

LUCIANA PEREIRA MACHADO

**ERITROGRAMA, GLUTATIONA REDUZIDA E SUPERÓXIDO
DISMUTASE ERITROCITÁRIOS E METAHEMOGLOBINA EM
EQUINOS DA RAÇA ÁRABE SUBMETIDOS A EXERCÍCIO
EM ESTEIRA. EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM
VITAMINA E (DL-ALFA-TOCOFEROL)**

**Botucatu - SP
2006**

LUCIANA PEREIRA MACHADO

**ERITROGRAMA, GLUTATIONA REDUZIDA E SUPERÓXIDO
DISMUTASE ERITROCITÁRIOS E METAHEMOGLOBINA EM
EQÜINOS DA RAÇA ÁRABE SUBMETIDOS A EXERCÍCIO
EM ESTEIRA. EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM
VITAMINA E (DL-ALFA-TOCOFEROL)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do Título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Agumi Kohayagawa

**Botucatu-SP
2006**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Machado, Luciana Pereira.

Eritrograma, glutathiona reduzida e superóxido dismutase eritrocitários e metahemoglobina em eqüinos da raça Árabe submetidos a exercícios em esteira: efeito da suplementação com vitamina E (dl-alfa-tocoferol) / Luciana Pereira Machado. – Botucatu : [s.n.], 2006.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2006.

Orientador: Prof. Dr. Aguemi Kohayagawa

Assunto CAPES: 50503030

1. Patologia clínica veterinária – Eqüinos. 2. Eqüino. 3. Vitamina E na nutrição animal.

CDD 636.1089

Palavras chave: Eqüino; Fisiologia do exercício; Malondialdeído; Metabolismo oxidativo eritrocitário; Vitamina E.

Dedico este trabalho aos meus pais, Feliciano e Maria Edelvira.
Pessoas simples que empenharam suas vidas na formação dos filhos.
Exemplos de abnegação, humildade e amor.
Que eu possa merecer o orgulho de meus pais.

*Aos meus irmãos, Osmar e Fabiana,
e aos meus cunhados Rosenir e Namour,
pelo amor e apoio constante,
compreendendo e suprimdo minha ausência na família.*

*À Prof^ª. Dr^ª. Agumi Kohayagawa,
exemplo de dedicação e sabedoria, presença alegre e carinhosa,
apoio e compreensão nos momentos difíceis.
Sua conversa amiga sempre me renovou as esperanças.*

*Todo mundo ama um dia
Todo mundo chora
Um dia a gente chega
Um outro vai embora
Cada um de nós compõe a sua história
E cada ser em si carrega o dom de ser capaz
De ser feliz...*

(Almir Sater, Renato Teixeira)

Este trabalho só foi possível graças à colaboração direta ou indireta de muitas pessoas. Manifesto minha gratidão a todas elas e de forma particular:

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por possibilitar e execução deste trabalho por meio da Acessoria Científica e financiamento do Projeto de Pesquisa e pela concessão da Bolsa de Estudos, permitindo minha total dedicação ao Curso de Pós-Graduação.

Ao Curso de Pós-Graduação desta Faculdade, por permitir a realização de mais uma etapa de minha vida profissional.

À minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Agueми Kohayagawa pela confiança depositada permitindo a realização deste trabalho com o qual aprendi muito, mais do que isso agradeço a oportunidade de poder desfrutar da convivência com uma pessoa de tão grandes conhecimentos científicos e sabedoria de vida.

Ao Prof. Dr. Armen Thomassian agradeço não apenas por permitir a utilização do Centro de Medicina Esportiva Equina e da esteira para equinos indispensáveis à realização deste experimento, mas principalmente por compartilhar o seu amplo conhecimento em Medicina Esportiva Equina e pelo auxílio nos momentos de dificuldades.

Às pós-graduandas Mere Erika Saito e Veridiana Fernandes da Silveira, minhas companheiras de equipe, pilares deste trabalho em todas as fases, com quem aprendi muito, agradeço a amizade, solidariedade e paciência, continuando a me ajudar mesmo quando eu estava estressada escrevendo a dissertação.

Ao pós-graduando Marcos Jun Watanabe exemplo de profissionalismo, além do auxílio indispensável na utilização da esteira para equinos, agradeço ao companheirismo, paciência e amizade.

Á pós-graduanda Regina de Cássia Veronezi, sempre disposta a ajudar no experimento mesmo nos horários mais impróprios, pelo grande auxílio nas colheitas de sangue arterial e manejo dos animais, e principalmente pela solidariedade em coisas simples como buscar um salgado quando não podia me ausentar do laboratório.

Aos residentes e ex-residentes do Serviço de Cirurgia de Grandes Animais desta Faculdade, Andressa B. da Silveira, Brunna P. A. da Fonseca, Bruno C. Menarim, Lucas H. Alfaia, Maria Júlia A. Moreira e Rolf B. Modesto, pela amizade e ensinamentos transmitidos durante o projeto de pesquisa e pela ajuda com o manejo dos equinos.

À Joandes Henrique Fonteque, Sandro Colla, Mario A. Ribeiro, Paulo Henrique e muitos outros que nos ajudaram com os equinos em momentos inesperados.

Aos Prof. Dr. Francisco José Teixeira Neto e Prof. Dr. Stélio Loureiro Pacca Luna do Serviço de Anestesiologia do Hospital Veterinário desta Faculdade, pela disponibilização do aparelho de hemogasometria. Também aos residentes da Anestesiologia Fabio C.

Restituti, Guilherme M. Mendes, Tatiane Giordano e Yuri K. de Carvalho que tão prontamente nos auxiliaram nas análises hemogasométricas.

Aos professores de Laboratório Clínico Veterinário desta Faculdade, Prof.^a Dr.^a Regina Kiomi Takahira e Prof. Dr. Raimundo Souza Lopes sempre prontos a colaborar no que fosse preciso.

Aos funcionários do Laboratório Clínico Veterinário desta Faculdade, Sueli de Oliveira Souza Emílio, Ilson A. Tavares e Luiz Antônio Matiazzi, e a Sônia Santi funcionária do Laboratório Enfermidades Parasitárias, pelo incentivo e amizade.

Aos Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni supervisor do Hospital Veterinário desta Faculdade, pelo apoio e ensinamentos transmitidos.

Aos funcionários do Hospital Veterinário desta Faculdade, José Correa, Melissa Ágata Salemme, Antônio G. Donizete, Luiz Souza Pinto, Nadir Silvestre de Almeida, João Borioli Cassetari, Nelson Adriano, pela prontidão e ajuda nos momentos mais inesperados.

À Maria Luiza Cassetari, Sílvia Regina T. Estevam e Neísa Maria Cechinato, do Laboratório de Nutrição do Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina da UNESP - Botucatu, pela disponibilização do aparelho de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e pela auxílio nas dosagens do malondialdeído e vitamina E.

À Dr. Adriana Polachini do Valle supervisora do Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina da UNESP - Botucatu, pela disponibilização do aparelho Cobas Mira e a Bióloga Maria Salete Sartori responsável pelo Laboratório de Bioquímica da mesma Faculdade, pelo auxílio nas dosagens da superóxido dismutase.

Aos professores do Departamento de Estatística do Instituto de Biociências da UNESP - Botucatu, Prof Dr. José Eduardo Corrente, Prof Dr. Adalberto J. Crocci e em especial ao Prof. Cesar Augusto Taconelli, pelo auxílio na análise estatística dos dados.

À secretária do Departamento de Clínica Veterinária desta Faculdade, Marlene Dias Camargo, pela amizade e apoio durante o mestrado.

À Denise Aparecida Fioravanti Garcia, Maria Aparecida D. A. Manuel e Maria Regina T. Forlin da Secretaria de Pós-Graduação desta Faculdade, pelo incentivo e auxílio.

Aos funcionários da Biblioteca da UNESP – Botucatu, pelos serviços prestados com tão bom humor e carinho.

Aos queridos amigos, Geisa Kleemann, Juliana (jara), Juliana Zuppi, Valéria de Oliveira, Silvia Almeida, Joandes Henrique Fonteqe, Kátia Sales, Daniele Duarte, Catharine Ferrazoli, Vanessa Viscardi, Fabiano Séllos, Aruaque L. F. de Oliveira e aos vários estagiários passageiros, mas marcantes e principalmente a Mere Erika Saito e Rafael Torres Neto, por compartilharem comigo o mesmo teto, quantos momentos inesquecíveis, apoio na dificuldade, até nas desavenças um aprendizado, alegria de voltar para casa após um dia cansativo de trabalho, uma verdadeira família.

Aos queridos amigos que fiz em Botucatu, Adriane Jorge Mendonça e família, Andrey Borges, Flávia Quaresma e família, José Maria Russo Junior (Jr), Livia Figueiredo Torres, Luciano Santos da Fonseca, Andressa Inaba, Alexandre Carnieto, Karla Higino de Campos, Nayro Xavier Alencar, Karina Rodrigues dos Santos, José Paes Filho, Daniela Campagnol, Sílvia Almeida e família, Simone Argenton, Raquel Reis Martins, Satie Katagiri, Flávio Paz, Thiago Martins, Viviane von Ah, Zuel Junior e aos que não foram mencionados, mas foram todos muito importantes, me renovando as energias com sua amizade.

Aos meus professores da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul em especial à Prof^a Josephina Montanari Rosa Rangel que me contagiou com seu amor pela Patologia Clínica, ao Prof. Dr. Rafael de Rossi e a Prof^a. Dr^a. Verônica Jorge Babo, que sempre acreditaram em mim e me apoiaram.

Ao Dr. Pedro Paulo Feres do Setor de Sanidade Animal da Embrapa Gado de Corte e à Maristela Martins Halverson do Laboratório Veterinário Vet Analysis, pelos ensinamentos, pelo incentivo e pelas oportunidades durante a vida acadêmica que influenciaram a minha trajetória profissional.

Às residentes Renata Couto, Cynthia Lucidi, Sandra Curotto e Gracy Canto Gomes do Laboratório Clínico Veterinário desta Faculdade, pela amizade e incentivo.

Aos grandes amigos que deixei em Campo Grande que mesmo longe estão sempre presentes torcendo por mim, Sandra Regina Nervis, Valéria de Oliveira, Juliana Valdez Varela, Marcio César Seixas, Denise Forte, Marcos Hiroshi Mitsutsu, Mariana Pinheiro Alves Vincenzi, Robson Ferreira Cavalcante de Almeida, Sandra Regina Goularte, Willian Shingo Tanaka, Mara Lucy Marcon (in memorian), Marcos Henrique de Godoy, Simone Nervis, Mabel Saldanha, Cláudio Roberto Madruga Júnior, Márcia Cristina Barbosa, Carolina de Lacerda, Fabrício Buthevicius e Débora Ribeiro de Toledo.

À amiga Valeria de Oliveira por ceder seu dom artístico na arte gráfica da dissertação.

À Fonoaudióloga Ivanira Ayako Tamashiro, do Serviço de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP, pelo trabalho carinhoso que tem me ajudado a superar minhas dificuldades de fonação.

À cidade de Botucatu e seus cidadãos, que tão bem me acolheram e que sempre ocuparão um espaço carinhoso em minhas lembranças, vim apenas para estudar, mas hoje sou um pouquinho botucatuense.

E principalmente, a Deus que com sua sabedoria e bondade infinita guiou-me em todos os momentos.

MACHADO, L.P. **Eritrograma, glutathiona reduzida e superóxido dismutase eritrocitários e metahemoglobina em eqüinos da raça Árabe submetidos a exercício em esteira. Efeito da suplementação com vitamina E (dl-alfa-tocoferol).** 2006. 99 p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o metabolismo oxidativo eritrocitário em eqüinos submetidos ao exercício em esteira de alta velocidade, e o efeito da suplementação com vitamina E. Oito eqüinos adultos da raça Árabe, machos e fêmeas, foram divididos em: grupo controle (GC) e grupo suplementado com vitamina E (GE) (1000 UI/animal/dia). Todos os animais foram submetidos a duas provas (P1 e P2) de exercício progressivo em esteira, P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento). O protocolo de exercício para as duas provas iniciou-se à 1,8m/s por 5 min, 4m/s por 3min, 6m/s por 2min seguido de fases de 1min em velocidades crescentes até que os animais conseguissem manter-se em exercício, com a esteira inclinada a 7%. Entre as provas foi realizado um protocolo de treinamento com a esteira em posição horizontal, por 20 dias. Foram colhidas amostras de sangue antes, durante e até 120 horas após o exercício, para a determinação do eritrograma, proteínas plasmáticas totais (PPT), glutathiona reduzida (GSH), superóxido dismutase (SOD), metahemoglobina, fragilidade osmótica eritrocitária (FO), malondialdeído (MDA) e vitamina E séricos, atividade enzimática sérica do aspartato aminotransferase (AST) e da creatinaquinase (CK), lactato sanguíneo e hemogasometria. Os resultados foram comparados pelos testes não paramétricos de Mann-Whitney e Friedman. Apesar de serem observadas diferenças significativas apenas em poucas variáveis, foi possível verificar elevações no eritrograma e PPT por contração esplênica e/ou redução do volume plasmático, e aumento do volume eritrocitário por tumefação. Observou-se “anemia do esporte” entre 24h e 120h pós-exercício. A metahemoglobina foi compatível com níveis fisiológicos e a FO aumentou durante o exercício em ambos os grupos. A elevação do MDA comprova a lipoperoxidação por efeito do exercício, atenuado no GE pela suplementação com vitamina E. O exercício induziu ainda aumento do AST, CK, lactato e acidose metabólica.

Palavras-chave: eqüino; fisiologia do exercício; malondialdeído; metabolismo oxidativo eritrocitário; vitamina E.

MACHADO, L.P. **Erythrogram, erythrocyte reduced glutathione and superoxide dismutase, methemoglobin in Arabian horses submitted to exercise on high-speed treadmill. Effect of the supplementation with vitamin E (dl- α -tocopherol).** 2006. 99p. Thesis (Master in Clinical Veterinary) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the oxidative erythrocyte metabolism in equines submitted to exercise on high-speed treadmill and the effect of vitamin E supplementation. Eight adults Arabian horses, males and females, were divided: control group (CG) and group supplemented with vitamin E (EG), (1000 UI/animal/day). All the equines were submitted to exercise with two incremental tests (T1 and T2). Exercise protocol for two tests started with 1.8m/s for 5 min, 4m/s for 3 min, 6m/s for 2 min and right after, periods of 1 min, challenging the equines with increasing speeds until the animals had no condition to keep the exercise on a treadmill inclined at 7%. Between the tests, a training protocol was performed for 20 days. Blood samples were taken before, during, and until 120 hours after exercise to determine erythrogram, erythrocyte reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), methemoglobin, erythrocyte osmotic fragility (EOF), total plasmatic protein (TPP), seric malondialdehyde (MDA) and vitamin E, seric enzymatic activity of aspartate aminotransferase (AST) and creatine kinase (CK), blood lactate and blood-gas. The results were compared by non-parametric Mann-Whitney and Friedman tests. Although differences were detected in only a few variables, it was possible to see increase in erythrogram and TPP by splenic contraction and/or decrease of the plasma volume, and increase the erythrocyte volume by swelling. "Sport anemia" was observed between 24h and 120h after the exercise. The methemoglobin was compatible with the physiological levels and the EOF increased during the exercise in both groups. The MDA elevation confirm the liperoxidation by exercise effect, less intense EG by the supplementation with vitamin E. The exercise also induced increase of AST and CK enzymes, increase of blood lactate and metabolic acidosis.

Key-words: equine; physiology of exercise; malondialdehyde; erythrocyte oxidative metabolism; vitamin E.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

[HCO₃⁻]	- Íon bicarbonato
μmol/gHb	- Micromol por grama de hemoglobina
μmol/L	- Micro mol por litro
AST	- Aspartato aminotransferase
ATP	- Adenosina trifosfato
bpm	- Batimentos por minuto
CHCM	- Concentração de hemoglobina corpuscular média
CK	- Creatinoquinase
ctCO₂	- Concentração total de gás carbônico
DDE	- Distribuição do diâmetro dos eritrócitos
EDTA	- Ácido etilenodiaminotetracético
EM	- Metabolismo oxidativo de Embden-Meyerhorf
EROs	- Espécies reativas ao oxigênio
FC	- Frequência cardíaca
fL	- Fentolitro
FO	- Fragilidade osmótica eritrocitária
FR	- Frequência respiratória
g/dL	- Grama por decilitro
G-6-PD	- Glicose-6-fosfato-desidrogenase
GC	- Grupo controle
GE	- Grupo suplementado com vitamina E
GSH	- Glutathiona reduzida
GSHPx	- Glutathiona peroxidase
GSHRed	- Glutathiona redutase
GSSG	- Glutathiona oxidada
H⁺	- Íon hidrogênio
H₂O₂	- Peróxido de hidrogênio
H₅₀	- Concentração de cloreto de sódio que induz 50% de hemólise
Hb	- Hemoglobina
He	- Número de eritrócitos
m/s	- Metros por segundo

MO	- Momento de colheita ao repouso, antes do exercício
MDA	- Malondialdeído
MetHb	- Metahemoglobina
mg/dL	- Miligramas por decilitro
mmHg	- Milímetros de mercúrio
mmol/L	- Milimol por litro
mpm	- Movimentos por minuto
NaCl	- Cloreto de sódio
NADH	- Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida
NADPH	- Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
nmol/mL	- Nanomol por mililitro
O₂	- Oxigênio molecular
O₂^{••}	- Ânion superóxido
°C	- Graus Celsius
OH[•]	- Radical hidroxila
P1	- Primeira prova de exercício (antes do treinamento)
P2	- Segunda prova de exercício (pós-treinamento)
PaCO₂	- Pressão parcial de gás carbônico
PaO₂	- Pressão parcial de oxigênio
PE	- Momentos de colheita após o exercício
pH	- Potencial hidrogeniônico
PPT	- Proteína plasmática total
SH	- Grupamento sulfidril
SOD	- Superóxido dismutase
TA	- Temperatura ambiente
UI/gHb	- Unidade internacional por grama de hemoglobina
UI/L	- Unidade internacional por litro
UR	- Umidade relativa do ar
V₂₀₀	- Velocidade na qual a frequência cardíaca atinge 200 batimentos por minuto
V₄	- Velocidade na qual o lactato atinge 4mmol/L
VCM	- Volume corpuscular médio
VG	- Volume globular

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3. OBJETIVOS.....	28
3.1. Geral.....	28
3.2. Específicos.....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1. Animais.....	29
4.2. Delineamento experimental.....	29
4.2.1. Grupos experimentais.....	29
4.2.2. Momentos.....	30
4.3. Adaptação à esteira de alta velocidade.....	31
4.4. Exame videoendoscópico do aparelho respiratório anterior com o animal em repouso e laringoscopia com o animal em movimento.....	32
4.5. Avaliação cinemática do aparelho locomotor.....	32
4.6. Suplementação com vitamina E.....	32
4.7. Procedimentos pré-exercício.....	33
4.8. Primeira prova de exercício em esteira (P1).....	33
4.8.1. Protocolo de exercício.....	33
4.8.2. Exame clínico e condições ambientais.....	34
4.8.3. Colheita de amostras.....	34
4.9. Treinamento em esteira.....	35
4.10. Segunda prova de exercício em esteira (P2).....	35
4.11. Exames laboratoriais.....	36
4.11.1. Eritrograma.....	36
4.11.2. Proteína plasmática total (PPT).....	36
4.11.3. Glutathiona reduzida eritrocitária (GSH).....	36

4.11.4. Superóxido dismutase eritrocitária (SOD).....	37
4.11.5. Metahemoglobina	37
4.11.6. Fragilidade osmótica eritrocitária (FO).....	37
4.11.7. Malondialdeído (MDA).....	38
4.11.8. Vitamina E sérica	38
4.11.9. Aspartato aminotransferase (AST) e creatinaquinase (CK)	38
4.11.10. Lactato sanguíneo.....	38
4.11.11. Potencial hidrogeniônico (pH) sanguíneo e hemogasometria...	39
4.12. Análise estatística.....	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1. Avaliação videoendoscópica do aparelho respiratório anterior, laringoscopia e avaliação cinemática da locomoção.....	40
5.2. Provas de exercício progressivo em esteira (P1 e P2).....	40
5.2.1. Eritrograma e proteína plasmática total (PPT).....	40
5.2.2. Glutationa reduzida, superóxido dismutase, metahemoglobina e fragilidade osmótica eritrocitária	52
5.2.3 Malondialdeído e vitamina E.....	60
5.2.4 Aspartato aminotransferase e creatinaquinase.....	64
5.2.5 Distância percorrida e velocidade máxima, lactato sanguíneo, frequência cardíaca, potencial hidrogeniônico e hemogasometria.....	69
5.2.6 Frequência respiratória e temperatura retal	76
5.2.7. Temperatura ambiente e umidade relativa do ar	78
5.3. Treinamento em esteira.....	79
5.3.1. Frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, temperatura ambiente e umidade relativa do ar	79
6. CONCLUSÕES.....	84
7. REFERÊNCIAS.....	85

1. INTRODUÇÃO

A principal função dos eritrócitos é carrear a hemoglobina para o transporte de oxigênio (O_2), sendo esta função dependente da manutenção da hemoglobina na forma reduzida e da integridade celular, que está relacionada às características de deformabilidade, transporte iônico e fluidez da membrana (WEED, 1970; JAIN, 1993).

A eficiente distribuição e liberação do O_2 para os músculos durante o exercício tem relação direta com a performance atlética máxima (SMITH et al., 1995). Contudo, o maior consumo de O_2 no exercício induz uma produção excessiva de metabólitos altamente reativos denominadas espécies reativas de oxigênio (EROs) (McMENIMAN & HINTZ, 1991; MOFFARTS et al., 2005) que promovem lesões oxidativas nos eritrócitos (HEBBEL, 1986; HOKAMA et al., 1997). O exercício de curto período e alta intensidade provoca alterações pronunciadas em variáveis hematológicas, bioquímicas e hemogasométricas (BALOGH et al., 2001).

O aumento da temperatura corporal, desidratação, hemoconcentração e trauma mecânico aliados a maior produção de EROs são eventos relacionados com a hemólise durante o exercício (SENTÜRK et al., 2001). As lesões oxidativas ocorrem quando há um excesso da produção de EROs e/ou quando os sistemas antioxidantes tornam-se ineficazes no seu controle e eliminação (BLAND, 1995; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001). Nos eritrócitos manifesta-se pela oxidação e desnaturação dos lipídios e proteínas de membrana e da hemoglobina (HATHERILL et al., 1991).

Ao contrário da maioria das células, os eritrócitos não têm capacidade de

sintetizar novos lipídios e proteínas para substituir os que foram oxidados e a manutenção de níveis adequados de antioxidantes é extremamente importante (CARRELL et al., 1975; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001), principalmente a vitamina E por estar ligada na membrana como antioxidante natural (HEBBEL, 1986; DUTTA-ROY, 1994). Estes antioxidantes são elementos ou um conjunto de processos que diminuem ou cessam a oxidação pelas EROs. (HALLIWELL, 1994; THOMAS, 2000).

A vitamina E age principalmente evitando a oxidação dos lipídios de membrana (lipoperoxidação) e o seu consumo aumenta durante o estresse oxidativo provocado pelo exercício (CHOW, 1991; CLAYCOMBE & MEYDANI, 2001). O malondialdeído (MDA) é um dos produtos finais da lipoperoxidação e é utilizado como índice de intensidade da mesma (STOCKS & DORMANDY, 1971; CHIARADIA et al., 1998).

O esforço físico constante, da forma leve à moderada induz modificações fisiológicas adaptativas benéficas ao organismo (BALOGH et al., 2001). O exercício de treinamento aumenta a atividade das enzimas antioxidantes, entretanto, o incremento dessas defesas pode não ser proporcional às necessidades criadas pelo aumento dos eventos pro-oxidantes e afetar o requerimento de antioxidantes na dieta (SACHECK & BLUMBERG, 2001; MOFFARTS et al., 2005).

Este estudo pretendeu, pela utilização da esteira de alta velocidade, avaliar o efeito do exercício e da suplementação com vitamina E sobre o metabolismo oxidativo eritrocitário.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os eritrócitos possuem funções vitais de transporte de oxigênio (O_2) e dióxido de carbono, e tamponamento de íons hidrogênio (H^+) (WEED, 1970; STEINBERG & BENZ JR, 2000). Particularmente nos eqüinos, o baço armazena grande quantidade de eritrócitos que quando liberados para a circulação, por contração esplênica, aumentam a capacidade de transporte de O_2 (BOUCHER, et al., 1981; JAIN, 1986; MASINI et al., 2000). Estas funções não requerem energia, porém, necessitam de energia para a manutenção de características importantes como deformabilidade, transporte iônico e fluidez de membrana, evitando também a oxidação da hemoglobina (WEED, 1970; JAIN, 1993).

Na ausência de mitocôndrias os eritrócitos obtêm energia na forma de adenosina trifosfato (ATP), nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH), por vias glicolíticas de menor eficiência. Em condições normais, 90% da glicose é metabolizada pela via glicolítica anaeróbica de Embden-Meyerhorf (EM), produzindo ATP e NADH, e 10% pela via aeróbica pentose fosfato, também denominada via das pentoses que produz NADPH (MURPHY, 1960; PRCHALL & GREGG, 2000). A interação de eritrócitos eqüinos com oxidantes aumenta a taxa de utilização da glicose pela via das pentoses (HARVEY & KANEKO, 1977). A integridade da membrana eritrocitária é dependente do aporte de ATP (HAMBITZER, 1987; STEINBERG & BENZ JR, 2000), desta forma, o sistema glicolítico é responsável por manter a célula circulando por meses em seu estado funcional perante a exposição a lesões mecânicas e/ou metabólicas (WEED, 1970; STEINBERG & BENZ JR, 2000).

A eficiente distribuição e liberação do O_2 para os músculos durante o exercício é indispensável para a performance atlética máxima (SMITH et al., 1995), contudo, o maior consumo de O_2 implica em produção de metabólitos de alta reatividade (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001; SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). No metabolismo celular aeróbio, o O_2 sofre redução tetravalente na mitocôndria, com conseqüente formação de água e produção de energia, nesse processo são formados intermediários reativos, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e os radicais livres superóxido ($O_2^{\bullet}$), hidroperoxila ($HO_2^{\bullet}$) e hidroxila ($OH^{\bullet}$), coletivamente designados espécies reativas de oxigênio (EROs) (CARRELL et al., 1975; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001). A contínua exposição ao oxigênio e a presença de ferro e lipídios insaturados tornam os eritrócitos particularmente susceptíveis à lesão oxidativa (HEBBEL, 1986; HATHERILL et al., 1991). Além disso, é relatada a produção de $O_2^{\bullet}$ pela auto-oxidação da hemoglobina (MISRA & FRIDOVICH, 1972; THOMAS, 2000).

Os radicais livres são átomos ou moléculas que apresentam vida livre e número ímpar de elétrons na camada de valência que lhe conferem alta reatividade e instabilidade (HALLIWELL, 1994). Possuem meia-vida curta, podendo reagir com qualquer biomolécula, sendo necessário apenas que estas existam na proximidade do local de sua formação (THOMAS, 2000).

Em condições fisiológicas, as EROs são conseqüência natural do metabolismo oxidativo e participam da regulação de vários eventos celulares, sendo produzidas em níveis compatíveis com a capacidade de defesa do sistema antioxidante (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001; KINNUNEN, et al., 2005a). Ao redor de 5% do total de oxigênio é convertido em EROs (JI, 1995; AVELLINI et al., 1999), comparativamente, durante o exercício ocorre um aumento de 10 a 20 vezes

no consumo de oxigênio, o que resulta em produção de EROs além da capacidade de defesa (SJÖDIN et al., 1990; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001). Este desequilíbrio entre os eventos oxidantes e antioxidantes caracteriza a condição de estresse oxidativo (HALLIWELL, 1994; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001).

As lesões oxidativas eritrocitárias ocorrem como resultado da oxidação e desnaturação da hemoglobina e das alterações causadas pelas EROs aos lipídios e proteínas de membrana (HATHERILL et al., 1991). A oxidação dos lipídios, lipoperoxidação, tem importância particular por ser uma reação em cadeia devido à formação dos peróxidos lipídicos, com poder de oxidar outros lipídios e propagar a reação (BURTON & TRABER, 1990; HALLIWELL, 1994). O malondialdeído (MDA) é um dos produtos finais da lipoperoxidação e é utilizado como índice de intensidade da mesma (STOCKS & DORMANDY, 1971; CHIARADIA et al., 1998). Pesquisadores observaram aumento na concentração de MDA em equinos submetidos ao exercício (CHIARADIA et al., 1998; AVELLINI et al., 1999).

Algumas alterações eritrocitárias atribuídas ao exercício são características de células velhas, como a diminuição do volume corpuscular médio (VCM) e aumento da densidade dos eritrócitos (SMITH et al., 1995), que podem ser devidas à liberação de células velhas pelo baço (BOUCHER, et al., 1981, MASINI, et al., 2000). Durante o envelhecimento os eritrócitos tornam-se mais densos, devido à redução do volume celular total e ao conseqüente aumento na concentração da hemoglobina, dentre outros fatores este processo está relacionado com a depleção de antioxidantes (CHRISTIAN, 2000). Weight et al., (1991), observaram menor vida média eritrocitária em indivíduos atletas comparados a um grupo de sedentários e segundo Christian (2000), quanto maior a taxa metabólica do animal, maior o estresse oxidativo acumulado e menor a vida média dos eritrócitos. Hanzawa &

Watanabe (2000) concluíram que em eqüinos a maior destruição de eritrócitos pelo exercício não excede a taxa de produção e não compromete a performance atlética, ao contrário, pode ser vantajoso visto que as células jovens são mais eficientes no transporte de oxigênio.

Vários estudos em eqüinos evidenciam o aumento da produção de EROs pelo exercício (AVELLINI et al., 1999; ONO, et al., 1990; BALOHG et al., 2001; WILLIAMS et al., 2004). Durante o exercício, inicialmente o músculo utiliza o metabolismo aeróbio e anaeróbio seguido da resposta fisiológica de aumento da demanda de oxigênio. Mudanças na concentração de oxigênio podem alterar o estado de redução da mitocôndria das fibras musculares favorecendo a conversão do oxigênio em EROs, principalmente $O_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 (PHUNG et al., 1994; THOMAS, 2000).

A lesão tecidual provocada por exercícios extremos também contribui para a produção de EROS, devido a um aumento de enzimas envolvidas na formação de radicais livres (xantina oxigenase, lipoxigenase e cicloxigenase), ativação da fagocitose, liberação de ferro e cobre ou uma interrupção da cadeia transportadora de elétrons nos locais de lesão (ROCK et al., 1996). A presença de metais de transição, principalmente o ferro e o cobre, colaboram para o estresse oxidativo por catalisar a formação de radicais livres (CLEMENS & WALLER, 1987; HALLIWELL, 1994; HARVEY, 1997). O aumento da permeabilidade da membrana devido à lipoperoxidação libera enzimas musculares e a relação destas com biomarcadores de estresse oxidativo pode resultar em importante mecanismo de avaliação de lesão muscular induzida pelo exercício (KANTER et al., 1993).

O exercício pode causar hemólise em eqüinos por vários mecanismos (BOUCHER et al., 1981; HANZAWA & WATANABE, 2000). Segundo Sentürk et al.

(2001) a elevação da temperatura corporal, desidratação, hemoconcentração e trauma mecânico aliados a maior produção de EROs são eventos relacionados com a hemólise durante o exercício. A lesão oxidativa da membrana altera o equilíbrio osmótico intracelular e facilita a desidratação celular (SNYDER, et al., 1985). Alterações de temperatura e pH sanguíneos durante o exercício também influenciam a fragilidade osmótica eritrocitária (HANZAWA et al., 1999).

A lesão oxidativa eritrocitária manifesta-se pela formação de corpúsculos de Heinz, metahemoglobina e hemólise (HARVEY & KANEKO, 1977; HARVEY, 1997). A atividade das enzimas glicolíticas eritrocitárias também é influenciada pela interação com oxidantes (TAVAZZI et al., 2000; OZTURK et al., 2003).

A hemoglobina pode ser oxidada na porção heme, com oxidação do ferro e formação de metahemoglobina, incapaz de transportar oxigênio (CARRELL et al., 1975; PRCHALL & GREGG, 2000). Inevitavelmente 3% do total de hemoglobina são convertidos em metahemoglobina, porém, em condições normais ocorre redução pela enzima metahemoglobina redutase (CARRELL et al., 1975; HARVEY, 1997) com consumo de NADH, produzido pela via glicólica EM (PRCHALL & GREGG, 2000).

A oxidação da fração protéica, na porção cisteína da globina, induz à formação de pontes dissulfeto entre seus grupos sulfidril (SH), desestruturando a molécula e podendo culminar com a formação de corpúsculos de Heinz que representam o estado final da degradação oxidativa da hemoglobina (BARRAVIERA & MACHADO, 1987). A remoção dos eritrócitos com Heinz ocorre por fagocitose no baço e fígado ou por hemólise intravascular nos sinusóides esplênicos (RIFKIND, 1965), estando relacionada com a menor deformabilidade destas células (LUBIN & DESFORGES, 1972). A característica de deformabilidade permite que os eritrócitos

normais circulem por capilares de diâmetro inferiores ao seu, tendo relação direta com a vida média eritrocitária (WEED, 1970; HARVEY, 1997).

Os lipídios e as proteínas que constituem a membrana eritrocitária podem sofrer degradação oxidativa por lipoperoxidação, oxidação de grupos SH das proteínas de membrana, formação de ligações ou aglomerados entre proteínas oxidadas, além de inibição de enzimas e sistemas de transporte de membrana (HARVEY, 1997). A membrana das células é uma bicamada lipídica na forma de um mosaico fluido com receptores e proteínas de transporte. A propriedade de fluidez da membrana está relacionada com ácidos graxos poliinsaturados e a viabilidade da célula com esta flexibilidade. A lipoperoxidação causa aumento da permeabilidade e perda da fluidez da membrana (SJÖDIN et al., 1990), diminuindo conseqüentemente a deformabilidade e aumentando a destruição dos eritrócitos (SNYDER et al., 1985; CHRISTIAN, 2000).

Ao contrário da maioria das células os eritrócitos não têm capacidade de sintetizar novos lipídios e proteínas para substituir os que foram oxidados e a manutenção de níveis adequados de antioxidantes é extremamente importante (CARRELL et al., 1975; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001). Estes antioxidantes são elementos ou um conjunto de processos que diminuem ou cessam a oxidação pelas EROs (THOMAS, 2000). Outras funções dos antioxidantes incluem o seqüestro de metais de transição e redução enzimática de peróxidos (HALLIWELL, 1994; THOMAS, 2000). Apesar do empenho do organismo na remoção das EROs a eficácia não é total e para atenuar as lesões inevitáveis os antioxidantes também atuam como mecanismos de reparo (HEBBEL, 1986; GUTTERIDGE, 1995).

A glutathiona reduzida (GSH), um tripeptídeo de ácido glutâmico, cisteína e glicina (SEN, 1997; KURATA et al., 2000) é sintetizada nos eritrócitos pelas enzimas

γ -glutamilcisteína-sintetase e glutathione sintetase com consumo de ATP (HARVEY, 1997; SEN, 1997). Sua principal função é a manutenção dos grupos SH da célula na forma reduzida (COSTAGLIOLA et al., 1985). O radical SH da cisteína é a porção reativa da GSH e atua como aceptor de elétrons (HARVEY, 1997; HOKAMA, 1997). Diante da exposição a agentes oxidantes a GSH é oxidada mais rapidamente do que a hemoglobina e outros constituintes eritrocitários, protegendo-os da degradação oxidativa (JACOB & JANDL, 1966), o que resulta em depleção da GSH (SEN, 1997). A enzima glutathione peroxidase (GSH-Px) utiliza a GSH na transformação do H_2O_2 em água, desta reação resulta a glutathione oxidada (GSSG) (HALLIWELL, 1994; TELEN & KAUFMAN, 1999).

O sistema glutathione é dependente de energia e influencia o metabolismo glicolítico eritrocitário, assim, a taxa de glicólise pela via das pentoses é regulada pela demanda de NADPH, produzido exclusivamente nesta via, e é inversamente proporcional à concentração de GSH (JACOB & JANDL, 1966). O NADPH, é utilizado pela glutathione redutase (GSHRed) na redução do GSSG para a forma reduzida (GSH) (SEN, 1997; PRCHALL & GREGG, 2000). Sob estresse oxidativo a via das pentoses é responsável por um consumo de glicose superior a 90% (TELEN & KAUFMAN, 1999).

A superóxido dismutase (SOD) constitui uma classe de metaloenzimas que catalisa a dismutação do radical superóxido para O_2 e H_2O_2 (HATHERILL et al., 1991; FALCONI et al., 2002). Sobre o peróxido de hidrogênio atua a enzima catalase que catalisa a redução deste à H_2O e O_2 (HARVEY, 1997; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001). Nos eritrócitos, a SOD apresenta-se ligada a um átomo de cobre e um de zinco (CuZnSOD) constituindo sua porção ativa (OTERO et al., 1983, HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001). Trata-se de uma enzima essencial para a

sobrevivência dos eritrócitos, devido à produção de radical superóxido durante a auto-oxidação da hemoglobina (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001) e à participação deste na formação de $\text{OH}^\bullet$, de maior potencial lesivo (FRIDOVICH, 1975; CHRISTIAN, 2000).

Um potente antioxidante natural é a vitamina E, que abrange oito compostos: quatro tocoferóis e quatro tocotrienóis. O d- α -tocoferol representa a forma natural da vitamina E e o dl- α -tocoferol sua forma sintética (ROCK et al., 1996; BIANCHINI-PONTUSCHKA & PENTEADO, 2003). Sua principal função é interromper a propagação da reação de lipoperoxidação, por ser mais susceptível à oxidação que os lipídios de membrana e pela transformação dos peróxidos em formas menos reativas, durante a sua oxidação (BURTON & TRABER, 1990; HALLIWELL, 1994).

A vitamina E oxidada é reduzida à sua forma ativa pela GSH (SEN, 1997; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001) e pela vitamina C (CLEMENS & WALLER, 1987; HALLIWELL, 1994), um potente agente redutor (ROCK et al., 1996). Apesar do seu conhecido efeito antioxidante na presença de metais de transição a vitamina C pode atuar como um agente oxidante (HALLIWELL, 1994).

A vitamina E tem papel importante na prevenção da hemólise por manter a estabilidade das membranas (HATHERILL et al., 1991; MEYDANI, 1995), Dutta-Roy et al. (1994) caracterizaram uma proteína na membrana que se liga ao α -tocoferol para incorporá-lo na bicamada lipídica da membrana eritrocitária. Stowe (1968) determinou o requerimento diário de vitamina E em equinos, necessário para manter a estabilidade do eritrócito, sendo que este variou de 17 a 38 $\mu\text{g/Kg}$ de peso por dia usando-se α -tocoferol injetável, e 120 a 330 $\mu\text{g/Kg}$ quando foi administrado α -tocoferol oral. Segundo Craig et al., (1989) a concentração plasmática adequada de

vitamina E compreende valores entre 1,5 a 2,0 $\mu\text{g/mL}$, os mesmos encontraram variações nas concentrações plasmáticas de vitamina E entre equinos jovens a adultos.

A absorção dos tocoferóis é ineficiente, apenas 20 a 40% de todo o α -tocoferol ingerido é absorvido (ROCK et al., 1996; BIANCHINI-PONTUSCHKA & PENTEADO, 2003). A vitamina E é transportada por lipoproteínas de baixa densidade produzidas pelo fígado, sendo a principal responsável por manter as concentrações normais de vitamina E no plasma (TRABER & PARKER, 1995; ROCK et al., 1996). A deficiência da vitamina E está associada ao aumento da fragilidade das membranas lisossomais e à diminuição da fosforilação oxidativa no músculo esquelético, fígado e tecido adiposo (SEN, 2001).

Estudos, em humanos, correlacionando a produção de MDA e protetores antioxidantes, verificaram que a lipoperoxidação foi significativamente reduzida com a suplementação de vitamina E por duas semanas (KASIE et al., 2000). Várias pesquisas foram desenvolvidas em equinos atletas objetivando diminuir o estresse oxidativo causado pelo exercício, envolvendo a suplementação de vitamina E exclusivamente (JI et al., 1990; CHIARADIA et al., 1998) ou associada a outros antioxidantes (ONO et al., 1990; WHITE et al., 2001; MOFFARTS et al., 2005).

A fadiga durante o exercício intenso em esteira de alta velocidade está associada ao aumento da concentração de hidrogênio conseqüente da dissociação do ácido láctico em H^+ e lactato. O acúmulo dos íons hidrogênio induz a acidose muscular, esta afeta a produção de energia e a contração muscular, reduzindo a força contráctil do músculo. Por isso, a redução do pH muscular é o principal fator limitante do desempenho durante o exercício de alta velocidade e curta duração (WILMORE & COSTILL, 2001). A queda do pH associado ao incremento de lactato e

decréscimo das concentrações de bicarbonato após o exercício indicam acidose metabólica (AGUILERA-TEJERO et al., 2000).

Durante o exercício leve e moderado, o ATP para a contração muscular é obtido pela oxidação do hidrogênio. O exercício intenso provoca hipóxia tecidual relativa e devido à deficiência de oxigênio a demanda de energia é atendida parcialmente pela glicólise anaeróbica, aumentando conseqüentemente a concentração de lactato (McARDLE et al., 1998).

Quando a velocidade de remoção do lactato é inferior à velocidade de produção ocorre acúmulo e elevação de maneira exponencial (WILMORE & COSTILL, 2001). No equino a concentração de 4mmol/L de lactato sanguíneo indica o início do metabolismo anaeróbio (KAMERLING, 1993; WILMORE & COSTILL, 2001). Em cavalos da raça Árabe submetidos ao exercício progressivo em esteira este valor foi atingido à velocidade de 8m/s com 6% de inclinação (THOMASSIAN et al., 2005).

O exercício anaeróbico diminui o pH sanguíneo e aumenta a fragilidade osmótica eritrocitária por lesão oxidativa da membrana, enquanto o aumento do pH promove maior resistência osmótica (HANZAWA & WATANABE, 2000). Em contrapartida, o lactato pode ser utilizado pelos eritrócitos na produção de NADH, tendo efeito benéfico na redução da metahemoglobina (HANZAWA & WATANABE, 2000).

Diferente de outras raças, equinos da raça Árabe submetidos ao exercício progressivo possuem a habilidade de manter altos níveis de ventilação alveolar evitando a hipercapnia e acidose, induzidas pelo exercício (TAYLOR et al., 1998). A eficiente distribuição e liberação do O₂ pelos eritrócitos para os músculos durante o

exercício é um importante determinante da performance atlética máxima (SMITH et al., 1995).

Um único episódio de exercício intenso aumenta a susceptibilidade dos eritrócitos ao estresse oxidativo e o treinamento de resistência regular confere efeito protetor (SMITH et al., 1995). Contrariamente, Moffarts e colaboradores (2005), observaram redução de alguns antioxidantes em equinos submetidos ao treinamento de três meses. Segundo Sackey et al. (2001), o incremento das defesas antioxidantes no treinamento pode não ser proporcional às necessidades criadas pelos eventos pró-oxidantes e afetar o requerimento de antioxidantes na dieta, que depende da duração e da intensidade do exercício, do programa de treinamento, idade, dieta e estado de saúde do animal.

Segundo Avellini e colaboradores (1995), os níveis de vitamina E muscular e hepático estão reduzidos durante o exercício, enquanto os níveis no plasma e eritrócitos estão significativamente elevados, provavelmente por mobilização (AVELLINI et al., 1995). Atualmente, há uma preocupação geral quanto à importância dos antioxidantes na prevenção do desenvolvimento de doenças. O conhecimento da interação entre mecanismos antioxidantes e o exercício é importante na avaliação da eficácia da suplementação da dieta com antioxidantes (JI, 1999).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

O presente trabalho teve como objetivos avaliar o metabolismo oxidativo eritrocitário em equinos da raça Árabe submetidos ao exercício progressivo em esteira de alta velocidade e o efeito da suplementação com vitamina E.

3.1. Específicos

- Avaliar o eritrograma e o metabolismo oxidativo eritrocitário por meio da determinação de antioxidantes eritrocitários (glutathione reduzida e superóxido dismutase), metahemoglobina e fragilidade osmótica eritrocitária.
- Avaliar o efeito do exercício e da suplementação com vitamina E sobre os níveis de malondialdeído e vitamina E séricos, atividade enzimática do aspartato aminotransferase e da creatinaquinase séricas, lactato sanguíneo e hemogasometria.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados oito eqüinos adultos, da raça Árabe, três machos castrados e cinco fêmeas, com idade variando de 3,5 a 9,5 anos e peso médio de 383kg, clinicamente sadios, selecionados pelo exame físico (SPEIRS, 1999), hemograma (KRAMER, 2000) e avaliação bioquímica (ROSE & HODGSON, 1994; KANEKO et al., 1997). Não tendo realizado nenhum tipo de exercício programado no período de um ano anterior ao experimento. Estes foram mantidos nos piquetes do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista-UNESP/Campus de Botucatu, localizada a 48°52' longitude oeste, 22°52' latitude sul, a 756 metros acima do nível do mar. A medicação anti-helmíntica à base de ivermectina (Padock Plus®, Vetbrands Saúde Animal, Brasil) foi administrada por via oral a cada três meses. O manejo nutricional consistiu de ração comercial para eqüinos (Proequi 13 – Guabi - Mogiana Alimentos AS, Brasil), feno de capim *coast-cross* (*Cynodon dactylon*), suplemento mineral (Sal Mineral Centauro 80® – Mogiana Alimentos AS, Brasil) conforme recomendações de Lewis (2000) e água *ad libitum*.

4.2. Delineamento experimental (Figura 1)

4.2.1. Grupos experimentais

Os eqüinos foram aleatoriamente alocados em dois grupos de quatro animais. Grupo controle (GC) e grupo suplementado com vitamina E (GE).

4.2.2. Momentos

Os animais foram avaliados antes, durante e após o exercício, de acordo com cada variável (Figura 1 e Quadro1) nos seguintes momentos:

- Antes do exercício: momento zero (M0)
- Durante o exercício: trote (4m/s) e galope (média dos resultados à 8m/s, 9m/s e 10m/s).
- Pós-exercício (PE): imediatamente após (PE1), 15min (PE2), 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício.

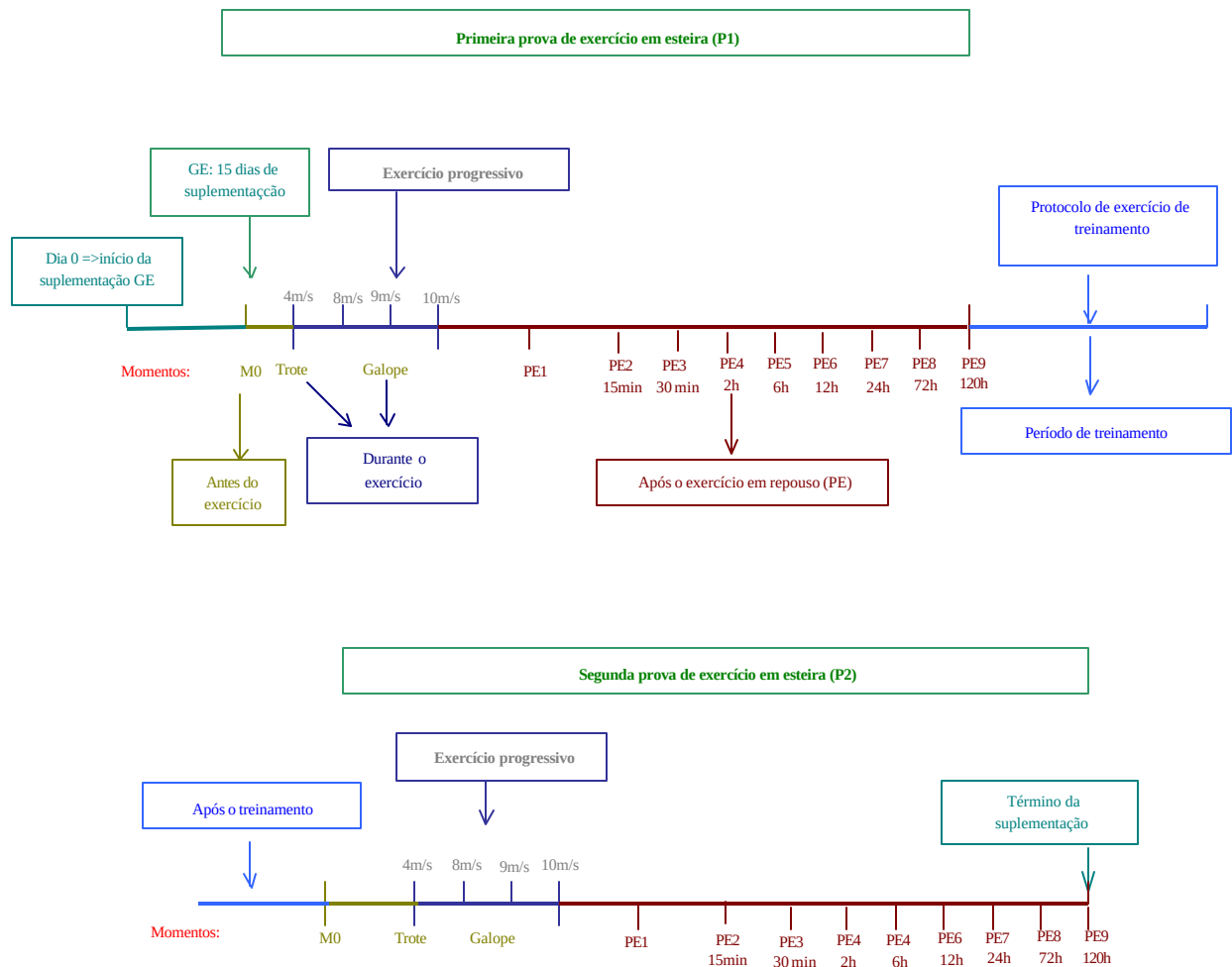


Figura 1. Delineamento experimental dos protocolos de exercício P1 e P2 e momentos de avaliação

Quadro 1. Momentos de avaliação dos parâmetros laboratoriais, clínicos e ambientais realizados nas provas 1 e 2 de exercício, antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

	Momentos													
Parâmetros		Exercício				Pós-exercício								
	M0	Trote	Galope (média)			PE1	PE2	PE3	PE4	PE5	PE6	PE7	PE8	PE9
		4m/s	8m/s	9m/s	10m/s		15min	30min	2h	6h	12h	24h	72h	120h
Eritrograma	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Proteína plasmática total	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Glutathione reduzida	X	X	X	X		X		X	X	X		X	X	X
Superóxido dismutase	X	X	X	X		X		X	X	X		X	X	X
Metahemoglobina	X	X	X	X		X		X	X	X		X	X	X
Fragilidade osmótica	X	X	X	X		X		X	X	X		X	X	X
Malondialdeído	X	X	X	X		X		X	X	X		X	X	X
Vitamina E	X	X	X	X		X		X	X	X		X	X	X
Aspartato aminotransferase	X		X	X		X		X	X	X	X	X	X	X
Creatinaquinase	X		X	X		X		X	X	X	X	X	X	X
Lactato	X	X	X	X	X	X	X	X						
pH e Hemogasometria	X					X	X	X						
Frequência cardíaca	X	X	X	X	X	X	X	X						
Frequência respiratória	X					X	X	X						
Temperatura retal	X					X	X	X						
Temperatura ambiente	X					X								
Umidade relativa do ar	X					X								

PE1= imediatamente após o exercício

4.3. Adaptação à esteira de alta velocidade

Cada animal foi posicionado na esteira (Mustang 2200 AG, Kagra, Suíça) e acoplado ao corpo o cinto suspensor de segurança para iniciar a movimentação à velocidade de 0,8m/s. Após alguns passos a velocidade foi aumentada para 1,6m/s mantendo-se por 10 minutos. Nos dias posteriores a velocidade foi gradativamente elevada até que o animal pudesse realizar os andamentos ao passo, trote e galope.

Este período de adaptação variou de 3 a 7 dias, dependendo da individualidade de cada animal, que foi considerado adaptado quando capaz de realizar todos os três andamentos de forma cadenciada e uniforme.

4.4. Exame videoendoscópico do aparelho respiratório anterior com o animal em repouso e laringoscopia com o animal em movimento

Realizou-se a videoendoscopia do aparelho respiratório superior com o equino em tronco de contenção, utilizando aparelhagem de videoendoscopia (Olympus OTVF3®) e reprodução de imagens. Foram avaliadas as seguintes estruturas: concha nasal, região do osso etmoidal, recesso faríngeo, óstios faríngeos das bolsas gutorais e as estruturas da laringe visíveis ao exame. Posteriormente, realizou-se a laringoscopia com o animal em movimento para avaliar possíveis alterações dinâmicas do funcionamento da laringe durante o exercício.

4.5. Avaliação cinemática do aparelho locomotor

Os equinos foram submetidos ao exercício na esteira de forma que procedesse todo o andamento: passo, trote, cânter e galope, sendo gravado em fita de videocassete por meio de uma câmera de vídeo (Sony®). A finalidade deste exame foi verificar alguma disfunção músculo-esquelético que pudesse interferir no desempenho dos animais durante o exercício na esteira, ao longo do experimento.

4.6. Suplementação com Vitamina E

A suplementação com vitamina E no grupo GE, iniciou-se 15 dias antes da primeira prova de exercício com a dose de 1.000 UI/animal/dia (CHIARADIA et al., 1998) de acetato de dl- α -tocoferol (E-Tabs®-Sigma Pharma-EMS, Hortolândia, SP, Brasil). A administração foi realizada por via oral e manteve-se até o termino do experimento.

4.7. Procedimentos pré-exercício

Os animais foram escovados, casqueados e tricotomizados na região posterior à escápula esquerda e na região axial esquerda referente à área de auscultação cardíaca, fixou-se no animal uma cinta elástica acoplando-se à mesma o freqüencímetro digital (Polar Heart Rate Monitors® – Canadá) e aplicou-se o gel condutor (para eletrocardiograma) na pele do animal. Estes procedimentos foram realizados nas provas de exercício (P1 e P2) e durante o período de treinamento.

Antes das provas de exercício (P1 e P2) foi realizada a contenção do animal em tronco para a cateterização da veia jugular. Após a tricotomia e anti-sepsia local, introduziu-se um cateter 14G (Angiocath 14G - Becton Dickinson - BD, Franklin Lakes, NJ, USA) acoplado um tubo extensor adaptado a um equipo de aproximadamente 1,0m de comprimento e em sua extremidade acoplada uma torneira de três vias. Sendo o cateter e o extensor preenchidos com solução de NaCl 0,9% heparinizada com 4UI de heparina sódica/mL (Heparin – Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda).

4.8. Primeira prova de exercício em esteira (P1)

Após a adaptação à esteira de alta velocidade e o período de 15 dias de suplementação para os animais do GE, submeteu-se os equinos a uma prova de exercício em esteira de alta intensidade até a exaustão (Figura 1).

4.8.1. Protocolo de exercício

O exercício, com a esteira inclinada a 7%, iniciou-se à velocidade de 1,8m/s por 5min, seguindo a 4,0m/s por 3min, 6,0m/s por 2min e posteriormente 8,0m/s, 9,0m/s, 10,0m/s, 11,0m/s e 12m/s por 1min em cada velocidade, ou até

quando o animal não mais conseguisse manter-se em galope mesmo sendo estimulado. Após o término do exercício os animais foram mantidos sobre a manta da esteira por 30 minutos.

4.8.2. Exame clínico e condições ambientais

A frequência respiratória e a temperatura retal foram aferidas antes e após o exercício e a frequência cardíaca, por frequenciômetro digital (Polar A1, Polar Electro Inc, Canadá) antes, durante e após (Quadro 1).

Antes e após cada exercício foram aferidas a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar por termohigrômetro digital (Minipa MT 241 - China). A utilização da esteira de alta velocidade, tanto para as provas de exercício (P1 e P2) como para o treinamento ocorreu entre 5:30h e 8:30h da manhã.

4.8.3. Colheita de amostras

Foram colhidas amostras de sangue venoso antes, durante e após o exercício (Quadro 1) em tubos a vácuo (Vacutainer® Labnew, Brasil) contendo ácido etilenodiaminotetracético potássico (EDTA) para realização do eritrograma, mensuração da proteína plasmática total e fragilidade osmótica; tubos com gel coagulante (Vaccum II®, Labnew) para avaliações séricas incluindo a atividade enzimática da creatinaquinase (CK) e aspartato aminotransferase (AST), vitamina E e malondialdeído (MDA) sendo que, as amostras para dosagem de vitamina E foram protegidas da luz com papel alumínio. Tubos com heparina sódica (Vacutainer®, Labnew) para a determinação da glutathiona reduzida (GSH), superóxido dismutase (SOD) e metahemoglobina.

As colheitas com o equino em repouso foram realizadas por venipunção

jugular e durante o exercício, pelo circuito extensor. Antes de cada colheita o circuito foi esvaziado pela retirada de 15mL de solução heparinizada ejetada e 5mL de sangue. Imediatamente após as colheitas os circuitos foram preenchidos com solução heparinizada. As colheitas durante o exercício ocorreram no intervalo dos 15 segundos finais de cada momento.

As amostras de sangue arterial foram colhidas em seringa de 3mL, contendo heparina de lítio (B.D. Preset – BD Vacutainer Systems) por punção da artéria carótida antes e após o exercício (Quadro 1).

4.9. Treinamento em esteira

Após realizarem à prova P1, todos os animais dos grupos GC e GE foram submetidos a um período de treinamento em esteira de alta velocidade, segundo o protocolo: 5min a 1,8m/s, 3min a 4,0m/s, 2min a 6,2m/s, 1min a 8,0m/s e 1min a 10,0m/s, seguidos de um período de desaquecimento a 3m/s por 2min e a 1,6m/s por 2min.

Durante o período de treinamento, foram aferidas a frequência respiratória, temperatura retal, temperatura ambiente e a umidade relativa do ar antes e após o exercício. A frequência cardíaca foi registrada antes, durante (final de cada velocidade) e após o exercício. O protocolo de exercício estabelecido para o treinamento dos animais foi realizado uma vez ao dia, seis dias por semana até completar 20 dias de exercício.

4.10. Segunda prova de exercício em esteira (P2)

Depois de treinados, os animais foram submetidos novamente à uma prova de exercício com o mesmo protocolo e momentos de colheita de amostras de

P1, sendo denominada P2, (Figura 1) que foi realizada 48 horas após o último dia do treinamento.

4.11. Exames laboratoriais

4.11.1. Eritrograma

O número de eritrócito (He), a concentração de hemoglobina (Hb), o volume corpuscular médio (VCM), e a distribuição do diâmetro dos eritrócitos (DDE) foram obtidos por meio do contador eletrônico de células (Cell-Dyn 3500 R®, Abbott Diagnostic, Chicago, USA). O volume globular (VG) foi determinado pela técnica do microhematócrito segundo Jain (1986) e a partir deste foi calculada a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

4.11.2. Proteína plasmática total

A determinação da proteína plasmática total foi realizada por refratometria em refratômetro de bancada (ATAGO Co. Ltda, Japão), conforme Jain (1986).

4.11.3. Glutationa reduzida eritrocitária (GSH)

Para mensuração da GSH, 300µL de sangue heparinizado foram hemolisados em 3mL de H₂O deionizada, 2mL deste hemolisado foram processados segundo método de Beutler (1984) até a obtenção do sobrenadante ácido que foi estocado a -80°C por no máximo oito semanas (MACHADO et al., 2005). No restante do hemolisado foi determinada a concentração de hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina (JAIN, 1986). A mensuração da GSH no sobrenadante após descongelamento também seguiu a técnica de Beutler (1984). O resultado foi expresso em µmol/g de hemoglobina (µmol/gHb).

4.11.4. Superóxido dismutase (SOD)

Para mensuração da SOD 1mL de sangue heparinizado foi centrifugado a 3000rpm por 10 minutos. Removeu-se o plasma e os eritrócitos foram lavados quatro vezes com 3mL de solução de NaCl 0,9% gelada. Após a última lavagem foram reconstituídos em 4mL de H₂O bidestilada, homogeneizados e incubados a +4°C por 15 minutos. O hemolisado obtido após este processo foi estocado à -80°C. No momento da dosagem, determinou-se a concentração de hemoglobina no hemolisado, pelo método da cianometahemoglobina (JAIN, 1986), o qual foi diluído 1:100 em tampão fosfato 0,1M pH 7,0, mensurando-se a SOD por kit comercial (Ransod – Randox, Reino Unido) em analisador automático (Cobas Miras® – Roche Rotkreuz, Suíça) sendo o resultado expresso em UI/g de hemoglobina.

4.11.5. Metahemoglobina

A determinação da metahemoglobina foi realizada no sangue total heparinizado segundo o método de Evelyn & Malloy (1938), modificado por Beutler, (1990), e expressa em porcentagem de hemoglobina.

4.11.6. Fragilidade osmótica (FO)

A prova de avaliação da fragilidade osmótica eritrocitária foi determinada em concentrações crescentes de cloreto de sódio (NaCl), pH 7,4, determinando-se a porcentagem de hemólise em cada concentração segundo Jain (1986). O resultado deste teste expressa a concentração de NaCl correspondente a 50% de hemólise (H₅₀), calculado a partir da curva dos percentuais de hemólise nas concentrações, ajustada por um modelo linear generalizado para as proporções com função de ligação probit (McCULLOCH & SEARLE, 2001).

4.11.7. Malondialdeído (MDA)

As amostras de soro destinadas à determinação do MDA foram armazenadas a -80°C , a dosagem foi realizada em aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Shimadzu® - Tokyo, Japão), por fluoroscopia, de acordo com a metodologia descrita por Karatas et al. (2002).

4.11.8. Vitamina E

As amostra de soro destinada a dosagens de Vitamina E protegidas da luz com papel alumínio e armazenadas a -80°C , para posterior dosagem por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Shimadzu®), em fluoroscopia de acordo com a metodologia descrita por Arnaud et al. (1991).

4.11.9. Aspartato aminotransferase (AST) e creatinaquinase (CK)

As alíquotas de soro foram estocadas em freezer à temperatura de -80°C . Posteriormente, foram processadas por kits comerciais para determinação da CK (CK-NAC – Wiener lab®, Rosário, Argentina) e do AST (AST - Celm® - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, São Paulo, Brasil) com leitura em espectrofotômetro semi-automático (CelmSB -190 - Celm®).

4.11.10. Lactato sangüíneo

A dosagem de lactato sangüíneo foi realizada em sangue venoso sem anticoagulante, imediatamente após a colheita em uma alíquota de 20µL aplicada à uma fita reagente e a leitura realizada no lactímetro portátil (Accutrend® - Roche).

4.11.11. Potencial hidrogeniônico (pH) sangüíneo e hemogasometria

As amostras de sangue arterial foram acondicionadas em recipiente térmico com gelo e processadas em analisador automático (Rapidlab 348 - Chiron Diagnostics Ltda, Essex) com a correção da temperatura. Foram avaliados o potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de oxigênio (PaO_2), pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO_2), saturação da hemoglobina por O_2 (SaO_2), concentração total de CO_2 (ctCO_2), íon bicarbonato ($[\text{HCO}_3^-]$) e déficit de base (EB).

4.12. Análise estatística

Para variáveis avaliadas nos dois grupos, cuja tendência central foi representada pela mediana, foi efetuado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação dos dois grupos, em cada momento e prova. Para comparar os momentos dentro de cada grupo foi aplicado o teste não paramétrico de Friedman (CURI, 1998). Em todas as análises, as estatísticas foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

Para as variáveis do período de treinamento foi realizada apenas a estatística descritiva, os resultados foram apresentados na forma de média e desvio padrão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação videoendoscópica do aparelho respiratório anterior, laringoscopia e avaliação cinemática da locomoção

As avaliações da integridade do aparelho respiratório anterior, funcionalidade da laringe e da cinemática da locomoção objetivaram a exclusão de animais com alterações que pudessem interferir na realização do exercício. Os eqüinos utilizados no experimento não apresentaram alterações do trato respiratório anterior ou da movimentação fisiológica da laringe pelos exames videoendoscópicos. Na avaliação da movimentação à esteira não foram observadas alterações que pudessem interferir com o desempenho atlético.

5.2. Provas de exercício progressivo em esteira (P1 e P2)

Todos os animais foram submetidos a duas provas de exercício progressivo, sendo a primeira prova (P1) realizada antes do período de treinamento e a segunda (P2), após o treinamento dos animais. Para melhor elucidação os resultados de ambos os grupos, controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), nas duas provas estão apresentados em conjunto para cada variável.

5.2.1. Eritrograma e proteína plasmática total

Em ambos os grupos e nas duas provas observou-se aumento do número de eritrócito (Tabela 1, Figura 2), da concentração de hemoglobina (Tabela 2, Figura 3), do volume globular (VG) (Tabela 3, Figura 4), da distribuição do diâmetro dos eritrócitos (DDE) (Tabela 6, Figura 7) e da concentração da proteína plasmática total (PPT) (Tabela 7, Figura 8) durante o exercício. Atingindo valores máximos

imediatamente após o exercício (PE1). Não se observaram alterações do volume corpuscular médio (VCM) (Tabela 4, Figura 5) e da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (Tabela 5, Figura 6) durante o exercício. Em todos os momentos os valores de mediana estiveram dentro dos valores de normalidade citados por KRAMER (2000), para eqüinos de sangue quente.

Em eqüinos é sabido que o exercício promove mobilização de eritrócito do baço (BOUCHER et al., 1981; JAIN, 1986; MASINI et al., 2000), a contração esplênica causada pela liberação de epinefrina introduz na circulação periférica grande quantidade de eritrócitos, que podem aumentar em 40% o volume globular (VG) (KRAMER, 2000). Durante o exercício, a diminuição do volume plasmático também tem relação com a elevação do VG (Jain, 1986; ARAUJO et al., 2004).

O exercício promove redução do volume plasmático devido às perdas pelo suor e respiração aliado ao movimento de líquidos para o espaço extravascular, causado por aumento da pressão arterial, compressão de capilares pela contração muscular e maior pressão oncótica tecidual, pelo acúmulo de metabólitos como o lactato (ARAUJO et al., 2004).

Comparando-se os valores de mediana do número de eritrócitos e do VG antes do exercício (M0) e logo após o exercício (PE1) constata-se uma elevação superior a 40% em ambos os grupos e provas, porém estatisticamente não significativa. Os resultados no PE1 foram diferentes ($p < 0,05$) dos obtidos 6 horas após o exercício (PE5), exceto no GE na P2, e os valores do PE5 foram inferiores, mas não diferiram do M0.

A apreensão e a excitação, na entrada dos eqüinos no salão de exercícios, podem ter induzido a liberação de epinefrina e promovido contração

esplênica, justificando o maior número de eritrócitos no M0 em relação ao PE5 (JAIN, 1986; KRAMER, 2000).

Apesar de não ser significativo, ocorreu um aumento de 20% na PPT do M0 para o PE1 em todas as provas nos dois grupos, relacionado à hemoconcentração por diminuição do volume plasmático (JAIN, 1986). Segundo Rose & Hodson (1994) o exercício promove movimentação de líquidos do espaço extracelular para o intracelular.

Analisando-se o VCM, não houve alteração no diâmetro médio dos eritrócitos durante o exercício, contudo a DDE, que avalia a heterogeneidade dos volumes eritrocitários na população, aumentou significativamente ($p < 0,05$). Este achado pode ser explicado pela tumefação dos eritrócitos, que implica em aumento de volume, aliado à liberação de células velhas pelo baço, de tamanho menor, ambos eventos citados em eqüinos durante o exercício (HANZAWA & WATANABE, 2000; MASINI et al., 2000). Nesta situação o volume médio não se altera porque os eventos se sobrepõem, no entanto a DDE aumenta.

A utilização de analisadores automáticos tem contribuído com o estudo do eritrograma fornecendo novos parâmetros, como a DDE que é mais precisa para a avaliação do grau de anisocitose do que o VCM ou a avaliação do tamanho dos eritrócitos em esfregaço sangüíneo corado (Jain, 1993).

Vários mecanismos estão relacionados com a maior entrada de água nos eritrócitos, principalmente o aumento H^+ e potássio (K^+) (SPEAKE et al., 1997). O exercício induz queda do pH e os eritrócitos desempenham função tampão por vários mecanismos, principalmente captando H^+ e K^+ , estes eventos são benéficos à performance, porém, o aumento da concentração eritrocitária de íons promove

entrada de água e conseqüentemente tumefação celular com aumento do VCM (WEISS & EVANSON, 1997; MASINI et al., 2000).

O VCM aumentou após PE1, atingindo valores máximos 15 minutos após o exercício (PE2) em todos os grupos e provas, sendo significativo ($p<0,05$) na P1 apenas no GE e na P2 em ambos os grupos. Em contrapartida, embora não significativo, a DDE apresentou redução entre o PE1 e o PE2. Estes resultados indicam que os mecanismos de tumefação ainda estão presentes após o exercício e são compatíveis com os resultados do pH sangüíneo, que permanece em acidose até 30 minutos após o exercício (Tabela 18).

No presente estudo ocorreu queda significativa ($p<0,05$) do pH após o exercício (Tabela 18), o potássio plasmático não foi mensurado, porém, considera-se que ele aumentou baseado nos achados de Watanabe (2004), em eqüinos da raça Árabe submetidos a um protocolo de exercício similar (6% de inclinação), no qual observou-se redução do pH associada à elevação significativa de K^+ durante o exercício, que retornou aos valores basais três minutos após o exercício.

Segundo Lindinger & Grudzien (2003) em condições associadas a exercício de alta intensidade os eritrócitos são capazes de regular a concentração plasmática de K^+ . A tumefação celular, conseqüente ao aumento do K^+ intraeritrocitário, causa redução transitória da deformabilidade (WEISS & EVANSON, 1997). A lipoperoxidação pode agravar este processo porque causa aumento da permeabilidade e perda da fluidez da membrana (SJÖDIN et al., 1990).

Não houve diferença estatística do VCM entre grupos, contudo, observam-se valores de VCM menores no GE, em todos os momentos e provas. O CHCM foi superior no GE na maioria dos momentos, sendo significativo ($p<0,05$) no PE4 e PE8 da prova P1. O maior VCM e menor CHCM do grupo controle pode ser atribuído

a uma taxa remoção e reposição de eritrócitos mais elevada, visto que as células jovens são maiores e possuem menos hemoglobina (JAIN, 1986).

O efeito cumulativo da lesão oxidativa é responsável pelo processo normal de envelhecimento e remoção dos eritrócitos (HARVEY, 1997). Segundo Christian (2000), quanto maior o estresse oxidativo acumulado, menor a vida média eritrocitária. Baseado nestes conceitos, a menor lipoperoxidação observada no grupo suplementado pela concentração de malondialdeído (MDA) inferior ao grupo controle (Tabela 12), indicando menor estresse oxidativo e pode ter inferido menor taxa de remoção dos eritrócitos neste grupo. Evidenciando o efeito protetor da vitamina E na manutenção da estabilidade das membranas (MEYDANI, 1995).

Antes do treinamento os momentos 24h (PE7) e 72h (PE8) do grupo controle e 120h (PE9) do grupo suplementado apresentaram queda do número de eritrócitos, concentração de hemoglobina e volume globular, atingindo o limite inferior de normalidade (KRAMER, 2000), apesar de não diferirem estatisticamente do M0. Nestes mesmos momentos ocorreram as menores concentrações da PPT. Estes resultados são compatíveis com a “anemia do esporte” caracterizada como uma pseudoanemia devido à diluição dos eritrócitos pelo aumento do volume plasmático (DRESSENDORFER et al., 1981; ARAUJO et al., 2004). Ao repetir-se o exercício após o treinamento (P2) esta queda foi menos acentuada, indicando efeito adaptativo durante o treinamento.

Em humanos Gillen e colaboradores (1991), relatam que um único episódio de exercício intenso provoca elevação de 10% no volume plasmático 24h pós-exercício. Este evento é uma resposta adaptativa fisiológica à hemoconcentração provocada pelo exercício (ARAUJO et al., 2004).

Tabela 1. Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) do número de eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$), em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1				P2			
	GC		GE		GC		GE	
M0	8,14 (7,8 ; 8,4)	^{abcd}	7,95 (7,6 ; 8,2)	^{abcd}	7,85 (7,6 ; 8,2)	^{abc}	7,81 (7,3 ; 8,2)	^{abc}
Trote	9,87 (9,7 ; 10,1)	^{abc}	10,25 (9,9 ; 10,7)	^{abc}	9,96 (9,8 ; 10,1)	^{abc}	9,94 (9,6 ; 10,3)	^{abc}
Galope	10,95 (10,6 ; 11,4)	^{ab}	10,95 (10,7 ; 11,5)	^{ab}	11,18 (11,0 ; 11,4)	^{ab}	11,17 (10,7 ; 11,7)	^{ab}
PE1	11,20 (11,1 ; 11,5)	^a	11,15 (11,0 ; 11,6)	^{ab}	11,50 (11,5 ; 11,7)	^a	11,60 (11,2 ; 12,1)	^a
PE2(15min)	8,98 (8,9 ; 9,1)	^{abcd}	9,60 (9,4 ; 10,0)	^{abc}	9,64 (9,4 ; 9,9)	^{abc}	9,97 (9,6 ; 10,5)	^{abc}
PE3(30min)	8,18 (7,9 ; 8,4)	^{abcd}	8,66 (8,4 ; 9,0)	^{abcd}	8,81 (8,5 ; 9,0)	^{abc}	8,96 (8,6 ; 9,4)	^{abc}
PE4(2h)	7,46 (7,3 ; 7,6)	^{abcd}	8,07 (7,8 ; 8,4)	^{abcd}	7,79 (7,5 ; 8,1)	^{abc}	8,10 (7,7 ; 8,3)	^{abc}
PE5(6h)	6,97 (6,9 ; 7,4)	^{bcd}	7,77 (7,5 ; 7,9)	^{bcd}	7,44 (7,4 ; 7,6)	^c	7,42 (7,2 ; 7,7)	^c
PE6(12h)	8,04 (7,8 ; 8,4)	^{abcd}	8,39 (8,2 ; 8,5)	^{abcd}	8,16 (7,8 ; 8,4)	^{abc}	8,03 (7,6 ; 8,5)	^{abc}
PE7(24h)	6,89 (6,8 ; 6,9)	^d	7,36 (7,3 ; 7,4)	^{cd*}	8,15 (7,6 ; 8,6)	^{abc}	8,04 (7,8 ; 8,2)	^{bc}
PE8(72h)	6,95 (6,7 ; 7,2)	^{cd}	7,39 (7,1 ; 7,8)	^{abcd}	7,40 (7,3 ; 7,5)	^c	7,33 (6,5 ; 8,4)	^{bc}
PE9(120h)	7,46 (7,4 ; 7,7)	^{abcd}	6,78 (6,7 ; 6,9)	^{d*}	7,50 (6,7 ; 8,5)	^{bc}	7,38 (7,1 ; 7,9)	^{bc}

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

* Difere significativamente do grupo controle ($p<0,05$), no mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

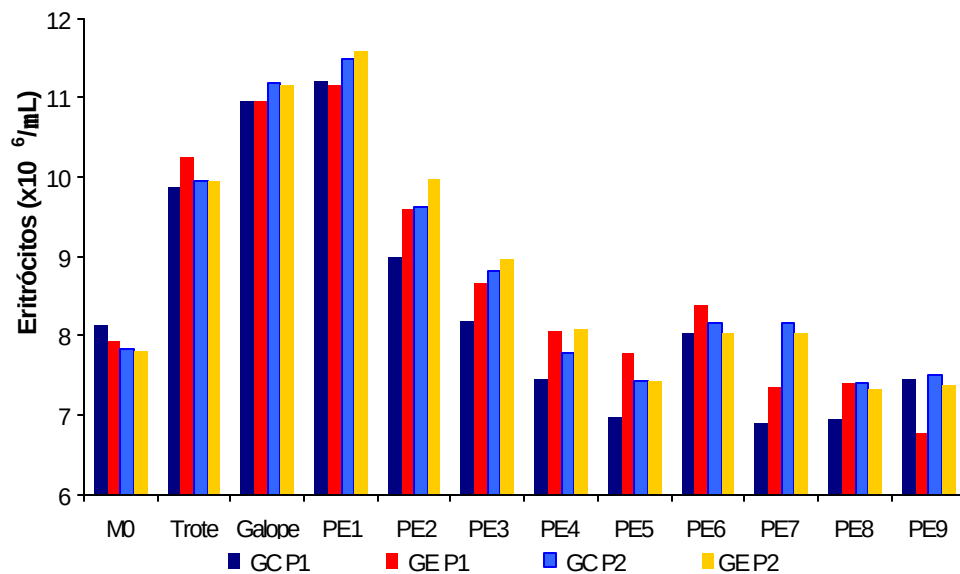


Figura 2. Medianas do número de eritrócitos em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 15min (PE2), 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 2. Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da concentração de hemoglobina (g/dL), em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	13,5 (13,1 ; 13,7) ^{abcd}	12,7 (12,3 ; 12,9) ^{abc}	13,1 (12,4 ; 13,8) ^{bc}	12,3 (12,0 ; 12,6) ^{abc}
Trote	16,1 (15,6 ; 16,5) ^{abc}	16,3 (15,1 ; 17,4) ^{ab}	16,5 (16,1 ; 16,6) ^{abc}	16,0 (15,2 ; 16,6) ^{abc}
Galope	17,8 (17,7 ; 17,8) ^{ab}	17,4 (16,9 ; 18,1) ^a	18,3 (17,7 ; 18,9) ^{ab}	17,2 (17,1 ; 17,5) ^{ab}
PE1	18,1 (18,1 ; 18,2) ^a	17,7 (17,3 ; 18,1) ^a	19,2 (18,7 ; 19,4) ^a	17,7 (17,7 ; 18,1) ^a
PE2(15min)	14,7 (14,3 ; 15,2) ^{abcd}	15,7 (15,0 ; 16,3) ^{ab}	15,8 (15,5 ; 16,1) ^{abc}	15,6 (15,4 ; 16,2) ^{abc}
PE3(30min)	13,5 (13,0 ; 13,9) ^{abcd}	14,2 (13,3 ; 14,9) ^{abc}	14,2 (14,0 ; 14,5) ^{abc}	14,0 (13,9 ; 14,4) ^{abc}
PE4(2h)	12,5 (12,3 ; 12,5) ^{abcd}	12,8 (12,7 ; 13,2) ^{abc*}	12,7 (12,2 ; 13,3) ^{abc}	12,6 (12,3 ; 12,8) ^{abc}
PE5(6h)	12,0 (11,6 ; 12,4) ^{bcd}	12,1 (11,8 ; 12,5) ^{abc}	12,5 (12,3 ; 12,8) ^c	12,0 (11,6 ; 12,3) ^c
PE6(12h)	13,0 (12,6 ; 13,8) ^{abcd}	13,2 (12,9 ; 13,5) ^{abc}	13,7 (13,2 ; 14,1) ^{abc}	12,8 (11,6 ; 13,9) ^{abc}
PE7(24h)	11,5 (11,2 ; 11,7) ^d	11,9 (11,6 ; 12,2) ^{bc}	13,5 (13,0 ; 13,7) ^{abc}	12,5 (12,2 ; 12,8) ^{bc}
PE8(72h)	11,1 (11,0 ; 11,6) ^{cd}	12,2 (11,5 ; 12,6) ^{abc}	12,2 (11,4 ; 13,2) ^c	11,7 (11,0 ; 12,8) ^{bc}
PE9(120h)	12,2 (11,6 ; 13,3) ^{abcd}	10,9 (10,8 ; 11,1) ^{c*}	12,5 (11,8 ; 13,4) ^{bc}	12,0 (11,4 ; 12,6) ^{bc}

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

* Difere significativamente do grupo controle ($p < 0,05$), no mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

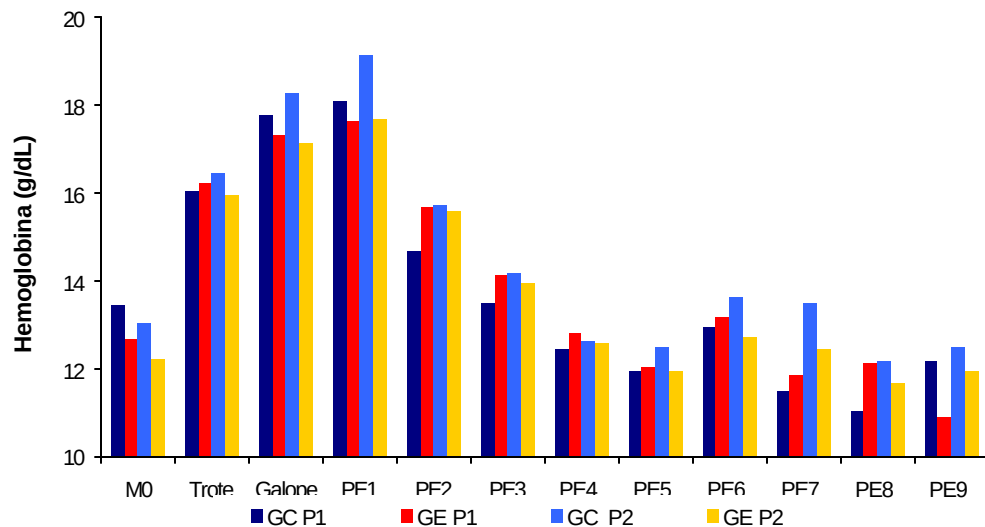


Figura 3. Medianas da concentração de hemoglobina em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 15min (PE2), 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 3. Medianas e percentis ($P_{25}; P_{75}$) do volume globular (VG) (%), em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	39,5 (37,5 ; 41,0) ^{abcd}	37,0 (35,5 ; 38,0) ^{abcd}	38,0 (35,5 ; 40,5) ^{abc}	35,5 (35,0 ; 36,5) ^{ab}
Trote	47,5 (46,5 ; 48,3) ^{abc}	48,0 (44,5 ; 51,5) ^{abc}	48,5 (47,0 ; 49,3) ^{abc}	46,5 (44,5 ; 48,0) ^{ab}
Galope	52,8 (52,3 ; 53,4) ^{ab}	52,3 (48,8 ; 56,1) ^{ab}	53,0 (50,8 ; 55,4) ^{ab}	50,3 (50,0 ; 51,3) ^{ab}
PE1	55,0 (53,8 ; 56,0) ^a	52,0 (50,8 ; 54,0) ^a	56,0 (53,8 ; 58,3) ^a	53,5 (52,8 ; 54,3) ^a
PE2(15min)	44,0 (42,8 ; 45,8) ^{abcd}	47,5 (44,8 ; 49,8) ^{abc}	47,0 (46,3 ; 47,8) ^{abc}	47,0 (47,0 ; 49,3) ^{ab}
PE3(30min)	39,5 (37,3 ; 42,8) ^{abcd}	41,5 (38,0 ; 45,0) ^{abcd}	42,0 (41,5 ; 43,0) ^{abc}	42,0 (41,8 ; 43,3) ^{ab}
PE4(2h)	37,5 (36,5 ; 38,0) ^{abcd}	36,5 (36,0 ; 38,0) ^{abcd}	37,0 (35,5 ; 39,8) ^{abc}	36,5 (35,5 ; 37,5) ^{ab}
PE5(6h)	35,5 (34,0 ; 37,0) ^{bcd}	35,0 (34,8 ; 35,8) ^{bcd}	36,5 (34,8 ; 38,0) ^{bc}	35,0 (34,3 ; 35,5) ^b
PE6(12h)	39,0 (37,3 ; 41,8) ^{abcd}	38,0 (37,5 ; 39,0) ^{abcd}	39,0 (38,8 ; 39,8) ^{abc}	37,0 (33,8 ; 40,3) ^{ab}
PE7(24h)	33,5 (32,8 ; 34,3) ^{dc}	33,5 (32,8 ; 34,3) ^{cd}	38,5 (37,0 ; 39,5) ^{bc}	35,5 (34,5 ; 36,8) ^b
PE8(72h)	32,5 (32,0 ; 34,5) ^{cd}	34,0 (32,3 ; 35,8) ^{bcd}	35,5 (33,0 ; 38,3) ^c	34,0 (32,0 ; 37,0) ^b
PE9(120h)	35,5 (33,8 ; 38,5) ^{abcd}	31,5 (30,8 ; 32,5) ^d	36,5 (35,0 ; 38,5) ^{bc}	35,0 (33,3 ; 36,8) ^b

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

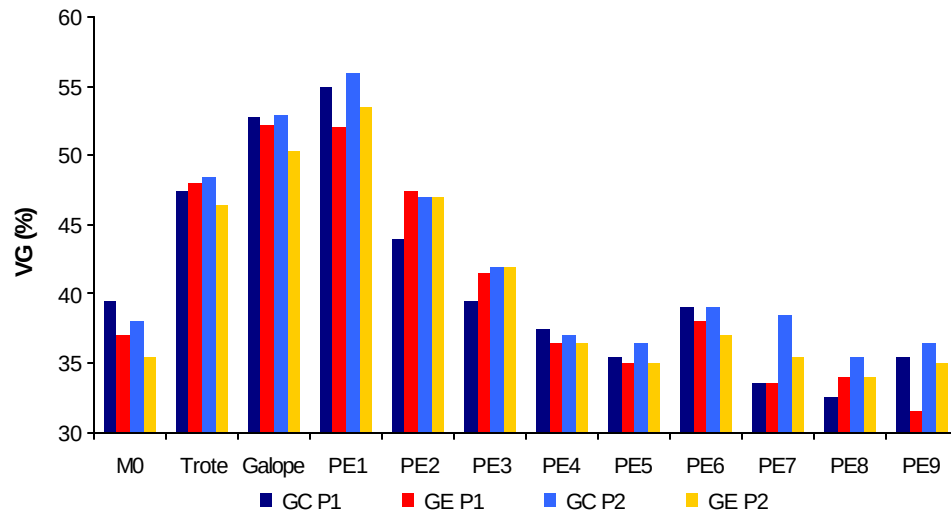


Figura 4. Medianas do volume globular (VG) em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 15min (PE2), 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 4. Mediana e percentis (P_{25} ; P_{75}) do volume corpuscular médio (VCM) (fL), em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	48,7 (46,3 ; 51,1) ^a	46,5 (45,1 ; 48,4) ^{abc}	48,4 (45,8 ; 50,8) ^b	46,7 (45,9 ; 48,1) ^{ab}
Trote	48,5 (46,3 ; 50,8) ^a	46,5 (44,8 ; 48,5) ^{abc}	48,5 (46,0 ; 50,6) ^b	46,1 (45,3 ; 47,8) ^{ab}
Galope	48,9 (46,6 ; 51,1) ^a	46,5 (45,0 ; 48,8) ^{abc}	49,2 (46,6 ; 51,5) ^{ab}	46,8 (46,0 ; 48,3) ^{ab}
PE1	49,3 (46,7 ; 51,8) ^a	47,5 (46,0 ; 49,7) ^{ab}	49,3 (46,6 ; 51,4) ^a	47,7 (46,8 ; 49,6) ^{ab}
PE2(15min)	49,5 (47,1 ; 51,8) ^a	47,9 (45,9 ; 50,5) ^a	49,6 (47,4 ; 51,8) ^a	48,7 (47,7 ; 50,4) ^a
PE3(30min)	49,3 (46,7 ; 51,8) ^a	47,3 (45,6 ; 49,8) ^{abc}	49,3 (46,9 ; 51,4) ^{ab}	47,7 (46,9 ; 49,2) ^{ab}
PE4(2h)	49,2 (46,6 ; 51,5) ^a	46,0 (45,1 ; 47,3) ^{abc}	48,4 (45,7 ; 50,8) ^b	45,8 (45,3 ; 47,1) ^{ab}
PE5(6h)	48,8 (46,6 ; 50,8) ^a	46,0 (44,5 ; 47,9) ^c	48,8 (45,9 ; 51,0) ^b	45,8 (45,3 ; 47,0) ^b
PE6(12h)	48,5 (46,2 ; 50,9) ^a	45,9 (44,6 ; 47,7) ^{abc}	49,2 (46,3 ; 51,5) ^{ab}	45,7 (45,0 ; 47,2) ^b
PE7(24h)	48,7 (46,5 ; 51,0) ^a	46,0 (44,8 ; 47,7) ^{abc}	48,4 (45,5 ; 51,1) ^b	45,7 (45,2 ; 47,1) ^{ab}
PE8(72h)	48,6 (46,4 ; 50,8) ^a	46,1 (44,6 ; 47,6) ^{bc}	49,1 (46,3 ; 51,3) ^{ab}	45,6 (44,5 ; 47,2) ^{ab}
PE9(120h)	48,4 (46,3 ; 50,7) ^a	45,6 (44,9 ; 47,1) ^{abc}	48,6 (46,2 ; 50,8) ^{ab}	46,1 (45,1 ; 47,6) ^b

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

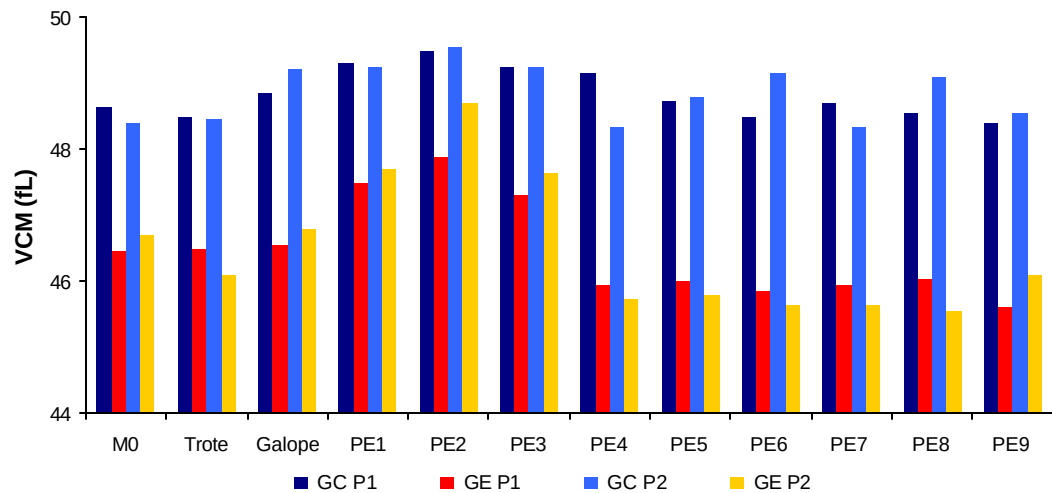


Figura 5. Médianas do volume corpuscular médio (VCM), em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 15min (PE2), 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 5. Medianas e percentis (P_{25}, P_{75}) da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (%), em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	33,4 (33,1 ; 34,0) ^a	34,2 (34,1 ; 34,3) ^{ab}	34,4 (34,0 ; 35,0) ^a	34,1 (33,9 ; 34,4) ^{ab}
Trote	33,5 (33,0 ; 34,1) ^a	33,8 (33,7 ; 34,0) ^{ab}	34,1 (33,9 ; 34,3) ^a	34,3 (34,2 ; 34,5) ^{ab}
Galope	33,4 (32,8 ; 33,8) ^a	34,3 (33,3 ; 34,5) ^{ab}	34,5 (34,2 ; 34,7) ^a	34,3 (34,1 ; 34,4) ^{ab}
PE1	33,1 (32,3 ; 33,6) ^a	33,6 (33,5 ; 33,8) ^{ab}	33,7 (33,3 ; 34,2) ^a	33,6 (33,2 ; 34,1) ^{ab}
PE2(15min)	33,3 (33,0 ; 33,4) ^a	33,2 (33,0 ; 33,4) ^b	33,5 (33,1 ; 34,0) ^a	32,8 (32,3 ; 33,0) ^b
PE3(30min)	33,6 (33,1 ; 34,3) ^a	33,7 (33,1 ; 34,5) ^{ab}	33,8 (33,4 ; 34,1) ^a	33,4 (33,3 ; 33,5) ^b
PE4(2h)	33,5 (33,3 ; 33,6) ^a	34,7 (34,3 ; 35,2) ^{ab*}	34,2 (33,6 ; 34,4) ^a	34,4 (34,2 ; 34,5) ^{ab}
PE5(6h)	33,7 (33,6 ; 33,9) ^a	34,7 (34,5 ; 34,8) ^{ab}	34,3 (33,8 ; 35,0) ^a	34,6 (34,4 ; 34,6) ^{ab}
PE6(12h)	34,1 (33,2 ; 34,9) ^a	34,6 (34,3 ; 34,7) ^{ab}	34,0 (33,8 ; 34,6) ^a	34,5 (34,5 ; 34,6) ^{ab}
PE7(24h)	34,2 (34,0 ; 34,3) ^a	35,8 (35,0 ; 36,4) ^a	34,5 (34,2 ; 35,0) ^a	35,1 (34,9 ; 35,2) ^a
PE8(72h)	34,2 (33,9 ; 34,5) ^a	35,2 (34,9 ; 35,6) ^{ab*}	34,4 (34,0 ; 34,9) ^a	34,7 (34,5 ; 34,8) ^{ab}
PE9(120h)	34,1 (34,1 ; 34,4) ^a	34,4 (34,2 ; 34,9) ^{ab}	34,2 (33,6 ; 34,9) ^a	34,4 (34,2 ; 34,8) ^{ab}

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

* Difere significativamente do grupo controle ($p < 0,05$), no mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

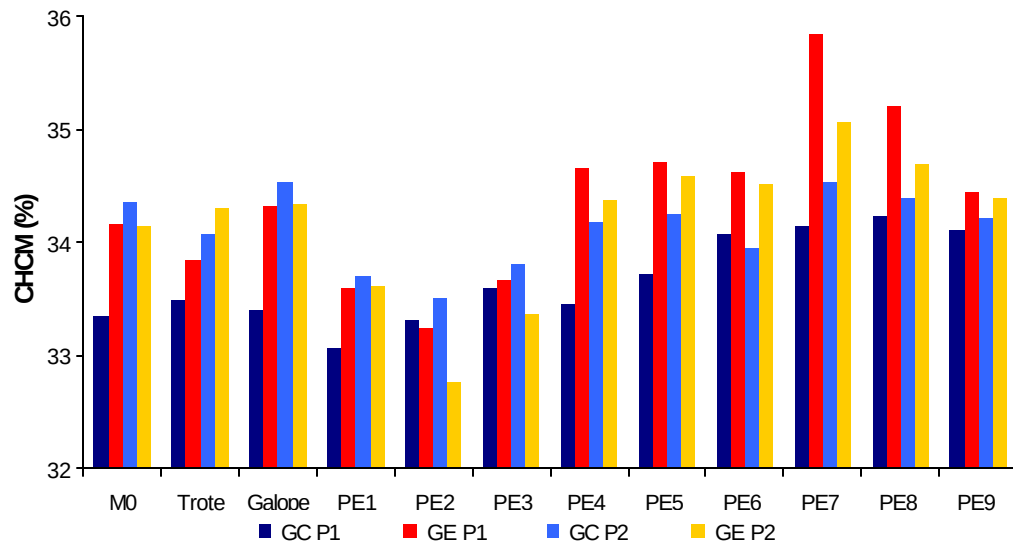


Figura 6. Médianas da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 15min (PE2), 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 6. Medianas e percentis ($P_{25}; P_{75}$) da distribuição do diâmetro dos eritrócitos (DDE) (%), em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	26,1 (25,5 ; 26,2) ^{ab}	26,0 (25,8 ; 26,2) ^{ab}	24,8 (23,2 ; 26,5) ^{ab}	25,3 (25,1 ; 26,1) ^{ab}
Trote	26,2 (25,7 ; 26,8) ^{ab}	26,4 (26,2 ; 27,1) ^{ab}	27,4 (27,0 ; 28,0) ^a	28,1 (26,2 ; 29,7) ^{ab}
Galope	27,3 (26,3 ; 28,4) ^a	26,7 (26,2 ; 27,5) ^{ab}	28,3 (27,7 ; 28,7) ^a	28,0 (27,2 ; 29,0) ^{ab}
PE1	27,9 (26,5 ; 29,3) ^a	28,6 (27,6 ; 29,7) ^a	27,9 (26,6 ; 29,2) ^a	28,4 (27,5 ; 29,3) ^a
PE2(15min)	26,4 (25,7 ; 26,8) ^{ab}	27,6 (26,1 ; 29,7) ^{ab}	26,4 (25,9 ; 27,0) ^{ab}	27,1 (26,6 ; 28,0) ^{ab}
PE3(30min)	26,3 (25,5 ; 26,8) ^{ab}	26,8 (26,5 ; 27,2) ^{ab}	25,4 (25,0 ; 26,1) ^{ab}	26,0 (25,4 ; 26,8) ^{ab}
PE4(2h)	24,2 (23,8 ; 24,7) ^b	24,2 (23,3 ; 24,9) ^b	25,8 (25,2 ; 26,6) ^{ab}	24,7 (24,3 ; 25,2) ^b
PE5(6h)	25,3 (25,0 ; 25,3) ^{ab}	23,9 (23,7 ; 24,3) ^b	25,5 (24,6 ; 26,4) ^{ab}	25,5 (25,0 ; 25,7) ^{ab}
PE6(12h)	25,2 (24,6 ; 25,9) ^{ab}	25,8 (25,3 ; 26,4) ^{ab}	25,6 (24,8 ; 26,7) ^{ab}	25,9 (25,5 ; 26,2) ^{ab}
PE7(24h)	24,5 (24,2 ; 25,0) ^{ab}	25,1 (24,3 ; 26,1) ^{ab}	26,4 (25,2 ; 26,8) ^{ab}	26,4 (26,0 ; 26,8) ^{ab}
PE8(72h)	24,9 (24,4 ; 25,3) ^{ab}	25,2 (24,3 ; 26,1) ^{ab}	24,4 (23,3 ; 25,7) ^b	26,1 (25,6 ; 26,5) ^{ab}
PE9(120h)	24,8 (24,5 ; 25,1) ^{ab}	25,0 (24,1 ; 25,8) ^b	24,1 (23,8 ; 25,3) ^{ab}	26,4 (25,8 ; 26,8) ^{ab}

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

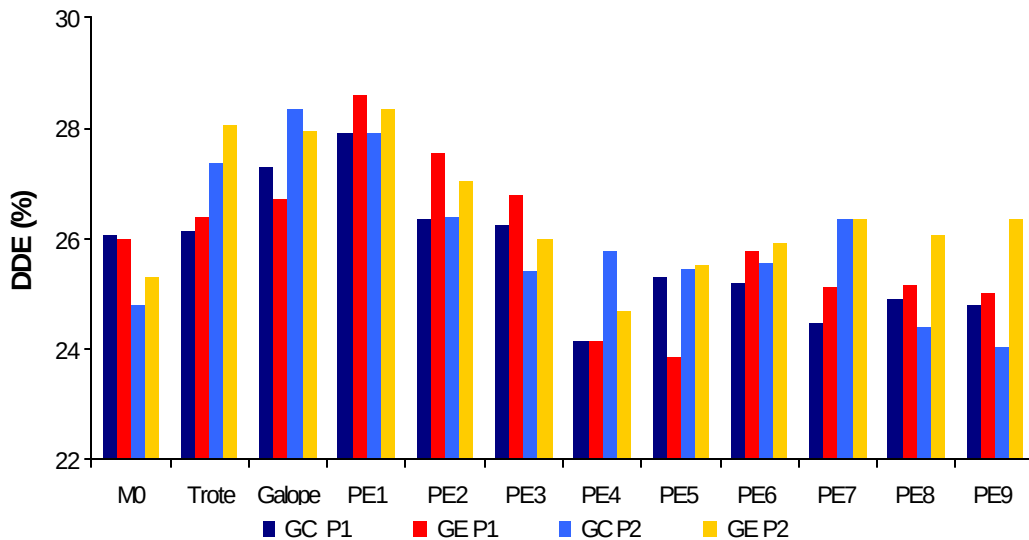


Figura 7. Medianas da distribuição do diâmetro dos eritrócitos (DDE), em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 15min (PE2), 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 7. Medianas e percentis (P_{25} , P_{75}) da concentração da proteína plasmática total (g/dL) em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	6,3 (6,2 ; 6,5) ^{abc}	6,6 (6,5 ; 6,6) ^{abc}	6,4 (6,2 ; 6,5) ^{abc}	6,4 (6,1 ; 6,7) ^{abc}
Trote	7,2 (6,9 ; 7,4) ^{abc}	7,1 (6,9 ; 7,4) ^{abc}	6,9 (6,8 ; 7,1) ^{abc}	6,9 (6,6 ; 7,2) ^{abc}
Galope	7,4 (7,1 ; 7,7) ^{ab}	7,6 (7,2 ; 8,0) ^{ab}	7,3 (7,1 ; 7,5) ^{ab}	7,4 (7,3 ; 7,6) ^a
PE1	7,6 (7,5 ; 7,7) ^a	7,9 (7,6 ; 8,1) ^a	7,7 (7,4 ; 7,8) ^a	7,9 (7,8 ; 8,1) ^a
PE2(15min)	6,9 (6,8 ; 7,0) ^{abc}	7,5 (7,2 ; 7,8) ^{abc}	7,1 (7,0 ; 7,1) ^{abc}	7,3 (7,1 ; 7,4) ^{ab}
PE3(30min)	6,6 (6,4 ; 6,6) ^{abc}	7,0 (6,8 ; 7,2) ^{abc}	6,6 (6,6 ; 6,6) ^{abc}	6,9 (6,7 ; 6,9) ^{abc}
PE4(2h)	6,6 (6,2 ; 6,9) ^{abc}	6,9 (6,8 ; 6,9) ^{abc}	6,7 (6,3 ; 7,1) ^{abc}	6,6 (6,3 ; 6,9) ^{abc}
PE5(6h)	6,4 (6,2 ; 6,7) ^{abc}	6,8 (6,5 ; 6,9) ^{abc}	6,3 (6,2 ; 6,3) ^{bc}	6,2 (6,0 ; 6,5) ^{bc}
PE6(12h)	6,8 (6,5 ; 7,0) ^{abc}	6,8 (6,6 ; 6,9) ^{abc}	6,6 (6,4 ; 6,7) ^{abc}	6,5 (6,4 ; 6,6) ^{abc}
PE7(24h)	6,2 (6,1 ; 6,3) ^c	6,4 (6,4 ; 6,6) ^{bc}	6,4 (6,1 ; 6,7) ^{abc}	6,4 (6,4 ; 6,5) ^{abc}
PE8(72h)	6,1 (6,0 ; 6,3) ^c	6,4 (6,2 ; 6,5) ^{bc}	6,0 (6,0 ; 6,2) ^c	6,0 (5,9 ; 6,1) ^c
PE9(120h)	6,3 (6,1 ; 6,5) ^{bc}	6,4 (6,2 ; 6,5) ^c	6,5 (6,3 ; 6,5) ^{abc}	6,3 (6,2 ; 6,5) ^{abc}

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

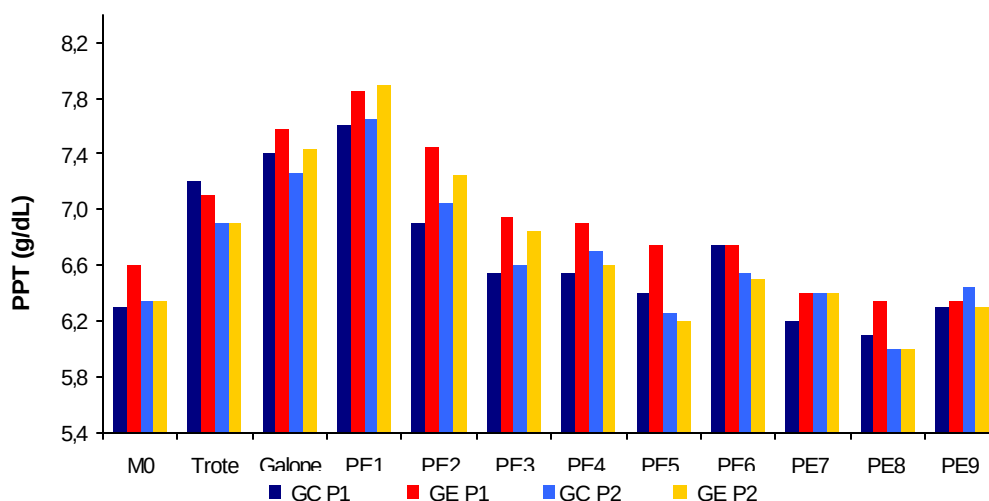


Figura 8. Medianas da concentração da proteína plasmática total (PPT) em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 15min (PE2), 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

5.2.2. Glutathiona reduzida eritrocitária, superóxido dismutase, metahemoglobina e fragilidade osmótica eritrocitária

Os resultados em medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}), da concentração da glutathiona reduzida eritrocitária (GSH), superóxido dismutase (SOD), porcentagem de metahemoglobina e fragilidade osmótica eritrocitária (FO) estão discriminados nas tabelas 8, 9, 10 e 11 e figuras 9,10, 11 e 12, respectivamente.

A concentração da GSH foi considerada adequada em ambos os grupos e provas comparando-se aos valores ($8,13 \pm 1,81 \mu\text{mol/gHb}$) relatados por Medeiros et al., (1984). Analisando-se cada grupo isoladamente, o exercício não induziu alterações significativas, exceto nos momentos 24h (PE7) e 72h (PE8) do grupo controle na P2 que foram maiores ($p < 0,05$) do que os observados imediatamente após o exercício.

No grupo controle a glutathiona apresentou uma tendência a elevar-se entre 2h (PE3) e 72h (PE8) e queda em 120h (PE9) pós-exercício, no grupo suplementado observa-se queda no PE7 e PE9, todos não significativos. Marlin et al. (2002) observaram diminuição da GSH em cavalos da raça Árabe, imediatamente e 16 horas após uma prova de enduro de 140Km.

Porém, estudos com exercício em esteira não constataram efeito do exercício sobre a GSH até 24h pós-exercício (MILLS et al., 1996; DEATON et al., 2004). Segundo Kinunen et al., (2005a) a recuperação da homeostasia celular se estende por várias horas após o exercício e neste período as alterações dos marcadores de estresse oxidativo e de proteção antioxidante são mais evidentes.

Analisando-se o efeito do tratamento, a queda da GSH no grupo suplementado a partir de 24 horas (PE4) foi significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle no PE7 da P1 e PE8 da P2. Além disso, no galope da P1 e no PE7 e PE9

da P2 observam-se resultados visivelmente inferiores para o grupo suplementado, apesar de não significativos ($p=0,057$).

Deaton et al. (2004) acompanharam equinos submetidos ao exercício em esteira até 24 horas após e não verificaram efeito da suplementação com antioxidantes ou do treinamento sobre os níveis de GSH. No presente estudo ocorreu redução dos níveis da GSH posterior ao exercício, a qual foi mais evidente no grupo suplementado com vitamina E. Esta maior queda no GE pode estar relacionada a um maior consumo neste grupo, visto que a GSH é utilizada durante a reciclagem da vitamina E oxidada (SEN, 1997; JI, 1999).

Os antioxidantes atuam de maneira integrada, principalmente as vitaminas E e C e a glutatona (SEN, 1997). A vitamina E impede a propagação da lipoperoxidação e nesta reação ela é oxidada formando o radical α -tocoferila ($\alpha T^{\bullet}$), que posteriormente é reciclado pela vitamina C, reação da qual resulta o radical ascorbil (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2001).

A GSH atua na reciclagem dos radicais formados pela oxidação das vitaminas E e C reduzindo-os para sua forma ativa (SEN, 1997; JI, 1999). O que justifica o consumo mais acentuado da GSH nos equinos que receberam vitamina E, a maior quantidade de vitamina E estaria impedindo a propagação da lipoperoxidação, porém, conseqüentemente obtem-se mais vitamina E oxidada. Resultados também obtidos pelo estudo de Moffarts et al. (2005), no qual equinos treinados em período de corridas apresentaram redução significativa da GSH nos grupos controle e suplementado com antioxidantes contendo vitamina E, no mesmo estudo, observam-se resultados inferiores no grupo suplementado em todos os momentos avaliados, embora não significativos.

Os valores das medianas da superóxido dismutase foram maiores no grupo suplementado em quase todos os momentos nas duas provas, porém, não se constatou diferença significativa entre grupos ou momentos. Outros estudos com eqüinos também não observaram efeito do exercício (ONO et al., 1990; BALOGH et al., 2001) ou da suplementação com vitamina E na concentração de SOD (ONO et al., 1990; JI et al., 1990). Os valores obtidos no repouso foram inferiores aos observados por Ono et al. (1989) ($2,5$ a $3,6 \times 10^3$ UI/gHb) e semelhantes aos citados por Moffats et al. (2005) ($1,38 \pm 0,4 \times 10^3$ UI/gHb).

Não houve diferença significativa entre grupos e entre momentos em ambas as provas, para a porcentagem de metahemoglobina. Em todos os momentos os resultados de mediana foram inferiores a 0,4% e do percentil 75 inferiores a 0,8%, sendo não detectáveis em vários momentos, principalmente no grupo suplementado com vitamina E na prova pós-treinamento. Os resultados obtidos estão de acordo com os valores de referência, sendo que porcentagens de metahemoglobina inferiores a 1% do total de hemoglobina são consideradas normais (HARVEY et al., 2003).

Observa-se uma tendência da fragilidade osmótica (FO) de elevar-se durante e logo após o exercício, porém, não ocorreu diferença significativa entre grupos ou momentos em ambas as provas.

Os resultados da literatura são conflitantes, Boucher et al. (1981) sugerem que após o exercício os eritrócitos têm volume reduzido, alterações de forma, menor deformabilidade e maior fragilidade osmótica devido à liberação de eritrócitos pelo baço. Resultados refutados por Smith et al. (1989), que reportam presença de eritrócitos de tamanho maior, sem alterações de forma ou deformabilidade e de maior resistência osmótica. Porém, as provas de exercício estudadas foram muito

diferentes, Boucher et al. (1981) avaliaram eqüinos em uma corrida de enduro de 160 Km, enquanto Smith et al. (1989), realizaram uma prova curta de exercício em esteira (2m /s por 2min, 10m/s por 2min com 3% de inclinação).

Posteriormente, outros estudos concluíram que o influxo de eritrócitos do baço não é o principal determinante das alterações da FO no exercício, tendo importância o tipo de exercício, o estresse físico provocado pelo aumento do fluxo sanguíneo e hemoconcentração, a temperatura, o pH e o aumento das espécies reativas de oxigênio, que promovem alterações de membrana e aumentam a fragilidade osmótica.

Segundo Hanzawa & Watanabe (2000), o exercício anaeróbico induz aumento da FO devido à queda do pH e conseqüente tumefação dos eritrócitos, ambos eventos verificados no presente trabalho e que somados indicam que este protocolo de exercício pode ter induzido hemólise. A presença de hemólise em decorrência do exercício é citada em eqüinos (BOUCHER et al., 1981; HANZAWA & WATANABE, 2000). Segundo Hanzawa & Watanabe (2000) em eqüinos este aumento da destruição dos eritrócitos não excede a taxa de produção e seria uma resposta benéfica, pelo maior estímulo para liberação de células jovens que são mais eficientes no transporte de oxigênio. Contudo, a interpretação da hemólise no exercício ainda necessita de mais estudos principalmente quanto ao efeito desta hemólise em longo prazo.

Tabela 8. Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da concentração de glutatona reduzida eritrocitária (GSH) ($\mu\text{mol/gHb}$), em eqüinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	8,39(8,00 ; 8,65) ^a	7,92(7,83 ; 8,10) ^a	7,86(7,83 ; 7,96) ^{ab}	8,12(8,06 ; 8,33) ^a
Trote	8,18(8,03 ; 8,45) ^a	8,00(7,66 ; 8,42) ^a	7,76(7,59 ; 8,06) ^{ab}	8,79(8,42 ; 9,14) ^a
Galope	8,18(8,06 ; 8,45) ^a	7,74(7,55 ; 7,83) ^{ab}	7,81(7,59 ; 8,07) ^{ab}	8,26(7,66 ; 9,04) ^a
PE1	8,37(8,22 ; 8,41) ^a	7,69(7,51 ; 7,91) ^a	7,63(7,49 ; 7,81) ^b	7,96(7,48 ; 8,53) ^a
PE3(30min)	8,18(7,87 ; 8,24) ^a	7,51(7,19 ; 7,87) ^a	7,74(7,61 ; 7,87) ^{ab}	7,97(7,79 ; 8,43) ^a
PE4(2h)	9,35(8,81 ; 9,41) ^a	7,93(7,64 ; 8,41) ^a	8,32(8,12 ; 8,46) ^{ab}	8,16(7,62 ; 8,93) ^a
PE5(6h)	8,61(8,31 ; 8,79) ^a	7,85(7,61 ; 8,08) ^a	8,43(8,27 ; 8,72) ^{ab}	7,69(7,58 ; 7,83) ^a
PE7(24h)	8,37(8,26 ; 8,40) ^a	7,33(7,20 ; 7,51) ^{a*}	8,38(8,16 ; 8,62) ^a	7,06(6,74 ; 7,55) ^{ab}
PE8(72h)	8,49(8,00 ; 8,65) ^a	8,17(7,79 ; 8,35) ^a	8,68(8,54 ; 8,73) ^a	7,51(7,37 ; 7,67) ^{a*}
PE9(120h)	7,75(7,39 ; 7,92) ^a	6,93(6,71 ; 7,34) ^a	8,22(8,06 ; 8,59) ^{ab}	7,41(7,04 ; 7,71) ^{ab}

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

* Difere significativamente ($p<0,05$) do grupo controle, no mesmo momento e prova

^{ab} $p=0,057$, em relação ao grupo controle no mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

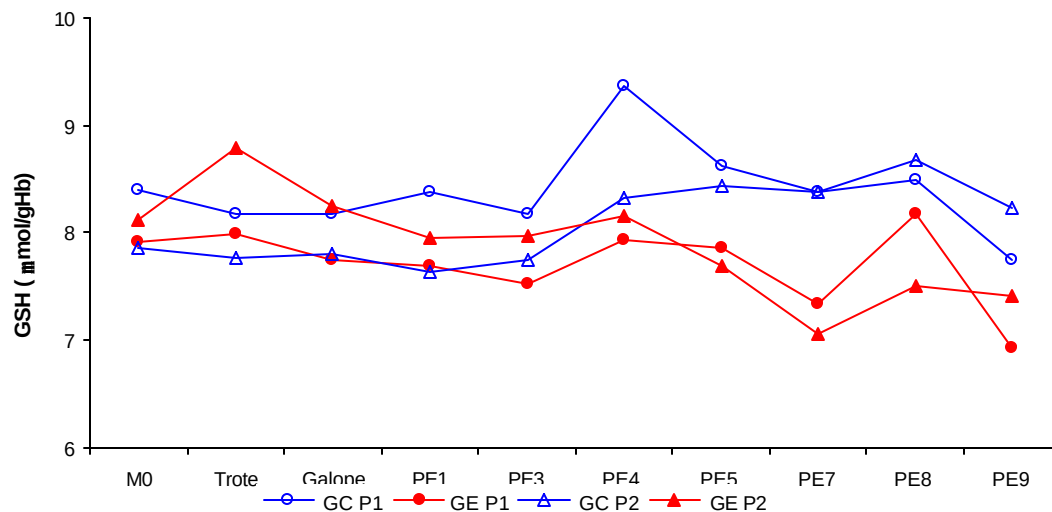


Figura 9. Medianas da concentração da glutatona reduzida eritrocitária (GSH) em eqüinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 30minB (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 9. Medianas e percentis ($P_{25}; P_{75}$) da concentração da superóxido dismutase (SOD) ($\times 10^3 \text{ UI/gHb}$) em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	1,08 (1,00; 1,20) ^a	1,30(1,09; 1,42) ^a	1,00(0,89; 1,15) ^a	1,28(1,10; 1,58) ^a
Trote	1,15 (1,03; 1,31) ^a	1,30(1,19; 1,36) ^a	1,14(1,09; 1,24) ^a	1,30(1,08; 1,52) ^a
Galope	1,21 (1,09; 1,38) ^a	1,38(1,24; 1,57) ^a	1,13(1,07; 1,33) ^a	1,45(1,17; 1,73) ^a
PE1	1,17 (1,15; 1,30) ^a	1,26(1,08; 1,52) ^a	1,18(1,06; 1,47) ^a	1,47(1,35; 1,55) ^a
PE3(30min)	1,11 (1,07; 1,14) ^a	1,14(1,00; 1,39) ^a	1,21(1,15; 1,57) ^a	1,15(1,12; 1,31) ^a
PE4(2h)	1,25 (1,12; 1,51) ^a	1,36(1,25; 1,47) ^a	1,19(1,11; 1,31) ^a	1,23(1,01; 1,47) ^a
PE5(6h)	1,12 (1,05; 1,20) ^a	1,22(1,08; 1,43) ^a	1,18(1,07; 1,35) ^a	1,28(0,93; 1,49) ^a
PE7(24h)	1,05 (0,97; 1,23) ^a	1,25(1,12; 1,39) ^a	1,11(1,08; 1,20) ^a	1,10(0,85; 1,40) ^a
PE8(72h)	1,00 (0,83; 1,20) ^a	1,20(1,01; 1,44) ^a	1,13(1,11; 1,23) ^a	1,29(1,11; 1,47) ^a
PE9(120h)	1,02 (0,88; 1,22) ^a	1,15(1,03; 1,44) ^a	1,07(1,04; 1,21) ^a	1,38(1,24; 1,77) ^a

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

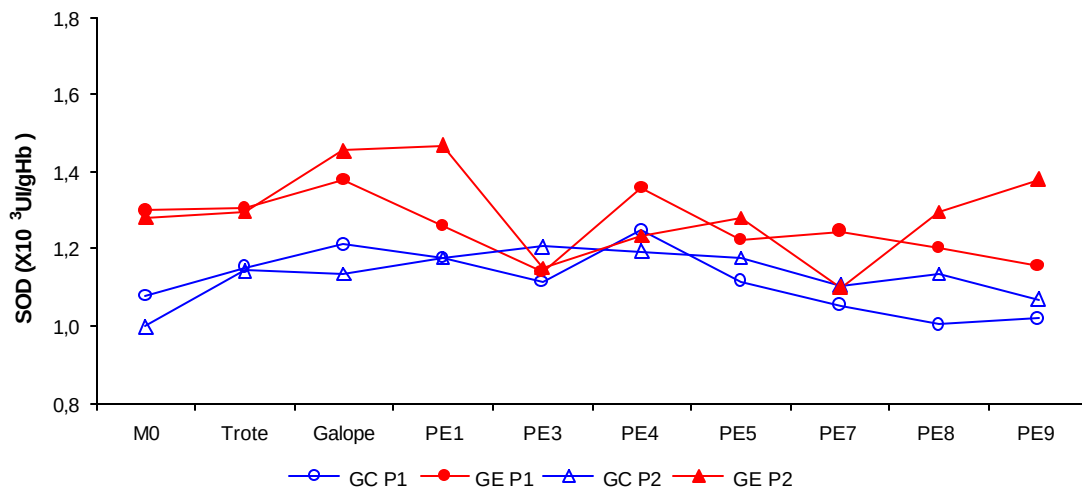


Figura 10. Medianas da concentração da superóxido dismutase (SOD) em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 10. Medianas e percentis (P_{25} , P_{75}) da porcentagem de metahemoglobina (%) em eqüinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	0,34(0,00 ; 0,78) ^a	0,00(0,00 ; 0,09) ^a	0,00(0,00 ; 0,10) ^a	0,00(0,00 ; 0,10) ^a
Trote	0,21(0,00 ; 0,59) ^a	0,28(0,20 ; 0,37) ^a	0,14(0,00 ; 0,28) ^a	0,00(0,00 ; 0,00) ^a
Galope	0,00(0,00 ; 0,13) ^a	0,25(0,18 ; 0,26) ^a	0,07(0,00 ; 0,17) ^a	0,00(0,00 ; 0,00) ^a
PE1	0,12(0,00 ; 0,38) ^a	0,00(0,00 ; 0,06) ^a	0,12(0,00 ; 0,54) ^a	0,00(0,00 ; 0,06) ^a
PE3(30min)	0,00(0,00 ; 0,09) ^a	0,15(0,00 ; 0,30) ^a	0,32(0,23 ; 0,33) ^a	0,00(0,00 ; 0,00) ^a
PE4(2h)	0,18(0,00 ; 0,37) ^a	0,18(0,00 ; 0,41) ^a	0,33(0,00 ; 0,69) ^a	0,00(0,00 ; 0,00) ^a
PE5(6h)	0,00(0,00 ; 0,09) ^a	0,00(0,00 ; 0,00) ^a	0,00(0,00 ; 0,10) ^a	0,00(0,00 ; 0,11) ^a
PE7(24h)	0,31(0,00 ; 0,68) ^a	0,00(0,00 ; 0,00) ^a	0,17(0,00 ; 0,47) ^a	0,00(0,00 ; 0,10) ^a
PE8(72h)	0,17(0,00 ; 0,35) ^a	0,00(0,00 ; 0,05) ^a	0,21(0,15 ; 0,42) ^a	0,00(0,00 ; 0,00) ^a
PE9(120h)	0,17(0,00 ; 0,59) ^a	0,00(0,00 ; 0,21) ^a	0,20(0,00 ; 0,49) ^a	0,00(0,00 ; 0,00) ^a

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

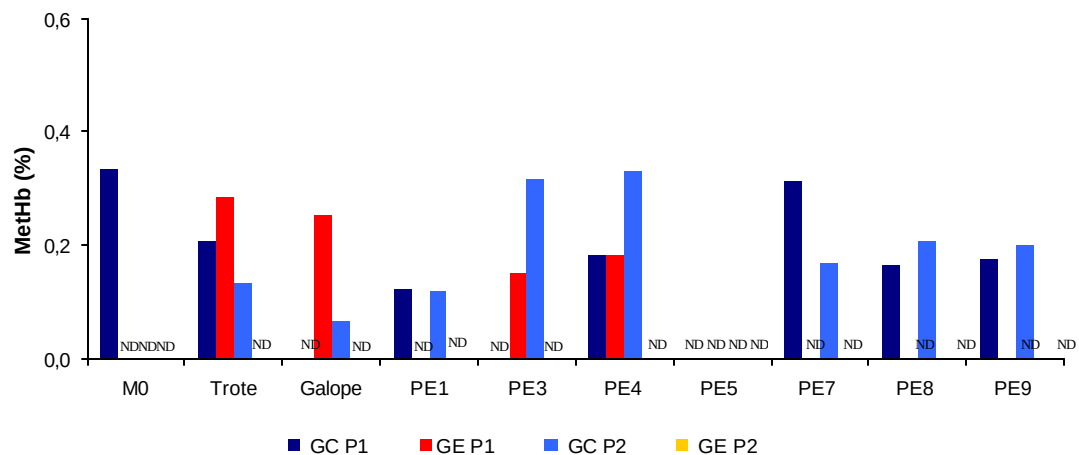


Figura 11. Medianas da porcentagem de metahemoglobina (MetHb) em eqüinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício. ND= não detectável

Tabela 11. Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da fragilidade osmótica eritrocitária expresso como H_{50} ([NaCl] correspondente a 50% de hemólise), em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	0,52 (0,49 ; 0,56) ^a	0,56 (0,53 ; 0,60) ^a	0,53 (0,50 ; 0,56) ^a	0,51 (0,49 ; 0,54) ^a
Trote	0,54 (0,52 ; 0,56) ^a	0,58 (0,56 ; 0,58) ^a	0,57 (0,53 ; 0,59) ^a	0,53 (0,53 ; 0,54) ^a
Galope	0,58 (0,56 ; 0,59) ^a	0,57 (0,52 ; 0,61) ^a	0,56 (0,51 ; 0,59) ^a	0,56 (0,55 ; 0,57) ^a
PE1	0,59 (0,57 ; 0,60) ^a	0,57 (0,54 ; 0,58) ^a	0,57 (0,55 ; 0,59) ^a	0,60 (0,58 ; 0,61) ^a
PE3(30min)	0,53 (0,51 ; 0,55) ^a	0,57 (0,57 ; 0,57) ^a	0,55 (0,54 ; 0,57) ^a	0,58 (0,55 ; 0,59) ^a
PE4(2h)	0,55 (0,51 ; 0,58) ^a	0,51 (0,50 ; 0,52) ^a	0,55 (0,53 ; 0,56) ^a	0,52 (0,49 ; 0,54) ^a
PE5(6h)	0,54 (0,53 ; 0,55) ^a	0,53 (0,51 ; 0,53) ^a	0,56 (0,55 ; 0,56) ^a	0,56 (0,53 ; 0,57) ^a
PE7(24h)	0,53 (0,52 ; 0,55) ^a	0,54 (0,53 ; 0,55) ^a	0,55 (0,52 ; 0,57) ^a	0,52 (0,51 ; 0,54) ^a
PE8(72h)	0,53 (0,50 ; 0,55) ^a	0,54 (0,52 ; 0,56) ^a	0,53 (0,51 ; 0,55) ^a	0,53 (0,50 ; 0,55) ^a
PE9(120h)	0,55 (0,53 ; 0,58) ^a	0,55 (0,49 ; 0,58) ^a	0,53 (0,52 ; 0,54) ^a	0,56 (0,54 ; 0,57) ^a

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

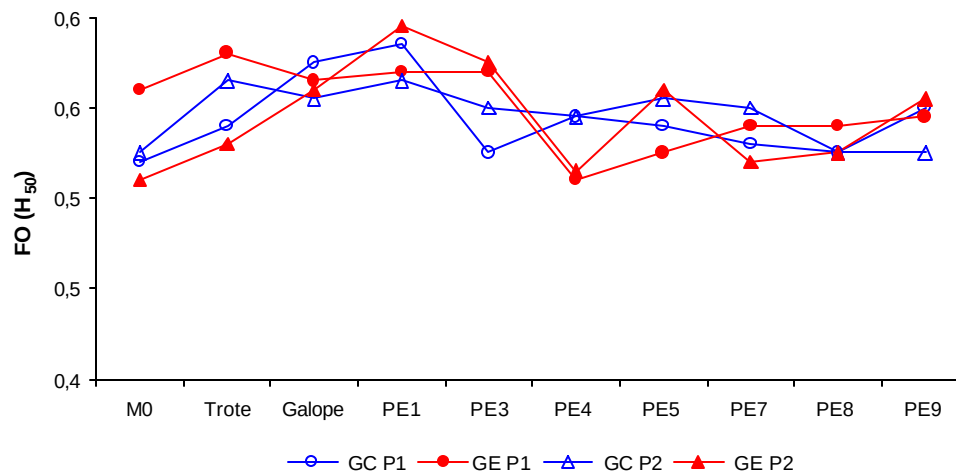


Figura 12. Medianas da fragilidade osmótica eritrocitária (FO) expresso como H_{50} ([NaCl] correspondente a 50% de hemólise) em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

5.2.3. Malondialdeído e vitamina E

Os resultados das medianas da concentração de malondialdeído (MDA) (Tabela 12, Figura 13) do grupo suplementado com vitamina E foram inferiores aos observados no grupo controle em todos os momentos nas duas provas. Essa diferença foi significativa ($p<0,05$) apenas no M0 antes do treinamento. No galope da mesma prova apesar do intenso aumento a diferença não foi significativa ($p=0,057$), o numero reduzido de animais ($n=4$) em cada grupo prejudica a verificação da diferença entre grupos.

O MDA atingiu valores máximos no PE3 em todos os grupos e provas, concordando com Silveira (2005), contudo, não foi detectada diferença significativa em relação ao M0, o PE3 do grupo suplementado na P2 foi significativamente superior ($p<0,05$) aos momentos PE5, PE8 e PE9, que foram iguais ao M0 indicando menor lipoperoxidação e retorno do MDA aos valores basais.

No grupo controle na P2 o PE1 foi estatisticamente superior ($p<0,05$) ao M0 e ao PE7. Os resultados menores de MDA no grupo suplementado indicam que a suplementação com vitamina E foi eficiente na redução dos radicais livres formados durante o exercício concordando com Avellini et al. (1999).

Os valores de MDA encontrados apresentaram uma tendência de retorno aos valores basais a partir das 6 horas após o término do exercício diferindo de Chiaradia et al. (1998), que relataram a eliminação dos produtos da lipoperoxidação após as 18 horas do exercício.

Em oposição aos resultados do MDA, a concentração de vitamina E (Tabela 13, Figura 14) foi superior no grupo suplementado, porém, a diferença não foi significativa. Também não foi detectada diferença estatística entre os momentos do GC em ambas as provas.

No grupo suplementado o PE1 e o PE9 foram iguais e significativamente superiores ao PE5, momento no qual são observados valores de MDA próximos aos valores basais, indicando interrupção da lipoperoxidação com consumo da vitamina E e posterior recuperação.

Estudos com eqüinos não constataram alterações na concentração da vitamina E após provas de enduro em animais suplementados com vitamina E (MARLIN et al., 2002) e não suplementados (KINNUNEN et al., 2005b). Em provas em esteira também não ocorreu variação imediatamente, 4h e 24h após o exercício (KINNUNEN et al., 2005a).

Apesar de não ter sido realizada análise estatística entre provas no mesmo grupo, no grupo suplementado a concentração de vitamina E após o treinamento foi superior aos resultados na P1 em todos os momentos. O maior tempo de suplementação justifica a maior concentração da vitamina E após o treinamento. Quando os eqüinos realizaram a primeira prova haviam recebido a suplementação por 15 dias, entre as duas provas foi realizado um período de treinamento, de modo que, na segunda prova a suplementação completou 45 dias. Indicando que os níveis séricos de vitamina E são influenciados não apenas pela dose administrada, mas também pelo tempo de suplementação.

Tabela 12. Medianas e percentis ($P_{25}; P_{75}$) da concentração sérica do malondialdeído (MDA) (nmol/mL), em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	1,34 (1,19 ; 1,59) ^a	0,31 (0,29 ; 0,36) ^{a*}	1,35 (0,84 ; 1,78) ^b	0,42 (0,35 ; 0,46) ^{ab}
Trote	1,18 (0,99 ; 1,51) ^a	0,50 (0,43 ; 0,55) ^a	1,55 (0,89 ; 2,08) ^{ab}	0,35 (0,28 ; 0,50) ^{ab}
Galope	1,71 (1,07 ; 2,22) ^a	0,32 (0,21 ; 0,46) ^{ab}	1,69 (0,96 ; 2,26) ^{ab}	0,44 (0,40 ; 0,51) ^{ab}
PE1	1,66 (0,96 ; 2,27) ^a	0,56 (0,53 ; 0,64) ^a	1,85 (1,17 ; 2,35) ^a	0,53 (0,43 ; 0,65) ^{ab}
PE3(30min)	1,86 (1,32 ; 2,13) ^a	1,59 (1,19 ; 1,91) ^a	2,14 (1,52 ; 2,43) ^{ab}	1,67 (1,28 ; 2,20) ^a
PE4(2h)	1,65 (0,93 ; 2,17) ^a	0,63 (0,40 ; 0,86) ^a	1,76 (1,22 ; 2,12) ^{ab}	0,61 (0,50 ; 0,72) ^{ab}
PE5(6h)	1,20 (0,31 ; 2,07) ^a	0,41 (0,35 ; 0,44) ^a	1,47 (0,88 ; 2,03) ^{ab}	0,36 (0,34 ; 0,39) ^b
PE7(24h)	1,44 (0,77 ; 1,95) ^a	0,42 (0,35 ; 0,46) ^a	1,41 (0,86 ; 1,79) ^b	0,38 (0,30 ; 0,46) ^{ab}
PE8(72h)	1,36 (0,76 ; 1,86) ^a	0,47 (0,38 ; 0,53) ^a	1,54 (0,97 ; 1,98) ^{ab}	0,35 (0,23 ; 0,48) ^b
PE9(120h)	1,45 (0,82 ; 1,92) ^a	0,40 (0,34 ; 0,44) ^a	1,69 (1,10 ; 2,04) ^{ab}	0,38 (0,25 ; 0,49) ^b

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

* Difere significativamente ($p < 0,05$) do grupo controle, no mesmo momento e prova

^{ab} $p = 0,057$, em relação ao grupo controle, no mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

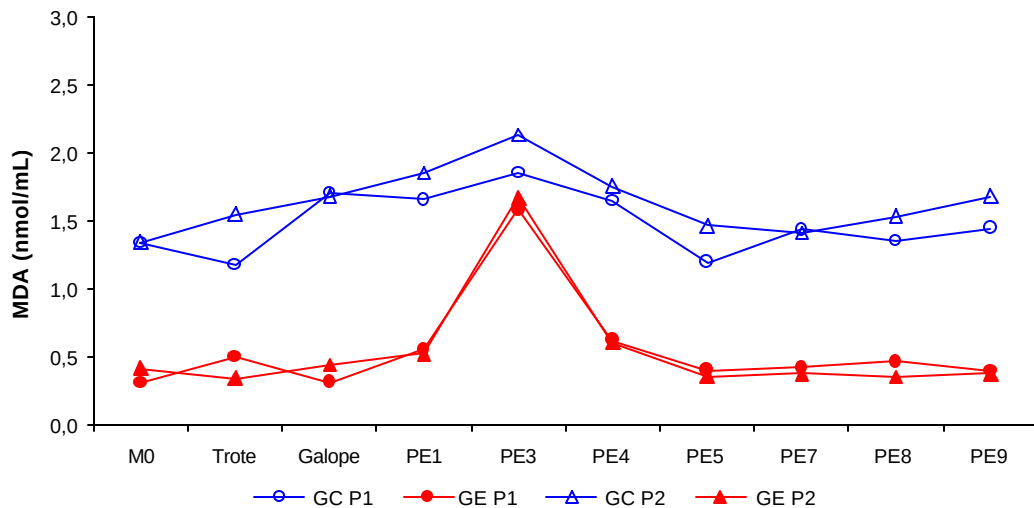


Figura 13. Medianas da concentração do malondialdeído (MDA) em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 13. Medianas e percentis ($P_{25}; P_{75}$) da concentração sérica da vitamina E ($\mu\text{mol/L}$) em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	3,31(2,42 ; 4,33) ^a	3,99(3,76 ; 4,17) ^{ab}	3,20(2,80 ; 3,63) ^a	4,04(3,86 ; 4,22) ^a
Trote	3,67(2,80 ; 4,52) ^a	3,96(3,64 ; 4,13) ^{ab}	2,90(2,55 ; 3,71) ^a	4,41(4,34 ; 4,63) ^a
Galope	3,51(2,32 ; 4,65) ^a	3,94(3,50 ; 4,36) ^{ab}	2,99(2,74 ; 3,86) ^a	4,32(4,10 ; 4,58) ^a
PE1	3,14(2,78 ; 3,92) ^a	4,27(4,05 ; 4,53) ^a	2,98(2,50 ; 3,99) ^a	4,50(4,30 ; 4,88) ^a
PE3(30min)	3,29(2,63 ; 4,02) ^a	3,75(3,47 ; 3,90) ^{ab}	2,58(2,39 ; 3,74) ^a	3,76(3,42 ; 3,93) ^a
PE4(2h)	2,92(2,36 ; 3,57) ^a	3,31(2,59 ; 3,80) ^{ab}	2,90(2,74 ; 3,34) ^a	3,81(3,37 ; 4,12) ^a
PE5(6h)	2,83(2,54 ; 3,40) ^a	3,16(2,88 ; 3,45) ^b	2,75(2,34 ; 3,50) ^a	3,85(3,61 ; 4,09) ^a
PE7(24h)	3,36(2,48 ; 4,17) ^a	3,35(2,98 ; 3,81) ^{ab}	2,53(2,40 ; 3,24) ^a	4,22(3,92 ; 4,44) ^a
PE8(72h)	2,81(2,61 ; 3,15) ^a	3,61(2,94 ; 4,30) ^{ab}	2,86(2,38 ; 3,68) ^a	4,22(3,67 ; 4,34) ^a
PE9(120h)	2,81(2,08 ; 3,70) ^a	4,33(3,86 ; 4,59) ^a	3,05(2,37 ; 3,97) ^a	4,34(4,18 ; 4,42) ^a

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

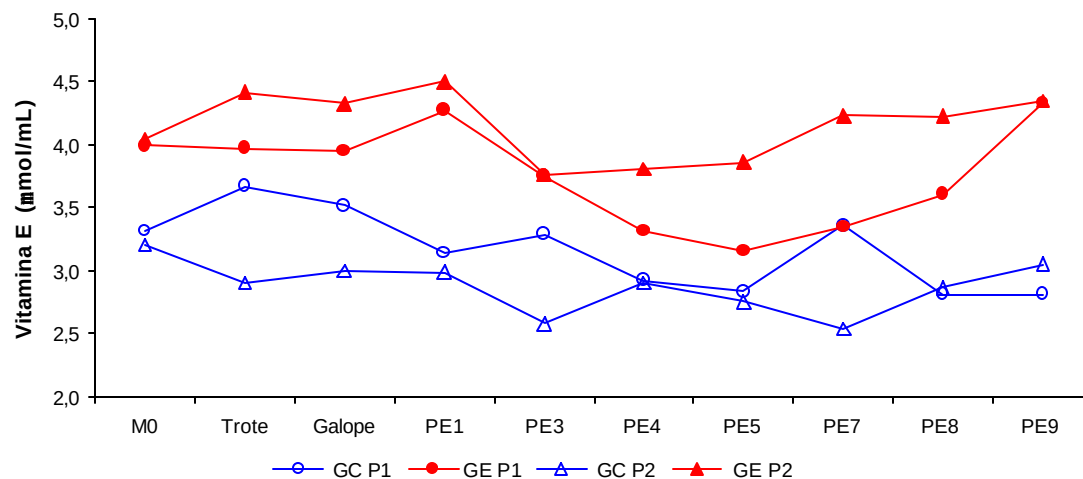


Figura 14. Medianas da concentração sérica da vitamina E em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

5.2.4. Aspartato aminotransferase e creatinaquinase

Não houve diferença significativa entre os resultados das medianas e percentis da atividade enzimática sérica do aspartato aminotransferase (AST) (Tabela 14, Figura 15) entre grupos nas duas provas, porém, se observam no PE4 resultados próximos do limite de significância ($p=0,057$) para o grupo suplementado na P1. Houve diferença significativa ($p<0,05$) nos resultados da creatinaquinase (CK) (Tabela 15, Figura 16), nas duas provas, com resultados maiores para o GE.

Há um aumento gradativo do AST durante o exercício atingindo valores máximos no PE1, com posterior queda e retorno a valores próximos ao basal a partir do PE5, em todos os grupos e provas. Contudo, esta variação não foi significativa em todos os momentos. No grupo controle o M0 foi inferior ao galope e PE1 ($p<0,05$) na P1 e na P2 o PE1 foi maior ($p<0,05$) que o PE5. No grupo suplementado o PE1 foi superior ($p<0,05$) apenas ao PE8 e PE9 na P1 e na P2 o PE1 e o PE3 foram maiores que o M0, PE8 e PE9.

A elevação do AST apenas durante o exercício pode estar relacionada à redução do volume plasmático, não indicando lesão muscular. Segundo Kaneko et al. (1997) esta é uma enzima tardia que se eleva em torno de 24 horas após a lesão e demora de 7 a 14 dias para retornar ao normal. Em todos os momentos as medianas do AST estiveram dentro do intervalo de referência para eqüinos (ROSE & HODGSON, 1994; KANEKO et al., 1997).

Os resultados de medianas da CK no M0 do grupo controle nas duas provas estiverem de acordo com Rose & Hodgson (1994), enquanto os resultados do grupo suplementado foram superiores, mas inferiores aos resultados obtidos antes do exercício em eqüinos da raça Árabe ($342 \pm 154,4$ UI/L) por Watanabe

(2004). As medianas da CK ao galope e PE1 foram superiores ao M0 em todos os grupos e provas, com queda após 30min, porém não significativos.

Diferença significativa ($p < 0,05$) entre momentos foi detectada apenas no no grupo controle na P1, com valores no galope mais elevados que PE9 e resultados no PE1 maiores que PE8 e PE9. Após o exercício houve aumento não significativo em 2h e/ou 6h com queda em 12 horas, para todos os grupos e provas, compatíveis com os achados de Anderson (1975), que observou aumento da CK logo após o exercício com pico em 6 horas e retorno a normalidade após 2 a 3 dias.

A CK é o indicador mais sensível das lesões musculares, aumenta rapidamente, tem vida média curta e indica lesão ativa, retornado aos valores basais em 24 horas se estímulo for cessado (KANEKO et al., 1997). Apesar da atividade da enzima CK apresentar-se mais alta do que os valores de referência, os animais não demonstraram sinais clínicos de fadiga muscular ou claudicação.

Sugere-se que a elevação da CK observada não tenha sido devido a miólise e sim pelo aumento de permeabilidade da membrana (ANDERSON, 1975; SICILIANO et al., 1995). Segundo McCurtchen e colaboradores (1992), o exercício induz alterações reversíveis na ultraestrutura do músculo esqueléticos dos eqüinos, como o aumento da permeabilidade da membrana das células musculares com conseqüente liberação de proteínas musculares para a circulação, tais como as enzimas AST e CK.

A lipoperoxidação é uma das causas de perda da fluidez de membrana e aumento da permeabilidade, que resulta em extravasamento de enzimas como a CK e AST para o sangue (SJÖDIN et al., 1990). Além disso, vários eventos fisiológicos decorrentes do exercício, como a hipóxia, aumento de catecolaminas, hipoglicemia,

alterações de pH e da concentração iônica promovem alteração transitória de permeabilidade da membrana celular (HARRIS et al., 1998).

Apesar do conhecido efeito protetor da vitamina E, reduzindo a lipoperoxidação e contribuindo para a estabilidade das membranas (AVELLINI, et al., 1995), o grupo suplementado apresentou valores mais altos de CK que o grupo controle, principalmente no P2, que podem ser justificados pela maior produção de lactato (Tabela 17) e menor pH (Tabela 18), relacionados a maior duração do exercício (Tabela 16) neste grupo. A intensa produção de lactato durante o exercício é responsável pela diminuição do pH, o qual pode limitar a capacidade de trabalho por interferir na atividade enzimática muscular (JONES, 1989).

Tabela 14. Medianas e percentis ($P_{25}; P_{75}$) da atividade enzimática sérica do aspartato aminotransferase (AST) (UI/L), em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	272 (252 ; 286) ^c	301 (290 ; 312) ^{abc}	298 (264 ; 349) ^{ab}	297 (288 ; 303) ^b
Galope	328 (306 ; 345) ^a	355 (317 ; 387) ^{abc}	356 (321 ; 404) ^{ab}	356 (340 ; 371) ^{ab}
PE1	317 (290 ; 348) ^{ab}	376 (361 ; 393) ^a	369 (329 ; 425) ^a	396 (384 ; 401) ^a
PE3(30min)	295 (283 ; 306) ^{abc}	361 (352 ; 371) ^{ab}	349 (306 ; 406) ^{ab}	369 (364 ; 382) ^a
PE4(2h)	279 (260 ; 300) ^{abc}	326 (315 ; 333) ^{abc}	350 (277 ; 419) ^{ab}	313 (307 ; 329) ^{ab}
PE5(6h)	272 (254 ; 289) ^{abc}	315 (301 ; 325) ^{abc}	309 (255 ; 380) ^b	301 (277 ; 314) ^{ab}
PE6(12h)	280 (263 ; 296) ^{abc}	325 (310 ; 334) ^{abc}	325 (247 ; 405) ^{ab}	315 (298 ; 329) ^{ab}
PE7(24h)	270 (257 ; 281) ^{bc}	310 (296 ; 319) ^{abc}	317 (255 ; 388) ^{ab}	309 (294 ; 321) ^{ab}
PE8(72h)	260 (257 ; 269) ^{bc}	302 (287 ; 311) ^{bc}	308 (262 ; 363) ^{ab}	292 (284 ; 298) ^b
PE9(120h)	271 (264 ; 282) ^{abc}	301 (282 ; 313) ^c	324 (268 ; 380) ^{ab}	288 (281 ; 296) ^b

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

^o $p = 0,057$, em relação ao grupo controle no mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

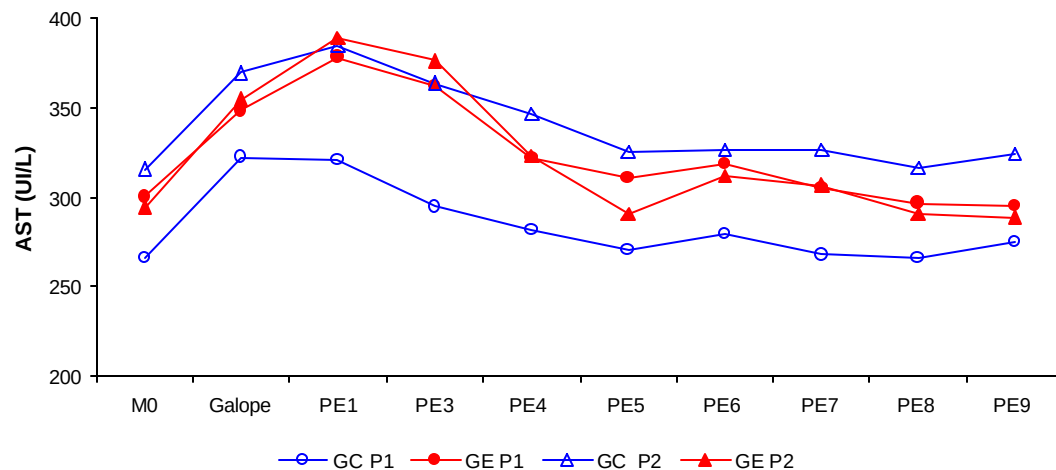


Figura 15. Medianas da atividade enzimática do aspartato aminotransferase (AST) em equínos da raça Árabe, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, mensurados antes (M0), durante (galope) e imediatamente após o exercício (PE1) e 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

Tabela 15. Medianas e percentis ($P_{25};P_{75}$) da atividade enzimática sérica da creatinaquinase em eqüinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Momentos	P1		P2	
	GC	GE	GC	GE
M0	265 (221 ; 310) ^{abc}	317 (279 ; 409) ^a	230 (216 ; 235) ^a	368 (338 ; 408) ^{a*}
Galope	323 (297 ; 344) ^{ab}	375 (296 ; 486) ^a	244 (240 ; 251) ^a	435 (385 ; 481) ^{a*}
PE1	329 (302 ; 356) ^a	412 (336 ; 508) ^a	242 (222 ; 253) ^a	468 (422 ; 510) ^{a*}
PE3(30min)	260 (230 ; 294) ^{abc}	357 (295 ; 447) ^a	237 (228 ; 273) ^a	395 (364 ; 427) ^{a_φ}
PE4(2h)	301 (259 ; 333) ^{abc}	457 (391 ; 495) ^a	228 (225 ; 392) ^a	380 (331 ; 447) ^a
PE5(6h)	247 (217 ; 287) ^{abc}	434 (378 ; 491) ^{a_φ}	315 (202 ; 489) ^a	381 (339 ; 430) ^a
PE6(12h)	249 (233 ; 268) ^{abc}	341 (297 ; 409) ^a	238 (208 ; 310) ^a	345 (330 ; 380) ^a
PE7(24h)	263 (238 ; 282) ^{abc}	327 (301 ; 359) ^a	226 (196 ; 261) ^a	379 (374 ; 390) ^{a*}
PE8(72h)	240 (226 ; 250) ^{bc}	298 (282 ; 509) ^{a_φ}	228 (210 ; 234) ^a	349 (287 ; 411) ^{a*}
PE9(120h)	227 (209 ; 242) ^c	324 (304 ; 364) ^{a*}	225 (207 ; 233) ^a	296 (287 ; 330) ^{a*}

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

* Difere significativamente do grupo controle ($p<0,05$), no mesmo momento e prova

^φ $p=0,057$, em relação ao grupo controle, no mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

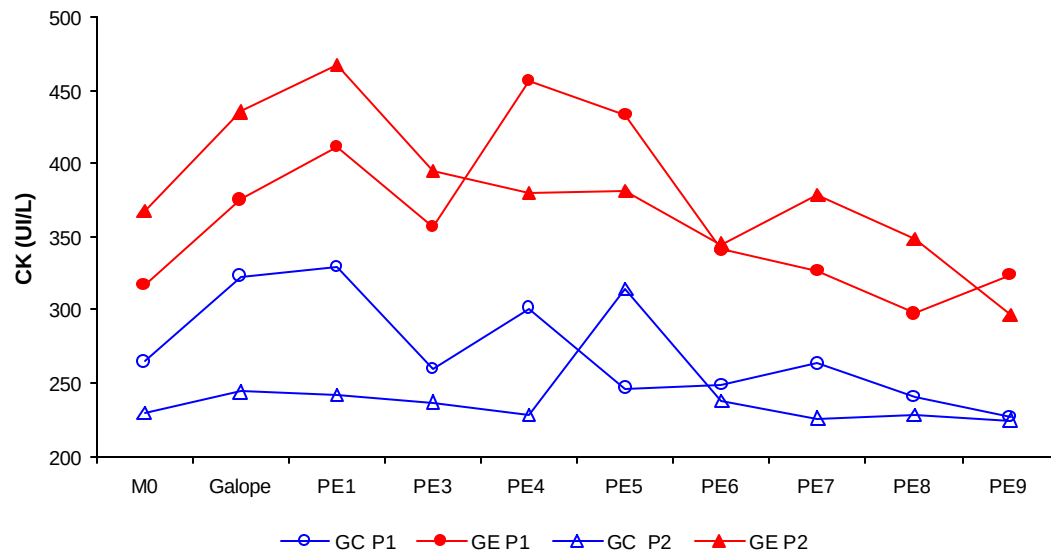


Figura 16. Medianas da atividade enzimática da creatinaquinase (CK) em eqüinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (galope), imediatamente após o exercício (PE1) e 30min (PE3), 2h (PE4), 6h (PE5), 12h (PE6), 24h (PE7), 72h (PE8) e 120h (PE9) após o exercício

5.2.5. Distância percorrida e velocidade máxima, lactato sanguíneo, frequência cardíaca, potencial hidrogeniônico e hemogasometria

O protocolo de exercício utilizado com velocidades crescentes demonstra o desempenho máximo de cada equino, que realizaram o exercício até a exaustão e desta forma atingiram velocidades e distâncias diferentes (Tabela16).

Tabela 16. Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da velocidade máxima atingida (m/s) e da distância percorrida (m) por equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE)

Prova	Grupo	Variável	
		Distância percorrida	Velocidade máxima
P1	GC	2710 (2456; 3040)	9 (8,8; 9,3)
	GE	2725 (2498; 3100)	8,5 (8,0; 9,3)
P2	GC	3145 (2863; 3338)	9,5 (8,8; 10)
	GE	3500 (3403; 3548)	10 (9,8; 10)

Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre grupos, para a mesma prova

As alterações fisiológicas causadas pelo exercício são influenciadas pelo tempo e intensidade do exercício, assim como pelo estado de condicionamento do animal (ANDERSON, 1975). Apesar de não ter sido realizada a análise estatística entre provas no mesmo grupo, observa-se que em ambos os grupos os animais atingiram velocidades e distâncias maiores após o treinamento. Essa melhora no desempenho foi mais evidente no grupo GE.

Os resultados da concentração de lactato sanguíneo e da frequência cardíaca estão demonstrados na tabela 17 e Figuras 17 e 18, respectivamente. O grupo suplementado apresentou resultados mais elevados de lactato, que foi significativo ($p<0,05$) na P2 e tem relação com a maior intensidade do exercício neste grupo. Quanto à frequência cardíaca não houve diferença entre grupos.

Todos os animais atingiram valores de lactato superiores a 4mmol/L ao galope, que caracterizam o exercício como anaeróbico (MUÑOZ et al., 1999; KRONFELD et al., 2000). A concentração de lactato aumentou progressivamente

durante o exercício a partir do M0, porém devido ao número reduzido de animais só foi possível detectar diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao M0 no PE1 e PE2 do grupo controle em P1 e P2, na P2 do GE esta diferença ocorreu no PE2 e PE3.

O lactato continuou aumentando após o exercício e possivelmente foi decorrente da sua passagem do músculo para a circulação sanguínea concordando com os achados de Seeherman & Morris (1990), que obtiveram um pico médio de 15,2mmol/L após o exercício. Altas concentrações de lactato no sangue periférico indicam metabolismo anaeróbio das células musculares para a obtenção de energia. No metabolismo anaeróbio normal a baixa tensão de oxigênio estimula a conversão da enzima xantina desidrogenase em xantina oxidase, envolvida na formação de radicais livres (SJÖDIN et al., 1990).

Durante o exercício a frequência cardíaca elevou-se proporcionalmente ao aumento da velocidade, sendo associada ao aumento da atividade simpática ou a liberação de catecolaminas (EVANS, 1994). Atingindo valores máximos no galope (211-218bpm) que foram significativos ($p < 0,05$) em relação ao M0. Segundo Physick-Sheard (1985) a frequência cardíaca máxima para eqüinos compreende valores entre 240-250bpm e segundo Jones (1989), este aumento geralmente atinge um valor máximo que não se eleva mesmo com o aumento da intensidade de trabalho. Após o exercício ocorreu recuperação não havendo diferença estatística entre a frequência cardíaca do M0 e do PE3.

As medianas e percentis do potencial hidrogeniônico (pH) e das avaliações hemogasométrica da PaCO_2 , PaO_2 , SaO_2 , ctCO_2 , $[\text{HCO}_3^-]$ e deficit de base (EB), estão discriminados na tabela 18. As alterações do pH e $[\text{HCO}_3^-]$ podem ser visualizadas na figura 19, e o comportamento da PaO_2 e PaCO_2 na figura 20.

A acidemia verificada pela queda do pH após o exercício associados ao aumento do lactato e redução do bicarbonato ($[\text{HCO}_3^-]$) caracterizam o quadro de acidose metabólica, também relatada por Manohar et al. (2001) em eqüinos da raça Puro Sangue Inglês (PSI) submetidos ao exercício progressivo em esteira.

O grupo suplementado, principalmente na P2, desenvolveu uma prova mais longa com concentrações mais elevadas de lactato ($p < 0,05$), maior queda do pH ($p < 0,05$) e menor ($[\text{HCO}_3^-]$) ($p = 0,057$), inferindo uma acidose metabólica mais acentuada. A intensa produção de lactato é responsável pela diminuição do pH, o qual pode limitar a capacidade de trabalho (JONES, 1989).

A acidose ainda está presente 30 minutos após o exercício, principalmente no GE, segundo Rose & Hodson (1994) o retorno dos valores de pH e da concentração de bicarbonato aos níveis de normalidade ocorre por volta de 90 minutos após o exercício.

Após o exercício foi observado aumento da pressão parcial de oxigênio e queda da pressão parcial de CO_2 , podendo ser correlacionados com a hiperventilação alveolar realizada pelos animais após o exercício, devido a estímulos da diminuição do pH sanguíneo e aumento da temperatura sanguínea que elevam a frequência respiratória (CARLSON, 1995). Taylor et al. (1995) verificaram hipocapnia em cavalos da raça Árabe justificada pelo processo de hiperventilação durante os exercícios de rápida aceleração.

A saturação da hemoglobina pelo O_2 é dependente da pressão parcial de O_2 , Lekeux & Art (1994) afirmam que os aumentos da temperatura sanguínea e da concentração de íons de hidrogênio desviam a curva de dissociação da oxihemoglobina e, por conseguinte, necessita-se de maiores concentrações de

oxigênio para manter a saturação do oxigênio na hemoglobina. No presente estudo não houve alteração da SaO_2 demonstrando a adequada ventilação e aporte de O_2 .

Acompanhando o consumo do HCO_3^- , as concentrações totais de gás carbônico reduziram logo após o exercício, achados que corroboram Manohar et al. (2001). O mesmo comportamento foi verificado no déficit de base, havendo déficit negativo em todos os momentos após o exercício, indicando um desequilíbrio nos íons na tentativa de manter o tamponamento sanguíneo.

Tabela 17. Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da concentração de lactato sanguíneo e frequência cardíaca (FC) em eqüinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0), durante (trote e galope) e após o exercício (PE)

Variável	Momentos	P1		P2	
		GC	GE	GC	GE
Lactato (mmol/L)	M0	1,9 (1,7 ; 2,1) ^b	2,0 (2,0 ; 2,0) ^c	2,0 (1,9 ; 2,0) ^c	2,1 (1,8 ; 2,3) ^{bc}
	Trote	2,5 (2,4 ; 2,6) ^{ab}	2,8 (2,6 ; 3,1) ^{bc}	2,4 (2,4 ; 2,7) ^{bc}	2,4 (2,3 ; 2,5) ^{ab}
	Galope	5,0 (4,1 ; 6,3) ^{ab}	7,2 (5,8 ; 8,5) ^{abc}	4,6 (4,3 ; 4,9) ^{abc}	5,7 (4,8 ; 6,7) ^{ab*}
	PE1	5,8 (5,5 ; 6,8) ^a	11,0 (9,4 ; 11,0) ^{ab}	6,9 (6,3 ; 7,1) ^a	11,2 (11,0 ; 12,1) ^{ab*}
	PE2(15min)	5,9 (5,0 ; 6,8) ^a	11,3 (8,4 ; 13,8) ^a	6,5 (5,7 ; 7,0) ^{ab}	12,2 (11,4 ; 12,6) ^{a*}
	PE3(30min)	4,7 (4,3 ; 4,7) ^{ab}	9,9 (7,0 ; 12,4) ^{abc}	5,5 (4,5 ; 6,4) ^{abc}	11,7 (10,1 ; 13,0) ^{a*}
FC (bpm)	M0	40 (36 ; 43) ^c	40 (37 ; 42) ^c	34 (31 ; 39) ^c	35 (33 ; 38) ^c
	Trote	155 (152 ; 156) ^{ab}	145 (143 ; 153) ^{ab}	152 (146 ; 165) ^{abc}	152 (150 ; 153) ^{ab}
	Galope	213 (212 ; 217) ^a	215 (212 ; 218) ^a	211 (206 ; 218) ^a	218 (216 ; 220) ^a
	PE1	122 (112 ; 130) ^{abc}	120 (115 ; 122) ^{abc}	166 (157 ; 175) ^{ab}	145 (144 ; 149) ^{abc}
	PE2(15min)	78 (77 ; 79) ^{abc}	90 (82 ; 94) ^{abc}	78 (70 ; 82) ^{abc}	94 (90 ; 95) ^{abc}
	PE3(30min)	58 (54 ; 61) ^{bc}	78 (70 ; 84) ^{bc}	61 (54 ; 65) ^{bc}	78 (72 ; 84) ^{bc^o}

Valores na mesma coluna seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

* Difere significativamente ($p < 0,05$) do grupo controle, no mesmo momento e prova

^o $p = 0,057$, em relação ao grupo controle, no mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

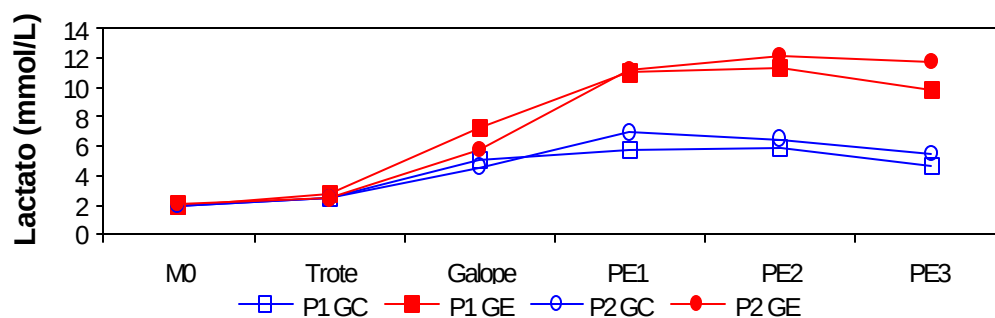


Figura 17. Medianas do lactato sanguíneo em eqüinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente (PE1), 15min (PE2) e 30min (PE3) após o exercício

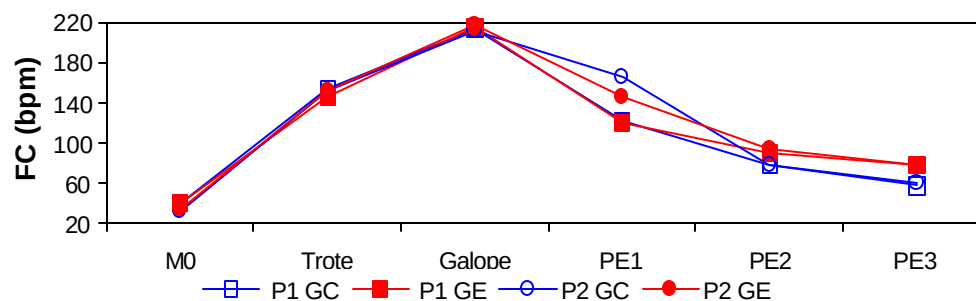


Figura 18. Medianas da frequência cardíaca (FC) em eqüinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensurados antes (M0), durante (trote e galope), imediatamente (PE1), 15min (PE2) e 30min (PE3) após o exercício

Tabela 18. Medianas e percentis ($P_{25}; P_{75}$) do potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de oxigênio (PaO_2), pressão parcial de dióxido de carbono ($PaCO_2$), saturação da hemoglobina por Q (SaO_2), concentração total de CO_2 ($ctCO_2$), íon bicarbonato ($[HCO_3^-]$) e déficit de base (EB), em equínos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0) e após o exercício (PE)

Variável	Prova	Grupo	Momentos			
			M0	PE1	PE2 (15 min)	PE3 (30 min)
pH	P1	GC	7,45 (7,44; 7,46) ^a	7,30 (7,29; 7,33) ^b	7,35 (7,34; 7,38) ^{ab}	7,41 (7,40; 7,43) ^{ab}
		GE	7,42 (7,41; 7,43) ^a	7,10 (7,09; 7,16) ^b	7,09 (7,06; 7,18) ^b	7,26 (7,22; 7,31) ^{ab}
	P2	GC	7,44 (7,41; 7,46) ^a	7,23 (7,18; 7,29) ^b	7,31 (7,26; 7,34) ^{ab}	7,38 (7,34; 7,40) ^{ab}
		GE	7,44 (7,41; 7,45) ^a	7,11 (7,09; 7,12) ^{ab*}	7,10 (7,09; 7,12) ^{b*}	7,24 (7,23; 7,26) ^{ab}
PaO_2 (mmHg)	P1	GC	97 (91; 101) ^a	103 (101; 104) ^a	96 (92; 101) ^a	91 (89; 95) ^a
		GE	98 (92; 103) ^a	115 (108; 119) ^a	110 (105; 112) ^a	93 (90; 101) ^a
	P2	GC	95 (91; 99) ^a	111 (107; 115) ^a	103 (101; 109) ^a	97 (92; 102) ^a
		GE	85 (80; 90) ^b	115 (112; 117) ^a	114 (112; 116) ^a	105 (104; 106) ^{ab}
$PaCO_2$ (mmHg)	P1	GC	44 (43; 45) ^a	37 (34; 38) ^b	38 (37; 40) ^{ab}	41 (40; 41) ^{ab}
		GE	43 (42; 45) ^a	22 (21; 26) ^b	25 (23; 29) ^{ab}	32 (30; 34) ^{ab}
	P2	GC	43 (42; 47) ^a	28 (26; 31) ^b	35 (31; 36) ^{ab}	38 (35; 41) ^{ab}
		GE	50 (46; 53) ^a	24 (20; 27) ^b	24 (21; 26) ^{ab}	31 (31; 33) ^{ab}
SaO_2 (%)	P1	GC	97,5 (97,0; 97,8) ^a	96,8 (96,6; 97,0) ^a	96,8 (96,3; 97,0) ^a	96,4 (96,3; 96,6) ^a
		GE	97,3 (97,0; 97,7) ^a	96,1 (95,7; 96,3) ^{ab}	95,5 (95,3; 95,7) ^a	95,9 (95,0; 96,9) ^a
	P2	GC	97,3 (97,4; 97,4) ^a	96,7 (96,4; 97,1) ^a	96,8 (96,3; 97,2) ^a	96,7 (96,0; 97,1) ^a
		GE	96,2 (95,3; 97,1) ^a	95,7 (95,5; 96,0) ^a	95,9 (95,5; 96,3) ^a	96,5 (96,4; 96,6) ^a
$ctCO_2$ (mmol/L)	P1	GC	30,6 (30,1; 31,7) ^a	18,7 (17,6; 19,8) ^b	21,2 (19,9; 23,2) ^{ab}	26,1 (25,8; 26,7) ^{ab}
		GE	29,5 (27,1; 31,0) ^a	6,8 (6,3; 9,9) ^b	7,8 (6,9; 12,0) ^{ab}	14,5 (13,3; 17,3) ^{ab}
	P2	GC	30,1 (28,8; 32,8) ^a	13,6 (11,4; 14,9) ^b	18,4 (15,7; 19,1) ^{ab}	24,4 (21,6; 24,6) ^{ab}
		GE	31,2 (30,4; 33,6) ^a	7,6 (6,1; 9,1) ^b	8,0 (6,6; 9,3) ^{ab}	13,3 (12,9; 14,9) ^{ab}
$[HCO_3^-]$ (mmol/L)	P1	GC	29,0 (22,6; 30,3) ^a	17,6 (16,6; 18,7) ^a	20,1 (18,9; 22,1) ^a	24,9 (24,6; 25,6) ^a
		GE	28,2 (25,8; 29,7) ^a	6,1 (5,7; 9,1) ^b	7,1 (6,2; 11,2) ^{ab}	13,6 (12,4; 16,3) ^{ab}
	P2	GC	28,9 (27,5; 31,4) ^a	12,7 (10,7; 13,9) ^b	17,4 (14,8; 18,1) ^{ab}	23,3 (20,6; 23,5) ^{ab}
		GE	29,8 (29,1; 32,0) ^a	7,0 (5,7; 8,3) ^b	7,3 (6,0; 8,6) ^{ab}	12,4 (12,0; 14,0) ^{ab}
EB (mmol/L)	P1	GC	5,2 (5,0; 6,1) ^a	-8,4 (-9,3; -7,3) ^b	-5,1 (-6,3; -3,1) ^{ab}	0,7 (0,1; 1,8) ^{ab}
		GE	3,8 (1,2; 5,5) ^a	-23,5 (-23,9; -19,5) ^b	-22,6 (-23,8; -16,9) ^{ab}	-13,4 (-15,1; -9,9) ^{ab}
	P2	GC	5,1 (3,5; 7,3) ^a	-14,5 (-16,4; -13,1) ^b	-8,5 (-11,9; -7,3) ^{ab}	-1,2 (-1,2; -1,0) ^{ab}
		GE	5,8 (4,9; 7,8) ^a	-22,0 (-23,2; -20,9) ^b	-21,9 (-23,4; -20,4) ^{ab}	-14,7 (-15,1; -13,1) ^{ab}

Valores na mesma linha seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

* Difere significativamente ($p < 0,05$) do grupo controle, no mesmo momento e prova

[†] $p = 0,057$, em relação ao grupo controle no mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

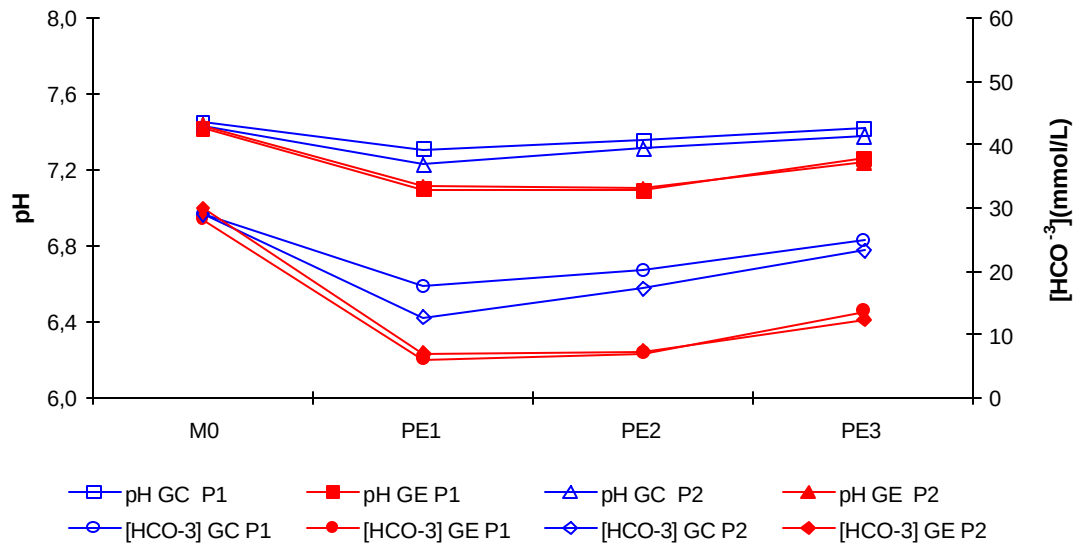


Figura 19. Medianas do potencial hidrogeniônico (pH) e íon bicarbonato ($[HCO_3^-]$), em equinos da raça Árabe, nos grupos controle (GC) e suplementado com acetato de dl- α -tocoferol (GE), nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, mensuradas antes (M0) e imediatamente (PE1), 15min (PE2) e 30min (PE3) após o exercício

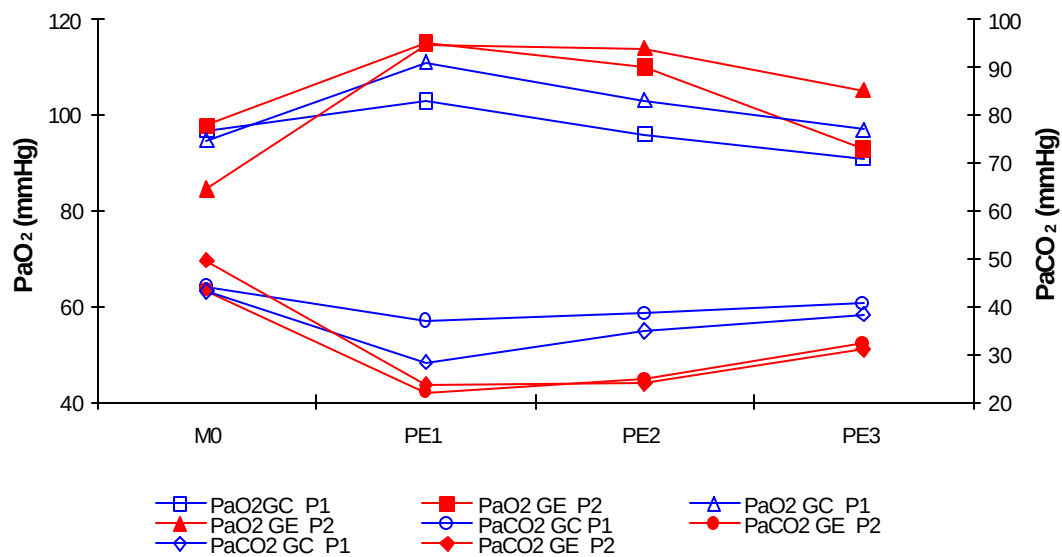


Figura 20. Medianas da pressão parcial de oxigênio (PaO₂) e dióxido de carbono (PaCO₂) em equinos da raça Árabe, nos grupos controle (GC) e suplementado com acetato de dl- α -tocoferol (GE), nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, mensuradas antes (M0) e imediatamente (PE1), 15min (PE2) e 30min (PE3) após o exercício

5.2.6. Frequência respiratória e temperatura retal

Não houve diferença significativa entre grupos para frequência respiratória e temperatura retal (Tabela 19, Figuras 21 e 22).

Em ambas as provas o exercício induziu aumento significativo ($p < 0,05$) da frequência respiratória, verificada imediatamente após o exercício (PE1), promovendo hiperventilação e conseqüente aumento da PaO_2 após o exercício, sendo um mecanismo importante de compensação da acidose metabólica.

A acidose metabólica é reconhecida rapidamente e compensada por uma resposta respiratória com aumento da ventilação que reduzirá a pCO_2 em minutos (CARLSON, 1997). Embora não significativo, no momento de 15min pós-exercício (PE2) da P2 a frequência respiratória do grupo suplementado foi muito superior ao grupo controle e tem relação com o menor pH verificado no GE.

A temperatura retal apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) no PE1 e/ou PE2 em relação ao repouso (M0), sendo caracterizada como hipertermia imediatamente após o exercício (SPIERS, 1999), devido ao aumento do metabolismo dos animais durante o exercício.

Apesar de não ser detectada diferença significativa após 30 minutos os valores de frequência respiratória e temperatura retal ainda permanecem mais elevados que no M0.

Tabela 19. Medianas e percentis ($P_{25};P_{75}$) da frequência respiratória (FR) e temperatura retal (TR), nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas antes (M0) e após o exercício (PE)

Variável	Prova	Grupo	Momentos			
			M0	PE1	PE2 15 min	PE3 30 min
FR (mpm)	P1	GC	11 (9; 12) ^b	52 (49; 59) ^a	37 (17; 59) ^{ab}	23 (17; 31) ^{ab}
		GE	8 (8; 12) ^b	72 (59; 86) ^a	48 (35; 59) ^{ab}	25 (20; 32) ^{ab}
	P2	GC	8 (6; 9) ^b	78 (66; 89) ^a	36 (30; 56) ^{ab}	29 (22; 40) ^{ab}
		GE	7 (7; 10) ^b	77 (74; 80) ^a	63 (45; 75) ^{ab}	28 (26; 32) ^{ab}
TR (°C)	P1	GC	37,0 (36,9; 37,1) ^b	38,6 (38,6; 38,6) ^{ab}	38,7 (38,5; 38,9) ^a	38,7 (38,5; 38,9) ^{ab}
		GE	37,4 (37,3; 37,5) ^b	39,1 (38,7; 39,4) ^a	38,8 (38,5; 39,1) ^{ab}	38,2 (38,1; 38,3) ^{ab}
	P2	GC	37,2 (37,0; 37,3) ^b	38,9 (38,7; 39,0) ^{ab}	38,9 (38,8; 39,1) ^a	38,6 (38,4; 38,8) ^{ab}
		GE	37,4 (37,3; 37,5) ^b	38,9 (38,7; 39,3) ^a	39,0 (38,8; 39,2) ^a	38,5 (38,5; 38,6) ^{ab}

Valores na mesma linha seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre grupos, para o mesmo momento e prova

PE1 = imediatamente após o exercício

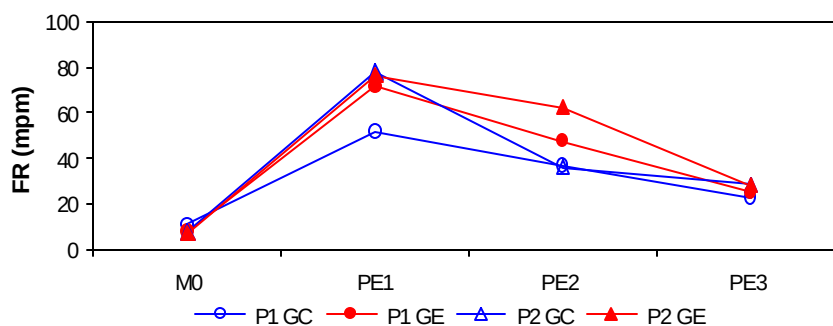


Figura 21. Medianas da frequência respiratória (FR) em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado vitamina E (GE), mensuradas antes (M0) e imediatamente (PE1), 15min (PE2) e 30min (PE3) após o exercício

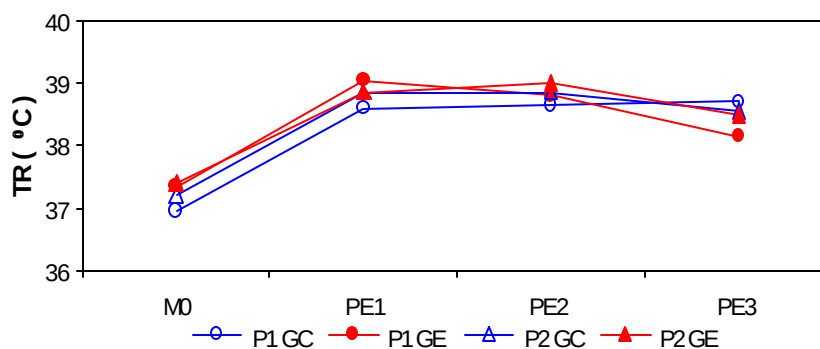


Figura 22. Medianas da temperatura retal (TR) em equinos da raça Árabe, nas provas P1 (pré-treinamento) e P2 (pós-treinamento) de exercício progressivo em esteira, nos grupos controle (GC) e suplementado vitamina E (GE), mensuradas antes (M0) e imediatamente (PE1), 15min (PE2) e 30min (PE3) após o exercício

5.2.7 Temperatura do ambiente e a umidade relativa do ar

A média dos resultados da temperatura ambiente e a umidade relativa do ar no salão de exercício nos dias das provas de exercício estão apresentados na tabela 20. Embora os dados não tenham sido analisados estatisticamente, observam-se poucas oscilações tanto da temperatura ambiente como da umidade relativa do ar nos dias de provas.

Segundo Hargreaves et al. (1999), temperaturas médias de 18° C e 31° C são consideradas fresca e quente, respectivamente, e umidade relativa do ar de 47% e 69% são consideradas seco e úmida, respectivamente. Os autores submeteram equínos a diferentes climas e encontraram maiores frequências cardíacas, respiratórias, aumentos de proteína plasmática total e volume globular em condições quente e úmida. No presente estudo podemos considerar as condições climáticas do salão de exercícios como fresca e úmida.

Tabela 20. Valores médios e desvios-padrão da temperatura ambiente (TA) e umidade relativa do ar (UR) mensuradas antes e após as provas de exercício progressivo em esteira de alta velocidade

Variável	Prova	Grupo	Momentos	
			Pré - exercício	Pós - exercício
TA (°C)	P1	GC	17,7±0,8	19,3±1,5
		GE	19,5 ±1,1	20,4 ±1,2
	P2	GC	21,0±1,0	21,7±1,2
		GE	21,1±1,7	21,7±1,9
UR (%)	P1	GC	66,0±9,0	68,3±6,8
		GE	76,3±11,0	77,5±9,9
	P2	GC	70,5±11,8	72,3±10,3
		GE	77,8±4,9	78,5±4,4

5.3. Treinamento em esteira

5.3.1. Frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, temperatura ambiente e umidade relativa do ar

Os valores médios das frequências cardíacas dos grupos controle e suplementado durante vinte dias de treinamento podem ser observados na tabela 20 e figura 21.

Observou-se o efeito benéfico do treinamento pela diminuição da frequência cardíaca. Quando comparados os animais no primeiro dia de treinamento (D1) e no último dia (D20), esta resposta manteve-se em todos os momentos (antes, durante e após o exercício), demonstrando que os animais tornaram-se condicionados à realização deste protocolo, por uma adaptação comportamental ao exercício. Evans (2000) relatou a diminuição da frequência cardíaca após um período de treinamento em esteira de alta velocidade, tanto no repouso como na velocidade máxima atingida durante o exercício, sugerindo que o treinamento pode influenciar na diminuição deste parâmetro.

A frequência cardíaca de 200 batimentos por minuto (V_{200}) informa a capacidade de trabalho aeróbio do equino, a partir desta frequência pode-se inferir que o animal iniciou o metabolismo anaeróbio. O treinamento realizado no experimento demonstrou no D1 a V_{200} à velocidade de 10m/s para o grupo controle de 200 ($\pm 19,8$ bpm) e 211 ($\pm 7,3$) para o GE. No dia D20 observa-se a diminuição da frequência cardíaca no GC ($183 \pm 5,3$ bpm) e no GE ($192 \pm 7,3$) na mesma velocidade, Evans (1994), não observaram alterações na frequência cardíaca máxima após o exercício em equinos submetidos ao treinamento.

Observar-se que, em ambos os grupos após 20 dias de treinamento (D20) houve redução dos valores de FC a 1,6m/s, na fase de desaquecimento, ($73 \pm 4,7$

bpm no GC e $86 \pm 19,3$ bpm no GE) quando comparados ao primeiro dia de treinamento (D1) ($79 \pm 1,0$ bpm no GC e $92 \pm 8,8$ bpm no GE), indicando que o treinamento promoveu um condicionamento ao exercício com recuperação mais rápida.

As respostas ao treinamento da frequência respiratória e da temperatura retal apresentaram o mesmo comportamento da frequência cardíaca, diminuindo ao longo do período de treinamento (Tabela 22, Figura 24). Podendo ser atribuída ao aumento da capacidade aeróbia com aumento do consumo máximo de oxigênio conseqüente ao treinamento (GOTTLIEB-VEDI, 1995).

O aumento da temperatura retal após o exercício encontra-se dentro dos limites fisiológicos para eqüinos, não caracterizando hipertermia (SPEIRS, 1999).

Os valores médios da temperatura ambiente e umidade relativa do ar durante o período de treinamento podem ser observados na tabela 23 e figura 25. O clima da região de Botucatu apresenta temperatura média anual de 19°C . Observa-se que o Centro de Medicina Esportiva Eqüina é um ambiente fresco e úmido, vale ressaltar que o treinamento foi realizado entre 5:30 e 8:30 horas, em que as temperaturas ambientes são mais baixas.

O treinamento deve ser planejado, com a intensidade de exercício compatível com a prova a que serão submetidos. A avaliação dos parâmetros fisiológicos como a frequência cardíaca, respiratória e temperatura retal confirmam os resultados do protocolo empregado.

Tabela 21. Médias e desvios-padrão das frequências cardíacas (bpm) em equinos da raça Árabe, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas a cada cinco dias, por 20 dias, antes (M0) e durante (m/s) o protocolo de exercício de treinamento ao final de cada velocidade

Momentos	Grupo	Dias de treinamento				
		1	5	10	15	20
M0	GC	37±6,9	37±2,6	41±11,8	35±5,4	40±5,6
	GE	33±5,0	32±1,0	36±2,5	39±10,9	36±4,5
1,8 m/s	GC	74±19,1	70±3,3	71±8,2	69±7,3	62±11,3
	GE	80±11,1	74±9,2	71±4,9	74±7,5	69±12,8
4,0 m/s	GC	123±5,8	118±4,4	113±9,9	111±13,0	114±17,2
	GE	130±19,0	116±7,8	117±4,5	113±9,8	114±14,0
6,2 m/s	GC	158±17,7	144±7,0	138±11,4	134±9,0	140±10,2
	GE	160±23,1	155±21,8	145±14,2	145±13,6	140±21,6
8,0 m/s	GC	176±10,0	166±7,5	160±4,5	157±10,5	158±8,7
	GE	186±18,0	184±23,1	176±25,2	180±23,7	168±20,0
10,0 m/s	GC	200±19,8	179±4,7	186±13,2	176±9,2	183±5,3
	GE	211±7,3	201±10,9	195±12,3	196±10,3	192±15,6
3,0 m/s	GC	108±2,5	103±2,9	107±3,1	100±7,0	102±9,6
	GE	118±6,2	114±6,2	110±4,5	111±4,8	107±7,7
1,6 m/s	GC	79±1,0	77±5,5	79±6,2	71±4,7	73±4,7
	GE	92±8,8	88±11,9	84±7,4	88±12,8	86±19,3

bpm: batimentos por minuto

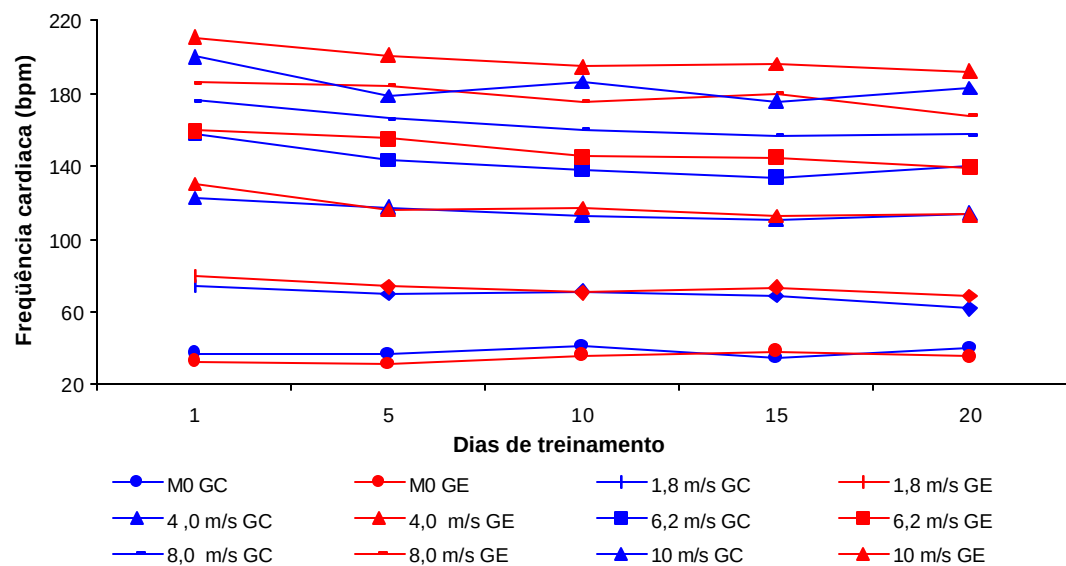


Tabela 22. Médias das frequências respiratórias (FR) e temperatura retal (TR) em equinos da raça Árabe, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas a cada cinco dias, por 20 dias, pré e pós-exercício durante o período de treinamento

Variável	Momento	Grupo	Dias de treinamento				
			1	5	10	15	20
FR (mpm)	Pré-exercício	GC	10 ±3,7	10±1,8	11±3,4	8±1,2	7±2,2
		GE	9±0,8	9±2,2	9±1,3	8±1,5	7±1,3
	Pós-exercício	GC	32±11,6	31±7,5	35±21,0	24±1,5	34±19,1
		GE	40±35,5	33±8,0	45±28,7	40±13,9	32±10,2
TR (°C)	Pré-exercício	GC	37,1±0,3	37,6±0,9	36,8±0,3	36,9±0,4	37,0±0,1
		GE	37,1±0,2	37,2±0,2	37,3±0,2	37,1±0,5	37,2±0,4
	Pós-exercício	GC	38,4±0,2	38,6±0,7	38,0±0,3	37,9±0,2	38,1±,2
		GE	38,2±0,5	38,2±0,4	38,2±0,2	38,1±0,2	38,0±0,3

mpm = movimentos por minuto

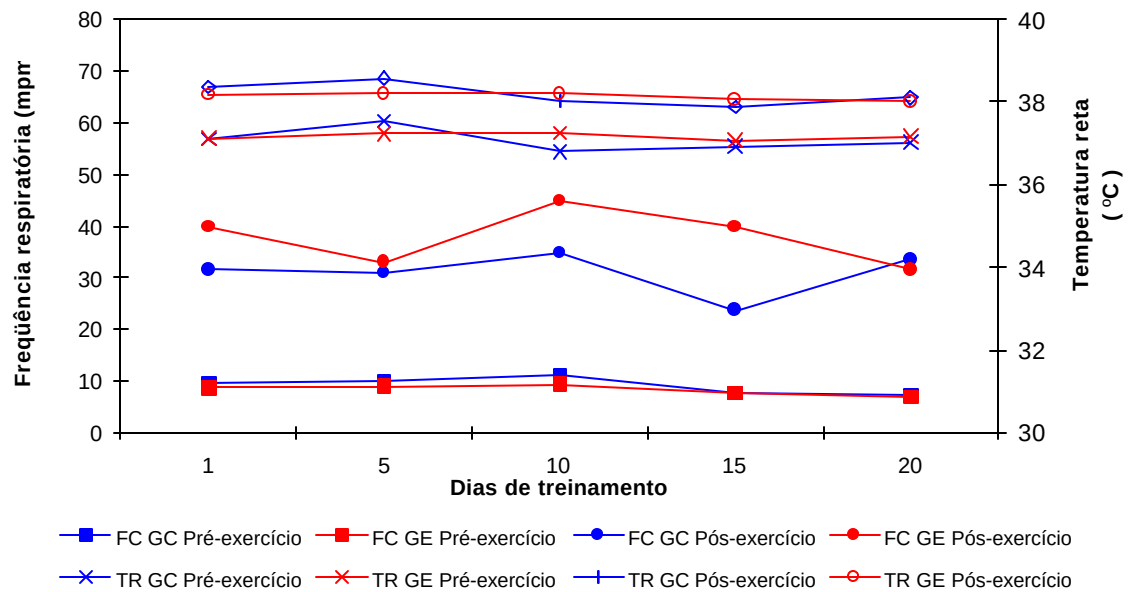


Figura 24. Médias das frequências respiratórias e temperatura retal em equinos da raça Árabe, nos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas pré e pós-exercício a cada cinco dias, por 20 dias, durante o período de treinamento

Tabela 23. Médias e desvios-padrão da temperatura ambiente (TA) e umidade relativa do ar (UR) e no salão de exercícios, durante o período de treinamento dos equinos dos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas a cada cinco dias, por 20 dias, pré e pós-exercício

Variável	Momento	Grupo	Dias de treinamento				
			1	5	10	15	20
TA (°C)	Pré-exercício	GC	18,6±3,2	18,3±3,4	18,6±2,6	18,6±3,3	20,7±3,3
		GE	19,0±2,3	19,4±2,3	21,2±3,7	20,9±2,4	20,2±1,7
	Pós-exercício	GC	19,0±3,2	18,9±3,3	19,2±2,6	20,3±2,1	21,1±3,4
		GE	19,6±2,1	19,8±2,2	21,7±3,7	21,4±2,7	20,7±1,6
UR (%)	Pré-exercício	GC	67±13,8	71±3,3	70±11,9	74±3,5	65±7,1
		GE	80±5,8	79±7,1	76±6,7	75±7,3	79±1,7
	Pós-exercício	GC	68±14,2	72±3,4	71±11,3	69±14,4	65±7,6
		GE	80±5,7	80±7,1	77±5,2	75±7,6	79±2,5

PE1 = imediatamente após o exercício

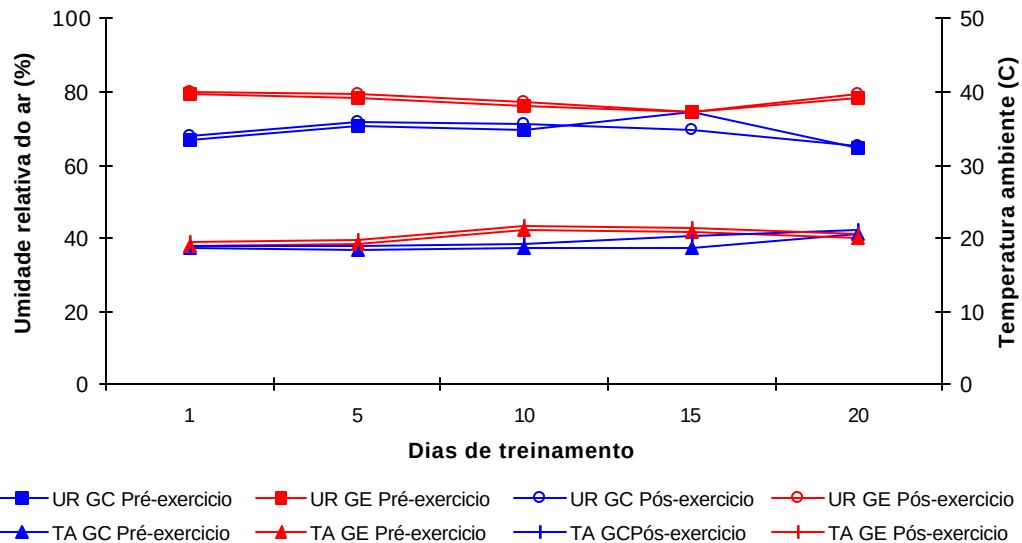


Figura 25. Médias da umidade relativa do ar (UR) e temperatura ambiente (TA) no salão de exercícios, durante o período de treinamento dos equinos dos grupos controle (GC) e suplementado com vitamina E (GE), mensuradas a cada cinco dias, por 20 dias, pré e pós-exercício

6. CONCLUSÕES

Nas condições que foi realizado este experimento, pode-se concluir que:

- Durante o exercício progressivo em esteira ocorre hemoconcentração com aumento do número de eritrócito e da proteína plasmática total, devido à contração esplênica e a redução do volume plasmático.
- O exercício progressivo em esteira induziu aumento do volume eritrocitário por tumefação celular por até 30 minutos após o exercício.
- O exercício progressivo em esteira provoca aumento do volume plasmático e “anemia do esporte”, em eqüinos da raça Árabe, entre 24 e 120 horas após o exercício.
- Após o exercício ocorreu consumo da glutathione reduzida (GSH) eritrocitária proporcional à necessidade para a reciclagem da vitamina E oxidada.
- O exercício adotado não induz formação de metahemoglobina em eqüinos da raça Árabe, com concentrações adequadas de glutathione (GSH) e superóxido dismutase (SOD) eritrocitários.
- O exercício progressivo provoca estresse oxidativo e lipoperoxidação em eqüinos da raça Árabe e a suplementação com vitamina E é eficiente na atenuação da lipoperoxidação.
- Durante o exercício progressivo ocorre elevação dos valores séricos das enzimas creatinoquinase (CK) e aspartato aminotransferase (AST).

7. REFERÊNCIAS ¹

AGUILERA-TOLEDO, 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. **Res. Vet. Sci.**, London, v.68, p.103-108, 2000.

ANDERSON, M.G. The influence of exercise on serum enzyme levels in the horse. **Equine Vet. J.**, London, v.7, n.3, p.160-165, 1975.

ARAUJO, C.F.; MORAES, M.S.; DINIZ, A.P.S.; COSENDEY, A.E. Pseudoanemia dilucional e os atletas olímpicos. **RBAC**, Rio de Janeiro, v.36, n.4, p.197-200, 2004.

ARNAUD, J.; FORTIS, I.; BLACHIER, D.; FAVIER, D. Simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and β -carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.572, p.103-116, 1991.

AVELLINI, L.; CHIARADIA, E.; GAITI, A. Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*). **Comp. Biochem. Physiol. B**, Oxford, v.123, p.147-154, 1999.

AVELLINI, L.; SILVESTRELLI, M.; GAITI, A. training-induced modifications in some biochemical defenses against free radicals in equine erythrocytes. **Vet. Res. Commun.**, Dordrecht, v. 19, p.179-184, 1995.

BALOGH, N.; GAÁL, T.; RIBICZEYNÉ, P.S.; PETRI, Á. Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of Pentathlon horses before and after exercise. **Vet. Clin. Pathol.**, Santa Bárbara, v.30, n.4, p.214-218, 2001.

BARRAVIERA, B.; MACHADO, P.E.A. Glutathione redutase e grupos SH reativos intra-eritrocitários- revisão. **Arq. Bras. Med.**, Rio de Janeiro, v.61, n.6, p.399-403, 1987.

¹ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**:informação e documentação- Referências-Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.
BIOSIS.Serial sources for the BIOSIS preview database. Philadelphia, 1996. 468p.

BEUTLER, E. Glutathione. In: __. **Red cell metabolism: a manual of biochemical methods** 3.ed. Orlando: Grune e Stratton, 1984. p.131-134.

BEUTLER, E. Energy metabolism and maintenance of erythrocytes. In: WILLIAM, J.W.; BEUTLER, E.; ERSLEV, A.J. **Hematology**. 4.ed. New York: McGraw Hill, 1990. p.355-368.

BIANCHINI-PONTUSCHKA, R.; PENTEADO, M.V.C. Vitamina E. In: PENTEADO, M.V.C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. São Paulo: Manole, 2003. p.122-164.

BLAND, J.S. Oxidantes and antoxidantes in clinical medicine: past, present and future potencial. **J. Nutr. Environ. Med.**, New York, v.5, p.255-280, 1995.

BOUCHER, J.H.; FERGUSON, E.W.; WILHELMSSEN, C.L.; STATHAM, N. McMEEKIN, R.R. Erythrocyte alterations during endurance exercise in horses. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v.51, n.1, p.131-134, 1981.

BURTON, G.W.; TRABER, M.G. Vitamin E: Antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. **Ann. Rev. Nutr.**, Palo Alto, v.10, p.357-382, 1990.

CARLSON, G.P. Interrelationships between fluid electrolyte and acid-basebalance during maximal exercise. **Equine Vet. J.**, London, v.18, p.261-265, 1995.

CARLSON, G.P. Fluid, eletrolyte, and acid-base balance. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1997. cap.7, p. 157-203

CARRELL, R.W.; WINTERBOURN, C.C.; RACHMILEWITZ, E.A. Activated oxygen and haemolysis. **Br. J. Haematol.**, Oxford, v.30, p.259-265, 1975.

CHIARADIA, E.; AVELLINI, L.; RUECA, F.; SPATERNA, A.; PORCIELLO, F.; ANTONIONI, M.T.; GAITI, A. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage

in racehorses. **Comp. Biochem. Physiol. B**, Oxford, v.119, p.833-836, 1998.

CHOW, C.K. Vitamin E and oxidative stress. **Free Radic. Biol. Med.**, Oxford, v.11, p.215-232, 1991.

CHRISTIAN, J.A. Red blood cell survival and destruction. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Cap.20, p.117-124.

CLAYCOMBE, K.J.; MEYDANI, S.N. Vitamin E and genome stability. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.475, p.37-44, 2001.

CLEMENS, M.R., WALLER, H.D. Lipid peroxidation in erythrocytes. **Chem. Phys. Lipids.**, Limerick, v.45, p.251-268, 1987.

COSTAGLIOLA, C.; LIBONDI, M.M.; RINALDI, E.; AURICHIO, G. Vitamin E and red blood cell glutathione. **Metabolism**, Philadelphia, v.34, n.8, p.712-714, 1985.

CRAIG, A.M.; BLYTHE, L.L.; LASSEN, E.D.; ROWE, K.E.; BARRINGTON, R.; SLIZESKI, M. Variations of serum vitamin E, cholesterol, and total serum lipid concentrations in horses during a 72-hour period. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v.50, n.9, p.1527-1531, 1989.

CURI, P.R. **Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas**. 2.ed. Botucatu: Tipmic, 1998. 263p.

DEATON, C.M.; MARLIN, D.J.; SMITH, N.C.; HARRIS, P.A.; SCHROTER, R.C.; KELLY, F.J. Antioxidant supplementation in horses affected by recurrent airway obstruction. **J. Nutr.**, London, v.134, p.2065S-2067S, 2004.

DRESSENDORFER, R.H.; WADE, C.E.; AMSTERDAM, E.A. Development of pseudoanemia in marathon runners during a 20-day road race. **JAMA**, Chicago, v.246, n.11, p.1215-1218, 1981.

DUTTA-ROY, A.K.; GORDON, M.J.; CAMPBELL, F.M.; DUTHIE, G.G.; JAMES, W.P.T. Vitamina E requirements, transport, and metabolism: role of α -tocopherol-binding proteins. **J. Nutr. Biochem.**, Stoneham, v.5, n.12, p.562-570, 1994.

EVANS, D.L. The cardiovascular system: anatomy, physiology, and adaptations to exercise and training. In: HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. cap.7, p. 129-143.

EVANS, D.L. **Training and fitness in athletic horses**. Sidney: RIRDC, 2000. 87p.

EVELYN, K.A.; MALLOY, H.T. Microdetermination of oxyhemoglobin, methemoglobin, and sulfhemoglobin in a single sample of blood. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v.126, p.655-662, 1938.

FALCONI, M.; O'NEILL, P.; STROPPOLO, M.E.; DESIDERI, A. Superoxide dismutase kinetics. **Methods Enzimol.**, New York, v.349, p.38-49, 2002.

FRIDOVICH, I. Superoxide dismutases. **Ann. Rev. Bioch.**, Palo Alto, v.44. p.147-159, 1975.

GILLEN, C.M.; LEE, R.; MACK, G.W.; TOMASELLI, C.M.; NISHIYASU, T.; NADEL, E.R. Plasma volume expansion in humans after a single intense exercise protocol. **J Appl Physiol.**, Bethesda, v.71, p.1914-1920, 1991.

GOTTLIEB-VEDI, M.; PERSSON, S.; ERICKSON, H.; KORBUTIAK, E. Cardiovascular, respiratory and metabolic effects of interval training at VLA4. **J. Vet. Med.**, Berlin, v.42, n.3, p.165-175, 1995.

GUTTERIDGE, J.M.C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. **Clin. Chem.**, Washington, v.41, n.12, p.1819-1828, 1995.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutr. Rev.**, New York, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine..** 3.ed. New York: Oxford University Press, 2001. 936p.

HAMBITZER, R. Changes in equine red blood cells during endurance exercise. **Isr. J. Vet. Med.**, Rishon Le-Zion, v.43, n.2, p.91-95, 1987.

HANZAWA, K.; KAI, M.; HIRAGA, A.; WATANABE, S. Fragility of red cells during exercise is affected by blood pH and temperature. **Equine Vet. J.**, London, v.30, p.610-611, 1999.

HANZAWA, K.; WATANABE, S. Changes in osmotic fragility of erythrocytes during exercise in athletic horses. **J. Equine Sci.**, Tokyo, v.11, n.3, p.51-61, 2000.

HARGREAVES, B.J.; KRONFELD, D.S.; NAYLOR, J.R.J. Ambient temperature and relative humidity influenced packed cell volume, total plasma protein and other variables in horses during an incremental submaximal field exercise test. **Equine Vet. J.**, London, v.31, n.4, p.314-318, 1999.

HARRIS, P.A.; MARLIN, D.J.; GRAY, J. Plasma aspartate aminotransferase and creatine kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. **Vet. J.**, London, v.155, p.295-304, 1998.

HARVEY, J.W. The erythrocyte: physiology, metabolism, and biochemical disorders. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1997. cap.7, p.157-203.

HARVEY, J.W.; KANEKO, J.J. Mammalian erythrocyte metabolism and oxidant drugs. **Toxic. Appl. Pharmacol.**, San Diego, v.42, p.253-261, 1977.

HARVEY, J.W.; STOCKHAM, M.A.; JOHNSON, P.J.; DONALD, J.J.; CHANDLER, C.J. Methemoglobinemia and eccentrocytosis in equine erythrocyte flavin adenine dinucleotide deficiency. **Vet. Pathol.**, Washington, v.40, p.632-642, 2003.

HATHERILL, J.R.; TILL, G.O.; WARD, P.A. Mechanisms of oxidant-induced changes in erythrocytes. **Agents Actions**, Swizerland, v.32, p.351-358, 1991.

HEBBEL, R.P. erythrocytes antioxidants and membrane vulnerability. **J. Lab. Clin. Med.**, St. Louis, v.107, n.5, p.401-404, 1986.

HOKAMA, N.K.; MATSUBARA, L.S.; MACHADO, P.E.A. Fisiologia eritrocitária e hemólise. **J. Bras. Med.**, Rio de Janeiro, v.72, n.3, p.19-32, 1997.

JACOB, H.S.; JANDL, J.H. Effect of sulfhydryl inhibition on red blood cells. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v.241, n.18, p.4243-4250, 1966.

JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

JI, L.L. oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrient. **Free Radic. Biol. Med.**, Oxford, v.18, n.6, p.1079-1986, 1995.

JI, L.L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, Baltimore, v.222, n.3, p.283-292, 1999.

JI, L.L.; DILLON, D.A.; BUMP, M.S.; LAWRENCE, L.M. Antioxidant enzyme response to exercise in equine erythrocytes. **J. Equine Vet. Sci.**, Wildomar, v.10, n.5, p.380-383, 1990.

JONES, W.E. Performance profiling. In: _____. **Equine sports medicine**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989. p.205-214.

KAMERLING, S.G. Assessment of drug effects on performance. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, Philadelphia, v.9, n.3, p.493-510, 1993.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.

KANTER, M.M.; NOLTE, L.A.; HOLLOSZY, J.O. Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v.72, n.2, p.965-969, 1993.

KARATAS, F.; KARATEPE, M.; BAYSAR, A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. **Anal. Biochem.**, New York, v.311, p.76-79, 2002.

KASIE, F.; PARZEFALL, W.; KNASMÜLLER, S. Single cell gel eletrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.463, p.13-31, 2000.

KINNUNEN, S.; HYYPPÄ, S.; LEHMUSKERO, A.; OKSALA, N.; MÄENPÄÄ, P.; HÄNNINEN, O.; ATALAY, M. Oxigen radicals absorbance capacity (ORAC) and exercise-induced oxidative stress in trotters. **J. Sports Sci. Med.**, London, v.95, p.550-556, 2005a.

KINNUNEN, S.; ATALAY, M.; HYYPPÄ, S.; LEHMUSKERO, A.; HÄNNINEN, O.; OKSALA, N.; Oxigen radicals absorbance capacity (ORAC) and exercise-induced oxidative stress in trotters. **Eur. J. Appl. Physiol.**, Heidelberg, v.4, p.415-421, 2005b.

KRAMER, J.W. Normal hematology of the horse. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams, 2000. p.1069-1074.

KRONFELD, D.S.; CUSTALOW, S.E.; FERRANTE, P.L.; TAYLOR, L.E.; MOLL, D.H.; MEACHAM, T.N.; TIEGS, W. Determination of the lactate breakpoint during incremental exercise in horses adapted to dietary corn oil. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v.18, supl., p.266-269, 2000.

KURATA, M.; SUZUKI, M.; AGAR, N.S. Glutathione regeneration in mammalian erythrocytes. **Comp. Haematol. Int.**, London, v.10, p.59-67, 2000.

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: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. cap.6, p. 79-128.

LINDINGER, M.I.; GRUDZIEN, S.P. Exercise-induced changes in plasma composition increase erythrocyte Na^+ , K^+ -ATPase, but not Na^+ - K^+ - 2Cl^- cotransporter, activity to stimulate net and unidirectional K^+ transport in humans. **J. Physiol.**, London, v.553, p.987-997, 2003.

LUBIN, A.; DESFORGES, J.F. Effect of heinz bodies on red cell deformability. **Blood**, Duluth, v.39, n.5, p.658-665, 1972.

MACHADO, L.P.; SILVEIRA, V.F.; SAITO, M.E.; KOHAYAGAWA, A. Glutathione reduzida eritrocitária (GSH) em eqüinos da raça Árabe, efeito do armazenamento do sangue a 4°C e do sobrenadante ácido a -80°C. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São Paulo, v.27, supl. 2, p.182-182, 2005.

MANOHAR, M.; GOETZ, T.E.; HASSAN, A.S. Effect of prior high-intensity exercise on exercise-induced arterial hypoxemia in Thoroughbred horses. **J. App. Physiol.**, Bethesda, v.90, p.2371-2377, 2001.

MARLIN, D.J.; FENN, K.; SMITH, N.; DEATON, C.D.; ROBERTS, C.A.; HARRIS, P.A.; DUNSTER, C.; KELLY, F.J. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. **J. Nutr.**, London, v.132, p.1622S-1627S, 2002.

MASINI, A.P.; BARAGLI, P.; TEDESCHI, D.; LUBAS, G.; MARTINELLI, F.; GAVASSA, A.; SIGHIERI, C. Behaviour of mean erythrocyte volume during submaximal treadmill exercise in the horse. **Comp. Haematol. Int.**, London, v.10, p.38-42, 2000.

McARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 695p.

McCULLOCH, C.E.; SEARLE, S.R. **Linear and generalized linear mixed models**. New York: Wiley, 2001. 358p.

McCURTCHEN, L.J.; BYRD, S.K.; HODGSON, D.R. Ultrastructural changes in skeletal muscle after fatiguing exercise. **J. App. Physiol.**, Bethesda, v.72, p.1111-1117, 1992.

McMENIMAN, N.P.; HINTZ, H.F. Exercise and antioxidants. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 1991, New York. **Anais...** New York: Cornell University Agricultural Experiment Station, 1991. p.38-43.

MEDEIROS, L.O.; NURMBERGER JR., R.; MEDEIROS, L.F. The special behavior of equine erythrocytes connected with the methemoglobin regulation. **Comp. Biochem. Physiol. B**, Oxford, v.78, p.869-871, 1984.

MEYDANI, M. Vitamina E. **Lancet**, London, n.345, p.170-175, 1995.

MILLS, P.C.; SMITH, N.C.; CASAS, I.; HARRIS, P.; HARRIS, R.C.; MARLIN, D.J. Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. **Eur. J. Appl. Physiol.**, Heidelberg, v.74, p.60-66, 1996.

MISRA, H.P.; FRIDOVICH, I. The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v.247, n.21, p. 6960-6962, 1972.

MOFFARTS, B.; KIRSCHVINK, N.; ART, T.; PINCEMAIL, J.; LEKEUX, P. Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidants status in trained thoroughbred horses. **Vet. J.**, London, v.169, n.1, p.7-9, 2005.

MUÑOZ, A.; SANTISTEBAN, M.D.; RUBIO, M.D.; RIBER, C.; AGUERA, E.I.; CASTEJÓN, F.M.; Locomotor response to exercise in relation to plasma lactate accumulation and heart rate in andalusian and anglo-arabian horses. **Vet. Res. Commun.**, Amsterdam, v.23, p.369-384, 1999.

MURPHY, J.R. Erythrocyte metabolism. **J. Lab. Clin. Med.**, St. Louis, v.55, p.281-286, 1960.

ONO, K.; INUI, K.; HASEGAWA, T.; MATSUKI, N.; WATANABE, H.; TAKAGI, S.; HASEGAWA, A.; TOMODA, I. The changes of antioxidative enzyme activities in equine erythrocytes following exercise. **Jpn. J. Vet. Sci.**, Tokyo, v.52, n.4, p.759-765, 1990.

ONO, K.; INUI, K.; HASEGAWA, T.; WATANABE, H.; TAKAGI, S.; HASEGAWA, A.; TOMODA, I. Superóxido dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in equine erythrocytes. **J. J. Vet. Sci.**, Tokyo, v.52, n.4, p.759-765, 1989.

OTERO, J.; TONI, P.; GARCIA-MORATO, V. CuZn superóxido dismutasa: metodo para su determinacion. **Rev. Ib. Am. Invest. Clin.**, Madrid, v.2, p.121-127, 1983.

OZTURK, L.; MANSOUR, B.; YÜKSEL, M.; YALÇIN, A.S.; ÇELIKOĞLU, F.; GÓKHAN, N. Lipid peroxidation and osmotic fragility of red blood cells in sleep-apnea patients. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam, v.332, p.83-88, 2003.

PHUNG, C.D.; EZIEME, J.A.; TURRENS, J.F. Hydrogen peroxide metabolism in skeletal muscle mitochondria. **Arch. Biochem. Biophys.**, New York, v.315, n.2, p.479-482, 1994.

PHYSICK-SHEARD, P.W. Cardiovascular response to exercise and training in the horse. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, Bethesda, v.1, n.3, p.383-385, 1985.

PRCHALL, J.T.; GREGG, X.T. Red cell enzymopathies. In: HOFMAN, R.; BENZ JR., E.J.; SHATTIL, S.J.; FURIE, B.; COHEN, H.J.; SILBERSTEIN, L.E.; MCGLAVE, P. **Hematology**. 3.ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000, cap.32, p.561-576.

RIFKIND, R.A. Heinz body anemia: an ultrastructural study. II. Red cell sequestration and destruction. **Blood**, Duluth, v.26, n.4, p.433-448, 1965.

ROCK, C.L.; JACOB, R.A.; BOWEN, P.E. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. **J. Am. Diet. Assoc.**, Chicago, v.96, n.7, p.693-703, 1996.

ROSE, R.J.; HODGSON, D.R. Hematology and biochemistry. In: HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. **The athletic horse**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. Cap.5, p.65-78.

SACHECK, J.M.; BLUMBERG, J.B. Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. **Nutrition**, London, v.17, p.809-814, 2001.

SCHNEIDER, C.D.; OLIVEIRA, A.R. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. **Rev. Bras. Med. Esporte**, São Paulo, v.10, p.314-318, 2004.

SEEHERRMAN, H.J.; MORRIS, E.A. Methodology and repeatability of the standardized treadmill exercise test for clinical evaluation of fitness in horse. **Equine Vet. J.**, London, v.9, suppl., p.20-25, 1990.

SEN, C.K. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. **J. Nutr. Biochem.**, Stoneham, v.8, p.660-672, 1997.

SEN, C.K. Antioxidants in exercise nutrition. **Sports Med.**, Auckland, v.31, n.13, p.891-908, 2001.

SENTÜRK, Ü.K.; GÜNDÜZ, F.; KURU, O.; AKTEKIN, M.R.; KIPMEN, D.; YALÇIN, Ö.; BOR-KÜÇÜKATAY, M.; YESILKAYA, A.; BASKURT, O.K. Exercise-induced

oxidative stress affects erythrocytes in sedentary rats but not exercise-trained rats. **J. Appl. Physiol.**, Whashington, v.91, p. 1999-2004, 2001.

SICILIANO, P.D.; LAWRENCE, L.M.; DANIELSEN, K.; POWELL, D.M.; THOMPSON, K.N. Effect of conditioning and exercise type on serum creatine kinase and aspartate aminotransferase activity. **Equine Vet. J.**, London, v.18, suppl., p.243-247, 1995.

SILVEIRA, V.F. **Malondialdeído, vitamina E, cortisol, hemograma e enzimas musculares em eqüinos da raça Árabe submetidos ao exercício em esteira de alta velocidade**. 2005. 92p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SJÖDIN, B.; WESTING, Y.H.; APPLE, F.S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. **Sports Med.**, Auckland, v.10, n.4, p.236-254, 1990.

SMITH, J.E.; ERICKSON, H.H.; DEBOWES, R.M. Changes in circulating equine erythrocytes induced by brief, high-speed exercise. **Equine Vet. J.**, London, v.21, n.6, p.444-446, 1989.

SMITH, J.A.; KOLBUCH-BRANDDON, M.; GILLAN, I.; TELFORD, R.D.; WEIDEMAN, M.J. Changes in the susceptibility of red blood cells to oxidative and osmotic stress following submaximal exercise. **Eur. J. Appl. Physiol.**, Heidelberg, v. 70, p.427-436, 1995.

SNYDER, L.M.; FORTIER, N.L.; TRAINOR, J.; Effect of hydrogen peroxide exposure on normal human erythrocyte deformability, morfology, surface characteristics, and spectrin-hemoglobin cross-linking. **J. Clin. Invest.**, New York, v.76, p.1971-1977, 1985.

SPIERS, V.C. **Exame clínico de eqüinos**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. 366 p.

SPEAKE, P.F.; ROBERTS, C.A.; GIBSON, J.S. Effect of change in respiratory blood parameters on red blood cell K-Cl cotransporter. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v.273, p.1811-1818, 1997.

STEINBERG, M.H.; BENZ JR., E.J. Pathobiology of the human erythrocyte and its hemoglobins. In: HOFMAN, R.; BENZ JR, E.J.; SHATTIL, S.J.; FURIE, B.; COHEN, H.J.; SILBERSTEIN, L.E.; MCGLAVE, P. **Hematology**. 3.ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. cap.4, p.356-367.

STOCKS, J.; DORMANDY, T.L. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. **Br. J. Haematol.**, Oxford, v.20, p.95-111, 1971.

STOWE, H. D. Alpha-tocopherol requirements for equine erythrocyte stability. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 21, n.2 , 1968.

TAVAZZI, B.; DI PIERRO, D.; AMORINI, A.M.; FAZZINA, G.; TUTTOBENE, M.; GIARDINA, B.; LAZZARINO, G. Energy metabolism and lipid peroxidation of human erythrocytes as a function of increased oxidative stress. **Eur. J. Biochem.**, Berlim, v.267, 684-689, 2000.

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 Vet. J.**, London, v.18, suppl., p.326-330, 1995.

TAYLOR, L.E.; KRONFELD, D.S.; FERRANTE, P.L. Blood-gas measurements adjusted for temperature at three sites during incremental exercise in the horse. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v.85, n.3, p.1030-1036, 1998.

TELEN, M.J.; KAUFMAN, R.E. The mature erythrocyte. In: LEE, G.R.; FOERSTER, J.; LUKENS, J.; PARASKEVAS, F.; GREER, J.P.; RODGERS, G.M. **Wintrobe's clinical hematology**. 10ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1999. cap.10, p.193-227.

THOMAS, M.J. The role of free radicals and antioxidants. **Nutrition**, London, v.16, n.7/8, p.716-718, 2000.

THOMASSIAN, A.; WATANABE, M.J.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J.L.M.; FONSECA, B.P. Concentração de lactato sanguíneo e determinação do v4 de cavalos da raça árabe durante teste de exercício progressivo em esteira de alta velocidade. **Arch. Vet. Sc.**, Curitiba, v.10, n.1, p.63-68, 2005.

TRABER, M.G.; PARKER, L. Vitamin E: beyond antioxidant function. **Am. J. Clin. Nutr.**, New York, v.62, suppl., p.1501-1509, 1995.

WATANABE, M.J. **Avaliação das respostas metabólicas de cavalos da raça Árabe durante exercício de várias intensidades em esteira de alta velocidade**. 2004. 123p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

WEED, R.I. The importance of erythrocyte deformability. **Am. J. Med.**, Newton, v.49, n.2, p.147-150, 1970.

WEIGHT, L.M.; BYRNE, M.J.; JACOBS, P. Haemolytic effects of exercise. **Clin. Sci.**, Oxford, v.81, p.147-152, 1991.

WEISS, D.J.; EVASON, O.A. Effects of sodium and potassium concentrations and pH on equine erythrocyte volume deformability. **Comp. Haematol. Int.**, London, v.7, p.37-41, 1997.

WHITE, A.; ESTRADA, M.; WALKER, K.; WISNIA, P.; FIGUEIRA, G.; VALDÉZ, F.; ARANEDA, O.; BEHN, C.; MARTÍNEZ, R. Role of exercise and ascorbate on plasma

antioxidant capacity in thoroughbred race horses. **Comp. Biochem. Physiol. A**, Oxford, v.128, p.99-104, 2001.

WILLIAMS, C.A.; KRONFELD, D.S.; HESS, T.M.; SAKER, K.E.; WALDRONS, J.N.; CRANDELF, K.M.; HOFFMAN, R.M.; HARRIS, P.A. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v.82, p.588-594, 2004.

WILMORE, J.H.; COSTILL, D.L. **Fisiologia do esporte e do exercício**. 2.ed. São Paulo: Manole, 2001. 709p.