No entanto, apesar de sua alta força, as fibras do tipo IIX são menos resistente à fadiga do que as fibras do tipo I (RIVERO et al., 1999; SERRANO et al., 2000).

A tipificação das fibras do músculo esquelético equino foi primariamente baseada em análises histoquímicas, que revelaram a estabilidade ácida e alcalina da atividade adenosina trifosfatase miofibrilar (mATPase) em cada tipo de fibra (LINDHOLM & PIEHL, 1974; SNOW & GUY, 1976). O método de diferenciação dos tipos de fibras no músculo estriado esquelético, baseado no grau de inibição da atividade mATPase seguindo pré-incubação alcalina e ácida, foi primeiramente desenvolvido por PADYKULA & HERMAN (1955), e posteriormente modificado por BROOKE & KAISER (1969) e GUTH & SAMAHA (1969,1970). Fibras de contração lenta (tipo I) possuem baixa atividade específica da mATPase e possuem menor área de secção transversal em comparação com fibras de contração rápida (tipo II).

Avaliações de atividades enzimáticas por meio de colorações histoquímicas e tintoriais revelam capacidades metabólicas distintas em fibras de diferentes tipos. A atividade das enzimas mitocondriais, tais como nicotinamida adenina dinucleotídeo redutase (NADH) ou succinato desidrogenase (SDH), facilmente demonstram a capacidade oxidativa das fibras musculares esqueléticas (VOTION et al., 2007).

A miosina é a proteína mais abundante e é o componente primário do filamento espesso das miofibrilas, considerada como o marcador mais apropriado para os vários tipos de fibras musculares (PETTE & STARON, 1997). A imunohistoquímica permite a tipificação das fibras musculares usando anticorpos que discriminam as várias isoformas de miosina. Esta metodologia tem revelado

novos tipos de fibras e também demonstrado que uma fibra pode expressar duas isoformas de miosina, ou seja, são fibras intermediárias (DeNARDI et al., 1993). É uma técnica segura e precisa, mas sensível à pequenas variações em seu procedimento. O treinamento de enduro em cavalos induz mudanças conformacionais na expressão de isoformas de miosina, envolvendo transformações das isoformas de contração rápida para isoformas de contração lenta. Essas modificações dependem da duração e aumento de atividade, sendo revertido após cessar o estímulo (SERRANO et al., 2000).

O potencial de força de um músculo é proporcional ao seu peso. Quanto maior for o músculo, maior será a sua produção de energia (KEARNS et al., 2002b). A máxima produção de força muscular está relacionada com a área de secção transversal do músculo (HETTINGER & MULLER, 1953). Nesse sentido, quanto mais força um músculo puder gerar, maior será a sua produção de energia culminando com o melhor desempenho do animal. Ainda relacionando composição corporal com desempenho, a quantidade de gordura corporal de um animal está relacionada negativamente com o desempenho (KEARNS et al., 2002a). O conteúdo de gordura corporal é inversamente relacionado com o desempenho, tanto em provas de velocidade (DEASON et al., 1991; MECKEL et al., 1995), quanto em provas de enduro (SPARLING & CURETON, 1983). Uma explicação para isso é o fato do excesso de gordura corporal diminuir o desempenho durante o trabalho de sustentação do peso durante o exercício, aumentando o requerimento energético em qualquer que seja a intensidade de esforço (BUSKIRK & TAYLOR, 1957). Assim, uma menor massa gorda diminuiria a quantidade de trabalho necessária para gerar movimento, dessa forma, dando vantagem aos animais mais “magros” (KEARNS et al., 2002a).

Como alternativa para avaliação muscular, pode ser utilizada a avaliação ultrassonográfica dos músculos *Longissimus dorsi* e *Gluteus medius*. A técnica é fácil de ser realizada além de ser totalmente não invasiva, e não deixa nenhum tipo de marca no animal, sendo interessante para animais que estejam participando de competições ou exposições (D'ANGELIS et al., 2007). É uma técnica que pode ser repetida quantas vezes for necessário, além de ser precisa e de alta acurácia (WESTERVELT et al., 1976; KANE et al., 1987; KEARNS et al., 2001). A

metodologia foi adaptada de protocolos já bem estabelecidos para avaliação da composição de carcaça, em animais de produção (PRICE et al., 1960; STOUFFER et al., 1961).

O músculo *Longissimus dorsi* é amplamente utilizado durante o exercício. É o responsável pela extensão e flexão da coluna vertebral, manutenção da postura, elevação e suporte da cabeça, além de suporte do peso do cavaleiro. É um músculo fácil de acessar e que fornece boas imagens ultrassonográficas (D'ANGELIS et al., 2007). DOBEC et al., (1994) relataram como sendo significativa a relação entre o tamanho da área de corte transversal do músculo *Longissimus dorsi* à avaliação ultrassonográfica e o número de vitórias obtidas por cavalos de corrida. Outro estudo demonstrou que um treinamento aeróbico com duração de três meses provocou hipertrofia significativa do músculo *Longissimus dorsi* e diminuição na capa de gordura mensurados por meio de avaliação ultrassonográfica (D'ANGELIS et al., 2007).

Para cavalos de potência, o treinamento visa adaptações da fibra muscular que lhe possibilitem rápida produção de energia e maior força de contração, enquanto no treinamento de resistência se destaca a importância do desenvolvimento de mecanismos eficientes de regulação do meio interno (SCHOTT II et al., 1997). Neste caso, estão associadas a grande produção de calor e perdas significativas de água e eletrólitos por meio da sudorese, no intuito de dissipar o ganho calórico (NAYLOR et al., 1993). Em ambos os casos devem ocorrer aumento da resistência das estruturas musculoesqueléticas, especialmente articulações, tendões e ligamentos, cuja má adaptação impede a plena realização de atividade física seja de potência ou resistência (HODGSON & ROSE, 1994).

Sob condições de repouso, é relativamente fácil para o equino manter a homeostase do seu meio interno. Entretanto, independente da atividade, o desempenho do exercício é o maior desafio fisiológico, visto que gera um distúrbio na homeostase evocando uma resposta integrada de múltiplos sistemas do organismo (McKEEVER, 2002).

Inúmeros fatores contribuem para o desenvolvimento de fadiga durante exercícios prolongados, entre eles destacam-se o esgotamento progressivo do fluido corpóreo e eletrólitos através do suor, visto que o suor equino é hipertônico

em relação ao plasma (SCHOTT & HINCHCLIFF, 1993; LACERDA-NETO & MARQUES, 1999), e o esgotamento das reservas de glicogênio muscular e hepático (SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN et al., 1991).

Distúrbios ácido-base e eletrolíticos já foram bem descritos em cavalos associados a exercícios prolongados e provas de enduro (SCHOTT et al., 2006; ROBERT, et al., 2010; SILVA et al., 2009; TEIXEIRA-NETO et al., 2004). A interpretação das alterações no equilíbrio ácido-base que ocorrem durante eventos esportivos é complicada porque as principais variáveis se alteram simultaneamente e, em geral em direções opostas. Os distúrbios ácido-base são tradicionalmente avaliados usando a equação de Henderson-Hasselbach. Esse método possui algumas limitações, entre elas estão os resultados inexatos quando existem alterações proteicas ou eletrolíticas. A abordagem é feita baseada em duas variáveis dependentes, pH e bicarbonato (HCO_3^-), e uma variável independente (pressão parcial de dióxido de carbono – pCO_2), as desordens são classificadas num pequeno número de categorias, porém não auxiliam na formulação de uma fluidoterapia específica quando esta se faz necessária. A abordagem tradicional por meio da equação de Henderson-Hasselbach é mais descritiva do que mecanicista e só é adequada quando o plasma possui concentrações normais de proteína, albumina e hemoglobina (CONSTABLE, 1997).

Segundo STEWART (1983), o equilíbrio ácido-base também é dependente da diferença entre íons fortes (SID), da concentração total de ácidos fracos e da pressão parcial de CO_2 (CARLSON, 1997; CONSTABLE, 1997; LINDINGER, 2004). A abordagem por meio da SID descreve mais precisamente as complexas anormalidades presentes em cavalos de enduro (VIU et al., 2010). A SID é expressa em mmol/L e determinada principalmente pela diferença entre as concentrações dos cátions fortes (sódio [Na^+]; potássio [K^+] e magnésio [Mg^+]) e ânions fortes (cloreto [Cl^-], lactato [Lac^-] e sulfato). Como seus principais determinantes são o Na^+ , o K^+ , o Cl^- e o Lac^- , podemos representá-la com a seguinte equação:

$$\text{SID} = ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) - ([\text{Cl}^-] + [\text{Lac}^-])$$

Através desse modelo é possível saber qual é o componente causador do distúrbio, sendo assim bastante útil na decisão do tratamento necessário para cavalos que desenvolveram desordens metabólicas. Em equinos, a diminuição na

SID ocorre tanto pela diminuição na concentração de cátions fortes quanto pelo aumento na concentração de ânions fortes. Após exercício máximo, essa diminuição está relacionada, principalmente, ao aumento do lactato sanguíneo. Por sua vez, o aumento na SID está relacionado às provas de enduro, nas quais, devido ao grande volume de suor eliminado, ocorrem grandes perdas de cloro levando ao desenvolvimento de alcalose metabólica hipoclorêmica (CARLSON, 1997; CONSTABLE, 1997; LINDINGER, 2004). Em um estudo feito comparando os dois métodos durante uma prova de enduro com 120 km de extensão, o pH não alterou significativamente ao longo da prova, porém através do método dos íons fortes foram revelados sérios desequilíbrios ácido base (VIU et al., 2010).

A hemogasometria é o método mais adequado e eficaz para a detecção das alterações do equilíbrio ácido-base dos fluidos orgânicos (DAY, 2002; SILVERMAN & BIRKS, 2002; GOKCE et al., 2004). Ela consiste na análise dos gases sanguíneos, assim como do bicarbonato e do pH. O uso de analisadores portáteis como o i-STAT (i-STAT Corp, Princeton, NJ, USA) facilitou muito a avaliação e detecção de desequilíbrios ácido-base nos animais domésticos (CONSTABLE, 2000) devido à sua facilidade de manuseio, rapidez no fornecimento dos dados e portabilidade. Além disso, os dados fornecidos são confiáveis, visto que sua acurácia durante testes de esforço em equinos já foi testada (SILVERMAN & BIRKS, 2002).

Três mecanismos principais são essenciais para a manutenção do pH em limites compatíveis com a vida, são eles os sistemas tampão, respiratório e renal. O sistema tampão é definido como uma solução que associa duas ou mais substâncias químicas capazes de impedir alterações acentuadas na concentração do íon hidrogênio quando um ácido ou uma base é adicionado à uma solução (GUYTON & HALL, 2002). Os tampões intra e extracelulares incluem a hemoglobina e outras proteínas, o carbonato dos ossos, os fosfatos e, principalmente o íon bicarbonato (HCO_3^-). (GUYTON & HALL, 2002).

O mecanismo respiratório age rapidamente através da ação catalisadora da enzima anidrase carbônica, modificando a taxa de remoção do dióxido de carbono (CO_2) e, conseqüentemente, diminuindo a concentração do ácido carbônico (H_2CO_3) no sangue (CUNNINGHAM, 1999). O dióxido de carbono (CO_2) produzido no trabalho muscular difunde-se para o sangue por gradiente de concentração, onde é

hidratado na presença da enzima anidrase carbônica e transportado, principalmente sob a forma de bicarbonato, no plasma (TAYLOR et al., 1995). O eflúvio máximo de CO_2 ocorre durante os primeiros 30 segundos do exercício de intensidades alta (KOWALCHUK et al., 1988; LINDINGER et al., 1992). Reação inversa acontece quando o íon HCO_3^- atua como tampão químico ligando-se ao H^+ gerando dióxido de carbono e água (LINDINGER, 2000). O aumento na produção de CO_2 pelos músculos no exercício máximo é normalmente maior que o aumento na ventilação alveolar para eliminá-lo, ocorrendo hipercapnia (LEKEUX & ART, 1994).

O mecanismo renal é o principal responsável pela excreção do excesso de prótons H^+ (CUNNINGHAM, 1999). A concentração de prótons H^+ do líquido extracelular (LEC) é controlado pelo rim através de três mecanismos básicos: secreção de prótons H^+ , reabsorção dos íons HCO_3^- filtrados e produção de novos íons HCO_3^- . A taxa de secreção do íon H^+ pelas células tubulares renais é determinada por seu pH intracelular que, se modifica, à medida que o pH sanguíneo ou a pressão parcial de dióxido de carbono (pCO_2) se alteram. Enquanto a acidemia e a hipercapnia aumentam a secreção de íons H^+ , a alcalemia e a hipocapnia a diminuem (HOUP, 2006).

Devido à hipertonicidade do suor equino, ocorrem perdas principalmente de sódio, potássio, cloro (McCUTCHEON et al., 1995) e cálcio (McCUTCHEON & GEOR, 1998). O sódio é necessário ao organismo na regulação da osmolalidade, manutenção da volemia, manutenção do equilíbrio ácido-base, geração do potencial de membrana e na condução do impulso elétrico nos nervos e músculos (LEWIS, 2000; ROSE, 1994), representa mais de 90% da atividade osmótica do líquido extracelular (LEC) e, por isso sua concentração é finamente regulada por eficientes mecanismos fisiológicos. Concentrações aumentadas de sódio resultam em reabsorção de água, e estímulo da sede (ECKERT, 2000).

Grandes perdas durante o exercício prolongado podem rapidamente resultar em hipovolemia e desequilíbrio eletrolítico (McKEEVER, 2004). A estabilidade de sua concentração é grande durante o enduro, devido à retenção do íon no rim e glândulas sudoríparas e, favorecimento do transporte gastrointestinal à alta concentração de aldosterona e cortisol durante o exercício prolongado (MARTÍNEZ et al., 2000). A excreção renal de sódio é reduzida nos exercícios de

alta intensidade, principalmente pela ativação da cascata renina-angiotensina-aldosterona, por meio da ativação do sistema nervoso simpático e controle neurogênico direto (MCKEEVER, 2004). Esse mecanismo consiste na secreção de renina (enzima proteolítica) que converte o angiotensinogênio plasmático (produzido no fígado) em angiotensina I, a qual é convertida em angiotensina II por enzimas conversoras localizadas nos pulmões. A angiotensina II por sua vez, estimula a liberação de aldosterona a qual promove a reabsorção renal de sódio, juntamente com reabsorção de água e excreção de potássio (DUKES, 1996).

O ânion cloreto é o íon que mais sofre perdas através da sudação (LINDINGER & WALLER, 2008). Como a perda de cloreto é elevada, no intuito de manter a eletroneutralidade do meio, o organismo mobiliza bicarbonato, por também ser um ânion, através de mecanismos renais. Estes mecanismos atuam diminuindo a excreção fracionada de sódio e cloro durante o exercício, sugerindo conservação tubular desses eletrólitos como parte do método para conservação de íons e água (ROBERT et al., 2010).

A excreção renal de potássio e consequente reabsorção de sódio ocorrem com o objetivo de aumentar a expansão do líquido extracelular em resposta à desidratação. Além das diminuições ocasionadas por excreção renal, o potássio pode ser perdido por meio da sudação. (SCHOTT II et al., 1997). A fadiga, fraqueza muscular, arritmias cardíacas, letargia, intolerância a exercício e redução do consumo hídrico e alimentar constituem os principais efeitos do déficit de potássio (LEWIS, 2000). Diminuições subsequentes ao exercício prolongado, no período de repouso, se acentuariam devido à ingestão e consequente mobilização de água para o compartimento intravascular, promovendo a diluição do íon (LACERDA-NETO et al., 2003).

O cálcio ionizado (Ca^{++}) constitui cerca da metade do cálcio plasmático total. Cerca de 40% do cálcio plasmático se conjuga primariamente com a albumina, os restantes 10 a 15% se conjugam primariamente com nitrato, citrato e sulfatos (LEWIS, 2000).

As proteínas plasmáticas totais atuam eficientemente na regulação do pH do sangue (PITTS, 1968) exercendo efeito tamponante, ligando-se ao hidrogênio. Ao iniciar o exercício, ocorre aumento de volume plasmático e da concentração de

proteínas plasmáticas totais, como resultado do desvio de líquidos e proteínas do espaço extravascular para o espaço vascular. Várias considerações têm sido feitas em estudos com seres humanos e cães, sobre a provável fonte destes fluidos e proteínas, as quais têm apontado o retorno de fluidos, ricos em proteínas, do sistema linfático e interstício.

A elevação das concentrações sanguíneas de HCO_3^- é, por sua vez, responsável pelo desenvolvimento de alcalose metabólica (ROSE et al., 1979). Estudos demonstraram que os valores de hematócrito, uréia, proteína total, sódio e cloreto são indicadores da condição física do animal. Algumas perdas eletrolíticas, que gerariam desbalanços na homeostase, são compensadas pelo consumo de água. Outras variáveis têm suas concentrações mantidas constantes através de mecanismos de reabsorção renal, porém em alguns casos esse mecanismo não é suficiente e então recomenda-se a reposição de eletrólitos (ROBERT et al., 2010).

1.4. Referências

ARMSTRONG, R.B.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; HOPPELER, H. et al. O₂ delivery at VO_{2max} and oxidative capacity in muscles of standardbred horses. **Journal of Applied Physiology**. v.73, p. 2274–2282, 1992.

ART, T. AND VAN ERCK, E. What do we know about the poor performance horse? **Proceedings of the Conference on Equine Sports Medicine and Science**, Ed: A. Lindner, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands. p. 15-37, 2008

BAYLY, W.M. Blood lactate measurements. International Conference for Equine Sports Medicine Veterinarians, San Diego, California, **Proceedings...** p. 54-55, 1986.

BONEN, A. The expression of lactate transporters (MCT1 and MCT4) in heart and muscle. **European Journal of applied physiology**, v. 86, p. 6-11, 2001.

BROOKE, M. H.; KAISER K. K. Muscle fiber types: How many and what kind? **Archives of Neurology**, v. 23, p. 369-379, 1970.

BUSKIRK, E. R. & TAYLOR, H. L. Maximal oxygen intake and its relation to body composition with special reference to chronic physical activity and obesity. **Journal of Applied Physiology**, v. 11, p. 72, 1957.

CAMPBELL, E. H. Lactate-driven equine conditioning programmes. **The Veterinary Journal**, v. 190, I. 2, p. 199–207, 2011.

CARLSON, G. P. **Fluid, electrolyte, and acid-base balance**. In: KANEKO, J. J.; HAENEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5.ed. San Diego : Academic Press, p. 485-516, 1997.

CONSTABLE, P. D. A simplified strong ion model for acid-base equilibrium: application to horse plasma. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 83, p. 297-311, 1997.

CONSTABLE, P. D. Clinical Assessment of Acid-Base Status: Comparison of the Henderson-Hasselbalch and Strong Ion Approaches. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 29, p. 115–128, 2000.

COUROUCÉ, A.; CHATARD, J.C.; AUVINET, B. Estimation of performance potential of Standardbred trotters from blood lactate concentrations measured in field conditions. **Equine Veterinary Journal**, v.29, p.365-369, 1997.

CUNNINGHAM, J. G. Equilíbrio ácido-básico. In: _____. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 436-442, 1999.

DAY, T. K. Blood gas analysis. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 32, p. 1031-1048, 2002.

D'ANGELIS, F.H.F.; FERRAZ, G.C.; BOLELI, I. C.; LACERDA-NETO, J.C.; QUEIROZ-NETO, A. Aerobic training, but not creatine supplementation, alters the gluteus medius muscle. **Journal American Science**, v. 83, p.579-585, 2005.

D'ANGELIS, F.H.F.; MOTA, M. D. S.; FREITAS, E. V. V.; FERRAZ, G.C.; ABRAHÃO, A. R.; LACERDA-NETO, J.C.; QUEIROZ-NETO. Aerobic Training, But Not Creatine, Modifies *Longissimus Dorsi* Muscle Composition. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, p. 118–122, 2007.

DEASON, J., POWERS, S. K., LAWLER, J., AYERS, D. & STUART, K. M. Physiological correlates to 800 meter running performance. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 31, p. 499-504, 1991.

DeNARDI, C.; AUSONI, S.; MORETTI, P., GORZA, L.; VELLECA, M.; BUCKINGHAM, M.; SCHIAFFINO, S. Type 2X myosin heavy Chain is coded by a muscle fiber type specific and developmentally regulated gene. **Journal of Cell. Biology**, v. 123, p. 832-835, 1993.

DINGBOOM, E. G.; VAN OUDHEUSDEN, H.; EIZEMA, K.; WEIJS, W. A. Changes in fibre type composition of gluteus medius and semitendinosus muscles of Dutch Warmblood foals and the effect of exercise during the first year postpartum. **Equine Veterinary Journal**, v.34, p. 177–183, 2002.

DOBEC, R.L.; BORGER, M.L.; NEAL, S.M. Correlation of real-time ultrasonic measure of fat and longissimus muscle area in standardbred horses with lifetime racing records and lifetime winnings. **Journal of Animal Science**, 72 (suppl. 2), p. 45, 1994.

DUKES. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

ECKERT, E. **Fisiologia Animal: mecanismos e adaptações**. 4 ed, Guanabara Koogan, 2000, 729p.

ÉSSEN-GUSTAVSSON, B.; McMIKEN, D.; KARLSTRÖM, K.; LINDHOLM, S.P.; THORNTON, J. Muscular adaptation of horses during intensive training and detraining. **Equine Veterinary Journal**, v. 21, p. 227-233, 1989.

EVANS, D. L. **Training and Fitness in Athletic Horses**. Rural Industries Research and Development Corporation, Sydney, p.1-64, 2000.

FERRAZ, G.C. **Avaliação da suplementação crônica com creatina sobre o desempenho atlético de equinos**. 2003. 65f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA NETO, A. R.; D'ANGELIS, F. H. F.; LACERDA NETO, J. C.; QUEIROZ NETO, A. Long-term creatine supplementation improves the aerobic capacity of horses. **Ciência Rural**, v. 36, p. 514-519, 2006.

FERRAZ, G. C.; D'ANGELIS, F. H. F.; TEIXEIRA NETO, A. R.; FREITAS, E. V. V.; LACERDA NETO, J. C.; QUEIROZ NETO, A. Blood lactate threshold reflects glucose responses in horses submitted to incremental exercise test. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.256-259, 2008

FERRAZ, G. C.; SOARES, O. A. B.; FOZ, N. S. B.; PEREIRA, M. C.; QUEIROZ-NETO, A. The workload and plasma ion concentration in a training match session of high-goal (elite) polo ponies. **Equine Veterinary Journal** v. 42 (Suppl. 38), p. 191-195, 2010.

GLADDEN, L. B. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. **Journal of Physiology**, 558, p. 5-30, 2004.

GOKCE, G.; CITIL, M.; GUNES, V.; ATALAN, G. Effect of time delay and storage temperature on blood gas acid-base values of bovine venous blood. **Research in Veterinary Science**, London, v. 76, p. 121-127, 2004.

GOLLNICK, P. D.; BAYLY, W. M.; HOGDSON, D. R. Exercise intensity, training, diet and lactate concentration in muscle and blood. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 18, p. 334-30, 1986.

GOMIDE, L.M.W. **Desenvolvimento de um programa de treinamento para eqüinos de enduro com base na curva velocidade-lactato**. 2006, 58f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

GUNN, H. M. Muscle, bone and fat proportions and muscle distribution of Thoroughbreds and quarter horses. J.R. Gillespie, N.E. Robinson (Eds.), **Equine Exercise Physiology 2**, ICEEP Publications, Davis, California, p. 253–264, 1987.

GUTH, L.; SAMAHA, F.J. Qualitative differences between Actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. **Experimental Neurology**, v. 25, p. 138-152, 1969.

GUTH, L.; SAMAHA, F.J. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. **Experimental Neurology**, v. 26, p.120-125, 1970.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Os compartimentos líquidos corporais: líquido extracelular, intracelular e edema**. In: _____. Tratado de fisiologia médica. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 250-264.

HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MÜCKE, S.; MÜLLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, p. 117-130, 1985

HENCKEL, P. Training an growth induced changes in the middle gluteal muscle of young Standerbred trotters. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 15, n. 2, p.134-140, 1983.

HETTINGER, T. H., MULLER, E. A. Muskelleistung und musketrainug. **Arbeitsphysiologie**, v. 15, p. 111-126., 1953.

HINCHCLIFF, K.W.; LAUDERDALE, M.A.; DUTSON, J.; GEOR, R.J.; LACOMBE, V.A.; TAYLOR, L.E. High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses. **Equine Veterinary Journal**, v.34, n.1, p.9-16, 2002.

HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. Evaluation of performance potencial. In:___**The Athletic Horse**. Saunders: Philadelphia, p.231-243, 1994.

HOUP, T. R. **Equilíbrio Ácido-básico**. In: REECE, W. O. Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, cap. 9, p. 147-160, 2006.

ISLER, R.; STRAUB, R.; APPENZELLER, T.; GYSIN, J. Beurteilung der aktuellen Leistungsfähigkeit zur Fastlegung der optimalen Belastungsintensitat für Intervalltraining bei Warmblutpferden. **Schwesg Arch Tierheilk.**, v. 123, p. 603-612, 1982.

KANE, R. A., FISHER, M., PARRETT, D. & LAWRENCE, L. M. Estimating fatness in horses. In **Proceedings of the 10th Equine Nutrition and Physiology Symposium**, Fort Collins, CO, pp. 127±31, 1987.

KEARNS, C. F.; MCKEEVER, K. H.; MALINOWSKI, K.; STRUCK, M. B.; ABE, T. Chronic administration of therapeutic levels of clenbuterol acts as a repartitioning agent. **Journal of Applied Physiology** vol. 91 no. 5, p. 2064-2070, November 1, 2001.

KEARNS, C. F.; MCKEEVER, K. H.; ABEY, T. Overview of Horse Body Composition and Muscle Architecture: Implications for Performance. **The Veterinary Journal**, v., 224-234, 2002a.

KEARNS, C.F.; McKEEVER, K.H.; KUMAGAY, K.; ABE, T. Fat-free mass is related to one mile race performance in elite Standardbred horses. **Veterinary Record**, v. 163, p. 1-7, 2002b.

KIM, J. S.; HINCHCLIFF, K. W.; YAMAGUCHI, M.; BEARD, L. A.; MARKERT, C. D.; DEVOR, S. T. Exercise training increases oxidative capacity and attenuates exercise-induced ultrastructural damage in skeletal muscle of aged horses. **Journal of Applied Physiology** 98: 334–342, 2005.

KITAOKA, Y.; MASUDA, H.; MUKAI, K.; HIRAGA, A.; TAKEMASA, T.; HATTA, H. Effect of training and detraining on monocarboxylate transporter (MCT) 1 and MCT4 in Thoroughbred horses. **Experimental Physiology**, v. 96.3, p 348–355, 2011.

KOWALCHUK, J.M.; HEIGENHAUSER, G.J.; LINDINGER, M.I.; OBMINSKI, G.; SUTTON, J.R.; JONES, N.L. Role of lungs and inactive muscles in acid-base control after maximal exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.65, p.2090-2096, 1988.

LACERDA NETO, J. C., MARQUES, L. C. Utilização de parâmetros clínicos e bioquímicos na avaliação de eqüinos submetidos a exercício de baixa intensidade e média duração. **Veterinária Notícia**, v. 5, p. 77-82, 1999.

LACERDA NETO, J. C.; SAMPAIO, R. C. L.; FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; PEREIRA, D. M.; TITTO, E. A. L.; CARVALHO, M. B.; QUEIROZ-NETO, A. Efeitos do resfriamento intermitente e de repositor eletrolítico sobre a osmolalidade e eletrólitos séricos de eqüinos submetidos a exercício de baixa intensidade. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 98, p. 189-195, 2003.

LACERDA-NETO, J.C. Respostas orgânicas durante o exercício físico. In: I Simpósio sobre Nutrição de Equinos. 2004. Campinas. **Anais...Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**. p.45-60, 2004.

LEKEUX, P.; ART, T. The respiratory system: anatomy, physiology, and adaptations to exercise and training. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse**. Philadelphia: W. B. Saunders Company., cap. 6, p. 81-127, 1994.

LEWIS, L.D. **Nutrição Clínica Equina** – Alimentação e Cuidados. São Paulo: Roca, 710p., 2000.

LINDHOLM, A.; PIEHL, K. Fibre composition, enzyme activity and concentrations of metabolites and electrolytes in muscle of Standardbred horses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.15, p.287-309, 1974.

LINDHOLM, A.; BJERNELD, H.; SALTIN, B. Glycogen depletion pattern in muscle fibres of trotting horses. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 90; p. 475-484, 1974.

LINDINGER, M.I.; HEIGENHAUSER, G.J.; McKELVIE, R.S.; JONES, N.L. Blood ion regulation during repeated maximal exercise and recovery in humans. **Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.262, p.126-136, 1992.

LINDINGER, M. I.; McCUTCHEON, L. J.; ECKER, G. L.; GEOR, R. J. Heat acclimation improves regulation of plasma volume and plasma Na⁺ content during exercise in horses. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 88, p. 1006-1013, 2000.

LINDINGER, M. I. Acid-base physiology during exercise and in response to training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders, p. 872-897, 2004.

LINDINGER M. I.; WALLER A. **Muscle and blood acid-base physiology during exercise and response to training**. In: HINCHCLIFF, K.W.et al. Equine exercise physiology - The science of exercise in the athletic horse. London: Saunders, 2008.

LINDNER, A. E. Maximal lactate steady state during exercise in blood of horses. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 2038–2044, 2010.

MARTÍNEZ , P., RAMÓN; SCAGLIONE M., M.C. Cambios sanguíneos y sudorales em equinos sometidos a carreras de resistencia. **Avances Veterinaria**, Santiago De Chile, v.15, n.1, p.19-30, 2000.

MARTINS, C.B.; OROZCO, C.A.G., GOMIDE, L. M. W., SILVA, M.A.G., CHRISTOVÃO, F. G.; QUEIROZ-NETO, A., LACERDA NETO, J. C. Efeito do condicionamento atlético sobre o músculo glúteo médio de equinos puro sangue árabes. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, Vol. 23, nº2, 100-107, 2007.

MAZZEO, R.S.; BROOKS, G.A.; SCHOELLER, D.A.; BUDINGER, T.F. Disposal of blood lactate in human during rest and exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 60, p. 232–242, 1986.

McCUTCHEON, L. J.; GEOR, R. J. Sweating. Fluid and ion losses and replacement. **The Veterinary Clinics of North America Equine Practice**. Philadelphia, v.14, n.1, p.75- 95, 1998.

McCUTCHEON, L. J.; GEOR, R. J.; HARE, M. J.; KINGSTON, J. R.; STAEMPFLI, H. R. Sweat composition: comparison of collection methods and effects of exercise intensity. **Equine Veterinary Journal**, London, v.18 (Suppl), p.279-284, 1995.

McKEEVER, K. H. The endocrine system and the challenge of exercise. The Veterinary Clinics of North America. **Equine Practice** , v.2, p:321-53, 2002.

MCKEEVER, K. H. Body fluid and electrolytes: Responses to exercise and training. In: **Equine Sport Medicine and Surgery**. Basic and Clinical Sciences of Equine Athlete, eds K. W. Hinchcliff, A. J. Kaneps & R. J. Geor, Saunders Press, China, pp. 854–871, 2004.

MECKEL, Y., ATTERBOM, H., GRODJINOVSKY, A., BEN-SIRA, D. & ROTSTEIN, A. Physiological characteristics of female 100 metre sprinters of different performance levels. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness** 35, 169±75, 1995.

NAYLOR, J.R.J.; BAYLY, W.M.; GOLLNICK, P.D.; BRENGELMANN, G.L.; HODGSON, D.R. Effects of dehydration on thermoregulatory responses of horses during low-intensity exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.75, n.2, p.994-1001, 1993.

PADYKULA, H.A.; HERMAN, E. The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 3, p. 170, 1955.

PAYNE, R. C.; HUTCHINSON, J. R.; ROBILLIARD, J. J.; et al. Functional specialization of pelvic limb anatomy in horses (*Equus caballus*). **Journal of Anatomy**; 205:557–574, 2005.

PETTE, D.; STARON, R.S. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. In: JEON, K.W. (Ed.) **International Review of Cytology**, v. 170. New York: Academic Press. p. 143-223. 1997.

PITTS, R. E. Book Reviews: **Physiology of the Kidney and Body Fluid**. 2. Ed. Chicago: Year Book Medical Publishers, 364 p, 1968.

PRICE, J. F.; PEARSON, A. M.; PFOST, H. B.; DEANS, R. J. Application of Ultrasonic Reflection Techniques in Evaluating Fatness and Leanness in Pigs. **Journal of Animal Science**, v. 19 no. 2 381-387, 1960.

PRINCE, A.; GEOR, R.; HARRIS, A.; HOESKSTRA, K.; GARDNER, S.; HUDSON, C.; PAGAN, J. Comparison of the metabolic responses of trained Arabians and Thoroughbreds during high- and low-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal**, v.34 (Suppl.), p.95-99, 2002.

POOLE, D.C.; PETRISKO, R.N.; ANDERSON, L. et al. Structural and oxidative enzyme characteristics of the diaphragm. **Equine Veterinary Journal Supplement** 34:459–463, 2002.

POWERS, S. K., HOWLEY, E. T. **Fisiologia do exercício. Teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho**. 3 ed. São Paulo: Manole. 1997. 527p.

PÖSÖ, A.R. Monocarboxylate transporters and lactate metabolism in equine athletes: a review. **Acta veterinaria Scandinava**, v.43, p.63-74, 2002.

QUIROZ-ROTHER, E.; RIVERO, J. L. Co-ordinated expression of contractile and non-contractile features of control equine muscle fibre types characterised by immunostaining of myosin heavy chains. **Histochemistry and Cell Biology** 116:299–312, 2001.

RIVERO, J. L. L.; AGÜERA, E.; MONTEVERDE, J. G.; BARBUDO, M. R.; MIRO, F. Comparative study of muscle fiber type composition in the middle gluteal muscle of Andalusian, Thoroughbred and Arabian horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 9, p.377-340, 1989.

RIVERO, J.L.L.; SERRANO, A.L.; BARREY, E., VALETTE, J.P.; JOUGLIN, M. Analysis of myosin heavy Chains at the protein level in horse skeletal muscle. **J. Journal of Muscle Research and Cell Motility**., v. 20, p. 2121-2221, 1999.

RIVERO, J.L.L.; DIZ, A.M.; MONTEVERDE, J.G.; AGÜERA, E. Intramuscular distribution of fibre types in the gluteus medius of the horse: A histochemical analyses. **Anatomy Histology Embryology**, v.22; p.223-240, 1993.

RIVERO, J.L.L.; TALMADGE, R.J.; EDGERTON, V.R. Myosin heavy chain isoforms in adult equine skeletal muscle: An immunohistochemical and electrophoretic study. **Anatomical Record**, v. 246, p. 185-194, 1996.

ROBERT, C.; GOACHET, A.-G.; FRAIPONT, A.; VOTION, D.-M.; VAN ERCK, E.; LECLERC, J.-L. Hydration and electrolyte balance in horses during an endurance season. **Equine Veterinary Journal**, (Suppl. 38) 98-104, 8 98, 2010.

ROSE, R. J.; ILKIW, J. E.; MARTIN, I. C. Blood-gas, acid base and hematological values in horses during endurance ride. **Equine Veterinary Journal**, v.11, n.1, p.56-59, 1979.

ROSE, R.D. Introduction to disorders of osmolality. In: **Clinical Physiology of Acid-base and Electrolyte Disorders**. New York: McGraw-Hill, p. 638-650, 1994.

SCHOTT II, H. C.; HINCHCLIFF, K. W. Fluids, electrolytes, and bicarbonate. **Veterinary Clinics of North America Practice**, v.9, n.3, p. 577-604, 1993.

SCHOTT II, H.C.; McGLADE, K.S.; MOLANDER, H.A.; LEROUX, A.J.; HINES, M.T. Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses competing in 50- and 100-mile endurance rides. **American Journal of Veterinary Research**, v.58, p.303-309, 1997.

SCHOTT, H.C., II, MARLIN, D.J., GEOR, R.J., HOLBROCK, T.C., DEATON, C.M., VINCENT, T., DACRE, K., SCHROTER, R.C., JOSE-CUNILLERAS, E. AND CORNELISSE, C.J. Changes in selected physiological and laboratory measurements in elite horses competing in a 160 km endurance ride. **Equine Veterinary Journal**, Suppl. 36, p. 37-42, 2006.

SEEHERMAN, H.J.; MORRIS, E.A. Application of a standardised treadmill exercise test for clinical evaluation of fitness in 10 Thoroughbred racehorses **Equine Veterinary Journal Suppl.**, 9, pp. 26–34, 1990.

SPARLING, P. B. & CURETON, K. J. Biological determinants of the sex difference in 12-min run performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise** 15,218±23, 1983.

SERRANO, A.L.; QUIROZ-ROTHER, E.; RIVERO, J.L.L. Early long-term changes of equine skeletal muscle in response to endurance training and detraining. *Pfugers Arch.* – **European Journal of Physiology**, v. 441, p. 263-274, 2000.

SERRANO, A.L.; RIVERO, J.L. Myosin heavy chain profile of equine gluteus medius muscle following prolonged draught-exercise training and detraining. **J. muscle Research Cell Motility**, v. 21, p. 225-245, 2000.

SEWELL, D. A.; HARRIS, R.C.; MARLIN, D. J. Skeletal muscle characteristics in 2 year-old race-trained Thoroughbred horses. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Comparative Physiology 108: 87–96, 1994.

SILVA, M. A. G.; GOMIDE, L. M. W. ; DIAS, D. P. ; MARTINS, C. B. ; ALBERNAZ, R. M. ; CHRISTOVÃO, F. G. ; FREITAS, E. V. V. ; LACERDA-NETO, J. C. ; OROZCO, C. A. G. . Venous hemogasometry and blood lactate levels in Quarter horses during barrel racing. In: Conferencia Internacional de Caballos de Deporte, 2007, San Jose, Costa Rica. **Anais da Conferencia Internacional de Caballos de Deporte**. p. 116-118, 2007.

SILVA, M.A.G.; MARTINS, C.B.; GOMIDE, L.M.W.; ALBERNAZ, R.M.; QUEIROZ-NETO, A.; LACERDA-NETO, J.C. Determinação de eletrólitos, gases sanguíneos, osmolalidade, hematócrito, hemoglobina, base titulável e anion gap no sangue venoso de equinos destreinados submetidos a exercício máximo e submáximo em esteira rolante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. vol.61 nº.5 Belo Horizonte Oct. 2009

SILVERMAN, S. C.; BIRKS, E. K. Evaluation of the i-STAT hand-held chemical analyser during treadmill and endurance exercise. **Equine Veterinary Journal**, Newmarket, v. 34, p. 551-554, 2002.

SISSON, S. Músculos dos eqüinos. In: GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 1, 1986, p. 402-407.

SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M.M.; WENSING, T.; BARNEVELD, A.; BREUKINK, H.J. Heart rate, blood biochemistry and performance of horses compeing in a 100 km endurance ride. **Veterinary Record.**, v.23, p.175-179, 1991.

SNOW, D.H.; VALBERG, S.J. Muscle Anatomy, Physiology, and Adaptations to Exercise and training. In: HODGSON, D.R. & ROSE,R.J. **Principles and Practice of Equine Sports Medicine – The Athletic Horse**. Montreal: W.B. Saunders, 497p., 1994.

SNOW, D.H.; GUY, P.S. Percutaneous Needle Muscle Biopssia in the Horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 8, pp. 150-155, 1976.

SOUZA LIMA, R. A.; SHIROTA, R.; CAMARGO BARROS, G. S. **Estudo do complexo do agronegócio cavalo**. Centro de estudos avançados em economia aplicada, Piracicaba, 2006.

STEWART, P. A. Modern quantitative acid-base chemistry. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, v. 61, p. 1444-1461, 1983.

STOUFFER, J. R.; WALLENTINE, M. V.; WELLINGTON, G. H.; DIEKMANN, A. Development and Application of Ultrasonic Methods for Measuring Fat Thickness and Rib-Eye Area in Cattle and Hogs. **Journal of Animal Science**. vol. 20 no. 4 759-767, November 1961.

TAYLOR, L.E.; FERRANTE, P.L.; WILSON, J.A.; KRONFELD, D.S. Arterial and mixed venous acid-base status and strong ion difference during repeated sprints. **Equine Veterinary Journal**, v.18(Suppl.), p.326-330, 1995.

TEGTBUR, U; BUSSE, M. W.; BRAUMANN. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 25, p. 620-627, 1993.

TEIXEIRA NETO, A. R.; FERRAZ, G. C.; MATAQUEIRO, M. I.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Reposição eletrolítica sobre variáveis fisiológicas de cavalos em provas de enduro de 30 e 60 Km. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1505- 1511, 2004.

TRILK, J. L.; LINDNER, A. J.; GREENE, H. M., ALBERGHINA, D., WICKLER, S. J. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 34 (Suppl.), p. 122-125, 2002.

VALBERG, S.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; SKOGLUND-WALLBERG, H. Oxidative capacity of skeletal muscle fibres in racehorses: histochemical versus biochemical analysis. **Equine Veterinary Journal** 20: 291–295, 1988.

VIU, J., JOSE-CUNILLERAS, E., ARMENGOU, L., CESARINI, C., TARANCÓN, I., RIOS, J., MONREAL, L. Acid-base imbalances during a 120 km endurance race

compared by traditional and simplified strong ion difference methods. **Equine Veterinary Journal**, v. 42 (Suppl. 38), p.76-82, 2010

VOTION,D-M.; NAVET,R.; LACOMBE, V.A.; SLUSE, F.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B. HINCHCLIFF, K. W.; RIVERO, J.L.L.; SERTEYN,D.; VALBERG, S. Muscle energetics in exercising horses. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v., p 105-118, 2007.

WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J.; KOYL, S.N.; BEAVER, W. L. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.35, pp. 236–243, 1973.

WERKMANN, J., LINDNER, A., SASSE, H. H. L. Conditioning effects in horses of exercise of 5, 15 or 25 minutes duration at two blood lactate concentrations. **Pferdeheilkunde** 12, p. 474-79, 1996.

WESTERVELT, R. G., STOUFFER, J. R., HINTZ, H. F. & SCHRYVER, H. F. Estimating fatness in horses and ponies. **Journal of Animal Science** 43, 781±5, 1976.

WHITE, M.G. SNOW, D.H. Quantitative histochemical study of glycogen depletion in the maximally exercised Thoroughbred. **Equine Veterinary Journal**, v.19, p.67, 1987.

CAPÍTULO 2 – Testes Incrementais realizados a Campo na avaliação do treinamento de equinos de Enduro FEI*

RESUMO - A ótima realização de um exercício depende de uma complexa interação entre os sistemas cardiovascular, respiratório, hematológico e muscular. Diversos estudos foram realizados avaliando o treinamento de cavalos de enduro, porém nenhum deles avaliou todos esses sistemas conjuntamente. O presente trabalho avaliou um treinamento realizado inteiramente a campo, com exercícios testes incrementais (TI) realizados também a campo e avaliação das respostas musculares por meio de biópsia muscular percutânea e exame ultrassonográfico, para posterior realização de um enduro de 80 km. Onze equinos da raça Puro Sangue Árabe foram submetidos a dois testes incrementais (TIs) a campo para determinação das concentrações sanguíneas de lactato, e hemogasometria antes e após período de três meses de treinamento em trilha com duas sessões semanais predominantemente ao passo, e uma sessão semanal com predomínio do galope. Antes e após o treinamento também foi realizada avaliação ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi* e *Gluteus medius* e, avaliação histológica e histoquímica do músculo *Gluteus medius* colhido por biópsia percutânea. Após o término do período de treinamento, os animais realizaram um teste de resistência de 80 km a campo. As variáveis estudadas foram submetidas à Análise de Variância e os valores médios comparados pelo teste *Tukey* ($P < 0,05$). Foram encontradas diferenças nas concentrações de lactato entre os testes, os valores máximos de lactato no TI1 foram superiores aos encontrados no TI2, esse aumento foi seguido por diminuições nos valores do pH. A área total relativa das fibras musculares do tipo IIX aumentou em detrimento das fibras do tipo I, demonstrando interconversão entre os tipos fibrilares. Concluiu-se que os testes realizados foram eficientes em demonstrar as alterações musculares e metabólicas possivelmente relacionadas demonstrando o grau de adaptação à atividade física proposta, o que permitiu a realização de uma prova de enduro FEI*.

Palavras-chave: Biópsia muscular, cavalo, fisiologia do exercício, hemogasometria, lactato

2.1. Introdução

O enduro é definido pela *Fédération Equestre Internationale* (FEI, 2013) como um teste da habilidade do cavaleiro em conduzir a resistência e aptidão do cavalo durante o percurso realizado em uma competição de resistência contra a trilha, a distância, o clima, o terreno e o relógio. As categorias são usualmente divididas de acordo com a distância percorrida, sendo a categoria uma estrela do *Concours de Raid d'Endurance Internationale* (CEI*), aquela onde cavalo e cavaleiro devem percorrer entre 80 e 119 km no mesmo dia (FEI, 2011).

Durante anos, o enduro foi caracterizado como um exercício de baixa intensidade e longa duração (LACERDA-NETO et al., 2003; TEIXEIRA-NETO et al., 2004). No percurso de longas distâncias em ritmo moderado, a energia necessária para a realização do trabalho muscular provem principalmente do metabolismo aeróbio, realizado por fibras oxidativas do tipo I. Equinos da raça Puro Sangue Árabe apresentam maior frequência de fibras musculares do tipo I, configurando assim a aptidão da raça para competições de enduro (RIVERO et al., 1995).

Entretanto, a intensidade do esporte mudou muito nos últimos anos, descaracterizando a baixa intensidade. Atualmente, para cumprir a prova no tempo determinado, longas distâncias devem ser percorridas em maior velocidade, o que exige aumento no trabalho metabólico, musculoesquelético e cardiovascular (FRAIPONT et al., 2012). Em alguns casos, a velocidade média da prova é superior a 25 km/h em distâncias de 120-160 km, chegando a atingir mais de 30 km/h nas fases finais da competição (NAGY et al., 2012). Assim, fibras musculares do tipo IIA e IIX, de alta capacidade glicolítica, também são recrutadas para suprir o aumento na demanda energética (VOTION et al., 2007). Seja qual for o tipo de fibra recrutada, a glicose é o combustível necessário para o trabalho muscular. Durante o exercício intenso, para que a energia seja fornecida rapidamente, o ATP é formado por meio de glicólise anaeróbia, produzindo também o lactato. Através de mecanismos endócrinos, parte do lactato produzido é convertido em glicose pelo fígado, sendo imediatamente utilizado como fonte de energia (McKEEVER, 2002).

A mensuração do lactato sanguíneo em testes de esforço padronizados (SET) permite a confecção de um gráfico, denominado curva velocidade-lactato (Blood

lactate running speed) (GANSEN et al., 1999). A velocidade correspondente a determinada concentração de lactato em mmol/L é denominada V_{lac} . Utilizado de forma confiável como indicador de desempenho, altos valores de V_4 estão associados ao sucesso em cavalos de esporte. Além disso, os valores de V_{lac} podem ser utilizados para a orientação de estratégias de treinamento (LINDNER, 2010a; CAMPBELL, 2011). De forma menos precisa que a V_4 , porém muito representativa, valores de frequência cardíaca (FC) indicam a função cardiovascular apresentando relação linear com o aumento da intensidade do esforço (FERRAZ et al., 2009).

Com base nas atuais exigências, o enduro é considerado uma das competições mais difíceis entre as disciplinas equestres (FRAIPONT et al., 2012), o que torna o treinamento adequado fundamental para a adaptação do cavalo a tais exigências. O treinamento para cavalos de enduro busca aumentar a capacidade aeróbia gerando maior resistência, aumentar a velocidade e força muscular, atrasar o surgimento da fadiga, além de reduzir o risco de lesões musculoesqueléticas, melhorar as habilidades biomecânicas e a coordenação neuromuscular, procurando manter a complacência do animal na realização do esforço físico (MARLIN & NANKERVIS, 2002). Tais objetivos podem ser alcançados com períodos regulares de exercício e estímulos adequados, capazes de promover alterações estruturais e funcionais principalmente nos sistemas cardiovascular e musculoesquelético, tornando o equino mais adaptado e competitivo para a modalidade (EVANS, 2000).

As adaptações da musculatura esquelética se destacam, visto que a realização da atividade física proposta não ocorre sem que haja produção de energia pela fibra muscular (GUNN, 1987). Um indivíduo treinado, apresenta baixa porcentagem de tecido adiposo e alta porcentagem de massa muscular refletindo macroscopicamente a adaptação à realização do esporte (KEARNS et al., 2002). Microscopicamente, observam-se alterações conformacionais nas fibras musculares, tais como a transformação das fibras de contração rápida (tipo IIA e IIX) para fibras de contração lenta (tipo I). As transformações dependem da duração e intensidade do esforço, se revertendo após cessar o estímulo (SERRANO et al., 2000).

A avaliação muscular macroscópica pode ser realizada por meio de exame ultrassonográfico dos músculos *Longissimus dorsi* e *Gluteus medius*. O caráter não invasivo da técnica permite sua repetibilidade, além do estudo da musculatura de

equinos participantes de competições ou exposições (WESTERVELT et al., 1976; KANE et al., 1987; KEARNS et al., 2001; D'ANGELIS et al., 2007). Entretanto, o exame ultrassonográfico não permite a tipificação das fibras, o que está intimamente relacionado com a predominância do tipo de metabolismo necessário para a realização de determinado esforço (VOTION et al., 2007). Para fornecer tal informação, tecido muscular a ser tipificado histologicamente pode ser colhido por meio da técnica biópsia muscular percutânea descrita por LINDHOLM & PIEHL (1974).

Entretanto, a avaliação muscular de forma isolada não fornece informações completas acerca do nível de treinamento de um atleta. Para tanto, testes de esforço permitem a avaliação dinâmica da função dos sistemas envolvidos no fornecimento de energia durante o exercício, permitindo o estudo da complexa interação entre os sistemas cardiovascular, respiratório, hematológico e muscular e, identificando fatores limitantes ao desempenho (COUROUCÉ, 1999).

Condições essenciais para realização de um exercício teste são a padronização e a repetibilidade. Tais condições são facilmente obtidas em ambiente controlado, como o das avaliações em esteira rolante (OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN & CLAYTON, 1999). Porém, testes ergométricos realizados em esteira não se assemelham ao trabalho que os animais realizam durante treinos ou competições. A pesquisa a campo permite que os testes sejam realizados em ambiente similar ao da competição. O tipo de superfície, andamento e velocidades atingidas são similares às demandas enfrentadas durante o exercício em "condições reais". Além disso, testes a campo apresentam o efeito do cavaleiro, ausente nos testes em esteira e, podem ser realizados mesmo sem o uso de equipamentos sofisticados (FRAIPONT et al., 2012).

Tendo em vista a expressão das competições de enduro equestre no cenário mundial e a escassez de informações relativas ao treinamento avaliado por testes de esforço realizados a campo, o presente estudo objetivou analisar conjuntamente as características morfofuncionais do tecido muscular e, as variáveis metabólicas de equinos obtidas durante testes incrementais, realizados antes e após o treinamento de resistência para realização de uma prova de enduro FEI*.

2.2. Material e métodos

O protocolo experimental realizado no presente estudo está de acordo com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / UNESP – Campus de Jaboticabal (Protocolo #001624-11).

2.2.1. Animais

Foram utilizados onze equinos da raça Puro Sangue Árabe, dois garanhões, sete machos castrados e duas fêmeas, com idade média de 9 ± 1 anos, pertencentes à Fazenda Serra da Prata, município de Águas da Prata, São Paulo, Brasil. Os equinos foram considerados hígidos segundo exame físico geral e específico para avaliação do sistema locomotor. Antes de iniciar o período experimental, todos os animais passaram por programas de desverminação¹, vacinação² e controle de ectoparasitas³.

Durante o período de treinamento, os equinos foram alocados em baias individuais e receberam dieta dividida em 50% da energia obtida via alimento volumoso (feno de Tifton – *Cynodon dactylon*), 10% via óleo de soja e 40% via concentrado comercial, contendo 13% de proteína bruta e 2500 kcal/Kg de energia digestível. A determinação da exigência nutricional foi realizada segundo recomendação do NRC 2007. Realizou-se ferrageamento convencional dos cascos dos quatro membros a cada 45 dias.

2.2.2. Treinamento

¹EQUALAN Pasta – Merial Saúde Animal Ltda., Paulínia – SP

²Fluvac Innovator EHV 4/1 – Fort Dodge Animal Health, Iowa – USA

³Butox[®] P CE 25 – Intervet Brasil, Akzo Nobel Ltda. – São Paulo – SP

O treinamento teve duração total de três meses nos quais os equinos foram exercitados montados três vezes na semana, pelo mesmo cavaleiro, em dias alternados. No primeiro mês os animais realizaram duas sessões semanais de 60 min de duração, com predomínio de passo à velocidade média de 5,5 a 6 km/h, determinada por sistema *GPS*⁴. O percurso foi realizado em trilhas de terra batida ou sobre gramíneas na região montanhosa ao redor da fazenda, o que propiciou a realização de exercício intercalando trechos de aclives e declives. A terceira sessão semanal de atividade física compreendeu 30 min de galope sem interrupção, realizado em pista de areia plana, à velocidade média de 15 a 18 km/h também determinada por sistema *GPS*. As dimensões da pista permitiram a execução contínua do galope em percurso oval de 470 m de extensão por volta.

No segundo mês de treinamento, o mesmo protocolo de exercício foi mantido quanto ao número de sessões (tri-semanal, em dias alternados) e velocidade do passo realizado em trilha ou galope realizado em pista. A dificuldade do treinamento foi amplificada com um incremento de 30 min a cada sessão de exercício.

Finalmente, no terceiro mês, o mesmo protocolo foi mantido e incluiu-se mais 30 min por treino realizado. Assim, o último mês incluiu duas sessões semanais de 120 min de duração ao passo (5,5 a 6 km/h) e uma sessão semanal de 90 min de duração ao galope (15 a 18 km/h).

2.2.3. Teste incremental

Os equinos foram submetidos a dois testes incrementais (TI) idênticos em intensidade e duração. O primeiro (TI1) foi realizado na semana anterior ao início dos três meses de treinamento e, o segundo (TI2), na semana seguinte ao término do treinamento. Os testes foram realizados na mesma pista de areia plana na qual os animais foram treinados, propiciando a realização de percurso oval de 470 m de extensão. Ao início do teste de cada animal realizou-se a mensuração da temperatura ambiente e umidade relativa do ar⁵.

⁴RCX5-G5™ PolarEquine - Heart Rate Monitor – Polar Electro Oy – Kempele, Finland

⁵Termohigrômetro digital HTR-157 – Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda., São Paulo – SP

Previamente à realização de cada teste, os equinos foram devidamente encilhados e equipados com os eletrodos de um frequencímetro portátil⁶. O relógio contendo sensor GPS foi acoplado ao braço do cavaleiro permitindo, além da avaliação da FC do cavalo, o controle constante da velocidade executada pelo conjunto. Implantou-se um cateter 14 GA⁷ na veia jugular esquerda por meio do qual amostras de sangue venoso foram obtidas de forma seriada durante as avaliações. O cateter foi acoplado a um tubo extensor⁸ de 20 cm de comprimento vedado com um adaptador PRN⁹. O acesso venoso foi mantido devidamente preenchido com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% contendo 10 UI/mL de heparina sódica¹⁰.

A duração total de cada teste foi de 81 min, incluindo 51 min de exercício rigorosamente cronometrado segundo protocolo descrito na figura 1. Cada teste foi iniciado com um período de aquecimento de dez min ao passo (6 km/h), seguido de cinco min ao trote (11 km/h). Finalizado o aquecimento, iniciou-se a fase de exercício incremental que compreendeu sete intervalos de três min, iniciado ao trote à velocidade de 14,5 km/h, seguidos de intervalos de três min realizados ao galope com incrementos crescentes de velocidade até atingir 36 km/h. Finalmente, os equinos realizaram fase de desaquecimento ativo, incluindo dez min de trote (11 km/h) e cinco min de passo (6 km/h), seguida de fase de recuperação de 30 min em repouso.

2.2.4. Variáveis sanguíneas

Durante cada TI, realizaram-se oito colheitas de sangue venoso. A primeira colheita foi realizada no repouso antes do início do exercício. Na fase incremental, obteve-se amostras após o término das etapas realizadas à velocidade de 14,5 km/h, 25 km/h, 32 km/h e 36 km/h. Finalmente, realizou-se uma colheita ao término do desaquecimento ativo e duas colheitas na fase de recuperação em repouso. Os momentos de avaliação das variáveis sanguíneas encontram-se apresentados na figura 1.

⁶T52H™ Coded Transmitter – Polar Electro Oy – Kempele, Finland

⁷BD Insyte™ 14 GA x 1.75 IN – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Juiz de Fora – MG

⁸Tubo Extensor 20 cm – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Juiz de Fora – MG

⁹BD Luer-Lok™ – PRN Adapter – Becton Dickinson, USA

¹⁰Hepamax-S® – Blasiegel Indústria e Comércio Ltda., Cotia – SP

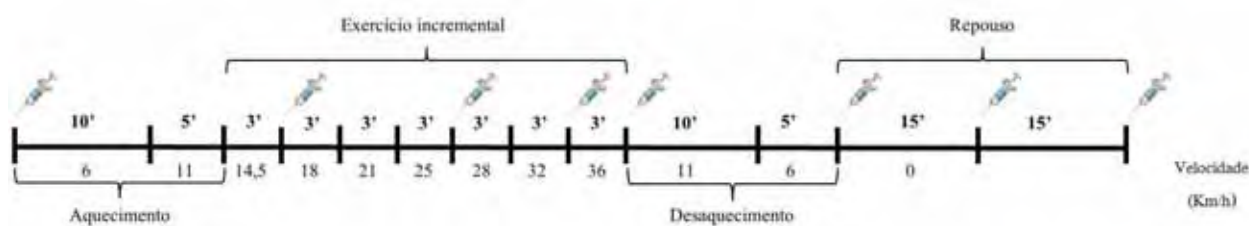


Figura 1. Linha do tempo demonstrando o protocolo de exercício teste realizado por equinos antes e após o treinamento, o desenho das seringas representa os momentos onde realizou-se coletas sanguíneas. FCAV/UNESP, Jaboticabal – 2013.

Obteve-se 9 mL de sangue venoso por colheita, sendo 3 mL destinados à avaliação hemogasométrica, 5 mL para a dosagem da concentração sérica de íons cloreto $[Cl^-]$ e proteína total e 1 mL destinado à análise da concentração de lactato.

Utilizou-se um analisador de gases, eletrólitos e hemoglobina total¹¹, determinando-se imediatamente após a colheita as concentrações venosas de sódio (Na^+), potássio (K^+), cálcio ionizado (Ca^{++}), bicarbonato (HCO_3^-), pressão parcial do gás carbônico (pCO_2), pressão parcial do oxigênio (pO_2), pH sanguíneo (pH), hemoglobina total (Hb), saturação de oxigênio (SO_2), hematócrito (Ht), e excesso de base (EB). Em todos os momentos onde se coletou sangue para hemogasometria, aferiu-se a temperatura retal por meio de termômetro digital ultrarrápido¹².

Cinco mililitros de sangue foram imediatamente armazenados em tubos secos¹³ para posterior dosagem do cloreto $[Cl^-]$ e proteína total. As amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 3000 rpm e o soro separado, congelado e armazenado a temperatura de $-20^{\circ}C$ para posterior dosagem da concentração de íons cloreto $[Cl^-]$ ¹⁴ (mmol/L) e de proteínas totais¹⁵.

Para determinação da concentração de lactato, adicionou-se 1 mL de sangue a 2 mL de fluoreto de sódio armazenados em tubos plásticos que foram inicialmente

¹¹i-STAT analyzer – Abbott Laboratories, Princeton, USA

¹² Termômetro digital Vicks® V911 ultra-rápido – Kaz, Inc., Hudson, NY – USA

¹³BD Vacutainer™ No Additive – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Curitiba – PR

¹⁴Cloretos Liquiform – Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa – MG

¹⁵Proteínas Totais – Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa – MG

resfriados por imersão em gelo e posteriormente congelados a -20°C . Finalizado o período experimental, a concentração de lactato de cada amostra foi determinada pelo método da lactato oxidase em analisador automático¹⁶.

Os valores de lactato obtidos foram submetidos à regressão exponencial, obtendo-se uma curva para a determinação da velocidade na qual o lactato atingiu 2,0 mmol/L (V_2), 1,5 mmol/L ($V_{1,5}$) e 4 mmol/L (V_4).

2.2.5. Biópsias musculares

Amostras de tecido do músculo *Gluteus medius* foram obtidas por meio de biópsia percutânea na semana anterior à realização do TI1 e uma semana após a realização do TI2. O procedimento foi realizado com os animais em posição quadrupedal, contidos em tronco e não sedados. Traçando-se uma linha imaginária entre a base da cauda e a tuberosidade ilíaca do lado esquerdo, o local da biópsia foi determinado na porção cranial do terço médio desta linha. Após tricotomia e antisepsia rigorosas da região, procedeu-se anestesia local infiltrativa utilizando-se dois mL de cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstritor¹⁷. Verificada a eficácia do bloqueio anestésico, uma amostra de tecido do músculo *Gluteus medius* esquerdo foi obtida há 6 cm de profundidade de acordo com a técnica biópsia muscular percutânea descrita por LINDHOLM & PIEHL (1974). Utilizou-se agulha de biópsia do tipo Bergström nº 6.0.

Imediatamente após a colheita, as amostras de tecido muscular foram pré-resfriadas pela imersão em hexano durante 40 segundos, armazenadas em criotubos plásticos e congeladas em nitrogênio líquido à -160°C , sendo posteriormente estocadas em freezer a -70°C .

Foram realizados curativos diários das feridas cirúrgicas oriundas da biópsia mediante limpeza com iodo-povidine aquoso¹⁸ e aplicação de pomada repelente¹⁹ até completa cicatrização.

¹⁶YSI 2300 STAT Plus Glucose & Lactate Analyzer – YSI Life Sciences, UK

¹⁷Xylestesin® 2% (sem vasoconstritor) – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., Itapira – SP

¹⁸Iodo povidine tópico – Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto – SP

2.2.6. Análises Histológicas

As amostras de tecido muscular obtidas por meio de biópsia percutânea foram seccionadas transversalmente na espessura de 12 μm em criostato²⁰ à temperatura de -20°C. Os cortes foram dispostos sobre lâminas de vidro e corados adequadamente para realização das avaliações histológica simples, histoquímica e imunohistoquímica conforme descrito por D'ANGELIS et al. (2005). Diferindo da técnica de histoquímica descrita, realizou-se pré-incubação ácida em pH 4,50 e incubação alcalina em pH 10,50 para o processamento das amostras coradas pela adenosina trifosfatase miofibrilar (mATPase). A técnica de nicotinamida adenina dinucleotídeo tetrazólio redutase (NADH-TR) foi utilizada para a identificação e distinção das fibras oxidativas, oxidativas-glicolíticas e glicolíticas. Para comprovação dos dados histoquímicos realizou-se análise imunohistoquímica das fibras do músculo *Gluteus medius*.

Após corados, os cortes histológicos tiveram suas imagens capturadas por meio do fotomicroscópio²¹ e foram analisadas por software de análise de imagens²². Uma vez que as fibras musculares foram tipificadas pela técnica NADH-TR, analisou-se a frequência de cada tipo de fibra, a área de secção transversal de cada tipo de fibra e a área relativa de cada tipo de fibra por campo microscópico analisado em aumento de 200x.

A frequência média foi obtida como porcentagem do número total de fibras presentes em cada campo microscópico analisado. A área de secção transversal média foi calculada em μm^2 , a partir da mensuração de todas as células presentes em dois campos analisados. A área relativa média de cada tipo de fibra foi calculada em porcentagem, dividindo-se a área ocupada por determinado tipo de fibra pela área ocupada pelos três tipos de fibras.

¹⁹Ungüento Pearson – Eurofarma Laboratórios Ltda., Rio de Janeiro – RJ

²⁰HM 500 OM – Microm International, Connecticut, USA

²¹Camedia Olympus BX51 – Olympus Corporation

²²Image Pro Express - Cybernetica

2.2.7. Avaliação ultrassonográfica

Realizou-se captura de imagens ultrassonográficas para a mensuração da área, largura, profundidade e espessura de gordura subcutânea sobre o músculo *Longissimus dorsi*, foi realizada na região dorso-lombar, entre a última e penúltima costelas. Na região da intersecção dos músculos *Gluteus medius* e *Biceps femoris*, avaliou-se a espessura de gordura subcutânea e a profundidade do músculo *Gluteus medius*. As imagens foram capturadas por um técnico certificado²³, utilizando-se equipamento de ultrassonografia²⁴ dotado de transdutor linear de 17,2 cm de comprimento e 3,5 MHz, acoplado a uma guia acústica (*standoff pad*).

2.2.8. Enduro FEI*

Uma semana após o término do período de treinamento, foi realizada uma prova similar a uma competição oficial de enduro equestre CEI*. Os equinos percorreram um trajeto de 80 km de distância, dividido em quatro etapas (anéis), sendo que a distância percorrida na primeira volta foi de 30 km, a segunda 20 km e a terceira e quarta volta com distância de 15 km. Foram realizados intervalos de 50 minutos entre cada anel.

A velocidade média realizada pelos animais foi de 12,5 km/h. O exame físico foi efetuado para determinar-se a higidez dos animais, habilitando-os ou não a prosseguir o exercício. O exame final foi realizado 20 minutos após a chegada de cada anel. Foram avaliadas qualidade do movimento, frequência cardíaca (FC), frequência respiratória, temperatura retal, perfusão tecidual (coloração de mucosas e tempo de preenchimento capilar), elasticidade cutânea e sensibilidade dos músculos lombares e pélvicos.

2.2.9. Análise estatística

²³Ultrasound Guidelines Council, UGC, USA

²⁴ALOKA 500V

Utilizando-se o *Software SAS (Statistical Analysis System)*, os dados obtidos foram submetidos a teste de normalidade com 5% de significância (*Shapiro-Wilk*) e análise de variância (ANOVA). Constatada a significância, aplicou-se o teste *t-Student* ($p < 0,05$) para comparação das médias das variáveis musculares e *Tukey* ($p < 0,05$) para comparação das médias das variáveis sanguíneas e FC obtidas durante os testes. Os dados apresentam-se como média $\pm$ desvio padrão (DP).

2.3. Resultados

2.3.1. Treinamento

O treinamento de três meses foi realizado conforme proposto para nove dos 11 equinos incluídos no estudo. Dois animais apresentaram sinais de claudicação, o treinamento dos mesmos foi interrompido e, portanto, não puderam realizar o TI2.

2.3.2. Teste incremental

Os testes TI1 e TI2 foram realizados em condições climáticas diferentes, visto que o período de três meses de treinamento os separou em estações distintas. O TI1 foi realizado no mês de julho, durante o inverno, com temperatura média de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar de $38 \pm 3\%$. O TI2 no mês de outubro, durante a primavera, com temperatura média de $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar de $39 \pm 5\%$.

O acesso venoso de dois animais foi perdido durante o TI2, então o teste dos mesmos foi interrompido. Portanto, foram utilizados apenas os sete animais que participaram de ambos os testes para realização de análise estatística dos dados obtidos.

2.3.3. Frequência cardíaca

Em ambos os testes a FC aumentou seguindo os incrementos na velocidade, apresentando diferenças entre as medidas realizadas no mesmo teste, conforme apresentado na tabela 1.

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão da média da FC (bpm) durante os testes de esforços progressivos, antes (TI1) e depois (TI2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

		AVALIAÇÕES						
		Basal	14,5 km/h	25 km/h	32 km/h	36 km/h	11 km/h	6 km/h
FC (bpm)	TI1	33,57 $\pm 2,15^{Ae}$	116,57 $\pm 29,96^{Ac}$	150,50 $\pm 26,32^{Ab}$	174,14 $\pm 27,71^{Aab}$	191,80 $\pm 19,42^{Aa}$	122,57 $\pm 24,79^{Ac}$	88,00 $\pm 15,19^{Ad}$
	TI2	34,71 $\pm 5,99^{Ae}$	117,86 $\pm 14,11^{Ac}$	165,71 $\pm 21,34^{Ab}$	191,57 $\pm 15,67^{Aa}$	198,75 $\pm 12,01^{Aa}$	125,00 $\pm 15,90^{Ac}$	90,29 $\pm 13,33^{Ad}$

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os valores de FC não apresentaram diferenças entre os testes conforme representado pela figura 2.

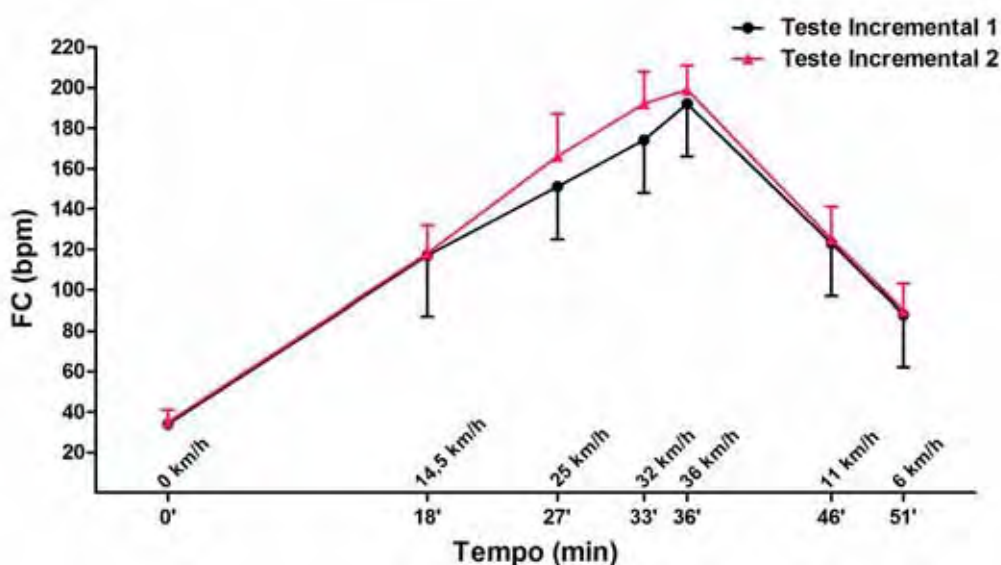


Figura 2. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da FC (bpm) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício incremental em testes realizados antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

2.3.4. Hemoglobina e hematócrito

O hematócrito (Hct) e a hemoglobina (Hb) tiveram o mesmo comportamento ao longo dos dois testes, aumentando gradativamente a medida que elevava-se a intensidade do exercício, e diminuindo, posteriormente, ao final do desaquecimento ativo e aos 15 e 30 minutos de recuperação. Não houve diferença entre os dois testes.

Tabela 2. Valores médios $\pm$ desvio padrão da média do hematócrito (%) e hemoglobina g/dL) durante e após os testes de esforços progressivos, antes (TI 1) e depois (TI 2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

		AVALIAÇÕES							
		Basal	14,5 km/h	25 km/h	32 km/h	36 km/h	6 km/h	15 minutos	30 minutos
Hct (%)	TI1	35,86 $\pm 4,67^{Abc}$	43,00 $\pm 17,76^{Aabc}$	46,43 $\pm 2,88^{Ab}$	49,43 $\pm 1,99^{Aa}$	51,00 $\pm 1,73^{Aa}$	41,71 $\pm 4,15^{Aabc}$	37,71 $\pm 1,70^{Abc}$	34,71 $\pm 2,14^{Ac}$
	TI2	32,86 $\pm 1,68^{Ae}$	37,14 $\pm 3,18^{Acd}$	47,71 $\pm 2,56^{Ab}$	51,71 $\pm 1,89^{Aa}$	52,00 $\pm 1,29^{Aa}$	40,29 $\pm 1,25^{Ac}$	37,14 $\pm 2,27^{Acd}$	35,00 $\pm 2,94^{Ade}$
Hb (g/dL)	TI1	11,96 $\pm 1,65^{Ad}$	12,40 $\pm 0,69^{Acd}$	15,79 $\pm 0,96^{Ab}$	16,88 $\pm 0,65^{Aab}$	17,38 $\pm 0,57^{Aa}$	13,64 $\pm 0,21^{Ac}$	12,23 $\pm 0,29^{Ad}$	11,74 $\pm 0,72^{Ad}$
	TI2	11,19 $\pm 0,58^{Ae}$	12,63 $\pm 1,09^{Acd}$	16,23 $\pm 0,86^{Ab}$	17,60 $\pm 0,65^{Aa}$	17,70 $\pm 0,41^{Aa}$	13,70 $\pm 0,43^{Ac}$	12,63 $\pm 0,80^{Acd}$	11,90 $\pm 0,98^{Ade}$

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

2.3.5. Glicose e Lactato

No início do exercício, em ambos os testes, as concentrações glicêmicas dos animais sofreram decréscimo, porém ao longo do exercício os valores retornaram aos basais. Não houve diferença entre os testes de acordo com o demonstrado na tabela 3 e figura 3.

Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvio padrão da concentração de glicose (mg/dL) durante e após os exercícios testes incrementais, antes (ETI 1) e depois (ETI 2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

		AVALIAÇÕES							
		Basal	14,5 km/h	25 km/h	32 km/h	36 km/h	6 km/h	15 minutos	30 minutos
Glicose (mg/dL)	TI1	95,14 $\pm 12,50^{Aabc}$	84,14 $\pm 12,20^{Ac}$	93,00 $\pm 21,59^{Abc}$	101,00 $\pm 19,24^{Aabc}$	113,43 $\pm 17,02^{Aa}$	111,00 $\pm 15,85^{Aab}$	105,43 $\pm 4,43^{Aab}$	98,14 $\pm 12,06^{Aabc}$
	TI2	112,43 $\pm 15,49^{Aa}$	88,14 $\pm 11,23^{Abc}$	85,29 $\pm 10,89^{Ac}$	103,14 $\pm 5,43^{Aab}$	113,43 $\pm 1,90^{Aa}$	108,29 $\pm 6,87^{Aa}$	110,43 $\pm 11,79^{Aa}$	108,14 $\pm 12,59^{Aa}$

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

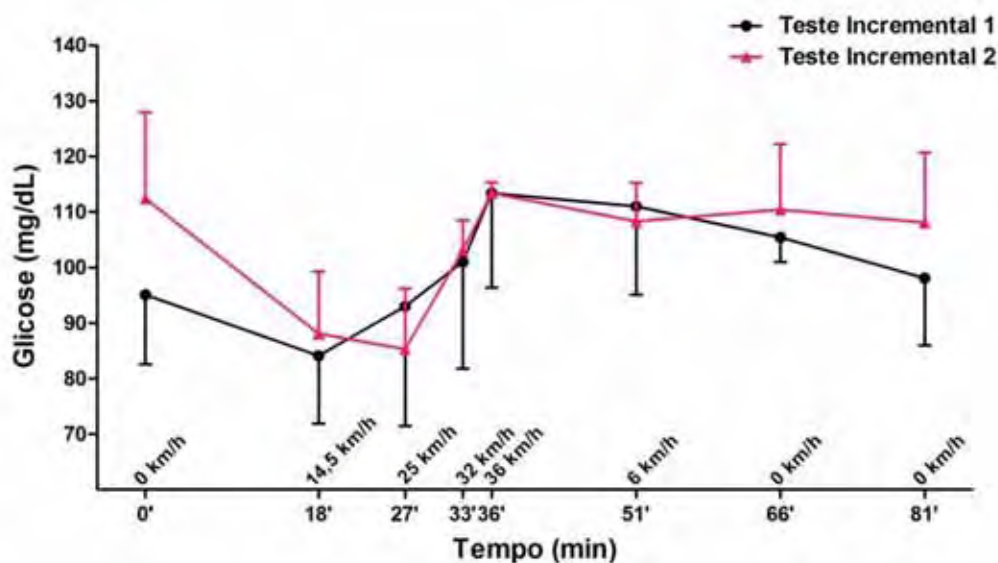


Figura 3. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de glicose (mg/dL) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício incremental em testes realizados antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

Pode-se notar que as concentrações sanguíneas de lactato (Lac) aumentaram proporcionalmente à velocidade, atingindo os maiores valores nos últimos intervalos dos TIs. Durante o desaquecimento ativo ocorre redução das concentrações de lactato. Houve aumento nas concentrações máximas de lactato no segundo teste (TI 2) em relação ao primeiro (TI 1), conforme demonstrado na tabela 4. A curva do lactato em relação às velocidades está demonstrada na figura 4.

Tabela 4. Valores médios $\pm$ desvio padrão da média do lactato (mmol/L) durante e após os testes de esforços progressivos, antes (TI1) e depois (TI2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

		AVALIAÇÕES							
		Basal	14,5 km/h	25 km/h	32 km/h	36 km/h	6 km/h	15 min	30 min
Lactato (mmol/L)	TI1	0,63	0,46	1,46	4,61	6,84	1,67	1,26	1,46
		$\pm 0,40^{Ac}$	$\pm 0,18^{Ac}$	$\pm 0,39^{Ac}$	$\pm 2,29^{Ab}$	$\pm 1,18^{Aa}$	$\pm 0,80^{Ac}$	$\pm 0,47^{Ac}$	$\pm 0,32^{Ac}$
	TI2	0,74	0,69	2,15	6,15	9,53	2,16	1,58	1,48
		$\pm 0,34^{Ac}$	$\pm 0,34^{Ac}$	$\pm 1,42^{Ac}$	$\pm 3,10^{Ab}$	$\pm 2,53^{Ba}$	$\pm 1,64^{Ac}$	$\pm 1,22^{Ac}$	$\pm 0,86^{Ac}$

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

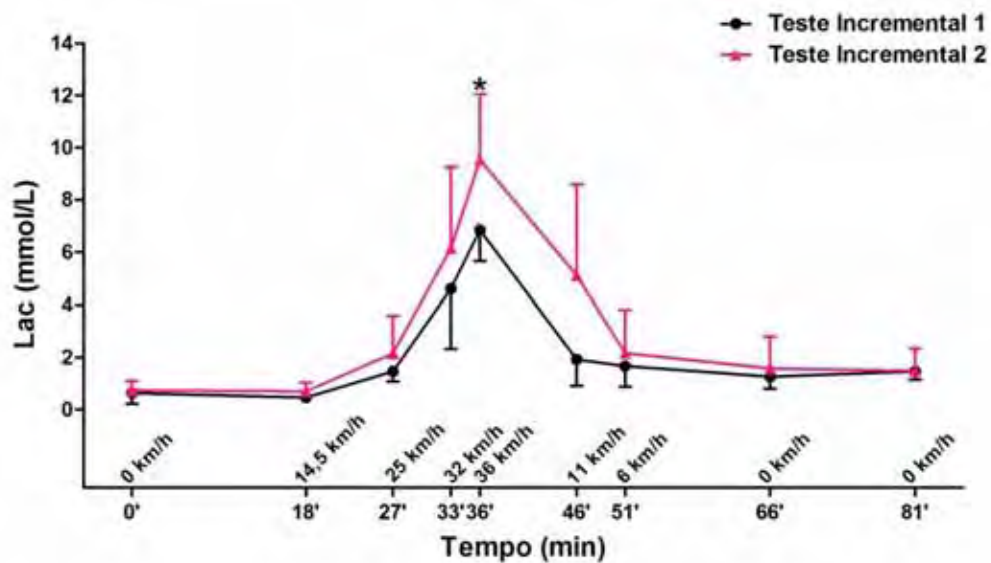


Figura 4. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de lactato (mmol/L) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício incremental em testes realizados antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

* Indicam diferenças significativas entre os testes.

Embora tenha ocorrido diminuição nos valores de $V_{1.5}$, V_2 e V_4 no TI2 em 9, 10 e 7% respectivamente, em relação ao TI1, os mesmos não diferiram estatisticamente, conforme demonstrado na figura 5.

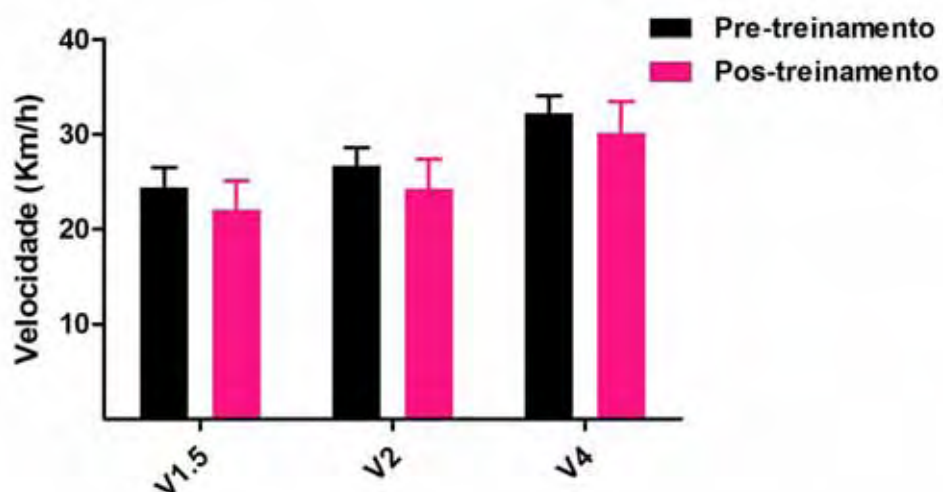


Figura 5. Variação dos valores médios $\pm$ EPM dos valores calculados mediante regressão exponencial para $V_{1.5}$, V_2 e V_4 (km/h), de equinos obtidos durante realização de exercício incremental em testes realizados antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

2.3.6. Eletrólitos, gases sanguíneos e proteína total

Os valores médios do pH, pressão de dióxido de carbono, pressão de oxigênio, saturação de oxigênio, hematócrito, hemoglobina, excesso de base e temperatura retal nos testes de esforço progressivo antes (TI1) e após (TI2) o período de treinamento encontram-se descritos na tabela 5.

O pH diminuiu conforme a intensidade do teste aumentou, chegando a valores abaixo dos considerados de referência (7,35-7,45) para a espécie equina, no momento de maior intensidade (36 km/h). Os menores valores foram encontrados no segundo teste, diferindo do primeiro nos momentos 32 e 36 km/h. O bicarbonato acompanhou o comportamento do pH porém não houve diferença estatística entre os testes em nenhum momento. O excesso de base seguiu o comportamento do pH, e do bicarbonato, havendo diferença estatística entre os testes no momento 36 km/h.

A pressão de dióxido de carbono diminuiu ao longo dos testes e aumentou nos momentos de recuperação, diferindo estatisticamente entre os testes apenas no penúltimo e antepenúltimo momento, momentos de recuperação pós exercício.

A PO_2 venosa sofreu leve aumento ao longo dos dois testes, não diferindo entre eles.

É possível observar que as temperaturas retais aumentam significativamente de acordo com a intensidade do exercício e que, portanto, os maiores valores coincidem com as maiores velocidades. No TI 2 as temperaturas foram maiores que no TI 1 provavelmente em decorrência de uma maior temperatura ambiente no dia do TI 2. O único momento onde houve diferença estatística entre os testes ocorreu após 15 minutos do término do teste.

Tabela 5. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis hemogasométricas pH, pressão de dióxido de carbono (mmHg), pressão de oxigênio (mmHg), saturação de oxigênio (%), excesso de base e temperatura ($^{\circ}$ C) durante e após os exercícios testes incrementais, antes (ETI 1) e depois (ETI 2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

		AVALIAÇÕES							
		Basal	14,5 km/h	25 km/h	32 km/h	36 km/h	6 km/h	15 minutos	30 minutos
pH	TI1	7,43 $\pm 0,02^{Abcd}$	7,46 $\pm 0,02^{Aab}$	7,45 $\pm 0,02^{Aabc}$	7,41 $\pm 0,01^{Ad}$	7,35 $\pm 0,02^{Ae}$	7,47 $\pm 0,04^{Aa}$	7,45 $\pm 0,01^{Aabc}$	7,42 $\pm 0,02^{Adc}$
	TI2	7,42 $\pm 0,01^{Aa}$	7,42 $\pm 0,02^{Aa}$	7,42 $\pm 0,01^{Aa}$	7,37 $\pm 0,04^{Bb}$	7,31 $\pm 0,04^{Bc}$	7,43 $\pm 0,01^{Aa}$	7,42 $\pm 0,02^{Aa}$	7,42 $\pm 0,03^{Aa}$
pCO ₂ (mmHg)	TI1	45,84 $\pm 2,10^{Aab}$	43,59 $\pm 2,93^{Aab}$	44,07 $\pm 2,01^{Aab}$	42,78 $\pm 3,43^{Ab}$	44,24 $\pm 2,81^{Aab}$	41,69 $\pm 4,70^{Ab}$	42,93 $\pm 1,34^{Ab}$	47,93 $\pm 3,23^{Aa}$
	TI2	45,60 $\pm 1,88^{Aab}$	47,73 $\pm 2,67^{Aa}$	45,99 $\pm 2,56^{Aab}$	45,11 $\pm 4,38^{Aab}$	43,85 $\pm 3,39^{Ab}$	46,91 $\pm 1,69^{Bab}$	48,03 $\pm 3,14^{Ba}$	48,33 $\pm 4,05^{Aa}$
pO ₂ (mmHg)	TI1	35,86 $\pm 5,46^{Ad}$	42,86 $\pm 5,08^{Abcd}$	45,14 $\pm 3,18^{Aabc}$	48,14 $\pm 4,26^{Aab}$	48,43 $\pm 4,12^{Aab}$	52,43 $\pm 8,62^{Aa}$	37,00 $\pm 3,56^{Acd}$	35,86 $\pm 5,98^{Ad}$
	TI2	41,43 $\pm 3,51^{Ab}$	39,71 $\pm 4,82^{Ab}$	51,14 $\pm 4,06^{Aa}$	54,43 $\pm 5,91^{Aa}$	50,14 $\pm 1,35^{Aa}$	51,57 $\pm 3,60^{Aa}$	39,71 $\pm 6,05^{Ab}$	38,43 $\pm 5,91^{Ab}$
SO ₂ (%)	TI1	68,29 $\pm 10,50^{Acd}$	79,14 $\pm 5,05^{Aab}$	78,57 $\pm 3,26^{Aab}$	78,71 $\pm 4,79^{Aab}$	75,43 $\pm 4,08^{Aabc}$	84,29 $\pm 6,42^{Aa}$	70,29 $\pm 3,30^{Abcd}$	65,00 $\pm 10,03^{Ad}$
	TI2	76,00 $\pm 3,00^{Aabc}$	72,57 $\pm 7,04^{Abc}$	82,43 $\pm 2,99^{Aa}$	81,00 $\pm 5,66^{Aab}$	74,29 $\pm 2,69^{Aabc}$	82,00 $\pm 3,70^{Aa}$	69,00 $\pm 8,43^{Ac}$	68,43 $\pm 8,89^{Ac}$
BE	TI1	6,00 $\pm 0,58^{Aa}$	7,00 $\pm 1,41^{Aa}$	6,57 $\pm 0,98^{Aa}$	2,71 $\pm 2,29^{Ab}$	-1,00 $\pm 2,38^{Ac}$	6,14 $\pm 2,04^{Aa}$	5,71 $\pm 0,49^{Aa}$	6,14 $\pm 1,86^{Aa}$
	TI2	5,43 $\pm 1,13^{Aa}$	6,86 $\pm 1,07^{Aa}$	5,14 $\pm 1,57^{Aa}$	0,29 $\pm 3,20^{Ab}$	-4,29 $\pm 2,14^{Bc}$	6,71 $\pm 0,49^{Aa}$	6,29 $\pm 1,11^{Aa}$	6,57 $\pm 0,98^{Aa}$
T $^{\circ}$ C	TI1	37,09 $\pm 0,38^{Ae}$	37,40 $\pm 0,40^{Ade}$	38,53 $\pm 0,44^{Abc}$	38,93 $\pm 0,44^{Aab}$	39,36 $\pm 0,42^{Aa}$	38,81 $\pm 0,56^{Aab}$	37,73 $\pm 0,82^{Ade}$	37,86 $\pm 0,52^{Acd}$
	TI2	37,37 $\pm 0,56^{Ae}$	37,67 $\pm 0,53^{Ade}$	38,57 $\pm 0,48^{Ab}$	39,39 $\pm 0,50^{Aa}$	39,60 $\pm 0,48^{Aa}$	39,16 $\pm 0,75^{Aa}$	38,49 $\pm 0,43^{Bbc}$	38,04 $\pm 0,35^{Acd}$

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O sódio, cálcio, cloro e proteína mantiveram-se praticamente constantes ao longo dos testes e não diferiram entre os testes. O potássio sofreu leve aumento após o início dos testes e no desaquecimento diminuiu bastante, houve diferença entre os testes no momento 25 km/h.

Os valores médios de íons cloreto, sódio, bicarbonato, potássio, cálcio ionizado e proteína nos testes de esforço progressivo antes (TI1) e após (TI2) o período de treinamento encontram-se descritos na tabela 6.

A concentração de sódio quase não variou no decorrer dos testes, ocorrendo diferença estatística entre os momentos apenas no segundo teste, sendo o momento de maior valor correspondente ao de maior velocidade.

As concentrações de potássio aumentam com o decorrer do exercício e diminuem após o término do mesmo. Houve diferença estatística entre os testes apenas no momento 25 km/h.

Não houve diferença entre as concentrações de cálcio ionizado nos diferentes testes. As médias diferiram ao longo dos momentos do mesmo teste, apresentando menores valores coincidindo com as maiores velocidades.

Não houve variação do íon cloreto entre os testes ou momentos.

Tabela 6. Valores médios $\pm$ desvio padrão da média dos eletrólitos cloreto (mmol/L), sódio (mmol/L), bicarbonato (mmol/L), potássio (mmol/L), cálcio ionizado (mmol/L) e proteína (g/dL) durante e após a realização dos testes de esforços progressivos, antes (TI 1) e depois (TI 2) do período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

		AVALIAÇÕES							
		Basal	14,5 km/h	25 km/h	32 km/h	36 km/h	6 km/h	15 minutos	30 minutos
Cl ⁻ (mmol/L)	TI1	93,09 $\pm 12,03^{Aa}$	90,63 $\pm 11,51^{Aa}$	91,81 $\pm 10,93^{Aa}$	99,77 $\pm 13,32^{Aa}$	89,67 $\pm 4,37^{Aa}$	87,89 $\pm 17,26^{Aa}$	85,03 $\pm 4,74^{Aa}$	88,37 $\pm 11,77^{Aa}$
	TI2	98,39 $\pm 11,84^{Aa}$	95,63 $\pm 3,39^{Aa}$	100,80 $\pm 8,03^{Aa}$	97,91 $\pm 5,34^{Aa}$	95,70 $\pm 4,63^{Aa}$	97,17 $\pm 15,82^{Aa}$	97,51 $\pm 7,89^{Aa}$	101,61 $\pm 6,54^{Aa}$
Na ⁺ (mmol/L)	TI1	139,43 $\pm 1,51^{Aa}$	139,71 $\pm 1,60^{Aa}$	140,00 $\pm 1,73^{Aa}$	140,29 $\pm 0,95^{Aa}$	140,43 $\pm 2,15^{Aa}$	139,14 $\pm 1,46^{Aa}$	139,29 $\pm 1,25^{Aa}$	139,29 $\pm 1,98^{Aa}$
	TI2	138,43 $\pm 0,79^{Ac}$	139,57 $\pm 0,98^{Abc}$	139,71 $\pm 1,25^{Abc}$	140,00 $\pm 1,15^{Aab}$	141,14 $\pm 1,35^{Aa}$	139,00 $\pm 1,15^{Abc}$	139,71 $\pm 1,11^{Abc}$	140,00 $\pm 1,00^{Aab}$
HCO ₃ (mmol/L)	TI1	30,21 $\pm 0,69^{Aa}$	30,77 $\pm 1,3^{Aa}$	30,11 $\pm 0,96^{Aa}$	26,52 $\pm 2,17^{Ab}$	24,15 $\pm 2,17^{Ab}$	29,53 $\pm 1,91^{Aa}$	29,47 $\pm 0,44^{Aa}$	30,51 $\pm 1,62^{Aa}$
	TI2	29,60 $\pm 1,21^{Aa}$	31,11 $\pm 1,37^{Aa}$	29,13 $\pm 1,61^{Aa}$	25,23 $\pm 2,93^{Ab}$	21,62 $\pm 1,76^{Ac}$	30,48 $\pm 0,45^{Aa}$	30,47 $\pm 1,17^{Aa}$	30,83 $\pm 1,06^{Aa}$
K ⁺ (mmol/L)	TI1	3,86 $\pm 0,30^{Ac}$	4,31 $\pm 0,30^{Ab}$	4,69 $\pm 0,25^{Aab}$	4,60 $\pm 0,14^{Aab}$	4,82 $\pm 0,21^{Aa}$	3,74 $\pm 0,27^{Ac}$	3,07 $\pm 0,45^{Ad}$	3,14 $\pm 0,41^{Ad}$
	TI2	3,67 $\pm 0,11^{Ad}$	4,04 $\pm 0,10^{Abc}$	4,16 $\pm 0,21^{Bb}$	4,30 $\pm 0,35^{Ab}$	4,77 $\pm 0,18^{Aa}$	3,70 $\pm 0,17^{Acd}$	3,13 $\pm 0,24^{Ae}$	3,04 $\pm 0,19^{Ae}$
Ca ⁺⁺ (mmol/L)	TI1	1,67 $\pm 0,06^{Aab}$	1,64 $\pm 0,06^{Aab}$	1,54 $\pm 0,04^{Acd}$	1,47 $\pm 0,06^{Ade}$	1,42 $\pm 0,06^{Ae}$	1,49 $\pm 0,10^{Ade}$	1,59 $\pm 0,06^{Abc}$	1,69 $\pm 0,10^{Aa}$
	TI2	1,71 $\pm 0,04^{Aa}$	1,67 $\pm 0,04^{Aa}$	1,56 $\pm 0,05^{Abc}$	1,47 $\pm 0,05^{Acd}$	1,42 $\pm 0,04^{Ad}$	1,58 $\pm 0,06^{Ab}$	1,65 $\pm 0,10^{Aab}$	1,71 $\pm 0,11^{Aa}$
Proteína mg/dL	TI1	6,74 $\pm 0,55^{Aa}$	6,47 $\pm 0,80^{Aa}$	6,87 $\pm 0,92^{Aa}$	7,63 $\pm 0,58^{Aa}$	7,23 $\pm 0,39^{Aa}$	6,75 $\pm 0,77^{Aa}$	6,85 $\pm 0,68^{Aa}$	6,89 $\pm 0,91^{Aa}$
	TI2	6,17 $\pm 0,30^{Ab}$	6,13 $\pm 0,65^{Ab}$	6,85 $\pm 0,45^{Aab}$	7,47 $\pm 0,42^{Aa}$	6,57 $\pm 0,85^{Aab}$	6,62 $\pm 0,59^{Aab}$	7,03 $\pm 1,09^{Aab}$	6,80 $\pm 0,87^{Aab}$

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

2.3.7. Biópsia muscular

Com o treinamento a frequência de fibras do tipo I diminuiu, bem como a área total relativa ocupada por este tipo de fibra. A área total relativa das fibras do tipo IIX aumentou com o treinamento. As outras variáveis não diferiram conforme apresentado na tabela 7, e figuras 7, 8 e 9.

Exemplos de imagens histológicas do músculo glúteo médio colhidas de um mesmo animal antes e após o treinamento encontram-se representado na figura 6.

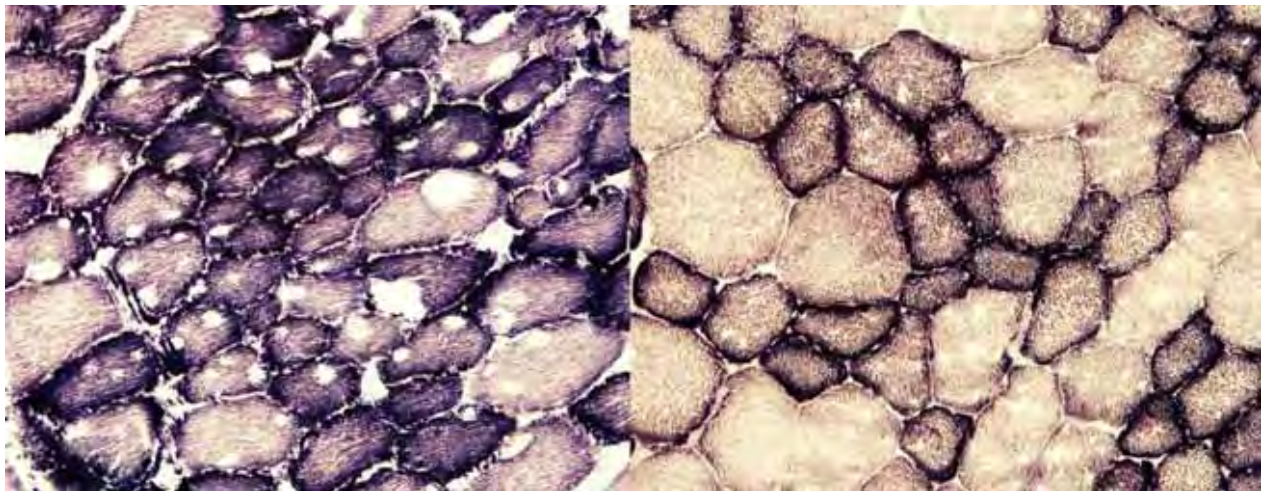


Figura 6. Cortes de fragmento do músculo *Gluteus medius* de equino, antes (A) e após (B) período de 90 dias de treinamento corados por histoquímica para análise da atividade da NADH. Fibra tipo I: roxo escuro, tipo IIA: roxo intermediário e tipo IIX: roxo claro; 200X.. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

Tabela 7. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis obtidas por meio de biópsia muscular percutânea antes e após o período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

	VARIÁVEIS MUSCULARES								
	Frequência			Área de secção transversal			Área Total Relativa		
	FI	FIIA	FIIX	ASTI	ASTIIA	ASTIIX	ATRI	ATRIIA	ATRIIX
Antes	34,70	41,21	24,09	3313,01	4673,00	6924,05	25,52	39,81	34,66
treinamento	$\pm 7,80^A$	$\pm 6,32^A$	$\pm 6,70^A$	$\pm 602,01^A$	$\pm 1132,16^A$	$\pm 2063,71^A$	$\pm 6,37^A$	$\pm 7,55^A$	$\pm 7,42^A$
Após	28,34	45,23	26,43	3102,15	4738,55	8160,26	17,02	41,57	41,41
treinamento	$\pm 4,99^B$	$\pm 6,69^A$	$\pm 6,39^A$	$\pm 607,56^A$	$\pm 1107,37^A$	$\pm 2007,23^A$	$\pm 2,30^B$	$\pm 7,35^A$	$\pm 6,58^B$

Sendo F a frequência (%) do tipo de fibra, AST (μm^2) a área de secção transversal de cada tipo de fibra e ATR a área total relativa (%) de cada tipo de fibra.

Médias $\pm$ desvio padrão seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste t de Student ($P < 0,05$).

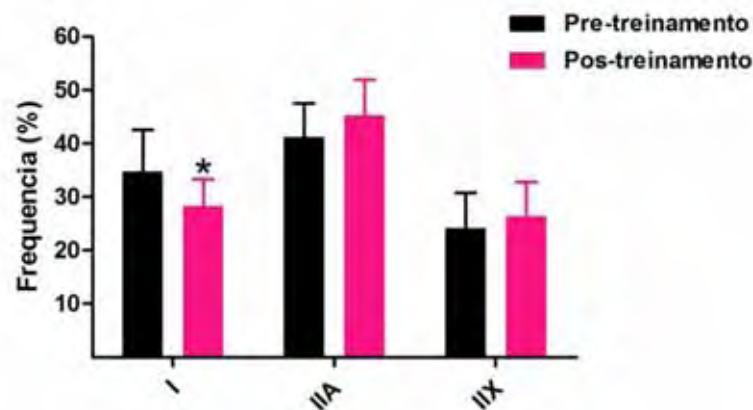


Figura 7. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da frequência(%) de cada tipo de fibra muscular (I, IIA e IIX) de equinos colhido por meio de biópsia percutânea antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.
* Indicam diferenças significativas pelo teste t de Student ($P < 0,05$) para o mesmo tipo de fibra.

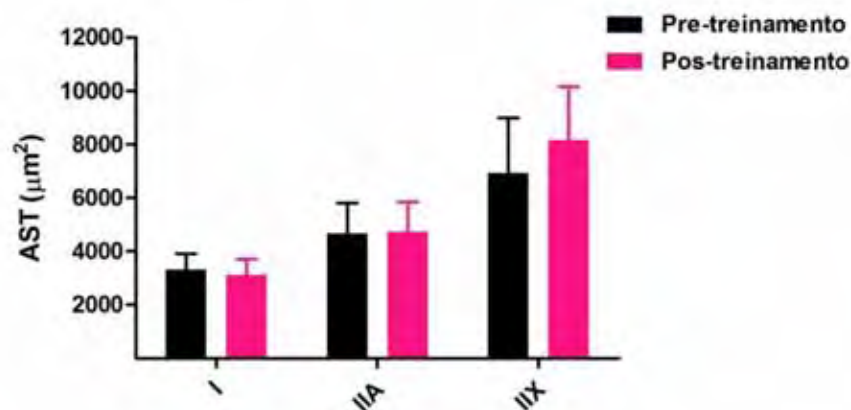


Figura 8. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da área de secção transversal (μm^2) de cada tipo de fibra muscular (I, IIA e IIX) de equinos colhido por meio de biópsia percutânea antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

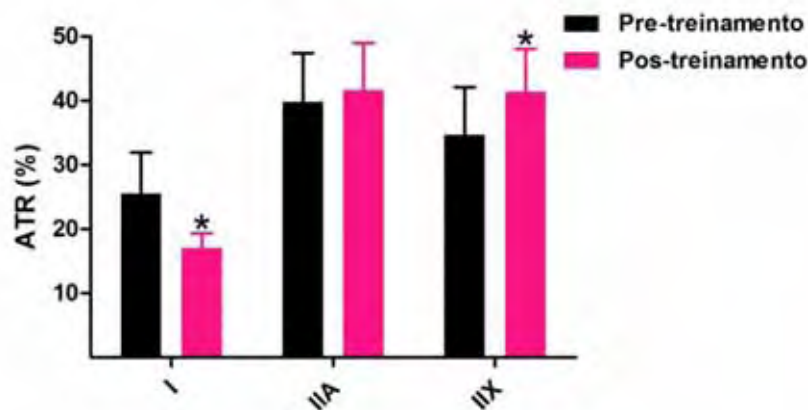


Figura 9. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da área total relativa(%) ocupada por cada tipo de fibra muscular (I, IIA e IIX) de equinos colhido por meio de

biópsia percutânea antes e após o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

* Indicam diferenças significativas pelo teste t de Student ($P < 0,05$) para o mesmo tipo de fibra.

2.3.8. Avaliação ultrassonográfica

As variáveis área, camada de gordura, largura e profundidade, obtidas por meio de avaliação ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi* não diferiram antes e após o treinamento, conforme apresentado na tabela 8.

Tabela 8. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis obtidas por meio de avaliação ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi* antes e após o período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

<i>Longissimus Dorsi</i>		
	Pré Treinamento	Pós treinamento
Área (cm ²)	87,01 $\pm$ 6,28	87,77 $\pm$ 4,85
Camada de Gordura (mm)	0,98 $\pm$ 0,47	0,93 $\pm$ 0,64
Largura (mm)	8,23 $\pm$ 0,22	8,26 $\pm$ 0,21
Profundidade (mm)	3,73 $\pm$ 0,23	3,84 $\pm$ 0,29

A figura 10 ilustra imagens ultrassonográficas do músculo *Longissimus dorsi* de um equino antes (10A) e após (10B) o treinamento.

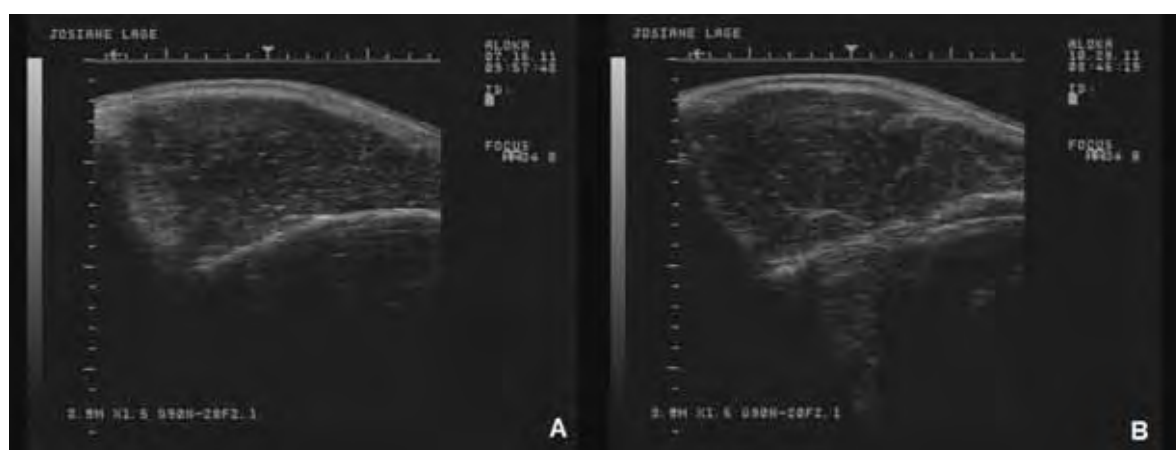


Figura 10. Imagem ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi* de um equino antes (A) e após (B) o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

As variáveis profundidade e camada de gordura obtidas por meio de avaliação ultrassonográfica do músculo *Gluteus medius* não diferiram antes e após o treinamento, conforme apresentado na tabela 9.

Tabela 9. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis obtidas por meio de por meio de avaliação ultrassonográfica do músculo *Gluteus medius* antes e após o período de treinamento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

	<i>Gluteus medius</i>	
	Pré Treinamento	Pós treinamento
Camada de Gordura (mm)	0,98 $\pm$ 0,47	0,93 $\pm$ 0,64
Profundidade (mm)	3,73 $\pm$ 0,23	3,84 $\pm$ 0,29

A figura 11 ilustra imagens ultrassonográficas do músculo *Gluteus medius* de um equino antes (11A) e após (11B) o treinamento.

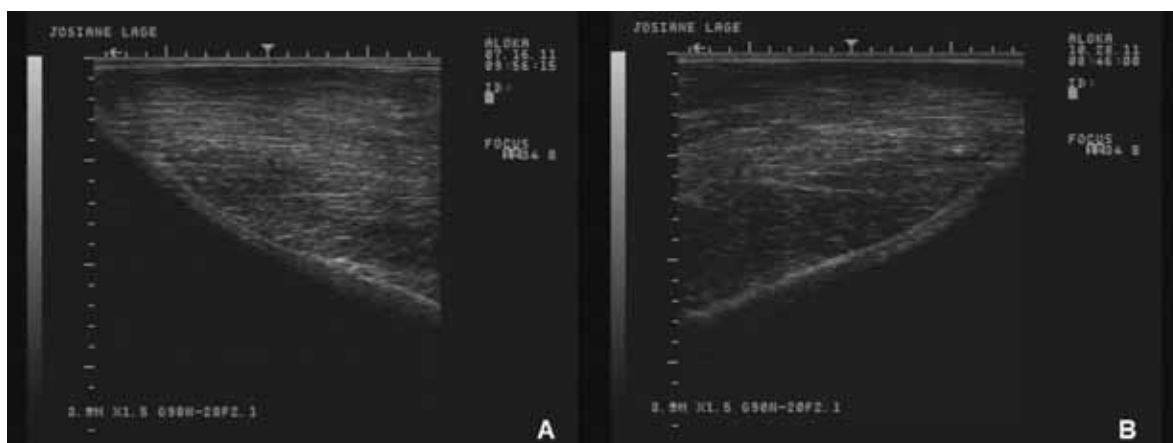


Figura 11. Imagem ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi* de um equino antes (A) e após (B) o treinamento de resistência. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

2.3.9. Enduro FEI*

Durante a realização do enduro, quatro animais foram desclassificados por apresentarem claudicação. Portanto, apenas cinco animais terminaram o esforço de longa duração. No dia da realização do enduro, o índice pluviométrico foi 14,1 mm. A umidade relativa do ar esteve superior a 90% ao longo de toda a prova. Em

decorrência das más condições climáticas que acabaram prejudicando muito a qualidade do solo, que se tornou enlameado, a velocidade média dos equinos ao longo da prova foi de 12,5 km/h.

2.4. Discussão

A proposta de realização do presente trabalho foi avaliar um protocolo de treinamento de resistência para equinos competidores da modalidade enduro, por meio de teste de esforço, ambos realizados completamente fora do ambiente laboratorial. Portanto avaliou-se “equinos reais em condições reais”.

As condições de campo da região montanhosa na qual dois terços do treinamento foi realizado, em trilhas de terreno extremamente acidentado, com subidas e descidas íngremes, possivelmente exigiu trabalho muscular intenso. Os valores de V_{lac} foram obtidos durante testes de esforço realizados em terreno plano. Entretanto, sugere-se que tais valores seriam menores se obtidos durante o exercício nas trilhas, visto que o esforço realizado foi maior devido à inclinação do percurso. Courouc  et al., (2000) demonstraram resultados de testes realizados por equinos em esteira rolante apresentando inclinações distintas, apresentando diferenças nos valores de V_2 . A inclinação de 2% da esteira gerou diminuição de 12% no valor de V_2 e, a inclinação de 4% diminuiu em 23% o valor de V_2 . Não é possível a determinação matemática exata da intensidade do esforço realizado durante o treinamento nas trilhas. Entretanto, considerando os valores de V_{lac} obtidos no plano e a velocidade de 5,5 a 6 km/h realizada em terreno inclinado, sugere-se que os equinos realizaram exercício à intensidade maior que 28% do $V_{1,5}$, 24% do V_2 e 19% do V_4 . Assim, apesar da velocidade reduzida na trilha, o fator inclinação foi fundamental para tornar o trabalho realizado durante o treinamento, de alta intensidade.

O treinamento em pista de areia plana foi realizado uma vez por semana à velocidade de 15 a 18 km/h. De acordo com os valores de V_{lac} obtidos no presente estudo, que não diferiram entre os testes, o cálculo demonstra que os equinos treinaram no plano a aproximadamente 72% do $V_{1,5}$, 65% do V_2 e 53% do V_4 . Esta intensidade de treinamento para cavalos de enduro está de acordo com a

recomendação de Lindner (2010b), que testando diferentes intensidades de V_{lac} , encontrou melhor correlação entre o $V_{1,5}$ e a máxima fase estável do lactato. E também está de acordo com o treinamento preconizado por Evans (2000), que recomenda um treinamento base, realizado à baixas velocidades, visando melhorar a capacidade aeróbica e resistência do sistema músculo esquelético alternado com sessões semanais em velocidades mais elevadas para estímulo do sistema cardiovascular.

Embora não tenha sido encontrado diferença estatística nos valores de $V_{1,5}$, V_2 e V_4 , estes diminuíram 9, 10 e 7%, respectivamente. Apesar desse achado, acredita-se que o treinamento tenha sido eficiente, visto que os animais cumpriram o objetivo de realizar uma prova de enduro com 80 km de extensão e as eliminações ocorridas não foram relacionadas a distúrbios metabólicos. Diminuição nos valores de V_4 após o treinamento também foi encontrado por Lindner et al. (2009), que treinou cavalos três vezes por semana baseado no V_{10} . Uma possível explicação para isto ter ocorrido no presente estudo foi que as condições climáticas do segundo teste implicaram num desafio fisiológico muito maior aos animais.

Além disso, a maioria dos testes de esforço padronizados para obtenção do V_4 , são realizados em esteiras rolantes, sob condições controladas e sem a influência do cavaleiro, isso torna a condição ideal, porém irreal. Outra possível explicação é o fato de ter ocorrido aumento na proporção de fibras glicolíticas, que são as principais responsáveis pela produção de lactato. Assim, o lactato consistiu um substrato energético significativo para a gliconeogênese. Outra possibilidade é que com a proximidade do segundo teste, os treinadores tenham intensificado o treinamento e com isso produziu-se um estado de *overreaching* conforme proposto por Lindner et al. (2009), que atribuíram a diminuição do V_4 em cavalos treinados 3 vezes por semana no V_{10} a esse fato. Além destas, uma possibilidade que não pode ser descartada é a presença de alguma doença respiratória subclínica, o que teria limitado as trocas gasosas e o aproveitamento máximo do oxigênio. Animais apresentando tal anormalidade apresentam diminuição nos valores de V_4 (LEKEUX & ART, 1994).

As concentrações de lactato seguiram o mesmo comportamento nos dois testes realizados, aumentando proporcionalmente à velocidade, atingindo os

maiores valores no último intervalo dos TIs. O ponto de início do incremento exponencial do lactato (limiar individual de lactato) permite inferir em que velocidade há a troca do predomínio do metabolismo aeróbio para o predomínio do metabolismo anaeróbio. Durante o desaquecimento ativo ocorre redução das concentrações de lactato, mostrando a importância deste para a melhor eliminação e utilização deste produto no metabolismo.

No início dos testes, a glicemia apresentou redução, porém rapidamente retornou aos valores basais, comportamento de acordo com o encontrado por Ferraz et al., (2008 e 2009). A queda inicial pode ser explicada pela mobilização da glicose para a musculatura esquelética (TRILK et al., 2002), porém, rapidamente o exercício provoca a liberação de hormônios como as catecolaminas, cortisol e glucagon provocando glicogenólise e gliconeogênese hepática, que causam aumento na glicemia (McKEEVER, 2002; WILMORE & COSTILL, 1994; SIMÕES et al., 1999). A intensidade de exercício onde a concentração plasmática de glicose aumenta é definido como Limiar de Glicose (SIMÕES et al., 2003) e este ponto corresponde ao limiar de lactato, (FERRAZ et al., 2008) demonstrando que a glicose pode ser utilizada como indicador da capacidade aeróbica nos equinos.

Em relação aos achados das biópsias musculares, foi observado diminuição na frequência de fibras do tipo I e houve aumento da área total relativa das fibras do tipo IIX e diminuição da área total relativa ocupada por fibras do tipo I. Estas mudanças podem ter ocorrido em decorrência de uma interconversão das fibras oxidativas, para fibras híbridas e finalmente para fibras glicolíticas. Soma-se a isso o aumento da área de secção transversal das fibras do tipo IIX, mesmo que não significativo, que colaborou para o aumento da área total relativa ocupada por este tipo de fibra. Esses resultados são mais uma evidência na mudança das características do treinamento de cavalos de enduro devido ao aumento na velocidade média das provas, que exige maior participação do metabolismo anaeróbico.

Tais resultados assemelham-se aos encontrados por Martins et al. (2007), onde foram instituídos dois tipos de treinamento para cavalos de enduro com duração de 60 dias e em ambos ocorreu aumento na proporção de fibras do tipo IIX em relação as fibras do tipo I, diminuição na área média das fibras tipo I e IIA e

diminuição da área relativa das fibras tipo I e IIX. Este resultado difere de outros estudos demonstrando o melhor desempenho em cavalos de enduro com maiores proporções de fibras do tipo I e IIA (RIVERO, 1996; D'ANGELIS et al., 2005; LOPEZ-RIVERO et al., 1989; RIVERO & HENCKEL, 1996; RIVERO et al., 1995). Por outro lado, em cavalos de corrida ou de trote, existe uma correlação positiva entre o desempenho e a proporção de fibras do tipo II, o que não ocorre para as fibras do tipo I (RONEUS et al., 1993).

Com relação aos achados ultrassonográficos, não foi encontrada diferença significativa em nenhum parâmetro avaliado. Porém os valores numéricos indicam que houve diminuição na camada de gordura em ambos os músculos avaliados, e ambos sofreram aumento em suas dimensões.

A temperatura retal aumentou de acordo com a intensidade do exercício em ambos os testes, conforme esperado. No ET2 a temperatura retal foi maior, esse fato pode ser pelo fato que o primeiro teste foi realizado no inverno, já o segundo ocorreu na primavera, com temperaturas ultrapassando os 30°C.

É razoável supor que os cavalos em condições quentes e úmidas tenham seu desempenho reduzido e estejam mais propensos ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos. No entanto, existem poucas informação do efeito das condições climáticas sobre o desempenho dos cavalos (NAGY et al., 2012). Em um estudo experimental, cavalos que não passaram por um período de aclimação toleraram bem climas frescos e secos, porém em condições de clima quente e úmido apresentaram desempenho reduzido (MARLIN et al., 1996).

Ferraz et al., (2010) em trabalho realizado com cavalos de pólo encontrou valores menores de sódio imediatamente após o exercício, porém seis horas após o término do exercício os valores já haviam retornados às concentrações basais. Martínez et al. (2000) e Aguilera-Tejero et al. (2000) afirmaram que as concentrações sanguíneas de sódio se mantêm, em geral, inalteradas em equinos durante exercício, seja ele de carga máxima ou submáxima. Em outro estudo envolvendo exercício de longa duração de intensidades máxima e submáxima, observou-se aumento na concentração de sódio 30 minutos após o final do exercício submáximo, semelhante ao relatado por Fernandes & Larsson (2000). Essa

elevação está foi possivelmente associada ao aumento da osmolalidade, também detectado no mesmo momento (SILVA et al., 2009)

No presente estudo, o potássio aumentou no início do exercício, decorrente de sua mobilização de dentro das células para a corrente sanguínea, principalmente de dentro de células musculares e com o decorrer e fim do exercício houve decréscimo porque o íon retornou para o espaço intracelular e para o interior das células musculares, além de ter sido perdido no suor e na urina. Segundo AGUILERA-TEJERO et al. (2000), o aumento significativo nos valores de potássio no exercício máximo ocorre devido à passagem desse cátion do meio intra para o extracelular, devido à ação de catecolaminas sobre receptores α -adrenérgicos presentes em eritrócitos, fígado e músculos. Silva et al., (2009) encontraram valores diferentes nos exercícios máximos e submáximos, enquanto que no exercício máximo houve elevação, no exercício submáximo prolongado ocorreu diminuição, embora não significativa. A diminuição observada 30 minutos após o término da atividade ocorre pela ação das mesmas catecolaminas que agem sobre receptores β -adrenérgicos, corrigindo, dessa maneira, a hipercalemia inicial (HARRIS & SNOW, 1992).

Com o início do exercício, há diminuição da pressão de perfusão em tecidos não ativos, particularmente a pele e há uma reabsorção líquida de fluidos e proteínas do interstício (NAYLOR et al., 1993). Durante o treinamento ocorre ampliação do volume plasmático, pelo aumento na síntese de albumina, havendo aumento líquido no conteúdo de proteína plasmática, mas não de sua concentração (LINDINGER et al., 2000).

HINCHCLIFF (2002) relatou que o exercício de alta intensidade está associado ao decréscimo na concentração de Ca^{++} e aumento no cálcio total do organismo causado pelas trocas de fluidos induzidas pelo organismo.

O pH variou com a intensidade do exercício. Também foi observado que os menores valores de pH corresponderam às maiores intensidades de exercício. O valor do pH representa o equilíbrio ácido-base do organismo, apresentando valores normais no sangue entre 7,35 e 7,45 (NAPPERT & JOHNSON, 2001). Diminuição desses valores representa acidose e aumento reflete um quadro de alcalose (GUYTON & HALL, 2002).

Com a diminuição da velocidade e recuperação, a concentração de bicarbonato retornou aos valores basais, mostrando que o bicarbonato deixou de ser usado como tampão químico, pois o metabolismo aeróbio voltou a ser predominante e o pH fisiológico foi restabelecido.

A diminuição na difusão alvéolo-pulmonar que ocorre nos cavalos em atividade física intensa se deve as elevadas velocidades do fluxo sanguíneo pelas ramificações arteriais pulmonares. O aumento acentuado do débito cardíaco causa redução acentuada no tempo de trânsito capilar e, conseqüentemente, diminuição no tempo de equilíbrio do O_2 , com impedimento da difusão (WILKINS et al., 2001). A PO_2 venosa não aumentou substancialmente, embora também não se tenha observado a ocorrência de hipoxemia, uma condição frequentemente encontrada em equinos submetidos a esforço máximo.

A maior perda de íons cloreto ocorre durante o exercício devido às excessivas perdas pelo suor (McKEEVER, 2004). SCHOTT II & HINCHCLIFF (1993) relataram estabilidade das concentrações plasmáticas de Cl^- durante exercícios de alta intensidade devido à menor taxa de sudação e a pouca perda de Cl^- por esta via durante esse tipo de atividade. Por outro lado SILVA (2008) observou diminuição significativa no Cl^- venoso segundo incremento de velocidade em exercícios realizados após prévio treinamento.

A FC variou ao longo do exercício, sendo que os maiores valores corresponderam a maior intensidade do esforço, possivelmente devido à estimulação da atividade simpática e liberação de catecolaminas que causam efeito cronotrópico positivo sobre o coração. Houve aumento nos valores de FC no TI2, o que não era esperado, visto que, os animais realizaram o primeiro teste destreinados e o segundo após um período de três meses de treinamento. Porém, a possível explicação para este aumento é o fato que os teste foram realizados em condições climáticas muito diferentes, o primeiro teste foi realizado no inverno, com temperatura média de 23° Celsius, já no segundo, a temperatura média foi 30,2° Celsius, com picos de 40,2°Celsius. Sabe-se que, com temperaturas elevadas, as perdas através do suor são maiores, diminuindo a volemia e conseqüentemente elevando a FC.

Os valores de hemoglobina e hematócrito aumentaram conforme o aumento da intensidade de esforço em ambos os testes. Resultados semelhantes foram encontrados por Ferraz et al., (2009), que realizou teste de esforço progressivo em esteira rolante. Este fato está relacionado à esplenocontração (CALDEIRA et al., 2005). Nos equinos, o baço pode manter uma reserva de até 50% do número total de eritrócitos. A mobilização desta reserva é ativada em resposta a um estímulo simpático ou ao aumento da concentração de adrenalina circulante, que sensibiliza receptores adrenérgicos α -1 promovendo a contração da musculatura lisa do baço (ROSE & EVANS, 1990; McKEEVER et al., 1993; TAYLOR et al., 1995; SILVA, 2006 e OROZCO, 2007). Esse fenômeno resulta em aumento do número de hemácias circulantes e hemoglobulinemia melhorando a capacidade de transporte de O_2 pelo sangue e, portanto, contribui para maior tolerância em períodos longos de exercício máximo (McKEEVER et al., 1993). Entretanto, pode apresentar efeito hemodinâmico adverso uma vez que aumenta a viscosidade sanguínea fazendo com que o coração tenha que aumentar a força de contração para manter o fluxo sanguíneo e a oxigenação dos tecidos (HARKINS et al., 1993). Após 30 minutos do fim da realização do exercício o baço recupera o volume de hemácias que foi liberado para a circulação sanguínea (RUBIO et al., 1995; ROSE et al., 1983). No primeiro teste, os valores de hematócrito e hemoglobina voltaram aos valores basais com após 15 minutos do término do exercício, já no segundo teste, esse tempo foi de 30 minutos, como encontrado por Silva et al. (2009), isso pode ser explicado visto que no segundo teste, a temperatura estava elevada e as perdas hídricas pelo suor foram bastante significativas, provavelmente levando esses animais a um quadro de desidratação, então o aumento do hematócrito deveu-se não somente a esplenocontração, e por isso o tempo de recuperação foi maior.

Os testes incrementais realizados a campo e as avaliações musculares por meio de ultrassom e biópsia percutânea foram eficazes em evidenciar as alterações metabólicas possivelmente relacionadas a adaptações ocorridas devido ao treinamento realizado. Sugere-se ainda, que testes incrementais podem ser facilmente realizados a campo, o que viabiliza a avaliação de equinos de enduro mesmo fora de centros de pesquisa. Porém, quando o intuito for analisar o

desempenho de equinos em dois testes diferentes, as condições climáticas devem ser levadas em consideração no momento de interpretação dos resultados.

2.5. Conclusão

Concluiu-se que o treinamento de resistência realizado promoveu alterações musculares e metabólicas possivelmente relacionadas demonstrando o grau de adaptação à atividade física proposta, o que permitiu a realização de uma prova de enduro FEI*.

2.6. Referências

AGUILERA-TEJERO, E.; ESTEPA, J. C.; LÓPEZ, I.; BAS, S.; MAYER-VALOR, R.; RODRÍGUEZ, M. Quantitative analysis of acid-base balance in show jumpers before and after exercise. **Research in Veterinary Science**, London, v. 68, p. 103-108, 2000.

BOTTEON, P. T. L. Lactato Na Medicina Veterinária – Atualização Conceitual. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34(4). P. 283-287, 2012.

CALDEIRA, D.; ROCHA, R.; ALBERTI, L.; PETROIANU, A. Influência da esplenectomia na capacidade física de ratos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 27, p. 34-40, 2005.

CAMPBELL, E. H. Lactate-driven equine conditioning programmes. **The Veterinary Journal**, v. 190, I. 2, p. 199–207, 2011.

CARLSON, G. P. Interrelationships between fluid, electrolyte and acid-base balance during maximal exercise. **Equine Veterinary Journal**, London, v.18, p. 261- 265, 1995.

COUROUCÉ, A. Field Exercise Testing for Assessing Fitness in French Standardbred Trotters. **The Veterinary Journal**, v.157, p. 112–122, 1999.

COUROUCÉ, A.; CORDE, R.; VALETTE, J.P.; CASSIAT, G.; HODGSON, D.R.; ROSE, R. J. Comparison of some Responses to Exercise on the Track and the Treadmill in French Trotters: Determination of the Optimal Treadmill Incline. **The Veterinary Journal**, v. 159, p. 57–63, 2000.

D'ANGELIS, F.H.F.; FERRAZ, G.C.; BOLELI, I. C.; LACERDA-NETO, J.C.; QUEIROZ-NETO, A. Aerobic training, but not creatine supplementation, alters the gluteus medius muscle. **Journal American Science**, v. 83, p. 579-585, 2005.

D'ANGELIS, F.H.F.; MOTA, M. D. S.; FREITAS, E. V. V.; FERRAZ, G.C.; ABRAHÃO, A. R.; LACERDA-NETO, J.C.; QUEIROZ-NETO. Aerobic Training, But

Not Creatine, Modifies *Longissimus Dorsi* Muscle Composition. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, p. 118–122, 2007.

DUKES. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

ECKERT, E. **Fisiologia Animal: mecanismos e adaptações**. 4 ed, Guanabara Koogan, 2000, 729p.

EVANS, D. L. **Training and Fitness in Athletic Horses**. Rural Industries Research and Development Corporation, Sydney, p.1-64, 2000.

FERNANDES, W.R.; LARSSON, M.H.M.A. Alterações nas concentrações séricas de glicose, sódio, potássio, ureia e creatinina, em equinos submetidos a provas de enduro de 30km com velocidade controlada. **Ciência Rural**, v.30, p.393-398, 2000.

FERRAZ, G. C.; D'ANGELIS, F. H. F.; TEIXEIRA NETO, A. R.; FREITAS, E. V. V.; LACERDA NETO, J. C.; QUEIROZ NETO, A. Blood lactate threshold reflects glucose responses in horses submitted to incremental exercise test. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.256-259, 2008

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA NETO, A. R.; LACERDA NETO, J. C.; PEREIRA, M. C.; QUEIROZ NETO, A. Respostas ao exercício de intensidade crescente em equinos: alterações na glicose, insulina e lactato. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1332-1338, out./dez. 2009

FERRAZ, G. C.; SOARES, O. A. B.; FOZ, N. S. B.; PEREIRA, M. C.; QUEIROZ-NETO, A. The workload and plasma ion concentration in a training match session of high-goal (elite) polo ponies. **Equine Veterinary Journal** v. 42 (Suppl. 38), p. 191-195, 2010.

FRAIPONT, A.; ERCK, E. V.; RAMERY, E.; FORTIER, G.; LEKEUX, P.; ART, T. Assessing fitness in endurance horses. **Canadian Veterinary Journal**, v. 53, p.311–314, 2012.

GANSEN, S.; LINDNER, A.; MARX, S.; MOSEN, H.; SALLMANN, H.-P. Effects of conditioning horses with lactate-guided exercise on muscle glycogen content. Equine exercise physiology 5, **Equine Veterinary Journal**, Suppl. 30, p. 329-331, 1999.

GUNN. H. M. Muscle, bone and fat proportions and muscle distribution of Thoroughbreds and quarter horses. J.R. Gillespie, N.E. Robinson (Eds.), **Equine Exercise Physiology 2**, ICEEP Publications, Davis, California, pp. 253–264, 1987.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Os compartimentos líquidos corporais: líquido extracelular, intracelular e edema. In: _____. Tratado de fisiologia médica. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 250-264, 2002.

HARKINS, J.; BEADLE, R. E.; KAMMERLING, S. G. The correlation of running ability and physiological variables in Thoroughbred racehorse. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 25, p. 53-60, 1993.

HARRIS, P.; SNOW, DH Plasma potassium and lactate concentrations in Thoroughbredhorses during exercise of varying intensity. **Equine Veterinary Journal**, Newmarket, v.23, p.220-225, 1992.

HINCHCLIFF, K.W.; LAUDERDALE, M.A.; DUTSON, J.; GEOR, R.J.; LACOMBE, V.A.; TAYLOR, L.E. High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses. **Equine Veterinary Journal**, v.34, n.1, p.9-16, 2002.

JONES, W.E. Scientific Training. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.25, n.7, p.320-321, 2005.

KANE, R. A., FISHER, M., PARRETT, D. & LAWRENCE, L. M. Estimating fatness in horses. In **Proceedings of the 10th Equine Nutrition and Physiology Symposium**, Fort Collins, CO, p. 127-131, 1987.

KEARNS, C. F.; MCKEEVER, K. H.; ABEy, T. Overview of Horse Body Composition and Muscle Architecture: Implications for Performance. **The Veterinary Journal**, v., p. 224-234, 2002.

KOWALCHUK, J.M.; HEIGENHAUSER, G.J.; LINDINGER, M.I.; OBMINSKI, G.; SUTTON, J.R.; JONES, N.L. Role of lungs and inactive muscles in acid-base control after maximal exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.65, p.2090-2096, 1988.

LACERDA NETO, J. C.; SAMPAIO, R. C. L.; FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; PEREIRA, D. M.; TITTO, E. A. L.; CARVALHO, M. B.; QUEIROZ-NETO, A. Efeitos do resfriamento intermitente e de repositor eletrolítico sobre a osmolalidade e eletrólitos séricos de eqüinos submetidos a exercício de baixa intensidade. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 98, p. 189-195, 2003.

LEKEUX, P.; ART, T. The respiratory system: anatomy, physiology, and adaptations to exercise and training. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, cap. 6, p. 81-127, 1994.

LINDINGER, M. I.; McCUTCHEON, L. J.; ECKER, G. L.; GEOR, R. J. Heat acclimation improves regulation of plasma volume and plasma Na⁺ content during exercise in horses. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 88, p. 1006-1013, 2000.

LINDNER, A.; LÓPEZ, R. A.; DURANTE, E.; FERREIRA, V.; BOFFI, F. M. Conditioning Horses at v10 3 Times per Week Does Not Enhance v4. **Journal of Equine Veterinary Science**, V. 29, Issue 12, Pages 828–832, December 2009.

LINDNER, A. E. Relationships between racing times of Standardbreds and v4 and v200. **Journal of Animal Science**, V.88, p.950-954, 2010a.

LINDNER, A. E. Maximal lactate steady state during exercise in blood of horses. **Journal of Animal Science**, 88:2038–2044, 2010b.

LOPEZ-RIVERO, J., AGUERA, E., MONTERDE, J., RODRIGUEZ-BARBUDO, M. AND MIRO, F. Comparative study of muscle fiber type composition in the middle gluteal muscle of Andalusian, Thoroughbred and Arabian horses. **Journal of equine veterinary Science**. 9, 337-340, 1989.

MARLIN, D.J., SCOTT, C.M., SCHROTER, R.C., MILLS, P.C., HARRIS, R.C., HARRIS, P.A., ORME, C.E., ROBERTS, C.A., MARR, C.M., DYSON, S.J., BARRELET, F. Physiological responses in nonheat acclimated horses performing treadmill exercise in cool (20°C/40% RH), hot dry (30°C/40% RH) and hot humid (30°C/80% RH) conditions. **Equine Veterinary Journal Suppl.** 22, 70–84., 1996.

MARLIN, D.; NANKERVIS, K. **Equine Exercise Physiology**, Blackwell Science, Oxford, 2002.

MARTÍNEZ P., RAMÓN; SCAGLIONE M., M.C. Cambios sanguíneos y sudorales em equinos sometidos a carreras de resistencia. **Avances Veterinaria**, Santiago De Chile, v.15, n.1, p.19-30, 2000.

MARTINS, C.B.; OROZCO, C.A.G., GOMIDE, L. M. W., SILVA, M.A.G., CHRISTOVÃO, F. G.; QUEIROZ-NETO, A., LACERDA NETO, J. C. Efeito do condicionamento atlético sobre o músculo glúteo médio de equinos puro sangue árabes. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, Vol. 23, nº2, p. 100-107, 2007.

McKEEVER, K. H.; HINCHCLIFF, K. W.; REED, S. R.; ROBERTSON, J. T. Role of decrease plasma volume in hematocrit alterations during incremental treadmill exercise in horses. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 265, p. 404-408, 1993.

McKEEVER, K. H. The endocrine system and the challenge of exercise. The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice , v.2, p.321-53, 2002.

McKEEVER, K. H. Body fluid and electrolytes: Responses to exercise and training. In: **Equine Sport Medicine and Surgery**. Basic and Clinical Sciences of Equine Athlete, eds K. W. Hinchcliff, A. J. Kaneps & R. J. Geor, Saunders Press, China, p. 854–871, 2004.

NAGY, A.; DYSON, S. J.; MURRAY. J. K. A veterinary review of endurance riding as an international competitive sport. **The Veterinary Journal**, v.194, p. 288–293, 2012.

NAYLOR, J.R.J.; BAYLY, W.M.; GOLLNICK, P.D.; BRENGELMANN, G.L.; HODGSON, D.R. Effects of dehydration on thermoregulatory responses of horses during low-intensity exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.75, n.2, p.994-1001, 1993.

NAPPERT, G.; JOHNSON, P. Determination of the acid-base status in 50 horses admitted with colic between December 1998 and May 1999. **Canadian Veterinary Journal**, v. 42, p. 703-707, 2001.

OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M. M. S. V.; CLAYTON, H. M. Advantages and disadvantages of track vs. treadmill tests. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, v. 30, p. 645-647, 1999.

OROZCO, C. A. G. **Respostas hematológicas e bioquímicas de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe em testes de esforço progressivo realizados em esteira rolante durante a fase de treinamento e em prova de enduro a campo**. 2007.105 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2007.

RIVERO, J.L.L.; RUZ, M.C.; SERRANO, A.L.; DIZ, A.M. Effects of the 3 month endurance training programme on skeletal muscle histochemistry in Andalusian, Arabian and Anglo-Arabian horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 27, p. 51-59, 1995.

RIVERO, J. L. L.; HENCKEL, P. Muscle biopsy index for discriminating between endurance horses with different performance records. **Research in Veterinary Science**, v. 61, p. 49–54, 1996.

RONEUS, M. Muscle characteristics in Standardbreds of different ages and sexes. **Equine Veterinary Journal**, v.25, p. 143–146, 1993.

ROSE, R. J.; ALLEN, J. R.; HODGSON, D. R.; STEWART, J. H. Responses to submaximal treadmill exercise and training the horse: changes in haematology,

arterial blood gas and acid base measurements, plasma biochemical values and heart rate. **Veterinary Record**, London, v. 113, p. 612-618, 1983.

ROSE, R. J.; EVANS, D. L. Training horses – art or science? **Equine Veterinary Journal**, London, v. 9 (Suppl.), p. 2-4, 1990.

SCHOTT II, H. C.; HINCHCLIFF, K. W. Fluids, electrolytes, and bicarbonate. **Veterinary Clinics of North America Practice**, v.9, n.3, p. 577-604, 1993.

RUBIO, M. D.; MUÑOZ, A.; SANTISTEBAN, R.; TOVAR, P. CASTEJÓN, F. M. Comparative hematological study of two breeds of foals (Andalusian and Arab) subjected to exercise of progressive intensity. **The Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 57, p. 311-315, 1995.

SCHOTT II, H.C.; McGLADE, K.S.; MOLANDER, H.A.; LEROUX, A.J.; HINES, M.T. Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses competing in 50- and 100-mile endurance rides. **American Journal of Veterinary Research**, v.58, p. 303-309, 1997.

SERRANO, A.L.; QUIROZ-ROTHER, E.; RIVERO, J.L.L. Early long-term changes of equine skeletal muscle in response to endurance training and detraining. *Pfugers Arch.* – **European Journal of Physiology**, v. 441, p. 263-274, 2000.

SILVA, M. A. G. **Hemogasometria e variáveis do sangue venoso de equinos submetidos a exercício em esteira e a campo**. 2006. 65 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Clínica Médica Veterinária) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Jaboticabal, 2006.

SILVA, M. A. G. **Concentração de lactato, eletrólitos e hemogasometria em eqüinos não treinados e treinados durante testes de esforço progressivo**. 2008, 108f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

SILVA, M.A.G.; MARTINS, C.B.; GOMIDE, L.M.W.; ALBERNAZ, R.M.; QUEIROZ-NETO, A.; LACERDA-NETO, J.C. Determinação de eletrólitos, gases sanguíneos,

osmolalidade, hematócrito, hemoglobina, base titulável e anion gap no sangue venoso de equinos destreinados submetidos a exercício máximo e submáximo em esteira rolante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. vol.61 nº.5 Belo Horizonte Oct. 2009

SIMÕES, H. G.; CAMPBELL, G. S. C.; KOKUBUN, E.; DENADAI, S. B.; BALDISSERA, V. Blood glucose responses in humans mirror lactate responses for individual anaerobic threshold and for lactate minimum in track tests. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 80, n. 1, p. 34-40, 1999.

SIMÕES H. G.; CAMPBELL, C. S.; KUSHNICK, M. R.; NAKAMURA, A.; KATSANOS, C. S.; BALDISSERA, V.; MOFFATT, R. J. Blood glucose threshold and the metabolic responses to incremental exercise tests with and without prior lactic acidosis induction. **European Journal of Applied Physiology**, v. 89, p. 603-611, 2003.

TAYLOR, L.E.; FERRANTE, P.L.; WILSON, J.A.; KRONFELD, D.S. Arterial and mixed venous acid-base status and strong ion difference during repeated sprints. **Equine Veterinary Journal**, v.18(Suppl.), p.326-330, 1995.

TEIXEIRA NETO, A. R.; FERRAZ, G. C.; MATAQUEIRO, M. I.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Reposição eletrolítica sobre variáveis fisiológicas de cavalos em provas de enduro de 30 e 60 Km. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1505- 1511, 2004.

TRILK, J. L.; LINDNER, A. J.; GREENE, H. M., ALBERGHINA, D., WICKLER, S. J. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 34 (Suppl.), p. 122-125, 2002.

VOTION,D-M.; NAVET,R.; LACOMBE, V.A.; SLUSE, F.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B. HINCHCLIFF, K. W.; RIVERO, J.L.L.; SERTEYN,D.; VALBERG, S. Muscle energetics in exercising horses. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v., p 105-118, 2007.

WESTERVELT, R. G., STOUFFER, J. R., HINTZ, H. F. & SCHRYVER, H. F. Estimating fatness in horses and ponies. **Journal of Animal Science** 43, 781±5, 1976.

WILKINS, P. A.; GLEED, R. D.; KRIVITSKI, N. M.; DOBSON, A. Extravascular lung water in the exercising horse. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 91, p. 2442-2450, 2001.

CAPÍTULO 3 – Equilíbrio ácido base e hidroeletrolítico em equinos submetidos a uma simulação de enduro FEI*

RESUMO - O enduro é uma modalidade equestre que demanda alta exigência dos sistemas orgânicos para que seja mantida a homeostasia do organismo. É um esporte caracterizado por esforço aeróbio prolongado, de intensidade variável, em que o cavalo é submetido a trabalho permanente. No presente estudo foram utilizados nove equinos adultos da raça Puro Sangue Árabe, submetidos a período de três meses de treinamento em trilha com duas sessões semanais predominantemente ao passo, e uma sessão semanal com predomínio do galope. Foi realizada uma prova similar às competições oficiais de enduro equestre, utilizando todos os animais que participaram do treinamento. Os equinos percorreram um trajeto de 80 km de distância com velocidade média de 12,5 km/h, dividido em quatro etapas (anéis) de 30, 20, 15 e 15 km, com intervalos de 50 minutos entre cada anel. Avaliações clínicas e colheitas de amostras de sangue, para análise da concentração de lactato, e de variáveis hemogasométricas foram realizadas antes do início do teste de resistência, imediatamente após a chegada de cada anel, imediatamente antes da partida para o próximo anel e, após 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 4 horas, 6 horas e 12 horas do término da prova. As variáveis estudadas foram analisadas mediante Teste Tukey. Devido ao calor, o excesso de chuva e, conseqüentemente, más condições da trilha, quatro equinos foram desclassificados, por apresentarem claudicação. As concentrações de lactato mostraram predomínio do metabolismo aeróbico durante o exercício de longa duração. Após seis horas do término do teste os animais retornaram às concentrações de lactato basais, mostrando bom índice de recuperação. Houve aumento nos valores de pH em decorrência do desenvolvimento de alcalose mista, caracterizada por alcalose metabólica hipoclorêmica e alcalose respiratória. O bom desempenho dos animais foi atribuído à suficiente adaptação metabólica induzida pelo treinamento.

Palavras chave: cavalo, eletrólitos, exercício, hemogasometria, lactato

3.1. Introdução

Cavalgadas de longa distância ocorrem à longa data, dado que os militares percorriam entre 100 e 150 km por dia durante as guerras. A primeira competição de enduro organizada ocorreu em 1892, quando os competidores foram de Viena a Berlim. Existem registros de provas com distâncias superiores a 200 km. A modalidade foi regulamentada pela FEI em 1982, e a partir de então todas as provas internacionais devem seguir as regras da FEI (NAGY et al., 2012).

O enduro equestre é a modalidade hípica que mais cresce no mundo em número de eventos realizados, atrás apenas do Concurso Completo de Equitação e do Salto (FEI, 2011) e o segundo esporte equestre mais praticado no mundo, atrás apenas do Salto (NAGY et al., 2012). Esta modalidade pode ser definida como uma competição para testar a capacidade do cavaleiro em controlar com segurança a resistência e aptidão do cavalo sobre o percurso em uma competição de resistência contra a trilha, a distância, o clima, o terreno e o relógio. (FEI, 2013). Atualmente o mais importante não é o cavalo ser o mais rápido e chegar em primeiro lugar, mas sim chegar em boas condições. As categorias são divididas de acordo com a distância percorrida, e em alguns casos, dependendo da idade do cavaleiro. A categoria CEI*, da FEI, é aquela onde cavalo e cavaleiro devem percorrer entre 80 e 119km num único dia (FEI, 2011).

Antes do início, e após cada anel, os cavalos passam por uma inspeção veterinária, podendo ser eliminados se no decorrer do exame for constatado que o estado metabólico ou ortopédico do animal não está adequado para continuar o percurso. O conjunto também pode ser eliminado por outras razões que comprometam o bem estar do animal (por exemplo, dor nas costas, dor na boca, feridas). O estado metabólico do cavalo é considerado comprometido, com base na impressão geral, frequência cardíaca (FC) elevada após transcorrido o período de recuperação (RIDGWAY, 1994), cor e a umidade das mucosas, tempo de enchimento capilar, tempo elevado para desaparecimento de prega cutânea (indicando desidratação) e dependendo da intensidade dos sons intestinais, ou qualquer condição que indique que o animal pode estar com algum problema de saúde. Eliminação por razões metabólicas também pode ocorrer unicamente devido

à elevação da FC acima do valor definido no cronograma (geralmente > 64 batimentos por minuto) (NAGY et al., 2012).

Sob condições de repouso, o trabalho do cavalo para manter a homeostase do seu meio interno é relativamente fácil. Entretanto, independente da atividade, o exercício é o maior desafio fisiológico, visto que gera distúrbio na homeostase evocando uma resposta integrada de múltiplos sistemas do organismo (McKEEVER, 2002). Diversos fatores atuam quebrando a homeostasia de um organismo, entre eles o frio, o calor, o jejum e, principalmente, o exercício (POWERS & HOWLEY, 2000). Devido à natureza longa e exaustiva das provas de enduro, ocorrem elevadas perdas de eletrólitos pelo suor, visto que o suor equino é hipertônico em relação ao plasma (SCHOTT & HINCHCLIFF, 1993; LACERDA-NETO & MARQUES, 1999), além do esgotamento das reservas de glicogênio muscular e hepático (SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN et al., 1991).

Distúrbios ácido-base e eletrolíticos associados a exercícios prolongados e provas de enduro já foram bem descritos em cavalos (SCHOTT et al., 2006; ROBERT, et al., 2010; SILVA et al., 2009; TEIXEIRA-NETO et al., 2004). A interpretação das alterações no equilíbrio ácido base que ocorrem durante eventos esportivos é complicada porque as principais variáveis alteram-se simultaneamente e, em geral, em direções opostas, podendo mascarar alguns distúrbios.

Os distúrbios ácido-base foram tradicionalmente avaliados usando a equação de Henderson-Hasselbach. Esse método possui algumas limitações, Segundo STEWART (1983), o equilíbrio ácido-base também é dependente da diferença entre íons fortes (SID), da concentração total de ácidos fracos e da pressão parcial de CO₂ (CARLSON, 1997; CONSTABLE, 1997; LINDINGER, 2004). A abordagem por meio da diferença entre íons fortes (SID) descreve mais precisamente as complexas anormalidades presentes em cavalos de enduro (VIU et al., 2010). A SID é expressa em mmol/L e determinada principalmente pela diferença entre as concentrações dos cátions fortes (sódio [Na⁺]; potássio [K⁺] e magnésio [Mg⁺]) e ânions fortes (cloreto [Cl⁻], lactato [Lac] e sulfato). Como seus principais determinantes são o Na⁺, o K⁺, o Cl⁻ e o Lac, podemos representá-la com a seguinte equação:

$$SID = ([Na^{+}] + [K^{+}]) - ([Cl^{-}] + [Lac])$$

Em equinos, a diminuição na SID ocorre tanto pela diminuição na concentração de cátions fortes quanto pelo aumento na concentração de ânions fortes. Após exercício máximo, essa diminuição está relacionada, principalmente, ao aumento do lactato sanguíneo. O aumento na SID está relacionado às provas de enduro, nas quais, devido ao grande volume de suor eliminado, ocorrem grandes perdas de cloro levando ao desenvolvimento de alcalose metabólica hipoclorêmica (CARLSON, 1997; CONSTABLE, 1997; LINDINGER, 2004).

Diante da escassez de trabalhos apresentando dados de momentos sequenciais durante competições oficiais FEI devido à considerada invasividade ao se realizar inúmeras colheitas de sangue, o objetivo do presente estudo foi avaliar o equilíbrio ácido base e hidroeletrólítico durante uma prova de enduro realizada por equinos FEI*, bem como a recuperação após a competição, com o intuito de fornecer informações úteis na prevenção e tratamento dos possíveis distúrbios metabólicos e musculoesqueléticos que culminam com a eliminação dos animais das competições.

3.2. Material e Métodos

O protocolo experimental realizado no presente estudo está de acordo com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / Unesp – Campus de Jaboticabal (Protocolo #001624-11).

3.2.1. Animais

Foram utilizados nove equinos da raça Puro Sangue Árabe, dois garanhões, cinco machos castrados e duas fêmeas, com idade média de 9 ± 1 anos, pertencentes à Fazenda Serra da Prata, município de Águas da Prata, São Paulo, Brasil. Os equinos foram considerados hígidos segundo exame físico geral e específico para avaliação do sistema locomotor. Antes de iniciar o período

experimental, todos os animais passaram por programas de desverminação²⁵, vacinação²⁶ e controle de ectoparasitas²⁷.

Durante o período de treinamento, os equinos foram alocados em baias individuais e receberam dieta dividida em 50% da energia obtida via alimento volumoso (feno de Tifton – *Cynodon dactylon*), 10% via óleo de soja e 40% via concentrado comercial, contendo 13% de proteína bruta e 2500 kcal/Kg de energia digestível. A determinação da exigência nutricional foi realizada segundo recomendação do NRC 2007. Realizou-se ferrageamento convencional dos quatro membros a cada 45 dias.

3.2.2. Treinamento

O treinamento teve duração total de três meses nos quais os equinos foram exercitados três vezes na semana, pelo mesmo cavaleiro, em dias alternados. No primeiro mês os animais realizaram duas sessões semanais de 60 min de duração, com predomínio de passo à velocidade média de 5,5 a 6 km/h, determinada por sistema *GPS*²⁸. O percurso foi realizado em trilhas de terra batida ou sobre gramíneas na região montanhosa ao redor da fazenda, o que propiciou a realização de exercício intercalando trechos de aclives e declives. A terceira sessão semanal de atividade física compreendeu 30 min de galope sem interrupção, realizado em pista de areia plana, à velocidade média de 15 a 18 km/h também determinada por sistema *GPS*. As dimensões da pista permitiram a execução contínua do galope em percurso oval de 470 m de extensão por volta.

No segundo mês de treinamento, o mesmo protocolo de exercício foi mantido quanto ao número de sessões (tri-semanal, em dias alternados) e velocidade do passo realizado em trilha ou galope realizado em pista. A dificuldade do treinamento foi amplificada com um incremento de 30 min a cada sessão de exercício.

²⁵EQUALAN Pasta – Merial Saúde Animal Ltda., Paulínia – SP

²⁶Fluvac Innovator EHV 4/1 – Fort Dodge Animal Health, Iowa – USA

²⁷Butox[®] P CE 25 – Intervet Brasil, Akzo Nobel Ltda. – São Paulo – SP

²⁸RCX5-G5[™] PolarEquine - Heart Rate Monitor – Polar Electro Oy – Kempele, Finland

Finalmente, no terceiro mês, o mesmo protocolo foi mantido e incluiu-se mais 30 min por treino realizado. Assim, o último mês incluiu duas sessões semanais de 120 min de duração ao passo (5,5 a 6 km/h) e uma sessão semanal de 90 min de duração ao galope (15 a 18 km/h).

3.2.3. Teste de longa distância

Uma semana após o término do período de treinamento, realizou-se uma prova similar às competições oficiais de enduro equestre CEI*. Os equinos percorreram um trajeto de 80 km de distância, dividido em quatro etapas (anéis), sendo que a distância percorrida na primeira volta foi de 30km, a segunda 20km e a terceira e quarta volta com distância de 15km. Foram realizados intervalos de 50 minutos entre cada anel. Avaliações clínicas e colheitas de amostras de sangue (avaliação hemogasométricas e determinação da concentração de lactato) foram realizadas antes do início do teste de resistência, imediatamente após o término de cada anel, e após 15 e 30 minutos e 1, 4, 6, 12 e 24 horas do término da prova, conforme demonstrado na figura 1. Obteve-se 9 mL de sangue venoso por colheita, sendo 3 mL destinados à avaliação hemogasométrica, 5 mL para a dosagem da concentração sérica de íons cloreto $[Cl^-]$ e proteína total e 1 mL destinado à análise da concentração de lactato.

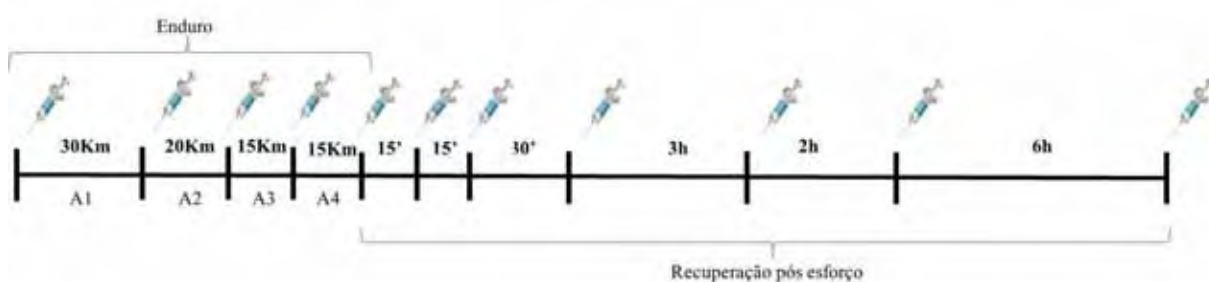


Figura 1. Linha do tempo demonstrando os momentos de coleta sanguínea antes, durante e após a realização do enduro. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

Utilizou-se um analisador de gases, eletrólitos e hemoglobina total²⁹, determinando-se imediatamente após a colheita as concentrações venosas de sódio (Na^+), potássio (K^+), cálcio ionizado (Ca^{++}), bicarbonato (HCO_3^-), pressão parcial do gás carbônico (CO_2), pressão parcial do oxigênio (O_2), pH sanguíneo (pH), hemoglobina total (Hb), saturação de oxigênio (SO_2), hematócrito (Ht), e excesso de base (EB). Em todos os momentos de coleta sanguínea para determinação da hemogasometria, aferiu-se a temperatura retal por meio de termômetro digital ultrarrápido³⁰.

Cinco mililitros de sangue foram imediatamente armazenados em tubos secos³¹ para posterior dosagem de cloreto [Cl^-] e proteína total. As amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 3000 rpm e o soro separado, congelado e armazenado a temperatura de -20°C para posterior dosagem da [Cl^-]³² (mmol/L) e de proteínas totais³³.

Para determinação da concentração de lactato, adicionou-se 1 mL de sangue a 2 mL de fluoreto de sódio armazenados em tubos plásticos que foram inicialmente resfriados por imersão em gelo e posteriormente congelados a -20°C . A concentração de lactato de cada amostra foi determinada pelo método da lactato oxidase em analisador automático³⁴.

A velocidade média realizada pelos animais foi de 12,5 km/h. O exame físico foi efetuado para determinar-se a higidez dos animais, habilitando-os ou não a prosseguir o exercício. O exame final foi realizado 20 minutos após a chegada de cada animal. Foram avaliadas qualidade do movimento, FC, frequência respiratória, temperatura retal, perfusão tecidual (coloração de mucosas e tempo de preenchimento capilar), elasticidade cutânea e sensibilidade dos músculos lombares e pélvicos.

²⁹i-STAT analyzer, Cartucho CG8+ – Abbott Laboratories, Princeton, USA

³⁰ Termômetro digital Vicks® V911 ultra-rápido – Kaz, Inc., Hudson, NY – USA

³¹BD Vacutainer™ No Additive – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Curitiba – PR

³²Cloretos Liquiform – Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa – MG

³³Proteínas Totais – Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa – MG

³⁴YSI 2300 STAT Plus Glucose & Lactate Analyzer – YSI Life Sciences, UK

3.2.4. Análise estatística

As variáveis estudadas foram avaliadas quanto à sua normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk à 5% de significância, e foram consideradas normais. Posteriormente foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA) e os valores médios comparados pelo teste de Tukey, com nível de significância $P < 0,05$, utilizando o *Software SAS (Statistical Analysis System)*.

3.3. Resultados

3.3.1. Teste de longa distância

O enduro ocorreu conforme proposto. Dos nove animais que iniciaram a prova, dois foram eliminados na chegada do primeiro anel, e dois na chegada do segundo anel. No dia da realização do enduro o índice pluviométrico foi de 14 mm, o índice de umidade relativa do ar foi superior a 90% em todos os momentos e a temperatura apresentou média de 27°C. Em decorrência das más condições climáticas que acabaram prejudicando muito a qualidade do solo, que se tornou enlameado por todo o percurso, a velocidade média dos animais ao longo da prova foi de 12,5 km/h.

3.3.2. Exame físico e perda de água

O exame físico durante e ao término do enduro teve a finalidade de identificar quais animais estavam em condições de prosseguir o esforço, assim, alterações no andamento ou incapacidade em reduzir a FC no momento do exame abaixo de 62 bpm eram itens de eliminação. Durante a realização do enduro, quatro animais foram desclassificados por apresentarem claudicação. Portanto, os dados apresentados referem-se às variáveis analisadas nos cinco animais que terminaram o esforço de longa duração.

Os valores médios da perda de água durante o enduro encontram-se na figura 2. As maiores perdas ocorreram após o primeiro anel do enduro.

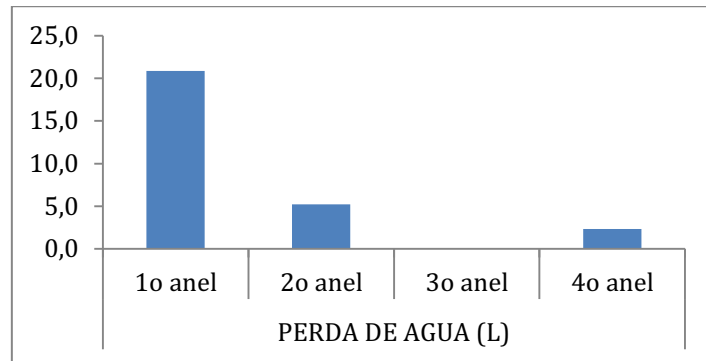


Figura 2. Valores médios da perda de água em cada anel de equinos durante realização de um enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

3.3.3. Hemogasometria venosa

Os valores médios seguidos pelo desvio padrão da média das variáveis hemogasométricas pH, pressão de dióxido de carbono, pressão de oxigênio, saturação de oxigênio, hematócrito, hemoglobina, excesso de base e temperatura durante o enduro dos animais que completaram o exercício de longa duração encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis hemogasométricas pH, pressão de dióxido de carbono (mmHg), pressão de oxigênio (mmHg), saturação de oxigênio (%), hematócrito (%), hemoglobina (g/dL), excesso de base e temperatura retal ($^{\circ}$ C) durante e após o exercício de longa duração. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

	AVALIAÇÕES									
	Repouso	1º Anel	2º Anel	3ºanel	4ºAnel	15'	30'	1h	4h	6h
pH	7,44 $\pm 0,00^e$	7,51 $\pm 0,03^{abcd}$	7,53 $\pm 0,04^a$	7,52 $\pm 0,01^{ab}$	7,51 $\pm 0,03^{abc}$	7,46 $\pm 0,02^{ed}$	7,45 $\pm 0,03^e$	7,47 $\pm 0,02^{cde}$	7,47 $\pm 0,02^{bcde}$	7,46 $\pm 0,04^{de}$
pCO ₂ (mmHg)	47,14 $\pm 2,97^{bcd}$	43,52 $\pm 2,88^d$	42,82 $\pm 3,46^d$	44,32 $\pm 3,26^{cd}$	46,52 $\pm 2,15^{bcd}$	54,90 $\pm 5,78^a$	54,72 $\pm 8,14^a$	48,76 $\pm 3,77^{abcd}$	46,92 $\pm 2,97^{bcd}$	47,66 $\pm 2,54^{bcd}$
pO ₂ (mmHg)	38,80 $\pm 5,45^{abc}$	45,60 $\pm 7,44^a$	45,20 $\pm 4,66^a$	41,40 $\pm 2,61^{ab}$	43,40 $\pm 6,77^a$	23,20 $\pm 7,69^e$	25,40 $\pm 9,37^{de}$	29,60 $\pm 5,86^{cde}$	31,00 $\pm 4,30^{cde}$	30,00 $\pm 2,65^{cde}$
SO ₂ (%)	72,40 $\pm 7,09^{abc}$	79,20 $\pm 9,18^a$	79,80 $\pm 3,27^a$	76,60 $\pm 4,39^{ab}$	76,60 $\pm 8,20^{ab}$	36,60 $\pm 19,03^f$	41,40 $\pm 22,53^{ef}$	49,20 $\pm 16,81^{def}$	60,20 $\pm 8,17^{abcde}$	59,40 $\pm 5,03^{abcde}$
Hct (%)	39,40 $\pm 5,86^d$	47,20 $\pm 6,06^{abc}$	49,00 $\pm 5,24^{ab}$	47,00 $\pm 6,04^{abc}$	47,60 $\pm 6,27^{abc}$	47,20 $\pm 5,40^{abc}$	50,00 $\pm 4,30^a$	47,00 $\pm 4,30^{abc}$	44,00 $\pm 7,31^{abcd}$	43,40 $\pm 6,35^{bcd}$
Hb (g/dL)	13,40 $\pm 1,97^d$	16,06 $\pm 2,04^{abc}$	16,66 $\pm 1,78^{ab}$	15,98 $\pm 2,07^{abc}$	16,20 $\pm 2,16^{abc}$	16,04 $\pm 1,84^{abc}$	17,00 $\pm 1,45^a$	16,00 $\pm 1,48^{abc}$	14,98 $\pm 2,49^{abcd}$	14,76 $\pm 2,17^{bcd}$
Excesso de base	8,00 $\pm 1,73^c$	11,20 $\pm 2,59^{abc}$	12,60 $\pm 1,95^{abc}$	13,40 $\pm 2,30^{ab}$	14,20 $\pm 2,59^{ab}$	14,80 $\pm 3,11^a$	13,60 $\pm 3,65^{ab}$	11,40 $\pm 1,52^{abc}$	10,80 $\pm 2,59^{abc}$	10,20 $\pm 4,38^{abc}$
T $^{\circ}$ C	37,48 $\pm 0,30^{de}$	39,04 $\pm 0,36^{ab}$	39,44 $\pm 0,15^a$	38,90 $\pm 0,45^{ab}$	39,10 $\pm 0,39^{ab}$	38,78 $\pm 0,11^{ab}$	38,72 $\pm 0,18^{ab}$	38,38 $\pm 0,36^{bc}$	37,76 $\pm 0,29^{cd}$	37,32 $\pm 0,26^{de}$

Médias $\pm$ desvio padrão seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Os valores médios de hematócrito e hemoglobina apresentam o mesmo padrão, aumentando significativamente com o transcorrer do exercício e retornando a valores basais quatro horas após o término do mesmo. O pH aumentou durante o enduro, porém retornou aos valores basais 15 minutos após o término do exercício (Figura 3), excesso de base e bicarbonato seguiram o comportamento do pH, conforme demonstrado na figura 4, já a pressão parcial de dióxido de carbono apresentou comportamento inverso, diminuindo ao longo do exercício, entretanto não diferiu estatisticamente do basal em nenhum momento (figura 5).

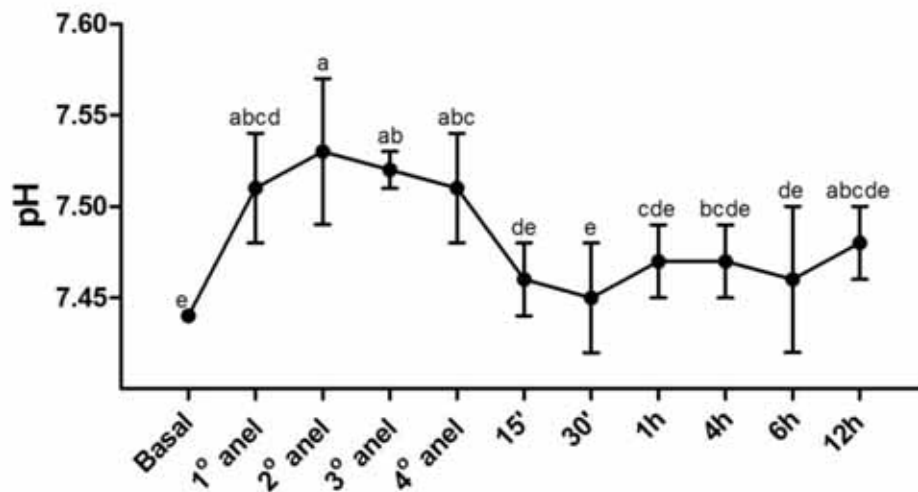


Figura 3. Variação dos valores médios $\pm$ EPM do pH durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

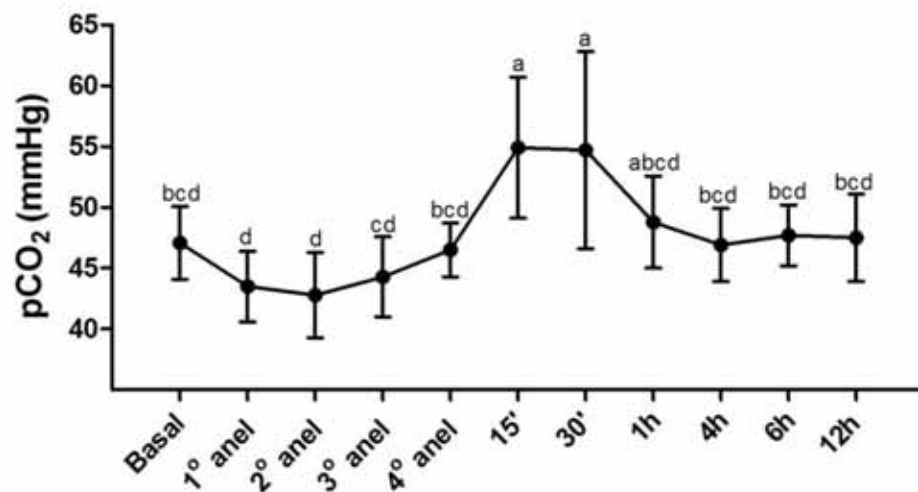


Figura 4. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da pCO₂ (mmHg) durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

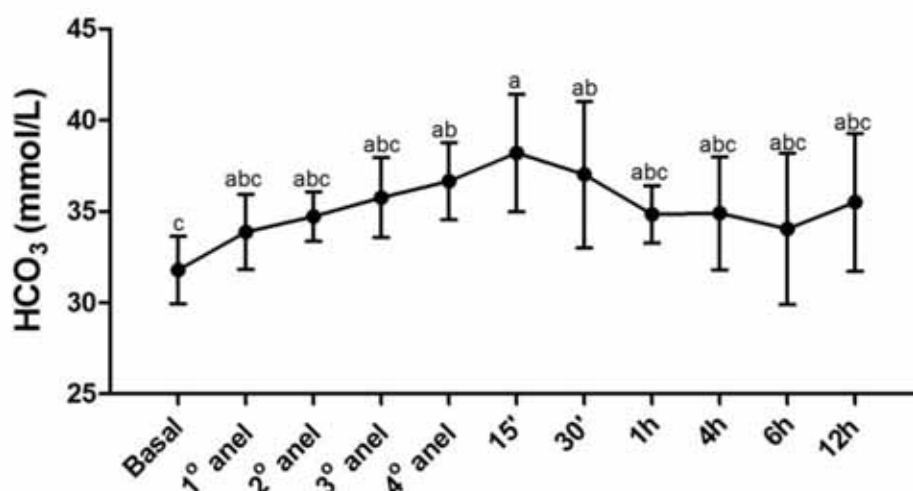


Figura 5. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de bicarbonato (mmol/L) durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

Os valores médios seguidos pelo desvio padrão da média dos eletrólitos sódio, potássio, bicarbonato, cálcio ionizado e glicose durante o exercício de longa duração do grupo dos animais que terminaram o enduro encontram-se descritos na tabela 2.

Tabela 2. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis eletrolíticas sódio (mmol/L), potássio (mmol/L), cálcio ionizado (mmol/L), bicarbonato (mmol/L) e glicose (mg/dL) durante o exercício de longa duração. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

		AVALIAÇÕES								
	Repouso	1ºAnel	2ºAnel	3ºanel	4ºAnel	15'	30'	1h	4h	6h
Na ⁺	138,60 $\pm 0,89^{ab}$	140,00 $\pm 2,00^a$	139,60 $\pm 3,58^a$	136,20 $\pm 2,17^{bcd}$	135,00 $\pm 1,58^{cd}$	135,80 $\pm 1,30^{bcd}$	135,40 $\pm 1,52^{cd}$	135,20 $\pm 1,79^{cd}$	134,20 $\pm 1,64^d$	134,00 $\pm 1,87^d$
K ⁺	3,74 $\pm 0,09^a$	3,08 $\pm 0,23^b$	2,90 $\pm 0,19^{bc}$	2,92 $\pm 0,23^{bc}$	2,88 $\pm 0,31^{bcd}$	2,82 $\pm 0,27^{bcde}$	2,46 $\pm 0,13^{cdefg}$	2,18 $\pm 0,35^g$	2,68 $\pm 0,45^{bcdef}$	2,32 $\pm 0,43^{fg}$
Ca ⁺⁺	1,73 $\pm 0,02^a$	1,51 $\pm 0,11^{bc}$	1,48 $\pm 0,19^c$	1,43 $\pm 0,12^c$	1,42 $\pm 0,11^c$	1,45 $\pm 0,11^c$	1,48 $\pm 0,08^c$	1,52 $\pm 0,07^{bc}$	1,54 $\pm 0,05^{bc}$	1,58 $\pm 0,03^{abc}$
HCO ₃ ⁻	31,80 $\pm 1,85^c$	33,88 $\pm 2,06^{abc}$	34,72 $\pm 1,36^{abc}$	35,76 $\pm 2,19^{abc}$	36,66 $\pm 2,11^{ab}$	38,20 $\pm 3,23^a$	37,02 $\pm 4,01^{ab}$	34,84 $\pm 1,57^{abc}$	34,90 $\pm 3,09^{abc}$	34,04 $\pm 4,15^{abc}$
Glicose	123,40 $\pm 17,13^a$	132,40 $\pm 9,86^a$	114,00 $\pm 20,66^a$	112,40 $\pm 21,15^a$	118,00 $\pm 25,05^a$	115,80 $\pm 20,71^a$	111,20 $\pm 19,99^a$	116,80 $\pm 19,25^a$	113,60 $\pm 16,86^a$	126,00 $\pm 9,22^a$

Médias $\pm$ desvio padrão seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os eletrólitos sódio, potássio e cálcio tiveram sua concentração diminuída com o transcorrer do exercício, retornando aos valores basais após o término do mesmo. Já o bicarbonato aumentou durante o exercício, sendo que no término do 4ºanel, 15 e 30 minutos após o término do enduro esses valores diferiram estatisticamente do basal. A glicose manteve-se constante ao longo do exercício e nos momentos de recuperação, conforme demonstrado na figura 6.

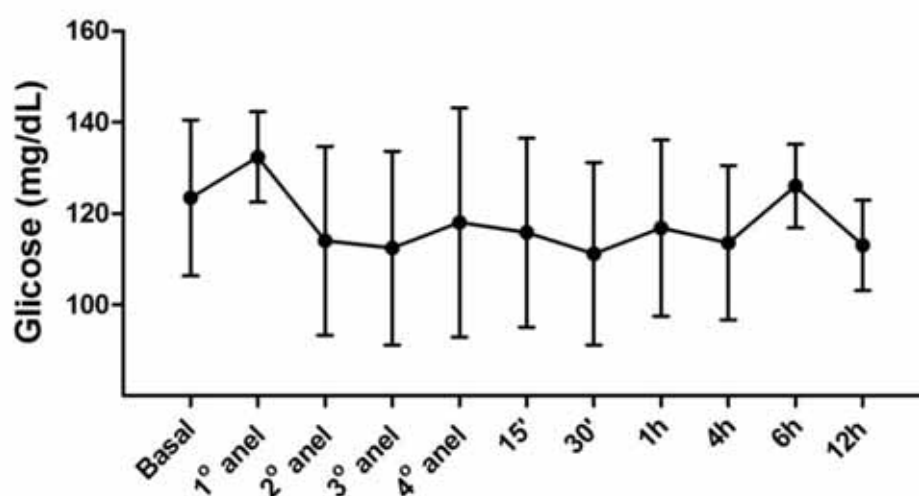


Figura 6. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de glicose (mg/dL) durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

Os valores médios seguidos pelo desvio padrão da média do íon cloreto durante e após a realização do exercício de longa duração encontram-se descritos na tabela 3.

Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvio padrão da variável cloreto (durante e após o exercício de longa duração). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

	AVALIAÇÕES									
	Repouso	1º Anel	2º Anel	3º anel	4º Anel	1h	12h	24h	48h	72h
Cl-	113,78 $\pm 15,41^a$	103,61 $\pm 13,97^{ab}$	92,21 $\pm 2,37^{ab}$	88,06 $\pm 15,81^b$	92,49 $\pm 4,00^{ab}$	87,29 $\pm 4,67^b$	93,48 $\pm 3,25^{ab}$	97,46 $\pm 15,16^{ab}$	101,76 $\pm 6,40^{ab}$	102,57 $\pm 5,57^{ab}$

Médias $\pm$ desvio padrão seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

As concentrações de cloreto diminuem ao longo do exercício, diferindo do basal no 3º anel, e aumentam após o término do mesmo, conforme demonstrado na figura 7.

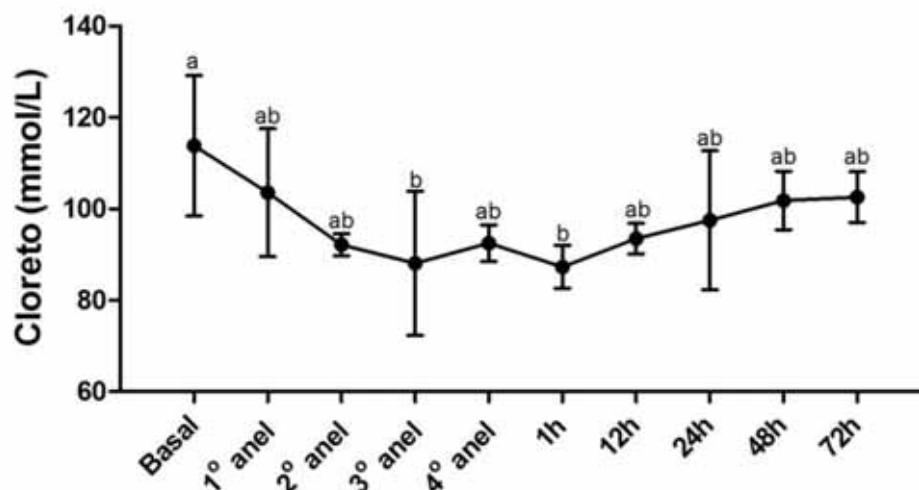


Figura 7. Variação dos valores médios $\pm$ EPM do cloreto (mmol/L) durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

Os valores médios seguidos pelo desvio padrão da média da proteína durante o exercício de longa duração encontram-se descritos na tabela 4.

Tabela 4. Valores médios $\pm$ desvio padrão da variável proteína durante e após o exercício de longa duração. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

		AVALIAÇÕES								
	Repouso	1ºAnel	2ºAnel	3ºanel	4ºAnel	1h	12h	24h	48h	72h
Proteína	7,05	7,89	7,82	7,64	8,55	7,56	7,38	6,63	6,54	6,69
(g/dL)	$\pm 0,84^{abcd}$	$\pm 0,72^a$	$\pm 0,42^a$	$\pm 0,99^{ab}$	$\pm 2,97^{abcd}$	$\pm 0,60^{abc}$	$\pm 0,55^{abcd}$	$\pm 0,78^{cd}$	$\pm 0,46^d$	$\pm 0,57^{bcd}$

Médias $\pm$ desvio padrão seguidas letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

3.3.4. Lactato sanguíneo

Os valores médios seguidos pelo desvio padrão da média do lactato durante o exercício de longa duração encontram-se descritos na tabela 5.

Tabela 5. Valores médios $\pm$ desvio padrão da variável lactato durante e após o exercício de longa duração. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

	AVALIAÇÕES										
	Repouso	1ºAnel	2ºAnel	3ºanel	4ºAnel	15min	30min	1h	4h	6h	12h
Lactato (mmol/L)	0,68 $\pm 0,25^e$	1,25 $\pm 0,42^{abcde}$	1,87 $\pm 0,84^a$	1,17 $\pm 0,44^{abcde}$	1,13 $\pm 0,45^{abcde}$	1,68 $\pm 0,72^{abc}$	1,71 $\pm 0,3^{ab}$	1,4 $\pm 0,49^{abcde}$	0,88 $\pm 0,21^{cde}$	0,88 $\pm 0,19^{cde}$	0,71 $\pm 0,18^{de}$

Médias $\pm$ desvio padrão seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Durante o exercício houve aumento nas concentrações de lactato em relação ao basal na chegada do segundo anel do enduro e 15 e 30 minutos aos o término do mesmo, conforme demonstrado na figura 8.

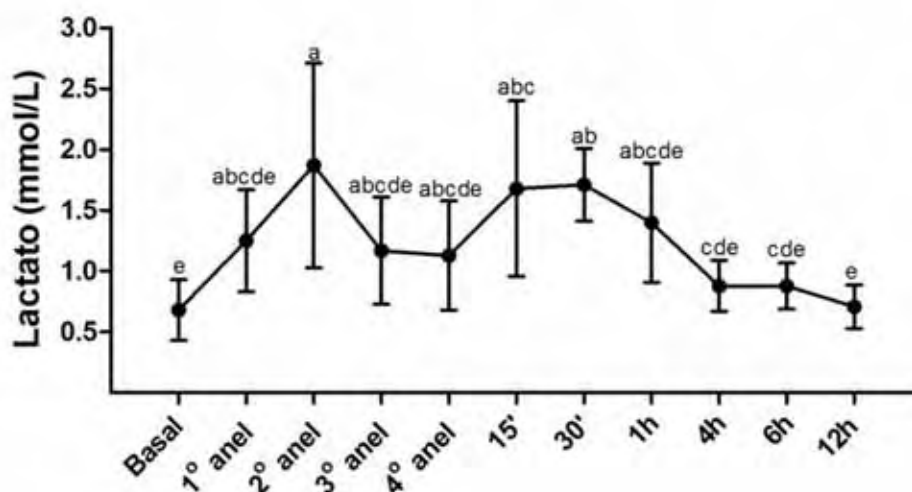


Figura 8. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da concentração de lactato sanguíneo durante e após a realização de um enduro de 80km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

3.4. Discussão

É importante ressaltar que no dia da realização do teste de longa distância as condições climáticas estavam desfavoráveis. Temperatura e umidade estavam elevadas, inclusive com presença de chuva em boa parte da prova, o que prejudicou substancialmente a qualidade do terreno. Velocidades e temperaturas crescentes, associadas a um terreno enlameado contribuem significativamente para a perda de íons durante provas de enduro, além de aumentar o risco de injúrias no sistema

locomotor (ECKER & LINDINGER, 1995; FLAMINIO & RUSH, 1998, ROBERT et al., 2010).

Já foi demonstrado que as condições climáticas exercem impacto no desempenho em provas de resistência (ELY et al., 2007; VIHMA, 2010), sendo as altas temperaturas o fator mais importante para reduzir a velocidade dos competidores. O efeito das condições meteorológicas em cavalos tem sido avaliado em estudos experimentais e clínicos (MARLIN et al., 1999, 2001). Em um estudo experimental, os cavalos mostraram adaptação fisiológica ao clima quente e úmido consistentes com resposta ao calor úmido de aclimação (MARLIN et al., 1999).

Com relação ao índice de eliminação encontrado em nosso trabalho, ele está de acordo com o encontrado por Nagy et al. (2010), que acompanhou provas de enduro em nove países diferentes, e constatou que apenas 46% dos animais que iniciaram uma prova de enduro conseguiram completá-la. Sendo que a causa mais comum de eliminação foram as claudicações, seguidos por eliminação em decorrência de distúrbios metabólicos (69,2% e 23,5%, respectivamente). O autor também verificou que o risco de eliminação por claudicações não foi atribuída a velocidade mais rápidas, mas sim as condições do piso do percurso e a fatores ambientais.

Conforme esperado, a maior perda hídrica ocorreu após o primeiro anel, o de maior extensão do enduro devido aos mecanismos termorregulatórios. Com a continuidade do exercício, os mecanismos de retenção hídrica são ativados e a perda de água diminui sensivelmente. Ademais, os altos valores de umidade relativa no dia da prova, que em determinados momentos foram superiores a 90%, contribuíram para que as perdas fossem elevadas. Valores de umidade relativa elevados causam aumentos na taxa de sudorese, sendo 30-35% superior em relação a um dia frio e seco, o que corresponde a perdas hídricas na ordem de 10-15 l / h (GEOR & MCCUTCHEON 1998; MCCUTCHEON & GEOR 1998).

Os aumentos nos valores de hemoglobina e hematócrito estão de acordo com o encontrado por Dumont et al. (2012) e Robert et al. (2010) que avaliaram enduros de 90 e 120 km, respectivamente. Este fato está relacionado à esplenocontração (CALDEIRA et al., 2005). A mobilização da reserva esplênica é ativada em resposta a um estímulo simpático ou ao aumento da concentração de adrenalina circulante,

que sensibiliza receptores adrenérgicos α -1 promovendo a contração da musculatura lisa do baço (ROSE & EVANS, 1990; McKEEVER et al., 1993; TAYLOR et al., 1995; SILVA, 2006 e OROZCO, 2007). Porém apresenta um efeito hemodinâmico adverso uma vez que aumenta a viscosidade sanguínea fazendo com que o coração tenha que aumentar a força de contração para manter o fluxo sanguíneo e a oxigenação dos tecidos (HARKINS et al., 1993). Porém, no presente estudo, acredita-se que os aumentos observados nos valores de hematócrito devem estar mais intimamente relacionado as perdas hídricas que ocorreram, visto que a desidratação é o fator de maior influência no hematócrito em exercícios prolongados (KINGSTON, 2004).

Também associado as perdas hídricas, houve aumento nos valores de proteína total, embora estes não tenham diferido do basal, diferente do que foi encontrado por Dumont et al. (2012) e Robert et al. (2010).

Houve aumento nos valores do pH ao longo da prova, e este se manteve elevado mesmo após transcorridos 12 horas do término no exercício. Resultados semelhantes foram encontrados por Di Filippo et al. (2009) em enduro de 60 km, que atribuiu esse aumento às elevadas perdas de íon cloreto, com consequente retenção de íon bicarbonato, caracterizando uma alcalose metabólica hipoclorêmica. O resfriamento através da evaporação do suor é o principal meio pelo qual os cavalos dissipam calor durante o exercício (CARLSON, 1983; HODGSON et al., 1993).

Houve perda eletrolítica significativa, principalmente referente aos íons cloreto, cálcio e potássio. Devido a hipertonicidade do suor equino, diminuição nas concentrações sanguíneas dos íons sódio, potássio, cloro e cálcio são geralmente descritas ao final de provas de longas distâncias se comparados aos valores basais. (ROBERT et al., 2010; SCHOTT et al., 1997; SCHOTT et al., 2006; AGUILERA-TEJERO et al., 2001; BARTON, 2003; ROSE et al., 1980; SNOW et al., 1982; MCCUTCHEON et al. 1995; KINGSTON et al., 1999). O ânion cloreto é o íon que mais sofre perdas através do suor (LINDINGER & WALLER, 2008), o que explica a diminuição nos valores encontrados ao longo do exercício no presente estudo, corroborando com o encontrado por Robert et al., (2010), Viu et al., (2010) e Dumont et al. (2012). Como a perda de cloreto é elevada, no intuito de manter a eletroneutralidade do meio, o organismo mobiliza bicarbonato, por também ser um

ânion, através de mecanismos renais. Em um estudo onde se coletou urina antes, durante e após uma prova de enduro foi observado diminuição na excreção fracionada de sódio e cloro, sugerindo conservação tubular de eletrólitos como parte do método para conservação de íons e água (ROBERT et al., 2010).

Dumont et al. (2012) não encontraram diferenças no pH em provas de enduro, porém o mesmo foi avaliado apenas antes e após o término da prova e os animais receberam suplementação eletrolítica. Em contra partida, Viu et al. (2010) avaliou um enduro de 120 km e, encontrou decréscimo nos valores de pH que foram associados à moderada alcalose metabólica hipoclorêmica compensada por uma acidose respiratória compensatória e acidose láctica. Em nosso estudo, o aumento do pH foi associado à quedas na $p\text{CO}_2$, aumentos na $p\text{O}_2$, diminuição nas concentrações de íon cloreto e aumento nos valores de HCO_3^- e proteína. O aumento na $p\text{O}_2$ e diminuição na $p\text{CO}_2$ indicam que houve hiperventilação, provocando aumento do volume corrente e da frequência respiratória, com o intuito de possibilitar o aumento do fluxo de O_2 para os tecidos, e concomitante remoção de CO_2 , resultando em alcalose respiratória (PAN et al., 1983; ROSE et al., 1991; BAYLY et al., 1995; HOPKINS et al., 1998). Portanto, no presente estudo, houve distúrbio metabólico misto, caracterizado por alcalose metabólica hipoclorêmica somada a alcalose respiratória. O aumento da $p\text{CO}_2$ 15 minutos após o término do exercício pode ter favorecido o retorno do pH aos valores basais logo no início da recuperação dos animais.

Foram observadas diminuições nas concentrações de sódio ao término do enduro e nos primeiros momentos de recuperação, corroborando substancialmente aos resultados descritos por Robert et al. (2010), porém não foram consistentes com o encontrado por Di Filippo et al. (2009) que observaram aumento nesse íon, e atribuíram esse fato a perda de fluidos circulantes. As perdas de sódio acompanham as perdas hídricas (CARLSON, 1987). Diminuições nas concentrações de sódio podem corresponder à ingestão excessiva de água, ocasionando diluição do íon (CARLSON, 1987; HESS, 2005). Considerando que os animais deste trabalho não receberam reposição eletrolítica durante o percurso, porém tiveram acesso a água *ad libitum*, acredita-se que a perda de sódio por meio da sudorese foi a responsável pela hiponatremia, a qual agravou-se com a ingestão de água.

Com relação ao cátion potássio, foi observada diminuição na sua concentração ao longo da prova. Quedas nos valores do íon potássio em exercícios prolongados ou de alta intensidade são descritos com frequência na literatura (Di FILIPPO et al., 2009; FILHO, 2009; FERRAZ et al., 2010a). A sudorese, que é bastante significativa em exercícios prolongados, aumenta a perda de potássio através do suor. Além disso, perdas hídricas e de sódio, que também foram observadas no presente trabalho, resultam em aumento da secreção de aldosterona que aumenta a reabsorção renal de sódio e a excreção de potássio pela urina, colaborando com a queda nos seus valores plasmáticos. Mesmo após o término do exercício os valores de potássio continuam caindo porque o potássio se move rapidamente para o interior das células musculares (HESS et al., 2005).

Em relação ao cálcio ionizável, houve diminuição desse íon ao longo da prova, corroborando com o encontrado por DiFilippo et al. (2009) e Dumont et al. (2012). Tal fato pode ser atribuído a perda desse íon pelo suor ou em decorrência de sua migração para o meio intracelular permitindo uma eficiente contração muscular (McKEEVER, 2004). A diminuição excessiva na concentração desse íon pode causar *flutter* diafragmático, culminando com a eliminação de animais acometidos da competição (SANTOS et al., 2006) .

No presente estudo, não foi oferecido nenhum tipo de suplementação eletrolítica aos animais, os íons cálcio, potássio e sódio não retornaram aos valores basais mesmo transcorridos 12 horas do término do exercício. Devido às perdas que ocorrem ao longo de provas de enduro, muitas vezes a reposição eletrolítica é recomendada. Porém essa recomendação ainda é bastante controversa, Lacerda-Neto et al. (2003) não encontraram benefícios na reposição eletrolítica no desempenho dos animais em provas de curta distância. Em contra partida, Teixeira-Neto et al. (2004) sugeriu que a suplementação eletrolítica em provas de longa duração pode contribuir com o desempenho dos animais em exercícios prolongados.

Mesmo o exercício tendo sido longo e extenuante. A glicose manteve-se constante. Isso ocorre porque o exercício representa um estímulo estressante para o animal, pois ameaça a homeostase do organismo (CAYADO et al., 2006). Ocorre então a sensibilização do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, com consequente liberação de cortisol, que irá inibir a utilização de glicose pelos tecidos e estimular a

gliconeogênese, fazendo com que a glicemia permaneça constante (FERRAZ et al., 2010b).

Durante o exercício houve leve aumento nas concentrações de lactato em relação ao basal, mas, apesar de significativas, seus valores foram sempre inferiores a 2 mmol/L, indicando prevalência do metabolismo aeróbio. Além disso, concentrações constantes de lactato indicam que o organismo encontra-se num estado de equilíbrio estacionário dinâmico, ou seja, que a produção de lactato não supera sua utilização e eliminação (BOTTEON, 2012), fato extremamente desejável para cavalos de enduro. Após seis horas do término do teste os animais já retornaram às concentrações de lactato basais, mostrando bom índice de recuperação, demonstrando suficiente adaptação metabólica induzida pelo treinamento.

Diante das alterações encontrados pode-se dizer que os equinos submetidos ao exercício de enduro de 80 km apresentaram quadro de alcalose metabólica mista durante o exercício, por meio do desenvolvimento de alcalose metabólica hipoclorêmica e alcalose respiratória, mas esta condição foi revertida no período de recuperação. Houve predomínio do metabolismo aeróbico durante todo o exercício, como é esperado para esta modalidade. Os mecanismos de fornecimento de energia foram eficazes em manter os níveis de glicose constantes. O treinamento realizado foi efetivo em evitar a ocorrência de distúrbios metabólicos mais severos.

3.5. Conclusão

Conclui-se que as avaliações realizadas durante o enduro permitiram a melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na manutenção da homeostasia durante este tipo de exercício. Este estudo forneceu informações importantes acerca do comportamento eletrolítico e dos distúrbios ácido base sofridos ao longo de um exercício prolongado. Permitindo inferir que a suplementação eletrolítica durante provas de enduro pode ter efeito benéfico, visto que as perdas de eletrólitos são acentuadas.

3.6. Referências

AGUILERA-TEJERO, E., ESTEPA, J.C., LÓPEZ, I., BAS, S., GARFIA, B. AND RODRÍGUEZ, M. Plasma ionized calcium and parathyroid hormone concentrations in horses after endurance rides. **Journal American veterinary Medicine Association**, v. 219, p.488-490, 2001.

BAYLY, W., H. SCHOTT II, AND R. SLOCOMBE. Ventilatory responses of horses to prolonged submaximal exercise. **Equine Veterinary Journal** Supplement 18, p. S23–S28, 1995.

BOTTEON, P. T. L. Lactato Na Medicina Veterinária – Atualização Conceitual. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34(4), p. 283-287, 2012

CARLSON, G. P. Hematology and body fluids in the equine athlete: a review. In: GILLESPIE, J. R.; ROBINSON, N. E. **Equine Exercise Physiology**. 2. ed., p. 393-425, Davis: ICEEP Publications, 1987.

CARLSON, G. P. Fluid, electrolyte, and acid-base balance. In: KANEKO, J. J.; HAENEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, p. 485-516, 1997.

CAYADO, P.; MUNOZ-ESCASSI, B.; DOMÍNGUEZ, C.; MANLEY, C.; OLABARRI, B.; SANCHEZ DE LA MUELAS, M.; CASTEJON, F.; MARANONT G.; VARA, E. Hormone response to training and competition in athletic horses. EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY 7, **Equine veterinary Journal** Supplement. V. 36,p. 274-278, 2006.

CONSTABLE, P. D. A simplified strong ion model for acid-base equilibrium: application to horse plasma. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 83, p. 297-311, 1997.

CUNNINGHAM, J. G. Equilíbrio ácido-básico. In: _____. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 436-442, 1999.

DI FILIPPO, P. A.; GOMIDE, L. M. W.; OROZCO, C. A. G.; SILVA, M. A. G.; MARTINS, C. B.; LACERDA NETO, J. C.; SANTANA, Á. E. Alterações hemogasométricas e eletrolíticas de cavalos da raça árabe durante prova de enduro de 60 km. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 840-846, jul./set. 2009.

DUMONT, C. B. S.; LEITE, C. R.; MORAES, J. M.; MOREIRA, M.; MOSCARDINI, A. R. C.; GODOY, R. G.; LIMA, E. M. M. Osmolaridade, ânion gap, potencial hidrogeniônico e íons plasmáticos mensuráveis de equinos Puro Sangue Árabe inalistas em provas de enduro de 90 km. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32(6):542-546, 2012.

FEI ENDURANCE RULES, 8th Edition, effective 1 January 2013. Disponível em: http://www.fei.org/sites/default/files/file/DISCIPLINES/ENDURANCE/Rules/Endurance%20Rules%20-%202013_0.pdf. Acesso em: 21 dez. 2012.

FEI Annual Report 2011. Disponível em : <<http://www.fei.org/fei-annual-report-2010/fei-annual-report>>. Acesso em: 21 dez. 2012.

FERRAZ, G. C.; SOARES, O. A. B.; FOZ, N. S. B.; PEREIRA, M. C.; QUEIROZ-NETO, A. The workload and plasma ion concentration in a training match session of high-goal (elite) polo ponies. **Equine Veterinary Journal** v. 42 (Suppl. 38), p. 191-195, 2010a.

FERRAZ, G., C.; TEIXEIRA NETO, A. R.; PEREIRA, M. C.; LINARDI, R. L.; LACERDA NETO, J. C.; QUEIROZ NETO, A. Influência do treinamento aeróbio sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 1, p. 23-29, fev. 2010b.

FLAMINIO, M.J.; RUSH, B.R. Fluid and electrolyte balance in endurance horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice** 14, p. 147-158, 1998.

ECKER, G.L.; LINDINGER, M.I. Effects of terrain, speed, temperature and distance on water and ion losses. **Equine veterinary Journal** Supplement. 18, 298-305, 1995

ELY, M.R., CHEUVRONT, S.N., ROBERTS, W.O., MONTAIN, S.J.. Impact of weather on marathon-running performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise** 39, p. 487–493, 2007

GEOR, R. J.; MCCUTCHEON, L. J. Hydration effects on physiological strain of horses during exercise-heat stress. **Journal of Applied Physiology**, vol. 84 no. 6 p. 2042-2051, 1998.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Os compartimentos líquidos corporais: líquido extracelular, intracelular e edema. In: _____. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 250-264.

HESS, T.M., KRONFELD, D.S., WILLIAMS, C.A., WALDROM, J.N., GRAHAM-THIERS, P.M., GREIWE-CRANDELL, K., LOPEZ, M.A. AND HARRIS, P.A. Effects of oral potassium supplementation on acid-base status and plasma ion concentrations of horses during endurance exercise. **American Journal of veterinary Research**, v. 66, p. 466-473, 2005.

HODGSON, D. R.; MCCUTCHEON, L. J.; BYRD, S. K.; BROWN, W. S.; BAYLY, W. M. BRENGELMANN, G. L.; GOLLNICK, P. D. Dissipation of metabolic heat in the horse during exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 74:(3), p. 1161-1170, 1993.

HOPKINS, S. R.; BAYLY, W. M.; SLOCOMBE, R. F.; WAGNER, H.; WAGNER, P. D. Effect of prolonged heavy exercise on pulmonary gas exchange in horses. **Journal of Applied Physiology** , v. 84, p.1723-1730, 1998.

HOUP, T. R. Equilíbrio Ácido-básico. In: REECE, W. O. Dukes **Fisiologia dos Animais Domésticos**. cap. 9, p. 147-160, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2006.

KINGSTON, J. K.; MCCUTCHEON, L. J.; GEOR, R. J. Comparison of three methods for estimation of exercise-related ion losses in sweat of horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 60(10), p. 1248-1254, 1999.

LACERDA NETO, J. C., MARQUES, L. C. Utilização de parâmetros clínicos e bioquímicos na avaliação de eqüinos submetidos a exercício de baixa intensidade e média duração. **Veterinária Notícia**, v. 5, p. 77-82, 1999.

LACERDA NETO, J. C.; SAMPAIO, R. C. L.; FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; PEREIRA, D. M.; TITTO, E. A. L.; CARVALHO, M. B.; QUEIROZ-NETO, A. Efeitos do resfriamento intermitente e de repositor eletrolítico sobre a osmolalidade e eletrólitos séricos de eqüinos submetidos a exercício de baixa intensidade. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 98, p. 189-195, 2003.

LINDINGER, M. I. Acid-base physiology during exercise and in response to training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders, p. 872-897, 2004.

LINDINGER M. I.; WALLER A. Muscle and blood acid-base physiology during exercise and response to training. In: HINCHCLIFF, K.W.et al. *Equine exercise physiology - The science of exercise in the athletic horse*. London: Saunders, 2008.

MARLIN, D.J., SCOTT, C.M., SCHROTER, R.C., HARRIS, R.C., HARRIS, P.A., ROBERTS, C.A., MILLS, P.C. Physiological responses of horses to a treadmill simulated speed and endurance test in high heat and humidity before and after humid heat acclimation. **Equine Veterinary Journal** 31, 31–42, 1999.

MARLIN, D.J., SCHROTER, R.C., WHITE, S.L., MAYKUTH, P., MATTHESEN, G., MILLS, P.C., WARAN, N., HARRIS, P. Recovery from transport and acclimatization of competition horses in a hot humid environment. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, p. 371–379, 2001.

McCUTCHEON, L. J.; GEOR, R. J. Sweating. Fluid and ion losses and replacement. **The Veterinary Clinics of North America Equine Practice**. Philadelphia, v.14, n.1, p.75- 95, 1998.

McCUTCHEON, L. J.; GEOR, R. J.; HARE, M. J.; KINGSTON, J. R.; STAEMPFLI, H. R. Sweat composition: comparison of collection methods and effects of

exercise intensity. **Equine Veterinary Journal**, London, v.18 (Suppl), p.279-284, 1995.

McKEEVER, K. H. The endocrine system and the challenge of exercise. The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice , v.2, p. 321-353, 2002.

MCKEEVER, K. H. **Body fluid and electrolytes: Responses to exercise and training.** In: Equine Sport Medicine and Surgery. Basic and Clinical Sciences of Equine Athlete, eds K. W. Hinchcliff, A. J. Kaneps & R. J. Geor, Saunders Press, China, p. 854–871, 2004.

NAGY, A., MURRAY, J., DYSON, S. Elimination from elite endurance rides in nine countries – A preliminary study. **Equine Veterinary Journal** Suppl. 42, p. 637–643, 2010.

NAGY, A.; DYSON, S. J.; MURRAY. J. K. A veterinary review of endurance riding as an international competitive sport. **The Veterinary Journal**, v.194, p. 288–293, 2012.

PAN, L.G.; FORSTER, H.V.; BISGARD, G.E. ; KAMINSKY, R.P.; DORSEY, S.M.; BUSCH, M.A. Hyperventilation in ponies at the onset of and during steady-state exercise. J. Appl. Physiol., 54, p. 1394–1402, 1983.

POWERS, S. K., HOWLEY, E. T. **Fisiologia do exercício. Teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho.** 3 ed. São Paulo: Manole. 1997.

RIDGWAY, K.J. **Training endurance horses.** In: The Athletic Horse. Saunders, Philadelphia, USA, PA, pp. 409–417, 1994.

ROBERT, C.; GOACHET, A.-G.; FRAIPONT, A.; VOTION, D.-M.; VAN ERCK, E.; LECLERC, J.-L. Hydration and electrolyte balance in horses during an endurance season. **Equine Veterinary Journal**, (Suppl. 38) 98-104, 2010.8 98.

ROSE, R. J.; ARNOLD, K. S.; CHURCH, S.; PARIS, R. Plasma and sweat electrolyte concentrations in the horse during long distance exercise. **Equine Veterinary Journal**, Volume 12, Issue 1, pages 19–22, 1980.

ROSE, R. J.; KNIGHT, P. K.; BRYDEN, W. L. Energy use and cardiorespiratory responses to prolonged submaximal exercise. **Equine Exercise Physiology**, v. 3, p. 281-287, 1991.

SANTOS, S. A.; SILVA, R. A. M. S.; AZEVEDO, J. R. M.; MELLO, M. A. R.; SOARES, A. C.; SIBUYA, C.Y.; ANARUMA, C. A. Serum electrolyte and total protein alterations in Pantaneiro horse during long distance exercise. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 3, 2006.

SCHOTT II, H. C.; HINCHCLIFF, K. W. Fluids, electrolytes, and bicarbonate. **Veterinary Clinics of North America Practice**, v.9, n.3, p. 577-604, 1993.

SCHOTT II, H.C.; McGLADE, K.S.; MOLANDER, H.A.; LEROUX, A.J.; HINES, M.T. Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses competing in 50- and 100-mile endurance rides. **American Journal of Veterinary Research**, v.58, p.303-309, 1997.

SCHOTT, H.C., II, MARLIN, D.J., GEOR, R.J., HOLBROCK, T.C., DEATON, C.M., VINCENT, T., DACRE, K., SCHROTER, R.C., JOSE-CUNILLERAS, E. AND CORNELISSE, C.J. Changes in selected physiological and laboratory measurements in elite horses competing in a 160 km endurance ride. **Equine Veterinary Journal**, Supplement. 36, 37-42, 2006.

SILVA, M.A.G.; MARTINS, C.B.; GOMIDE, L.M.W.; ALBERNAZ, R.M.; QUEIROZ-NETO, A.; LACERDA-NETO, J.C. Determinação de eletrólitos, gases sanguíneos, osmolalidade, hematócrito, hemoglobina, base titulável e anion gap no sangue venoso de equinos destreinados submetidos a exercício máximo e submáximo em esteira rolante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 61 nº.5 Belo Horizonte Oct. 2009

SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M.M.; WENSING, T.; BARNEVELD, A.; BREUKINK, H.J. Heart rate, blood biochemistry and performance of horses competing in a 100 km endurance ride. **Veterinary Record**, v.23, p.175-179, 1991.

SNOW, D. H.; KERR, M. G.; NIMMO, M. A.; ABBOTT, E. M. Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse. **The Veterinary Record**, v. 110(16), p. 377-384, 1982.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). **SAS User's guide: Statistics**. Cary, 2002.

STEWART, P.A. Modern quantitative acid-base chemistry. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 61, p. 1444-146, 1983.

TEIXEIRA NETO, A. R.; FERRAZ, G. C.; MATAQUEIRO, M. I.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Reposição eletrolítica sobre variáveis fisiológicas de cavalos em provas de enduro de 30 e 60 Km. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1505- 1511, 2004.

VIHMA, T. Effects of weather on the performance of marathon runners. **International Journal of Biometeorology**, v. 54, p. 297–306, 2010.

VIU, J., JOSE-CUNILLERAS, E., ARMENGOU, L., CESARINI, C., TARANCÓN, I., RIOS, J., MONREAL, L. Acid-base imbalances during a 120 km endurance race compared by traditional and simplified strong ion difference methods. **Equine Veterinary Journal**, v. 42 (Suppl. 38), p.76-82, 2010.