

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 08/02/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**RESPOSTAS METABÓLICAS E CONCORDÂNCIA ENTRE
MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DO LIMAR DE
LACTATO EM EQUINOS SUBMETIDOS A TREINAMENTO
SUBMÁXIMO**

Thayssa de Oliveira Littiere
Zootecnista

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**RESPOSTAS METABÓLICAS E CONCORDÂNCIA ENTRE
MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DO LIMIAR DE
LACTATO EM EQUINOS SUBMETIDOS A TREINAMENTO
SUBMÁXIMO**

Discente: Thayssa de Oliveira Littiere
Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Doutor em Ciência Animal

2024

L777r

Littiere, Thayssa de Oliveira

Respostas metabólicas e concordância entre métodos para determinação do limiar de lactato em equinos submetidos a treinamento submáximo / Thayssa de Oliveira Littiere. -- Jaboticabal, 2024

89 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Guilherme de Camargo Ferraz

1. Equino. 2. Obesidade. 3. Exercício físico. 4. Capacidade aeróbia. 5. Glicose. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A obesidade equina é preocupação na equideocultura, impactando não apenas a saúde e o bem-estar dos animais, mas também seu desempenho. Ao investigar as respostas metabólicas e a concordância entre diferentes métodos para predizer a máxima fase estável de lactato (MFEL), este estudo oferece uma base científica para desenvolver estratégias de combate à obesidade por meio do exercício físico. Além disso, a padronização de métodos para estimar a MFEL permite ajustar protocolos de forma individualizada para os cavalos, o que otimiza os programas de condicionamento, promovendo não apenas a perda de peso, mas também a melhora no desempenho físico dos animais. Deste modo, o presente estudo contribui para avanços no manejo e condicionamento físico dos cavalos, que estão diretamente relacionados ao bem-estar e saúde desses animais.

POTENCIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Equine obesity is a concern in horse breeding, impacting not only the animals' health and well-being but also their performance. By investigating metabolic responses and the agreement between different methods for predicting the maximum lactate steady state (MLSS), this study provides a scientific basis for developing strategies to combat obesity through physical exercise. Additionally, standardizing methods to estimate MLSS allows training protocols to be individually tailored to the horses, optimizing conditioning programs, promoting not only weight loss but also improved physical performance. Thus, this study contributes to advances in the management and physical conditioning of horses, which are directly related to their well-being and health.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: RESPOSTAS METABÓLICAS E CONCORDÂNCIA ENTRE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DO LIMAR DE LACTATO EM EQUINOS SUBMETIDOS A TREINAMENTO SUBMÁXIMO

AUTORA: THAYSSA DE OLIVEIRA LITTIERE

ORIENTADOR: GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciência Animal, área: Fisiologia e Bem Estar Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ
Data: 12/08/2024 11:51:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. HERBERT GUSTAVO SIMÕES (Participação Virtual)
Universidade Católica de Brasília (UCB) / Brasília/DF



Documento assinado digitalmente
HERBERT GUSTAVO SIMOES
Data: 14/08/2024 17:06:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. JOSÉ CORRÊA DE LACERDA NETO (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
JOSE CORREA DE LACERDA NETO
Data: 19/08/2024 13:40:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RAFAEL RESENDE FALEIROS (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Belo Horizonte/MG



Documento assinado digitalmente
RAFAEL RESENDE FALEIROS
Data: 16/08/2024 08:31:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. MAYARA GONÇALVES FONSECA (Participação Virtual)
Integral Mix / Belo Horizonte/MG



Documento assinado digitalmente
MAYARA GONCALVES FONSECA
Data: 16/08/2024 16:57:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 08 de agosto de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Thayssa de Oliveira Littiere, nascida em 16 de maio de 1992, em Além Paraíba, Minas Gerais, filha de Irene de Oliveira Littiere e Marcos Netto Littiere. Graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri-UFVJM, Câmpus de Diamantina, em 2018. De setembro de 2013 a dezembro de 2014 realizou Graduação Sanduíche pelo “Ciências sem Fronteiras”, do governo federal, na Universidade Dalhousie, Campus de Agricultura de Truro, Nova Scotia, Canadá, sendo bolsista da Capes durante todo o período. Em 2020 obteve o título de mestre em Zootecnia, área de Produção Animal, pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, Câmpus de Diamantina, sob orientação do Prof. Dr. Lucas Lima Verardo, com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES. Atualmente é Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, junto à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz. Durante o período de doutorado foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

*“...Às vezes a felicidade demora a chegar
Aí é que a gente não pode deixar de sonhar
Guerreiro não foge da luta e não pode correr
Ninguém vai poder atrasar quem nasceu pra vencer
É dia de sol, mas o tempo pode fechar
A chuva só vem quanto tem que molhar
Na vida é preciso aprender, se colhe o bem que plantar
É Deus quem aponta a estrela que tem que brilhar”*

Tá escrito – Xande de Pilates

Aos meus pais, Marcos e Irene, por todo o amor, por serem sempre meus pilares, e por me apoiarem em toda essa trajetória

Ao meu irmão, Thauan, que mesmo de longe nunca soltou minha mão

Aos cavalos, que são a razão de toda a minha dedicação, persistência e perseverança

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp campus de Jaboticabal, em especial ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, e ao Setor de Equinocultura, pelas oportunidades que me foram dadas, pelo empréstimo dos animais, equipamentos e instalações para realização deste trabalho.

Ao meu orientador, prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz, muito obrigada pelas orientações, pelas conversas, pela amizade, pelos conselhos, pelo apoio e por ter contribuído de maneira ímpar tanto no meu crescimento profissional quanto pessoal.

Ao Laboratório de Farmacologia e Fisiologia do Exercício Equino – LAFEQ por ter sido a minha segunda casa e me proporcionado experiências únicas, em especial à toda a equipe de estagiários e aos amigos de caminhada e de perrengues: Júlia, Nathali, Guilherme, Ana Carolina e Ivan, valeu turma!

Ao prof. Dr. José de Corrêa Lacerda Neto por todo o apoio, conversas, e empréstimo dos animais para realização desse projeto.

Ao prof. Dr. Carlos Augusto Araújo Valadão pelo empréstimo dos animais.

Ao prof. Dr. Vinicius Pimentel Silva pelo apoio na idealização desse projeto e por todo o conhecimento compartilhado ao longo dessa jornada.

À banca examinadora da defesa Prof. Dr. Rafael Resende Faleiros, Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto, Prof. Dr. Herbert Gustavo Simões e Dra. Mayara Gonçalves Fonseca pelo aceite do convite e pela contribuição com este trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, pelo carinho e por toda a ajuda.

À equipe do Laboratório de Medicina Esportiva Equina, meus amigos Gabriel e Angélica, pelas madrugadas de café compartilhadas durante todo o desenvolvimento desse projeto.

À Thayná, que caiu de paraquedas nessa aventura e abraçou o projeto junto comigo.

Ao Dom Deco, que foi peça fundamental em toda essa jornada, especialmente no manejo dos animais. Obrigada também pelas Brahmas geladas no Servidores!

À Bia, nossa parceira canina, que sempre esteve presente em todos os momentos do experimento, seja dando apoio moral com seu rabinho sempre balançando ou roubando comida pra nos entreter.

Aos meus amigos de Jaboticabal, em especial Dália, Dardânia e Stéphane, pela companhia em todos os momentos, apoio, risadas no Arouche e cervejinhas no Skina.

Aos cavalos: Alegria, Atossa, Antíope, Loira, Leviana, Elektra, Malta, Bamini, Star Girl, Júnior, Pérsico, Jaú, Trocinho, Mara, Baia (a mais linda), por serem os protagonistas dessa história. Vocês foram meus companheiros e professores nos últimos anos. Serei eternamente grata e carrego cada um em meu coração.

A todos que participaram de alguma forma deste projeto, torcendo e mandando energias positivas para que tudo desse certo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento deste projeto de pesquisa. (Processo FAPESP 2020/01172-3).

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Obesidade	2
2.2 Avaliação do grau de obesidade	3
2.3 Respostas metabólicas em animais com sobrepeso ou obesos	4
2.4 Estratégias para redução da obesidade em equinos.....	6
2.5 Máxima fase estável de lactato e métodos para determinação do limiar de lactato	7
3. REFERÊNCIAS.....	9
CAPÍTULO 2 – A submaximal training as a preliminary strategy for maximal lactate steady state determination in horses on forage-only diet: some insights to lose weight	16
ABSTRACT.....	16
1. Introduction.....	17
2. Material and methods.....	18
2.1 Ethical approval	18
2.2 Horses.....	18
2.3 Pasture management.....	20
2.4 Experimental design	21
2.5 Conditioning program	21
2.5.1 Stages 1 and 2: submaximal training at 130 and 160 bpm.....	21
2.5.2 Stage 3: Incremental exercise test (IET) design.....	22
2.5.3 Stages 4: Maximal lactate steady state (MLSS).....	23
2.6 Blood samples	23
2.6.1 Lactate	24
2.6.2 Glucose and insulin.....	24
2.6.3 Cortisol	26

2.6.4 Lipid profile and fructosamine.....	26
2.6.5 Body mass, body condition score (BCS), cresty neck score (CNS), and neck circumference	27
2.7 Statistical analysis.....	27
3. Results	28
3.1 Glucose and insulin.....	28
3.2 Cortisol	30
3.3 Lipid profile and fructosamine.....	31
3.4 Body mass, BCS, CNS, and neck circumference	32
4. Discussion	34
5. Conclusion.....	36
REFERENCES.....	36
CAPÍTULO 3 – Evaluating the endurance hallmark indexes for predicting maximal lactate steady state in teaching horses¹	41
ABSTRACT.....	41
1. Introduction.....	42
2. Materials and methods.....	43
2.1 Ethical approval	43
2.2 Research facility and horses	43
2.3 Incremental exercise test (IET) design.....	44
2.4 MLSS prediction methods.....	44
2.5 Maximal lactate steady state (MLSS)	46
2.6 Blood samples and heart rate.....	47
2.7 Statistical analysis.....	48
3. Results	48
4. Discussion	57
5. Conclusion.....	60
REFERENCES.....	61

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



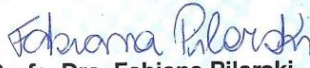
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Utilização da plataforma vibratória sobre respostas glicêmicas e insulinêmicas e glicogênio muscular de equinos"**, protocolo nº 2310/21, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 16 de setembro de 2021.

Vigência do Projeto	04/10/2021 a 31/07/2024
Espécie / Linhagem	<i>Equus ferus caballus</i>
Nº de animais	12 animais
Peso / Idade	± 450 kg / ± 15 anos
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	FCAV Unesp Jaboticabal

Jaboticabal, 16 de setembro de 2021.


Prof. Dra. Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

DECLARAÇÃO

Declaramos que o trabalho de pesquisa intitulado "Utilização da plataforma vibratória sobre respostas glicêmicas e insulinêmicas e glicogênio muscular de equinos", sob orientação do Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz e Certificado CEUA protocolo nº 002310/21, aprovado em reunião ordinária em 16 de setembro de 2021, teve o título alterado para **"Respostas glicêmicas e insulinêmicas de equinos com sobrepeso e concordância entre métodos para determinação do limiar de lactato"** com aprovação da alteração em reunião ordinária de 14 de junho de 2023.

Jaboticabal, 16 de junho de 2023.

Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Vice-coordenadora – CEUA

RESPOSTAS METABÓLICAS E CONCORDÂNCIA ENTRE MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DO LIMAR DE LACTATO EM EQUINOS SUBMETIDOS A TREINAMENTO SUBMÁXIMO

RESUMO

Objetivou-se: (1) avaliar as respostas metabólicas e mensurações de acúmulo de gordura subcutânea de cavalos submetidos a treinamento submáximo; (2) investigar métodos de predição da máxima fase estável de lactato (MFEL) em cavalos a partir do limiar de lactato. Exp. 1: 10 animais, avaliados em dois períodos: antes e após treinamento de sete semanas (PreTr e PostTr). Foram avaliados glicose, insulina, cortisol, LDL, VLDL, HDL, CHOL e FRU, assim como peso, ECC, ECP e circunferência do pescoço. Observou-se redução de glicose, insulina plasmática, pico de cortisol e CHOL em PostTr comparado ao PreTr. Houve redução na circunferência de pescoço em P25 e P50 no PostTr comparado ao PreTr. Exp.2: Os mesmos animais passaram por um único teste de esforço incremental (TEI) para determinar quatro métodos de predição para a MFEL. Os cavalos realizaram de 3-5 sessões de exercício de intensidade constante para obter a MFEL. As velocidades nas quais a concentração de lactato ($[La^-]$) atingiu 2 mM e 4 mM, V_2 e V_4 , determinaram os limiares fixos. Um ensaio randomizado e cego utilizou análise visual (LT_v) e modelo de regressão linear bi-segmentado (LT_{BI}). A concordância entre as velocidades correspondentes a V_2 , V_4 , V_{LTv} e V_{LTBI} e a MFEL (V_{MFEL}) foi estabelecida usando a diferença média (MD), regressão ordinária dos mínimos produtos (OLP) e coeficiente de correlação (r). A $[La^-]$ média na MFEL foi $1,50 \pm 0,37$ mM, e a V_4 foi maior que a V_{MFEL} com MD de $2,12 \pm 0,59$ m/s entre elas. Observou-se menos viés médio de V_2 e V_{LTv} em comparação a V_{MFEL} . A V_{MFEL} apresentou correlação moderada com todos os métodos de predição. Conclui-se que o exercício pode ser uma ferramenta eficaz no combate à obesidade. Além disso, a utilização de métodos de predição da MFEL baseados no limiar individual de lactato pode ser mais precisa.

Palavras-chave: equino, exercício, limiar de lactato, parâmetros metabólicos, obesidade

METABOLIC RESPONSES AND AGREEMENT BETWEEN METHODS FOR DETERMINING LACTATE THRESHOLD IN HORSES UNDERGOING SUBMAXIMUM TRAINING

ABSTRACT

The objectives were: (1) to evaluate the metabolic responses and measurements of subcutaneous fat accumulation in horses subjected to submaximal training; (2) to investigate methods for predicting the maximal lactate steady state (MLSS) in horses based on the lactate threshold. Exp. 1: Ten animals were evaluated in two periods: before and after seven weeks of training (PreTr and PostTr). Glucose, insulin, cortisol, LDL, VLDL, HDL, CHOL, and FRU levels were measured, along with weight, BCS, CNS, and neck circumference. A reduction in glucose, plasma insulin, cortisol peak, and CHOL was observed in PostTr compared to PreTr. A decrease in neck circumference at P25 and P50 was observed in PostTr compared to PreTr. Exp. 2: The same animals underwent a single incremental exercise test (IET) to determine four prediction methods for MLSS. The horses performed 3-5 constant-intensity exercise sessions to establish the MLSS. The speeds at which lactate concentration ($[La-]$) reached 2 mM and 4 mM, V2 and V4, determined the fixed thresholds. A randomized, blinded trial used visual analysis (LTV) and a bi-segmented linear regression model (LTBI). The agreement between the speeds corresponding to V2, V4, VLTV, and VLTBI and the MLSS (VMLSS) was established using the mean difference (MD), ordinary least products regression (OLP), and correlation coefficient (r). The mean $[La-]$ at MLSS was 1.50 ± 0.37 mM, and V4 was higher than VMLSS with an MD of 2.12 ± 0.59 m/s between them. Less average bias was observed for V2 and VLTV compared to VMLSS. VMLSS showed a moderate correlation with all prediction methods. It is concluded that exercise can be an effective tool in combating obesity. Furthermore, using prediction methods for MLSS based on the individual lactate threshold may be more accurate.

Keywords: equine, exercise, lactate threshold, metabolic parameters, obesity

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH – hormônio adrenocorticotrófico
ADF – acid detergent fiber
aNDF – neutral detergent fiber
ATP – adenosine trifosfato
AUC – area under the curve
BCS – body condition score
BM – body mass
bpm – beats per minute
°C – degree Celcius
Ca - calcium
CB – constant bias
CEUA – Ethics Committee of Animal Use
CF – crude fiber
CHOL – total cholesterol
CI – confidence interval
cm – centimetres
CNS – cresty neck score
CP – crude protein
CONCEA – National Council of Control in Animal Experimentation
DE – digestible energy
DM – dry matter
ECC – escore de condição corporal
ECP – escore de crista de pescoço
EDTA – ethylenediaminetetraacetic acid
EE – ether extract
ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay
FCAV – Faculty of Agricultural and Veterinary Sciences
Fig – figure
FRU - fructosamine
g – grams

GLM – generalized linear model

GLUT4 – transportador de glicose tipo 4

ha – hectare

HDL – high-density lipoprotein

HPA – hipotálamo-pituitária-adrenal

HR – heart rate

HR_{max} – maximal heart rate

IET – incremental exercise test

IMC – índice de massa corpórea

IRS – insulin receptor substrate

IS – insulin sensitivity

kg – kilogram

LAFAQ – Laboratory of Pharmacology and Equine Exercise Physiology

[La⁻] – plasma L-lactate concentration / concentração de lactato

LCL – lower confidence limit

LDL- low-density lipoprotein

LL – limiar de lactato

LSM – least square means

LT – lactate threshold

LT_{BI} – bi-segmented linear regression model / modelo de regressão linear bissegmentado

LT_V – visual lactate threshold / limiar de lactato visual

LVC – lactate-velocity curve / curva velocidade-lactato

m² – square meters

Mcal/kg – megacalories per kilogram

MFEL – máxima fase estável de lactato

mg/dL – milligrams per deciliter

MLSS – maximal lactate steady state

mL – millilitre

mM – millimolar

mRNA – messenger RNA

m/s – meters per second

mU/L – mil unidades por litro

NFC – nonfiber carbohydrates

NIRS – near-infrared spectroscopy

No – number

OBLA_{4mM} – onset of blood lactate accumulation / início do acúmulo de lactato sanguíneo

OLP – ordinary least products regression

p – p-value

P – phosphorus

PB – proportional bias

PCA – principal component analysis

PostTr – after seven weeks of conditioning program

PreTr – before seven weeks of conditioning program

P25 – proximal part of the neck

P50 – middle of the neck

P75 – distal part of the neck

r – Pearson's correlation coefficient

RI – resistência à insulina

SD – standard deviation

SE – standard error

TEI- teste de esforço incremental

TRI – triglycerides

ug/dL – micrograms per deciliter

UCL – upper confidence limit

UNESP – São Paulo University

VLDL – very-low-density lipoprotein

V_{LT} – velocity corresponding to LT

V_{LTBI} – velocity corresponding to LT_{BI} / velocidade no LT_{BI}

V_{LTv} – velocity corresponding to the LT_v / velocidade correspondente ao LT_v

V_{MFEL} – velocidade na MFEL

V_{MLSS} – velocity corresponding to MLSS

$(\dot{V}O_2)$ – oxygen uptake

V_2 – velocity at which the $[La^-]$ reaches 2 mM / velocidade na qual a $[La^-]$ atinge 2 mM

V_4 – velocity at which the $[La^-]$ reaches 4 mM / velocidade na qual a $[La^-]$ atinge 4 mM

$\mu\text{mol/L}$ – micromoles per liter

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2 – A submaximal training as a preliminary strategy for maximal lactate steady state determination in horses on forage-only diet: some insights to lose weight

Table 1. Nutrient composition by near-infrared spectroscopy (NIRS) of diet provided before the submaximal training program. All values are presented on dry matter basis.....20

Table 2. Nutrient composition by near-infrared spectroscopy (NIRS) of oats provided before sampling for the determination of glucose and insulin curves. All values are presented on dry matter basis.....25

Table 3. Means and standard deviation (SD) of serum concentrations of lipid variables and fructosamine of horses before and after seven weeks of training.....32

Table 4. Means and standard deviation (SD) of body mass and neck circumference measurements of horses before and after seven weeks of training.....32

Table 5. Least square means and confidence limits of body condition score (BCS) and cresty neck score (CNS) of horses before (PreTr) and after (PostTr) seven weeks of training.....33

Capítulo 3 – Evaluating the endurance hallmark indexes for predicting maximal lactate steady state in teaching horses

Table 1. Individual and average values of the velocities and lactatemia corresponding to the maximal lactate steady state (V_{MLSS} and $[La^-]_{MLSS}$), lactate threshold (LT) detected by different methods such as fixed lactatemia (V_4 and $[La^-]_{V4}$; V_2 and $[La^-]_{V2}$), visual determination (V_{LTV} and $[La^-]_{V_{LTV}}$), and visual determination of abrupt increase in $[La^-]$ using bi-segmented linear regression model (V_{LTBI} and $[La^-]_{V_{LTBI}}$).....50

Table 2. Analysis of the agreement between four lactate threshold prediction methods and maximal lactate steady state velocities using the Bland and Altman (1986) technique.....52

Table 3. Analysis of the agreement between four lactate threshold prediction methods and maximal lactate steady state velocities using the ordinary least products regression analysis (OLP) to review proportional and constant bias and Pearson's correlation coefficient.....55

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2 – A submaximal training as a preliminary strategy for maximal lactate steady state determination in horses on forage-only diet: some insights to lose weight

Figure 1. Means $\pm$ standard deviation of plasmatic glucose (A) and insulin (B) levels in horses subjected to a conditioning program at the beginning (PreTr) and at the end (PostTr) of the experimental period. Asterisks indicate statistical differences by paired t-test with Bonferroni correction, $p < 0.05$29

Figure 2. Area under the curve (AUC) of plasmatic glucose (A) and insulin (B) of horses subjected to a conditioning program at the beginning (PreTr) and at the end (PostTr) of the experimental period. AUC presented was calculated by spline interpolation, $p < 0.05$30

Figure 3. Boxplot indicating the plasmatic cortisol levels in horses subjected to a conditioning program at the beginning (PreTr) and at the end (PostTr) of the experimental period. Asterisks indicate statistical difference by paired t-test with Bonferroni correction, $p < 0.05$31

Figure 4. Crude protein (CP) (%) and digestible energy (DE) (Mcal/kg) of the pasture (Tanzânia grass and Massai grass) during the seven weeks of the conditioning program.....33

Capítulo 3 – Evaluating the endurance hallmark indexes for predicting maximal lactate steady state in teaching horses

Figure 1. Determination of the lactate threshold in a single horse using four different methods to predict the maximal lactate steady state (MLSS). (A): V_2 , the velocity at which the $[La^-]$ is 2 mM; (B): V_4 , the velocity at which the $[La^-]$ is 4 mM; (C): visual determination (LT_V), V_{LT_V} , the velocity at LT_V ; (D): bi-segmented linear regression model (LT_{BI}), $V_{LT_{BI}}$, the velocity at LT_{BI}46

Figure 2. Boxplots indicating the velocities (A) and $[La^-]$ (B) obtained by four different methods and the maximal lactate steady state in ten horses. VMLSS, the velocity corresponding to MLSS; V_4 , the velocity at which the $[La^-]$ is 4 mM; V_2 , the velocity at which the $[La^-]$ is 2 mM; V_{LT_V} , the velocity at visual lactate threshold; $V_{LT_{BI}}$, the velocity at lactate threshold by bi-segmented linear regression. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$49

Figure 3. Bland-Altman plots to evaluate the agreement between predicted velocities through the four different methods and the maximal lactate steady state velocity (V_{MLSS}) in ten horses. The middle blue line corresponds to the estimated mean bias between the respective methods; the upper and lower dashed red lines represent the upper (mean + 1.96*SD) and lower (mean – 1.96*SD) limits of agreement (95% LoA). (A): V_{MLSS} and V_4 (velocity at which the $[La^-]$ is 4 mM); (B): V_{MLSS} and V_2 (velocity at which the $[La^-]$ is 2 mM); (C): V_{MLSS} and V_{LTV} (velocity at visual lactate threshold); (D): V_{MLSS} and V_{LTBI} (velocity at lactate threshold obtained by bi-segmented linear regression model).....51

Figure 4. The $[La^-]$ response of ten horses during constant exercise session at the maximal lactate steady state (MLSS), below the MLSS, and above the MLSS. Blood samples were obtained every 5 minutes. WU: warm-up.....53

Figure 5. Ordinary least products regression plots to illustrate the agreement between predicted velocities through the four different methods and the maximal lactate steady state velocity (V_{MLSS}) in ten horses. The regression equation is presented as also the coefficient of determination (R), p-value (p) and the confidence interval (CI) at 95% of a (y-interceptor) and b (slope). The red dashed line corresponds to the line of identify ($a = 0$; $b = 1$). (A): V_{MLSS} and V_4 (velocity at which the $[La^-]$ is 4 mM); (B): V_{MLSS} and V_2 (velocity at which the $[La^-]$ is 2 mM); (C): V_{MLSS} and V_{LTV} (velocity at visual lactate threshold); (D): V_{MLSS} and V_{LTBI} (velocity at lactate threshold obtained by bi-segmented linear regression model).....54

Figure 6. Principal components analysis (PCA) of ten horses undergoing an incremental exercise test, for the prediction of maximal lactate steady state (MLSS). Vectors are loadings on PC1 (x-axis) and PC2 (y-axis) for the four indices of MLSS prediction. V_{MLSS} , the velocity corresponding to MLSS; V_4 , the velocity at which the $[La^-]$ is 4 mM; V_2 , velocity at which the $[La^-]$ is 2 mM; V_{LTV} , the velocity at visual lactate threshold; V_{LTBI} , the velocity at lactate threshold by bi-segmented linear regress.....56

Figure 7. Heart rate (HR) corresponding to the maximal lactate steady state (MLSS) of ten horses performing a continuous exercise test on a treadmill. HR corresponding to MLSS was 155 ± 2 beats/min..... 57

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

A obesidade equina tem se tornado preocupação crescente na criação de cavalos, impactando não apenas a saúde e o bem-estar dos animais, mas também a eficiência de seu desempenho. A redução da obesidade em cavalos é crucial para melhorar a saúde geral e prevenir distúrbios metabólicos associados, como a resistência à insulina, síndrome metabólica equina e laminite endocrinopática (Hoffman et al., 2003; Carter et al., 2009; Coleman et al., 2018; Fitzgerald et al., 2019). Estratégias de perda de peso em equinos são mais eficazes quando envolvem combinações na restrição dietética e aumento da atividade física. Programas de perda de peso que incorporam balanço energético negativo, alcançado através de ajustes na dieta e aumento do nível de atividade física, podem promover a diminuição da massa corporal e melhorar os parâmetros metabólicos (Gordon et al., 2009; Bamford et al., 2019; Pratt-Phillips, 2024).

A implementação de um plano de condicionamento físico estruturado que permita aos cavalos atingir e manter a máxima fase estável de lactato (MFEL) otimiza os protocolos de treinamento. A MFEL é o padrão ouro para avaliar a capacidade aeróbica (Lindner, 2010; Miranda et al., 2014; Hering et al., 2018; Alves et al., 2020; De Maré et al., 2022; Ferraz et al., 2022), e seu alcance pode melhorar a eficiência do treinamento e a eficácia na redução de gordura corporal. No entanto, o protocolo é trabalhoso, pois requer pelo menos três sessões de exercício em velocidade constante, com duração de 30 minutos em dias alternados (Ferraz et al., 2022). Portanto, é necessário utilizar outros métodos para predizer a MFEL com única sessão de exercício. Estudos recentes têm explorado diferentes métodos para estimar a MFEL, incluindo testes de esforço incremental. Esses métodos ajudam a ajustar os protocolos de treinamento para atender às necessidades individuais dos cavalos, promovendo perda de massa corporal eficaz. Este estudo visa (1) avaliar as respostas metabólicas, escore de condição corporal, crista e circunferência de pescoço de equinos mantidos a pasto submetidos a treinamento submáximo. O protocolo de treinamento foi delineado para cavalos destreinados se tornarem capazes de realizar um protocolo para alcançar a máxima fase estável de lactato. (2) Este estudo verifica

a concordância da MFEL com quatro métodos de avaliação da capacidade aeróbia, baseados na concentração de lactato sanguíneo em cavalos.

5. Conclusion

In summary, we can use single-exercise incremental tests to design and evaluate training programs and assess horses' aerobic fitness. This approach can help predict the MLSS using practical methods based on lactate thresholds (LT), such as LT_V , LT_{BI} , and V_2 . V_4 is unsuitable for this group of horses, raising issues about its application for horses and emphasizing the need to use individual parameters to prescribe and evaluate aerobic fitness.

REFERENCES

- [1] Alves JC, Santos AM, Jorge PI, Lafuente P. A protocol for the determination of the maxi-mal lactate steady state in working dogs. *J Sports Med Phys Fitness*. 2020;60:942-946.
- [2] De Maré L, Boshuizen B, Vega CVM, Meeûs C, Plancke L, Gansemans Y, et al. Profiling the aerobic window of horses in response to training by means of modified lactate minimum speed test: flatten the curve. *Front Physiol*. 2022;13:792052.
- [3] Faude O, Kindermann W, Meyer T. Lactate threshold concepts: how valid are they? *Sports Med*. 2009;39:469-490.
- [4] Ferraz GC, Sgarbiero T, Carvalho JRG, Almeida MLM, Pereira GT, Funnicelli MIG, et al. Predicting maximal lactate steady state from lactate thresholds determined using methods based on an incremental exercise test in beagle dogs: A study using univariate and multivariate ap-proaches. *Res Vet Sci*. 2022;152:289-299.
- [5] Hering GO, Hennig EM, Riehle HJ, Stepan J. A lactate kinetics method for assessing the maximal lactate steady state workload. *Front Physiol*. 2018;9:318048.
- [6] Lindner AE. Maximal lactate steady state during exercise in blood of horses. *J Anim Sci*. 2010;88:2038-2044.

- [7] Miranda MCPC, Queiroz-Neto A, Silva-Júnior JR, Pereira MC, Soares OAB, Borghi RT, et al. Comparison of the lactate minimum speed and the maximal lactate steady state to determine aerobic capacity in purebred Arabian horses. N Z Vet J. 2014;62:15-20.
- [8] Soares OAB, Ferraz GC, Martins CB, Dias DPM, Lacerda-Neto JC, Queiroz-Neto, A. Comparison of maximal lactate steady state with V₂, V₄, individual anaerobic threshold and lactate minimum speed in horses. Arq Bras Med Vet Zootec. 2014;66:39-46.
- [9] Urhausen A, Coen B, Weiler B, Kindermann W. Individual anaerobic threshold and maximum lactate steady state. Int J Sports Med. 1993;14:134-139.
- [10] Heck H, Mader A, Hess G, Mücke S, Müller R, Hollman W. Justification of 4-mmol/l lactate threshold. Int J Sports Med. 1985;6:117-130.
- [11] Heck H, Wackerhage H. The origin of the maximal lactate steady state (MLSS). BMC Sports Sci Med Rehabil. 2024;16:36.
- [12] Vijay SA, Sivakumar C, Kumar PV, Muralidharan CK, Rajkumar KV, Kannan KR, et al. Lactate threshold training to improve long-distance running performance: A narrative review. Monten J Sports Sci Med. 2024;13: Ahead-of.
- [13] Campbell EH. Lactate-driven equine conditioning programmes. Vet J. 2011;190:199-207.
- [14] Mader A, Liesen H, Heck H, Phiippi H, SchUrch PM, Hollmann W. Zur beurteilung der sportartspezifischen ausdauerleistungsfähigkeit. Sportarzt Sportmed. 1976;27:80-88

- [15] Isler, R. Beurteilung der aktuellen leistungsfähigkeit zur festlegung der optimalen belastungsintensität für intervalltraining bei warmblut pferden. Scheweig Arch Tierheilk. 1982;123:603-612.
- [16] Persson SGB. Evaluation of exercise intolerance and fitness in the performance horse. In: Equine Exercise Physiology, eds: Snow DH, Persson SGB, Robe RJ. Cambridge. UK: Granta Editions. 1983;441-457.
- [17] Wilson RG, Isler RB, Thornton JR. Heart rate, lactic acid production and speed during a standardized exercise test in Standardbred horses. In: Equine Exercise Physiology, eds: Snow DH, Persson SGB, Robe RJ. Cambridge. UK: Granta Editions. 1983;487-496.
- [18] Straub R, Isler R, Gysin J. Parameter zur Beurteilung der Ausdauer des pferdes. Tierärztliche Praxis. 1984;12(4).
- [19] Snow D. Assessment of fitness in the horse. In Practice. 1987;9:26-30.
- [20] Ramos GV, Titotto AC, Costa GB, Ferraz GC, Lacerda-Neto JC. Determination of speed and assessment of conditioning in horses submitted to a lactate minimum test – alternative approaches. Front Physiol. 2024;15:1324038.
- [21] Gondim FJ, Zoppi CC, Pereira-da-Silva L, Macedo DV. Determination of the anaerobic threshold and maximal lactate steady state speed in equines using the lactate minimum speed protocol. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2007;146:375-380.
- [22] Poole DC, Rossiter HB, Brooks GA, Gladden LB. The anaerobic threshold: 50+ years of controversy. J Physiol. 2021;599:737-767.

- [23] Kaufmann S, Gronwald T, Herold F, Hoos O. Heart rate variability-derived thresholds for exercise intensity prescription in endurance sports: a systematic review of interrelations and agreement with different ventilatory and blood lactate thresholds. *Sports Med.-Open*. 2023;9:59.
- [24] Lamprecht ED, Williams CA. Biomarkers of antioxidant status, inflammation, and cartilage metabolism are affected by acute intense exercise but not superoxide dismutase supplementation in horses. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;2012:920932.
- [25] McGehee JC, Tanner CJ, Houmard JA. A comparison of methods for estimating the lactate threshold. *J Strength Cond Res*. 2005;19:553-558.
- [26] Cunha RR, Cunha VNC, Segundo PR, Moreira SR, Kokubun E, Campbell CSG, et al. De-termination of the lactate threshold and maximal blood lactate steady state intensity in aged rats. *Cell Biochem Funct*. 2009;27:351-357.
- [27] Restan AZ, Zacche E, da Silva SB, Cerqueira JA, Carfiofi AC, Queiroz-Neto A, et al. Lac-tate and glucose thresholds and heart rate deflection points for Beagles during intense exer-cise. *Am J Vet Res*. 2019;80:284-293.
- [28] Zagatto AM, Papoti M, Gobatto CA. Validity of critical frequency test for measuring table tennis aerobic endurance through specific protocol. *J Sports Sci Med*. 2008;7:461.
- [29] Carminatti LJ, Batista BN, da Silva JF, Tramontin AF, Costa VP, de Lucas RD, et al. Pre-dicting maximal lactate steady state from Carminatti's shuttle run test in soccer players. *Int J Sports Med*. 2021;42:153-160.

- [30] Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The Lancet*. 1986;327:307-310.
- [31] Hart S, Drevets K, Alford M, Salacinski A, Hunt BE. A method-comparison study regarding the validity and reliability of the Lactate Plus analyzer. *BMJ Open*. 2013;3:e001899.
- [32] Berkman C, Pereira MC, Nardi KB, Pereira GT, Soares OAB, Restan WAZ, et al. Agreement between i-STAT and YSI 2300 devices to determine lactate concentrations in dogs undergoing exercise. *Comp Exerc Physiol*. 2016;12:75-82.
- [33] Gramkow HL, Evans DL. Correlation of race earnings with velocity at maximal heart rate during a field exercise test in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet J*. 2006;38:118-122.
- [34] Zaki R, Bulgiba A, Ismail R, Ismail NA. Statistical methods used to test for agreement of medical instruments measuring continuous variables in method comparison studies: A systematic review. *PloS One*. 2012;7:e37908.
- [35] Haghayegh S, Kang HA, Khoshnevis S, Smolensky MH, Diller KR. A comprehensive guide-line for Bland-Altman and intra class correlation calculations to properly compare two methods of measurement and interpret findings. *Physiol Meas*. 2020;41:055012.
- [36] Ludbrook J. Statistical techniques for comparing measurers and methods of measurement: a critical review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2002;29:527-536.

- [37] Płoszczyca K, Jazic D, Piotrowicz Z, Chalimoniuk M, Langfort J, Czuba M. Comparison of maximal lactate steady state with anaerobic threshold determined by various methods based on graded exercise test with 3-minute stages in elite cyclists. *BMC Sports Sci Med Rehabil.* 2020;12:1-9.
- [38] Wahl P, Zwingmann L, Manunzio C, Wolf J, Bloch W. Higher accuracy of lactate minimum test compared to established threshold concepts to determine maximal lactate steady state in run-ning. *Int J Sports Med.* 2018;39:541-548.
- [39] Beneke R, Leithäuser RM, Hütler M. Dependence of the maximal lactate steady state on the motor pattern of exercise. *Br J Sports Med.* 2001;35:192-196.
- [40] Jakobsson J, Malm, C. Maximal lactate steady state and lactate thresholds in the cross-country skiing sub-technique double poling. *Int J Exerc Sci.* 2019;12:57.