Veridiana Fernandes da Silveira

# Malondialdeído, vitamina E, cortisol, hemograma e enzimas musculares em eqüinos da raça Árabe submetidos ao exercício em esteira de alta velocidade

Botucatu - SP
2005

**Veridiana Fernandes da Silveira**

# Malondialdeído, vitamina E, cortisol, hemograma e enzimas musculares em eqüinos da raça Árabe submetidos ao exercício em esteira de alta velocidade

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, área de conhecimento Patologia Clínica.

**Orientadora: Prof. Dr. Aguemi Kohayagawa**

**Botucatu-SP**
**2005**

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

Silveira, Veridiana Fernandes da.

Malondialdeído, vitamina E, cortisol, hemograma e enzimas musculares em eqüinos da raça Árabe submetidos ao exercício em esteira de alta velocidade / Veridiana Fernandes da Silveira. - Botucatu : [s.n.], 2005.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2005.
Orientadora: Prof. Dr. Aguemi Kohayagawa
Assunto CAPES: 50501062

1. Eqüino - Exercícios físicos - Aspectos fisiológicos. 2. Enzimas - Efeito fisiológico.

CDD 636.089

Palavras-chave: Cortisol; Enzimas musculares; Eqüino Árabe; Fisiologia do exercício; Malondialdeído; Vitamina E.

*Aos meus pais Wilma  e Nelson*

*Exemplos eternos de caráter e luta, que possuem como meta principal de suas vidas a formação de seus filhos, e em nossas conquistas, a principal recompensa.*

*"...Se um dia, já homem feito e respeitado, sentires que a terra cede a teus pés, que tuas obras se desmoronam, que não há ninguém à tua volta para te estender a mão, esquece a tua maturidade, passa pela tua mocidade, volta à tua infância e balbucia, entre lágrimas e esperanças, as últimas palavras que sempre te restarão na alma:*
*Meu pai, minha mãe..."*

*(Rui Barbosa)*

*Aos meus irmãos Nelson e André,*

*À amiga e cunhada Célia Virgínia,*

*E meu sobrinho Luiz Henrique;*

*Fonte de inspiração, coragem e perseverança;*

*Obrigada por me apoiar nas dificuldades*

*e compartilhar os momentos de alegria*

*estando sempre presentes em minha vida.*

*Ao meu namorado e amigo Andrey Borges Teixeira*

*Companheiro de todas as horas, obrigado pelo amor, compreensão e incentivo.*

*"Após uma reflexão, acrescentou:*

*- Que quer dizer "cativar"? - disse o pequeno príncipe.*

*- É uma coisa muito esquecida, significa "criar laços..."*

*A gente só conhece bem as coisas que cativou...*

*Adeus...*

*Eis o meu segredo...*

*É muito simples: só se vê bem com o coração...*

*O essencial é invisível para os olhos.*

*Os homens esqueceram essa verdade.*

*Mas tu não deves esquecer.*

*Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas...*

*...disse a raposa."*

*(O Pequeno Príncipe)*

*Antoine Saint-Exúpery*

*Á minha Orientadora Prof. Dr. Aguemi Kohayagawa*

*Amiga e orientadora deste trabalho.*

*Exemplo de profissionalismo e dedicação.*

*Com toda sabedoria soube orientar, questionar, avaliar e ponderar.*

*Não apenas orientou, no mestrado;*

*Mas na vida.*

*Obrigada por ser especial.*

*Ao Prof. Dr. Armen Thomassian*

*Aos poucos o conheci e adquiri admiração*
*Obrigada pela serenidade, auxílio e compreensão;*
*Obrigada pela oportunidade e pelos ensinamentos sobre a medicina esportiva eqüina;*
*Só tenho a agradecer;*
*Muito obrigada.*

*"Bom mesmo é ir a luta com determinação,*
*Abraçar a vida e viver com paixão,*
*Perder com classe e vencer com ousadia,*
*Pois o triunfo pertence a quem se atreve,*
*E a vida é muito para ser insignificante."*

*(Charles Chaplin)*

*A Marcos Jun Watanabe*

*Sem querer eu apareci no seu caminho, hoje só eu sei o quanto você me ajudou, não tenho palavras para agradecer as proveitosas conversas científicas sobre medicina esportiva eqüina, as palavras de amizade e incentivo*

*Você é uma pessoa estrela...*

## *Cometas e estrelas*

*Há pessoas estrelas;*
*Há pessoas cometas;*
*Os cometas passam;*
*Apenas são lembrados pelas datas que passam e retornam;*
*As estrelas permanecem;*
*Os cometas desaparecem;*
*Há muita gente cometa;*
*Passam pela vida da gente apenas por instantes,*
*gente que não prende ninguém e a ninguém se prende;*
*Gente sem amigos;*
*Gente que passa pela vida sem iluminar, sem aquecer, sem marcar presença;*
*Há muita gente cometa;*
*Importante é ser estrela;*
*Estar presente;*
*Marcar presença;*
*Estar junto;*
*Ser luz, Ser calor, Ser vida;*
*Amigo é estrela...*
*Estrelas na vida da gente;*
*Pode-se contar com eles;*
*Eles são uma presença;*
*São aragem nos momentos de tensão;*
*São luz nos momentos escuros;*
*São pão nos momentos de fraqueza;*
*São segurança nos momentos de desânimo...*

*(Autor Desconhecido)*

*Aos companheiros de equipe Joandes Henrique Fonteque, Luciana Pereira Machado e Mere Érika Saito*

*Razões*

*Conte comigo meu amigo*
*Se for pra te dar a mão*
*Mas se for pra correr perigo*
*Que seja boa a razão*
*Conte comigo que eu brigo se for esta a condição*
*Pra que a gente realize então aquela velha*
*Mas sincera ambição*
*Conte comigo*
*Eu te sigo*
*Para enfrentar o castigo*
*Ou ter glórias de um campeão*
*Escute amigo um aviso*
*Que eu te dou por precaução*
*Fui educado à antiga*
*E prezo ter reputação*
*Mas conte comigo*
*Eu te sigo ao chegar a decisão*
*E não aceito recompensa*
*Se a gente faz o que pensa*
*Não quer remuneração*
*E a gente vai realizar*
*Pois não, aquela velha*
*Mas sincera ambição*
*Conte comigo eu te sigo*
*Para enfrentar o castigo*
*Ou ter glórias de um campeão*

*(Almir Sater, Paulo Simões)*

*À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro (processo 02/11142-6), sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.*

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

*Aos professores do Departamento de Clínica Veterinária - Laboratório Clínico Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ - UNESP - Botucatu, Profa. Dra. Regina Kiomi Takahira e Prof. Dr. Raimundo Souza Lopes pela amizade e colaboração;*

*Aos professores do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ - UNESP - Botucatu, Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni, Profa. Dra. Ana Liz Garcia Alves, Prof. Dr. José Luiz de Mello Nicoletti, pelos ensinamentos transmitidos durante o Curso de Pós-Graduação e ao Prof. Dr. Francisco José Teixeira Neto pelo apoio na cateterização arterial realizada nos eqüinos durante o experimento;*

*Aos residentes e ex-residentes do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ - UNESP - Botucatu, Andressa B. da Silveira, Brunna P. A. da Fonseca, Maria Júlia Andrade Moreira e Rolf Becker Modesto pelos ensinamentos transmitidos durante o projeto de pesquisa e pela ajuda inigualável com o manejo dos eqüinos;*

*À Profa. Dra. Eunice Oba do Departamento Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ - UNESP - Botucatu, pelo apoio na dosagem de cortisol sérico;*

*À Maria Luiza Cassetari do Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina - FM - UNESP - Botucatu, pela paciência, entusiasmo e disposição para o desenvolvimento da técnica de dosagem sérica do malondialdeído e vitamina E;*

*Aos funcionários do Laboratório de Nutrição do Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina - FM - UNESP - Botucatu, Sílvia Regina de Toledo Estevam, Neísa Maria Cechinato e Carlos Sérgio Iesse pela colaboração nas dosagens sérica do malondialdeído e vitamina E;*

*Aos funcionários do Laboratório Clínico Veterinário do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu, Sueli de Oliveira Souza Emílio, Ilson Aparecido Tavares e Luiz Antônio Matiazzi, pela amizade e apoio durante o mestrado;*

*Aos funcionários do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu, José Correa, Melissa Ágata Salemme, Antônio Gagliane Donizete, Luiz Souza Pinto, Nadir Silvestre de Almeida, João Borioli Cassetari, Nelson Adriano, pela ajuda nos momentos mais inesperados e apoio;*

*À secretária do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu, Marlene Dias Camargo, pela amizade e apoio durante o mestrado;*

*À Denise Aparecida Fioravanti Garcia, Maria Aparecida Dias de Almeida Manuel e Maria Regina Tenor Forlin da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu, pela amizade e apoio;*

*À funcionária do xérox Liliane de Fátima Farias dos Santos, pela amizade e alegria durante o mestrado;*

*Aos funcionários Braz Titon, Joaquim Garcia, Luciana Pizzani, Luzia de Brito B. Fernandes, Márcia Regina Gonçalves Campos, Maria Luiza Deléu da Silva, Marluci Betini, Nivaldete Costa Fernandez Cruz, Rosangela Aparecida Soares, Rosemary Cristina da Silva, Sulamita Selma Clemente Colnago, Taiss de Almeida e a toda equipe da biblioteca, pela amizade, assessoria e correção das referências bibliográficas, pelo bom humor, pelo carinho em receber-me e pelos serviços prestados;*

*Aos meus amigos e colegas Adriana, Adriane Jorge, Alfredo Feio, Camila, Carlos Frederico, Christianne Barreto, Eunice Kitamura, Flávia Santin, Fernanda Carvalho, Karla Higino de Campos, Karina Rodrigues dos Santos, Mário Agner Ribeiro, Regina de Cássia Veronezi, Sílvia, Sandra Bassani, Sandro Colla e aos que aqui não foram mencionados e, que me forneceram modelos de relacionamentos, me acompanhando e me deixando acompanhá-los em suas vidas, transformando o viver em algo muito valioso;*

*Aos meus professores da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia que foram responsáveis por guiarem os meus caminhos na patologia clínica, em especial aos Professores Rosilda Menezes de Souza e José Eugênio Guimarães e aqueles que sempre me apoiaram: Luís Fernando Pita Gondim, Mirabeau Levi Alves de Souza, Eliomar Pereira do Socorro e Romana Damasceno;*

*Aos meus amigos que deixei em Salvador que mesmo longe estão sempre presentes se preocupando e perguntando por mim, Cristina de Souza Caroso, Sílvia Letícia Bomfim Barros, Alexandre Moraes Pinheiro, Cássio Luiz Menezes Bastos, Fred Julião, Mônica Mattos, Poliana Ribeiro, Juliana Bentes Hughes, José Pinheiro e Edward Skelton;*

*Em especial aos eqüinos que participaram do experimento, pois sem eles não seria possível a sua realização... Estrelinha, Granito, Oklana, Olateska, Barrosinho, Manu, Tyrso, Prima, Hectar e Miss Regra;*

*E principalmente, a Deus por ter me ensinado a ter paciência, coragem e tentar fazer as coisas da melhor maneira possível, sempre pensando no próximo.*

## *Tocando em frente*

*Ando devagar porque já tive pressa;*
*E levo esse sorriso porque já chorei demais;*
*Hoje me sinto mais forte;*
*Mais feliz;*
*Quem sabe;;*
*Eu só levo a certeza de que muito pouco eu sei;*
*E nada sei;*
*Conhecer as manhas e as manhãs;*
*O sabor das massas;*
*E das maçãs;*
*É preciso amor pra poder pulsar;*
*É preciso paz pra poder sorrir;*
*É preciso chuva para florir;*
*Penso que cumprir a vida seja simplesmente;*
*Compreender a marcha;*
*E ir tocando em frente;*
*Como um velho boiadeiro levando a boiada;*
*Eu vou tocando os dias pela longa estrada;*
*Eu sou;*
*Estrada eu vou;*
*Conhecer as manhas e as manhãs;*
*O sabor das massas ;*
*E das maçãs;*
*É preciso amor pra poder pulsar;*
*É preciso paz pra poder sorrir;*
*É preciso chuva para florir;*
*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)*

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.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o estresse oxidativo, em eqüinos, submetidos ao exercício em esteira de alta velocidade. Dez eqüinos adultos da raça Árabe, machos e fêmeas, foram submetidos a um protocolo de exercício de treinamento com velocidades de 1,8m/s por 5 minutos, 4m/s por 3 minutos, 6,2m/s por 2 minutos e 8m/s e 10m/s por 1 minuto e um período de desaquecimento de 2 minutos a 3,0m/s e 1 minuto a 1,6m/s com a esteira em posição horizontal. Foram aferidas a freqüência respiratória, a temperatura retal, a temperatura ambiente e umidade relativa do ar antes e após o exercício e a freqüência cardíaca aferida antes, durante e após o exercício. Os protocolos de exercícios foram realizados seis dias por semana, durante quatro semanas em esteira de alta velocidade, nesta etapa não foram colhidas amostras de sangue dos animais. Após o treinamento os animais foram submetidos ao Teste Padrão de Exercício Progressivo com a esteira inclinada a +6% que consistiu em desafiar os eqüinos com velocidades crescentes até a exaustão. O protocolo do teste foi de 1,8m/s por 5 minutos, 4m/s por 3 minutos, 6m/s por 2 minutos e em seguida fases de 1 minuto com velocidades crescentes onde a maior velocidade atingida pelos animais foi de 11m/s. Foram colhidas amostras de sangue para a dosagem sérica do malondialdeído (MDA), concentração de vitamina E e cortisol, lactato sanguíneo, hemograma, plaquetas, proteína total plasmática, fibrinogênio, atividade enzimática sérica da creatinoquinase (CK), do aspartato aminotransferase (AST) e do lactato desidrogenase (LD) e hemogasometria. A freqüência cardíaca foi acompanhada durante o teste e foram aferidas as temperaturas retais, temperatura ambiente e umidade relativa do ar, antes e após o mesmo. As amostras de sangue foram colhidas antes do início do exercício em repouso (M0), durante o exercício a 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6), 11m/s (E7) e 1 minuto depois do exercício (R1), 3 minutos (R3), 5 minutos (R5), 30 minutos (R6), 60 minutos (R7) e nos momentos subseqüentes: 3 horas (R8), 6 horas (R9), 12 horas (R10), 24 horas (R11), 3 dias (R12) e 5 dias (R13), neste período de colheita os animais não foram submetidos a qualquer tipo de exercício. O exercício progressivo induziu o estresse oxidativo e lipoperoxidação em eqüinos da raça Árabe por meio da produção de malondialdeído sérico após 30 minutos. Apesar da detecção de níveis basais de vitamina E, sugere-se que esta e/ou outras substâncias

antioxidantes naturais foram eficientes na proteção das membranas celulares evitando a propagação da lipoperoxidação. Foram verificadas alterações no hemograma, DDE, plaquetas e PPT por efeito da contração esplênica e/ou por hemoconcentração. No leucograma observou-se aumentos fisiológicos dos leucócitos totais, neutrófilos segmentados e linfócitos, sugerindo ação do cortisol sob estes parâmetros. O exercício progressivo e o estresse oxidativo foram os possíveis responsáveis em promover alterações na membrana das células musculares aumentando os valores séricos das enzimas CK, AST e LD. A acidose metabólica transitória ocorreu nos eqüinos com a redução do pH, $PaO_2$, $PaCO_2$, $SaO_2$, $CtCO_2$, $HCO_3^-$ e EB, como também se observou aumentos fisiológicos do sódio e do cloro e uma hipercalemia transitória.

***Palavras-chave***: malondialdeído; vitamina E; cortisol; enzimas musculares; eqüino árabe; fisiologia do exercício.

SILVEIRA, V.F. **Malondialdehyde, vitamin E, cortisol, hemogram and muscular enzymes in Arabian horses submitted to exercise on high-speed treadmill.** 2005. 92p. 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 stress in equines submitted to exercise on high-speed treadmill. The animals, 10 adults Arabian horses, males and females, were submitted to training with different speeds of 1.8m/s for 5 minutes, 4m/s for 3 minutes, 6.2m/s for 2 minutes and 8m/s and 10m/s for 1 minute and a subsequent period of chilling of 2 minutes at 3.0m/s and 1 minute at 1.6m/s using the treadmill in horizontal position. Respiratory frequency, rectal and environmental temperature and air relative humidity were taken before and after training. The cardiac frequency was measured before, during and after the exercise. The training protocols were performed six days a week for four weeks on a treadmill; during this period blood samples weren't collected from the animals. After animal training, Progressive Exercise Pattern Test was performed with the treadmill inclined at +6%, which challenged the equines, increasing speeds until the animals were completely exhausted. The Protocol Test was 1.8m/s for 5 minutes, 4m/s for 3 minutes, 6m/s for 2 minutes and right after, periods of 1 minute with increasing speeds. The horses could reach the maximum speed of 11m/s. Blood samples were taken to evaluate the seric amount of malondialdehyde (MDA), vitamin E and cortisol concentrations, lactate, hemogram, platelets, total plasmatic protein, fibrinogen, seric enzymatic activity of creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LD) and blood-gas. The cardiac frequency was measured during the test, and the rectal and environmental temperature and air relative humidity were taken before and after it. Blood samples were taken before the exercise while the animals were relaxed (M0), during training at 1.8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6), 11m/s (E7) and 1 minute after training (R1), 3 minutes (R3), 5 minutes (R5), 30 minutes (R6), 60 minutes (R7) and in the subsequent moments: 3 hours (R8), 6 hours (R9), 12 hours (R10), 24 hours (R11), 3 days (R12) and 5 days (R13). In this period of blood samples collection, the animals weren't submitted to exercise. The progressive exercise induced to oxidative stress and a lipid peroxidation in Arabian horses by a seric malondialdehyde production after 30 minutes. In spite of the basal levels of vitamin E detected, it is suggested that this vitamin and/or other natural antioxidant substances were efficient to cell membrane protection, avoiding the lipid peroxidation propagation. In the

leukogram, a physiological increase in the total leucocytes, neutrophils mature and lymphocytes were observed suggesting a cortisol action on these parameters. The progressive exercise and the oxidative stress were possibly responsible to induce the muscle cell membrane alterations, raising the seric enzymes values of CK, AST and LD. The transitory metabolic acidosis was noticed in the equines with a decrease in the pH, $PaO_2$, $PaCO_2$, $SaO_2$, $ctCO_2$, $HCO_3^-$ and EB, and a physiological increase of sodium and chlorine and a transitory hyperkaliemia were observed as well.

***Key-words:*** malondialdehyde; vitamin E; cortisol; muscle enzymes; Arabian horse; physiology of exercise

# ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| $\bar{x}$ | - Média aritmética |
| a | - Alfa |
| m**g** | - Micrograma |
| m**L** | - Microlitro |
| **µmol/L** | - Micro mol por litro |
| **ACTH** | - Hormônio adrenocorticotrópico |
| **AST** | - Aspartato aminotransferase |
| **ATP** | - Trifosfato de adenosina |
| **bpm** | - Batimentos por minuto |
| **CHCM** | - Concentração de hemoglobina corpuscular média |
| **CK** | - Creatinoquinase |
| **cm** | - Centímetros |
| **$ctCO_2$** | - Concentração total de gás carbônico |
| **DDE** | - Distribuição do diâmetro dos eritrócitos |
| **DNA** | - Ácido desoxirribonucléico |
| **E** | - Momento de colheita de amostras durante o Teste Padrão de Exercício Progressivo |
| **EB** | - Excesso de base |
| **EDTA** | - Ácido etilenodiaminotetracético |
| **fL** | - Femtolitro |
| **g** | - Gravidade |
| **G** | - Gauge |
| **g/dL** | - Grama por decilitro |
| **$H_2O_2$** | - Peróxido de hidrogênio |
| **Hb** | - Hemoglobina |
| **HCM** | - Hemoglobina corpuscular média |
| **$HCO_3$** | - Íon bicarbonato |
| **He** | - Número de eritrócitos |
| **HPLC** | - Cromatografia líquida de alta eficiência |
| **kg** | - Quilograma |
| **km** | - Quilômetro |
| **LD** | - Lactato desidrogenase |

**M** - Momento de colheita de amostras antes do Teste Padrão de Exercício Progressivo

**M** - Molar

**M** - Metro

**m/s** - Metros por segundo

**MDA** - Malondialdeído sérico

**mg/dL** - Miligrama por decilitro

**mL** - Mililitro

**mm** - Milímetro

**mmHg** - Milímetros de mercúrio

**mmol/L** - Milimol por litro

**mpm** - Movimentos por minuto

**NaCl** - Cloreto de sódio

**NADH** - Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida

**NADPH** - Complexo nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida

**ng/mL** - Nanograma por mililitro

**nmol/mL** - Nanomol por mililitro

**$O_2$** - Oxigênio molecular

**$O_2^{\cdot -}$** - Ânion superóxido

**$^{o}C$** - Grau Celsius

**OH** - Hidroxila

**$PaCO_2$** - Pressão parcial de gás carbônico

**$PaO_2$** - Pressão parcial de oxigênio

**pg** - Picograma

**pH** - Potencial hidrogeniônico

**PPT** - Proteína plasmática total

**PSI** - Puro Sangue Inglês

**R** - Momento de colheita após o Teste Padrão de Exercício Progressivo em repouso

**RIE** - Radioimunoensaio

**RNA** - Ácido ribonucléico

**ROS** - Espécies reativas ao oxigênio

**S** - Desvio padrão

**$SaO_2$** - Saturação de hemoglobina por oxigênio

**T** - Período de treinamento

**TA** - Temperatura ambiente

**TBA** - Ácido tiobarbitúrico

**TBARS** - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

**TPEP** - Teste Padrão de Exercício Progressivo

**UI** - Unidade Internacional

**UI/L** - Unidade internacional por litro

**UR** - Umidade relativa do ar

$\mathbf{V_{200}}$ - Velocidade onde a freqüência cardíaca atinge 200 batimentos por minuto

$\mathbf{V_4}$ - Velocidade onde o lactato atinge 4mmol/L

**VCM** - Volume corpuscular médio

**VG** - Volume globular

**VLDL** - Lipoproteínas de baixa densidade

# SUMÁRIO

**AGRADECIMENTOS**
**EPÍGRAFE**
**RESUMO**
**ABSTRACT**
**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**
**SUMÁRIO**
**1. INTRODUÇÃO** 24
**2. REVISÃO DE LITERATURA** 26
**3. OBJETIVOS** 34
3.1. Geral 34
3.2. Específicos 34
**4. MATERIAL E MÉTODOS** 35
4.1. Animais 35
4.1.2. Adaptação à esteira de alta velocidade 35
4.1.3. Exames de higidez 35
4.1.3.1. Exame clínico 36
4.1.3.2. Exames laboratoriais de higidez 36
4.1.3.3. Exame videoendoscópico do aparelho respiratório anterior com animal em repouso 36
4.1.3.4. Exame laringoscópico com o animal em movimento 37
4.1.3.5. Avaliação cinemática do aparelho locomotor 37
4.2. Treinamento de trabalho na esteira 38
4.3. Teste Padrão de Exercício Progressivo (TPEP) 39
4.3.1. Preparação dos animais 39
4.3.1.2. Cateterização arterial e venosa 39
4.3.2. Colheita das amostras antes do exercício 40
4.3.3. Colheita das amostras durante o exercício 40
4.3.4. Colheita das amostras após o exercício 41
4.4. Exames laboratoriais 43
4.4.1. Malondialdeído sérico (MDA) 43
4.4.2. Vitamina E sérica 43
4.4.3. Cortisol sérico 43

4.4.4. Lactato sanguíneo 44

4.4.5. Hemograma 44

4.4.6. Proteína total plasmática 44

4.4.7. Fibrinogênio plasmático 44

4.4.8. Atividade sérica da creatinoquinase (CK), do aspartato aminotransferase (AST) e do lactato desidrogenase (LD) 45

4.4.9. Hemogasometria 45

4.5. Análise estatística 45

**5. RESULTADOS E DISCUSSÃO** 46

5.1. Exames de higidez 46

5.1.1. Exame clínico, videoendoscópico e laringoscópico do aparelho respiratório anterior com o animal em repouso e em movimento e avaliação cinemática da locomoção 46

5.1.2. Exames laboratoriais 46

5.1.2.1. Variáveis hematológicas 46

5.1.2.2. Variáveis bioquímicas 49

5.2. Treinamento de trabalho na esteira 51

5.2.1. Freqüência cardíaca durante o treinamento 51

5.2.2. Freqüência respiratória durante o treinamento 54

5.2.3. Temperatura retal durante o treinamento 55

5.2.4. Temperatura ambiente (TA) e umidade relativa do ar (UR) durante o treinamento 56

5.3. Teste Padrão de Exercício Progressivo (TPEP) 57

5.3.1. Malondialdeído, vitamina E, cortisol e lactato sanguíneo antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo 57

5.3.2. Eritrograma, distribuição do diâmetro dos eritrócitos, plaquetas, proteína plasmática total antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo 64

5.3.2.1. Leucograma e fibrinogênio antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo 66

5.3.4. Atividade das enzimas musculares antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo 68

5.3.5. Hemogasometria antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo 72

5.3.6. Eletrólitos do sangue arterial antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo 76

5.3.7. Freqüência cardíaca antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo 77

5.3.8. Temperatura retal, temperatura ambiente (TA) e umidade relativa do ar (UR) antes e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo 79

**6. CONCLUSÕES** 82

**7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** 83

# 1. INTRODUÇÃO

O esforço físico constante, da forma leve à moderada, é reconhecido por induzir modificações fisiológicas adaptativas benéficas ao organismo. Porém, o exercício de curto período e alta intensidade induz alterações pronunciadas em variáveis hematológicas, bioquímicas e hemogasométricas. As competições de enduro eqüestre são exemplos de exercícios estressantes para os eqüinos e produzem alterações fisiológicas significantes, antes, durante e depois das competições (BALOGH et al., 2001).

Nos últimos anos muito tem-se discutido a respeito das lesões celulares induzidas pelos radicais livres e sobre as diversas terapias indicadas com objetivo de minimizar estes problemas. As lesões oxidativas ocorrem quando há um excesso da produção de radicais livres e/ou quando os sistemas antioxidantes das células tornam-se ineficazes no controle e eliminação destas espécies reativas de oxigênio (BLAND, 1995; PEIXOTO, 2000).

A produção de energia durante o exercício ocorre na mitocôndria das fibras musculares e o processo de síntese é dependente do sistema de transporte mitocondrial de elétrons consumindo 85% do oxigênio utilizado pelas células. Parte do oxigênio é convertido em radicais livres, principalmente os superóxidos e peróxido de hidrogênio. Este processo é acompanhado pelo consumo de glicogênio, aumento da glicose trifosfato, glicerol e lactato, produtos da respiração anaeróbica (CHOW et al., 1999; BALOGH et al., 2001).

O aumento de consumo de oxigênio no exercício favorece a formação de radicais livres e a peroxidação dos lipídios (lipoperoxidação) de membrana, causando lesões musculares. A lipoperoxidação nos tecidos é um fenômeno complexo produzindo substâncias difíceis de serem eliminadas do organismo, podendo ser mensurada pela dosagem de malondialdeído (MDA), principal produto da reação (McBRIDE et al., 1998). O aumento de MDA no plasma está associado ao exercício físico intenso, indicando a formação da lipoperoxidação por radicais livres podendo ser correlacionada, com a enzima creatinoquinase (CK), principal marcadora de lesão muscular (CHIARADIA et al., 1998).

A vitamina E reduz os efeitos da lipoperoxidação sobre as estruturas celulares, capturando os radicais livres e diminuindo os peróxidos lipídicos que são tóxicos e destroem os eritrócitos, neutrófilos e macrófagos. O exercício está associado ao estresse oxidativo e nestes casos pode-se observar o aumento no consumo de vitamina E (CHOW, 1991; CLAYCOMBE & MEYDANI, 2001).

Portanto, este trabalho pretendeu avaliar o efeito fisiológico do exercício e deletério dos radicais livres por meio do malondialdeído sérico e sob o ponto de vista hematológico e bioquímico, avaliando possíveis lesões musculares em eqüinos submetidos ao exercício progressivo em esteira de alta velocidade.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Os vários processos biológicos são induzidos durante o exercício dos eqüinos e refletem modificações nos constituintes sangüíneos, dentre eles: o hematócrito, a concentração de hemoglobina, os eritrócitos, os leucócitos, a proteína total plasmática, a glicose, as cetonas, os fosfatos, os ácidos graxos livres, o colesterol, o lactato plasmático, o cortisol e o glucagon podem estar aumentados. A atividade das enzimas creatinoquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LD) é influenciada pelo exercício e valores elevados podem ser encontrados. Alguns eletrólitos como o potássio, o cálcio e o bicarbonato podem estar reduzidos após o esforço físico (BALOGH et al., 2001).

O exercício físico induz a liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) da pituitária que, conseqüentemente, estimula o córtex da adrenal a produzir glicocorticóides, sendo cortisol o mais importante no eqüino e no homem (FARRELL et al., 1983). Este estimula a demarginação endotelial temporária dos neutrófilos, representada pela neutrofilia, que nos eqüinos apresenta-se de forma discreta. Nesta mesma espécie, a monocitose pode ocorrer ocasionalmente (JAIN, 1993), porém, a capacidade fagocítica e bactericida é reduzida, o que, clinicamente pode ser considerado como um sinal de doença crônica em conseqüência do exercício (JENSEN-WAERN et al., 1999).

A recirculação linfática pode estar alterada em reposta aos corticóides, contribuindo para a linfopenia e eosinopenia, associada ao seqüestro e inibição da liberação de eosinófilo pela medula óssea (MEYER et al., 1992). Nesse et al. (2002), observaram significantes reduções do número de linfócitos e aumento do número de leucócitos totais, em eqüinos, 16 horas após corrida a campo, associando-as com a elevação da concentração de cortisol plasmático após 60 minutos do término do exercício.

Amostras de cortisol plasmático foram avaliadas em sete eqüinos PSI submetidos ao exercício progressivo em esteira de alta velocidade antes, durante e até duas horas após o exercício. Foram observados valores máximos aos 15 minutos (53,9±9,0ng/mL) após o exercício, com retorno aos níveis basais após 2 horas (38,5±8,4ng/mL) (KUROSAWA et al., 1998).

O organismo sob efeito do exercício produz metabólitos benéficos até determinados níveis, porém, quando estes são ultrapassados começam a ser prejudicial ao seu funcionamento. Um dos principais eventos prejudiciais que ocorrem durante o exercício é a formação de radicais livres ou Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) pelos neutrófilos, pela cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria e xantina oxidase, entre outros (JI, 1999).

Os radicais livres são átomos ou moléculas que apresentam vida livre e número ímpar de átomos de elétrons na camada de valência e possuem duas propriedades peculiares: alta reatividade e alta instabilidade. Os radicais livres possuem meia-vida muito curta, podendo reagir com qualquer biomolécula, sendo necessário apenas que estas existam na proximidade do local de formação do radical livre (THOMAS, 2000; PERCÁRIO et al., 2001).

No processo de defesa do organismo, ou após exercícios intensos promotores de lesão e inflamação do tecido, os neutrófilos são atraídos para o local da agressão por meio de fatores quimiotáticos produzidos por bactérias ou por células lesionadas pelos ROS, ativam a "explosão respiratória", e degranulam os lisossomos que contêm enzimas hidrolíticas (MEYER et al., 1992; JI, 1999; SACHECK & BLUMBERG, 2001).

A capacidade de "explosão respiratória" depende da capacidade citotóxica do neutrófilo e do aumento repentino do metabolismo oxidativo mitocondrial, resultando na produção do anion superóxido ($O_2^{\bullet -}$) e ROS pelo complexo nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH), localizado na membrana plasmática. Alguns estudos afirmam que há uma supressão transitória da "explosão respiratória" ou da capacidade de fagocitar, imediatamente após o exercício físico, outros afirmam que o exercício moderado é responsável por induzir e acentuar essa resposta (PYNE, 1994).

Raidal et al. (2000), estudando o efeito do exercício em eqüinos atletas, em esteira de alta velocidade, verificaram aumento da fagocitose e uma tendência ao aumento da atividade da explosão oxidativa dos neutrófilos como efeito benéfico do exercício moderado. No exercício intenso, a função do neutrófilo ficou prejudicada, comprometendo a resposta imune, aumentando o risco dos animais a infecções.

A ativação da nicotinamina adenina dinucleotídeo ligada à membrana (NADH oxidase) depende da interação do citocromo b associado à membrana e de outras proteínas localizadas no interior da célula. Sob qualquer estímulo, as proteínas do citossol são transportadas para a membrana e completam o sistema NADH oxidase, este por sua vez catalisa a reação de redução do oxigênio molecular ($O_2$) para $O_2^{\bullet -}$, determinando um rápido aumento na atividade da oxidase causando uma "explosão respiratória", resultando no aumento do consumo de oxigênio. Após o $O_2^{\bullet -}$ ser produzido, ele é rapidamente transformado em peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$), ambos geram a hidroxila ($OH^{\bullet}$) e o oxigênio ($O_2$), respectivamente (KANEKO et al., 1997).

Em estudos com leucócitos de humanos, foi comprovado que a hidrocortisona é um potente inibidor da nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH), enzima essencial para a produção intracelular de $H_2O_2$, um potente bactericida. Foi observado que sem esta enzima as bactérias foram fagocitadas, porém, não foram destruídas pelos neutrófilos e a produção de $H_2O_2$ foi reduzida (MANDEL et al., 1970).

Durante os primeiros segundos do exercício o músculo utiliza o metabolismo aeróbio e anaeróbio seguido da resposta fisiológica de aumento da demanda de oxigênio, aumento da perfusão sanguínea por meio da vasodilatação que estimula a contração cardíaca, e este evento necessita de 10 a 20 vezes mais oxigênio. Mudanças na concentração de oxigênio podem alterar o estado de redução da mitocôndria das fibras musculares favorecendo a conversão do oxigênio em ROS e principalmente $O_2^{\bullet -}$ e $H_2O_2$ (PHUNG et al., 1994; THOMAS, 2000). Este processo é acompanhado pelo consumo do glicogênio, aumento da glicose trifosfato (fonte de ATP), glicerol e lactato, produtos da respiração anaeróbica (CHOW et al., 1999; BALOGH et al., 2001).

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. Os ROS reagem com os lipídios das membranas celulares induzindo a lipoperoxidação causando perda da fluidez da membrana e aumento da permeabilidade com liberação das proteínas e enzimas lisossomais do citoplasma no espaço extracelular lesionando os tecidos (SJÖDIN et al., 1990), (Figura 1).

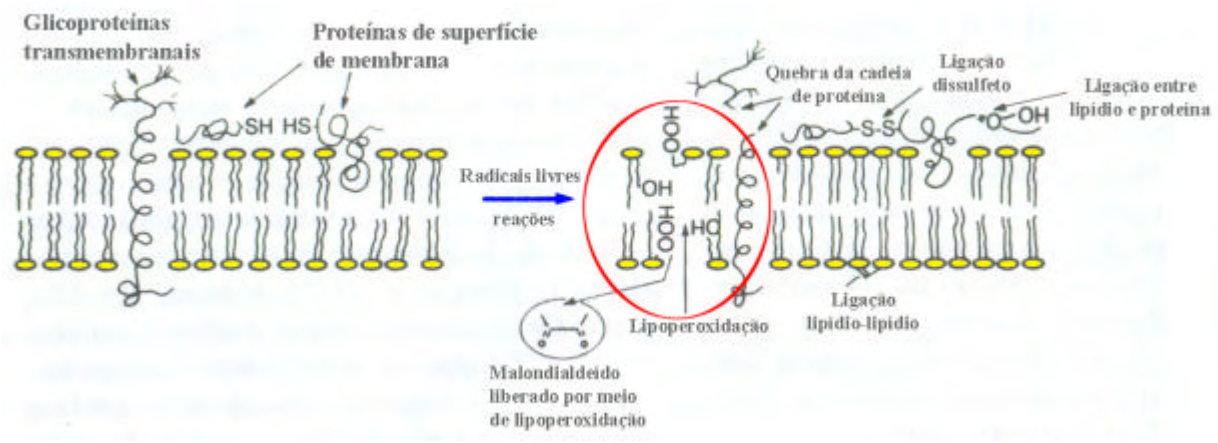



**Figura 1.** Efeitos dos radiais livres nos constituintes da membrana celular, (adaptado por Sjödin et al., 1990).

A lipoperoxidação ocorre como uma reação em cadeia em etapas: a iniciação corresponde ao seqüestro do hidrogênio do ácido graxo poliinsaturado da membrana celular pelo radical hidroxila ou pelo radical alcoxila, com formação do radical lipídico. Na etapa da propagação, o radical lipídico reage rapidamente com oxigênio, resultando em radical peroxila que, por sua vez, seqüestra um hidrogênio de um novo ácido graxo poliinsaturado, formando novamente o radical lipídico. A terminação ocorre quando os radicais lipídico e peroxila produzidos, anulam-se (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; GATÉ et al., 1999; ABUJA & ALBERTINI, 2001). Os hidroperóxidos formados podem se decompor em numerosos produtos aldeídos de diferentes comprimentos de cadeias, reativos ao ácido tiobarbitúrico (TBA) (SJÖDIN et al., 1990).

Há quatro décadas a metodologia empregada para detecção das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) mensurava por meio da absorbância ou fluorescência, atualmente, o método utiliza o aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com maior precisão e sensibilidade na separação dos componentes aldeídos, obtendo-se o MDA livre (WONG et al., 1987; DRAPER & HADLEY, 1990; DRAPER et al., 1993; JENTZSCH et al., 1996; KARATAS et al., 2002).

Diariamente o organismo produz os ROS, porém os níveis de produção são compatíveis com o sistema de defesa antioxidante que é capaz de eliminá-los. Comparativamente, durante o exercício ocorre um aumento de 10 a 20 vezes no consumo de oxigênio e de 100 a 200 vezes no músculo esquelético ativo (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000). Esta elevação resulta em produção de ROS que excedem a capacidade do organismo em eliminá-los (SJÖDIN et al., 1990) favorecendo ao acúmulo de grandes quantidades de ROS (MASTALOUDIS et al., 2001).

Várias formas de exercício podem induzir a lipoperoxidação como a alta intensidade por curta duração (HARTMANN et al., 1995; NIESS et al., 1996) ou moderada intensidade (HARTMANN et al., 1998, TSAI et al., 2001). O treinamento regular aumenta a resistência do organismo aos ROS estimulando a atividade das enzimas antioxidantes dos leucócitos e reduzindo a concentração de substâncias produzidas durante a lipoperoxidação (BALOGH et al., 2001).

O aumento do malondialdeído no plasma está associado ao exercício físico intenso, segundo Chiaradia et al. (1998), foram encontrados altos níveis de MDA (0,11µmol/L) em eqüinos atletas após exercício intenso. Os valores de MDA permaneceram aumentados (0,09µmol/L) 18 horas após o exercício, sugerindo a dificuldade do organismo em metabolizá-lo.

Elevações na atividade das enzimas musculares como a CK plasmática são indicativas da resposta ao exercício extenuante e refletem lesões musculares. 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).

Valberg et al. (1993) observaram em eqüinos com rabdomiólise, aumentos moderados das atividades das enzimas CK e AST, e, quando foram submetidos a exercícios de moderada a alta intensidade observaram que a duração e a velocidade do exercício influenciaram na magnitude das atividades enzimáticas.

Hodgson & Rose (1994), afirmam que o aumento dessas enzimas está relacionado com a intensidade e continuidade do exercício. Em eqüinos durante o exercício de enduro, observaram valores de CK superiores a 3.000UI/L, sem evidência clínica de lesão muscular. Segundo estes autores estas enzimas podem ser influenciadas pela fase de treinamento e pelo tipo de exercício.

Recentemente, 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 de uma adequada proteção contra lesões oxidativas a partir da suplementação com antioxidantes da dieta (JI, 1999). Segundo Sen (2001), a suplementação com antioxidante proporciona um efeito benéfico contra lesões teciduais induzidas por exercício.

Desde o descobrimento da vitamina E em 1925, foram desenvolvidos em todo o mundo, vários trabalhos científicos demonstrando a importância desta vitamina na saúde animal. Estudos têm evidenciado o efeito significante e benéfico da suplementação de vitamina E associada a exercícios, reduzindo a lipoperoxidação (McBRIDE et al., 1998). Outras funções são dependentes da vitamina E como a síntese de proteínas, regulação do metabolismo fenobiótico, alterando a atividade das enzimas lisossomais e regulação da resposta imune, além de proporcionar proteção contra lesões no DNA, produzidas a partir do aumento da atividade física extenuante (CHOW, 1991; BIANCHINI-PONTUSCHKA & PENTEADO, 2003). A deficiência do dl-α tocoferol está associada ao aumento da fragilidade das membranas lisossomais, assim como à diminuição da fosforilação oxidativa no músculo esquelético, fígado e tecido adiposo (SEN, 2001).

A atividade das enzimas antioxidantes aumenta com o estresse oxidativo e exercício, entretanto, o incremento destas defesas pode não ser fisiologicamente proporcional às necessidades criadas pela elevação nos eventos pró-oxidantes e afetar o requerimento de

antioxidantes na dieta, como a vitamina E. Esse requerimento depende da duração e da intensidade do exercício, do programa de treinamento, idade, dieta e estado de saúde do animal (SACHECK & BLUMBERG, 2001).

O exercício físico é utilizado como modelo para o estudo da resposta fisiológica na regulação dos mecanismos do estresse e a magnitude depende da detoxificação dos ROS e dos mecanismos de defesa antioxidante. Os antioxidantes endógenos produzidos no organismo atuam em conjunto com os exógenos protegendo-o contra os ROS (SEN, 2001).

Fisiologicamente, o organismo pode defender-se da agressão mediada pelos radicais livres utilizando as reservas antioxidantes celulares. Estas podem ser moléculas pequenas que diminuem a reatividade do $OH^{\bullet}$, como as vitaminas, principalmente a vitamina E (dl-α-tocoferol) (PERCÁRIO et al., 2001). A vitamina E é transportada por lipoproteínas de baixa densidade (VLDL) produzidas pelo fígado e a principal responsável por manter as concentrações normais de vitamina E no plasma (ROCK et al., 1996; TRABER & PARKER, 1995). A vitamina E pertence ao grupo dos tocotrienos e tocoferois que é um potente antioxidante de membranas celulares (McBRIDE et al., 1998; BIANCHINI-PONTUSCHKA & PENTEADO, 2003).

Estudos, em humanos, correlacionando MDA com protetores antioxidantes, verificaram que o produto da lipoperoxidação foi significativamente reduzido em suplementações de vitamina E por duas semanas (KASIE et al., 2000).

Eqüinos não condicionados foram submetidos a um exercício físico, a campo, e após esta prova, foram suplementados com vitamina E e selênio por 70 dias. Em seguida, os animais foram novamente submetidos ao exercício. O aumento de MDA na primeira prova de exercício sugeriu grande produção de radicais livres induzidos pelo exercício. Na segunda prova, os valores de MDA diminuíram, demonstrando que a suplementação favoreceu a capacidade do organismo de combater os radicais livres. Por outro lado, os valores de vitamina E apresentaram-se diminuídos indicando aumento no consumo em função do aumento da lipoperoxidação (AVELLINI et al., 1999).

Craig et al. (1989) encontraram variações nas concentrações plasmáticas de vitamina E entre eqüinos. A concentração plasmática adequada de vitamina E compreende valores superiores a 2,0 μg/mL e para valores abaixo de 1,5 μg/mL, os animais são considerados deficientes.

De acordo com a intensidade do exercício, a musculatura produz o lactato como catabólito durante o metabolismo anaeróbico, que se difunde para o sangue periférico

(MUÑOZ et al., 1996). O lactato não se acumula necessariamente em todos os tipos de exercício. Durante o exercício leve e moderado, o ATP para a contração muscular torna-se disponível predominantemente através da energia produzida pela oxidação do hidrogênio. Qualquer lactato formado no exercício leve é oxidado rapidamente e o nível sanguíneo de lactato mantém-se estável, mesmo quando o consumo de oxigênio aumenta (McARDLE et al., 1998). Quando a velocidade de remoção é inferior à velocidade de produção o lactato começa a acumular e eleva-se de maneira exponencial (WILMORE & COSTILL, 2001).

O aumento no lactato é decorrente da hipóxia tecidual relativa que ocorre no exercício intenso. Na deficiência de oxigênio, a demanda de energia é atendida parcialmente pela glicólise anaeróbica à medida que a liberação de hidrogênio começa a ultrapassar sua oxidação por meio da cadeia respiratória. Conseqüentemente, hidrogênios em excesso são transferidos para o ácido pirúvico formando o ácido lático que se acumula. O aumento no ácido láctico torna-se maior à medida que o exercício se torna mais intenso e as células musculares não conseguem satisfazer aerobicamente as necessidades adicionais de energia (McARDLE et al., 1998).

A mensuração do lactato sangüíneo durante ou logo após o exercício, em esteira de alta velocidade, é utilizada para monitorar a melhora da performance em vários protocolos de treinamento (EVANS et al., 1995; COUROUCÉ et al., 1997). A concentração de 4mmol/L representa o lactato máximo sangüíneo no homem e no eqüino e a partir deste momento inicia-se o metabolismo anaeróbio (KAMERLING, 1993; MUÑOZ et al., 1996; WILMORE & COSTILL, 2001).

A fadiga durante o exercício intenso em esteira de alta velocidade está associada ao aumento da concentração de hidrogênio conseqüente da dissociação do ácido lático que, quando não eliminado, transforma-se em lactato. O acúmulo dos íons hidrogênio induz a acidose muscular; esta afeta a produção de energia, a contração muscular, inibe a ação da fosfofrutoquinase, reduz a velocidade da glicólise, a produção do ATP, ou até mesmo cessa a glicólise, além de deslocar o cálcio do interior da fibra, interferindo no acoplamento das pontes cruzadas da actina e miosina, 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).

Em virtude do lactato ser considerado o maior contribuinte para o aumento do hidrogênio (KRONFELD et al., 1995), a análise de pH e dos gases sangüíneos (hemogasometria) torna-se importante no estudo de eqüinos atletas (TAYLOR et al., 1998).

A avaliação das trocas gasosas pulmonares pode ser baseada na mensuração das tensões de oxigênio ($PaO_2$) e dióxido de carbono ($PaCO_2$) no sangue arterial. Durante o exercício de alta intensidade observa-se o desenvolvimento de hipoxemia fisiológica com valores menores do que 81,9-85,3mmHg (WAGNER et al., 1989; SPEIRS, 1999; MANOHAR, et al., 2001). Provavelmente, a hipoxemia pode ser decorrente da difusão limitada do fluxo aéreo para os pulmões, em virtude do sincronismo da freqüência respiratória com cada galão em exercícios de alta intensidade onde se encontram freqüências respiratórias maiores que 110 movimentos por minutos (BAYLY, 1999).

Estudos com eqüinos Árabes em exercícios progressivos demonstram que diferente das outras raças, estes possuem a habilidade de manter altos níveis de ventilação alveolar evitando a hipercapnia e acidose induzidas pelo exercício (TAYLOR et al., 1998).

Segundo Aguilera-Tejero et al., (2000), após o exercício pode-se encontrar reduzidas concentrações de bicarbonato e grandes concentrações de lactato, indicando acidose metabólica que pode estar compensada pela diminuição da pressão parcial de $CO_2$. Esta redução na pressão parcial de $CO_2$ está correlacionada com a hiperventilação. Porém, quando a temperatura do sangue não é ajustada a redução das concentrações do pH, pressão parcial de $CO_2$, pressão parcial de $O_2$ e bicarbonato tende a ser superestimada (TAYLOR et al., 1998).

As concentrações de eletrólitos são alteradas durante o exercício como o aumento da concentração de sódio conseqüente da perda de líquidos do plasma para o interstício, o aumento do potássio secundário a perda do compartimento intracelular para o extracelular, e a diminuição do cloro resultante do balanço entre os íons sódio e cloretos e pela requisição das fibras musculares (AGUILERA-TEJERO et al., 2000).

# 3. OBJETIVOS

## 3.1. Geral

- Avaliar o efeito do exercício progressivo em esteira de alta velocidade no metabolismo oxidativo em eqüinos da raça Árabe.

## 3.2. Específicos

- Avaliar o efeito do exercício progressivo em esteira de alta velocidade sob os níveis séricos do malondialdeído (MDA), vitamina E, cortisol; sob lactato sanguíneo, hemograma e atividade enzimática sérica da creatinoquinase (CK), do aspartato aminotransferase (AST) e do lactato desidrogenase (LD); hemogasometria e eletrólitos em eqüinos da raça Árabe.

# 4. MATERIAL E MÉTODOS

## 4.1. Animais

Foram utilizados 10 eqüinos adultos, da raça Árabe, sendo 02 machos castrados e 08 fêmeas, com idade variando de 2 a 5 anos e peso médio de 300kg, clinicamente sadios. Após a aquisição, os animais foram alojados em piquetes no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista - UNESP, localizada na cidade de Botucatu, Estado de São Paulo, a 48º52' longitude oeste, 22º52' latitude sul, altitude de 756 metros acima do nível do mar, apresentando clima temperado e temperatura média anual de 19ºC. Os eqüinos foram registrados, pesados, escovados, casqueados, desverminados e observados diariamente quanto ao comportamento. O manejo nutricional consistiu de ração comercial para eqüinos[1], feno de capim *coast-cross* (*Cynodon dactylon*), suplemento mineral[2] conforme recomendações de Lewis (2000) e água *ad libitum*.

### 4.1.2. Adaptação à esteira de alta velocidade[3]

Os animais foram adaptados à locomoção na esteira de alta velocidade no laboratório do Centro de Medicina Esportiva Eqüina do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da FMVZ-UNESP-Botucatu. Cada animal foi posicionado na esteira e acoplado ao corpo o cinto suspensor de segurança para iniciar a movimentação da manta da esteira a uma velocidade de 0,8m/s. Após alguns passos do animal, aumentou-se a velocidade para 1,6m/s mantendo-se por 10 minutos. Nos dias posteriores aumentou-se a velocidade gradativamente para que o animal pudesse realizar os andamentos a passo, trote e galope de forma cadenciada e uniforme, conforme a individualidade de cada animal.

### 4.1.3. Exames de higidez

Os animais foram examinados para a avaliação do estado de higidez, em particular do aparelho cardiorrespiratório e musculoesquelético.

---

[1] Ração Comercial para eqüinos – Purina® do Brasil Ltda.
[2] Sal Mineral Purina para Eqüinos – Purina® do Brasil Ltda.
[3] Mustang 2200 AG® – KAGRA®, Suíça.

4.1.3.1. Exame clínico

O exame clínico consistiu na observação da mucosa ocular e oral, realização do teste do tempo de perfusão capilar, palpação dos linfonodos submandibulares, auscultação da área cardiopulmonar, mensuração da freqüência cardíaca e respiratória, aferição da temperatura retal e avaliação do sistema musculoesquelético (SPEIRS, 1999).

4.1.3.2. Exames laboratoriais de higidez

Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório Clínico Aguemi Kohayagawa da FMVZ - UNESP - Campus de Botucatu. Foram colhidas amostras de sangue por venopunção jugular dos eqüinos, no mesmo dia do exame clínico no início da manhã com o auxílio de agulha para colheita múltipla de sangue[4] de calibre 25x8 acoplada a tubos a vácuo[5] contendo ácido etilenodiaminotetraacético potássico (EDTA), estas foram processadas em contador eletrônico de células[6]. Amostras de sangue total foram colhidas com a mesma agulha, em tubos a vácuo contendo gel coagulante[7] para obtenção do soro, sendo centrifugadas por 10 minutos a 1.000xg em uma centrífuga[8]. O soro obtido foi separado em alíquotas em microtubos de polipropileno de 1,5mL para a determinação da concentração de malondialdeído, vitamina E, cortisol e da atividade enzimática da creatinoquinase (CK), do aspartato aminotransferase (AST) e do lactato desidrogenase (LD).

4.1.3.3. Exame videoendoscópico do aparelho respiratório anterior com o animal em repouso

A videoendoscopia do aparelho respiratório anterior foi realizada com o eqüino contido em tronco, utilizando aparelhagem de videoendoscopia[9] e reprodução de imagens. Iniciou-se o exame por meio do posicionamento da extremidade distal do fibroscópio na narina direita, introduzindo-o pelo meato ventral, desta forma as estruturas foram sendo avaliadas como: a concha nasal, região do osso etmoidal, recesso faríngeo, óstios faríngeos das bolsas guturais e as estruturas da laringe visíveis ao exame. Em seguida, procedeu-se à

[4] B.D.®- Vacutainer®- Brand Blood Colletion Needles.
[5] Labnew® – Vacutainer® (5,0 mL).
[6] Cell-Dyn 3500 R®, Abbott Diagnostic®, USA.
[7] Vaccum II® (10,0 mL), Labnew®, São Paulo, Brasil.
[8] CELM-LS3®.
[9] Olympus OTVF3®.

avaliação funcional da laringe por meio da oclusão manual das narinas para induzir inspirações forçadas. Foi realizado o *slap-test* por meio de estímulo mecânico na região torácica com resposta reflexa da movimentação de adução e abdução da cartilagem aritenóide.

4.1.3.4. Exame laringoscópico com o animal em movimento

Com os animais adaptados à esteira, procedeu-se à laringoscopia com o mesmo equipamento anteriormente descrito, com o animal em movimento, logo após o exame em repouso, contudo, foi necessário utilizar uma sonda nasogástrica de calibre similar ao do fibroscópio para que os animais acomodassem-se à presença do mesmo. A sonda foi introduzida pelo meato ventral da narina até a laringe, sendo recuada cerca de 10cm e fixada ao cabresto. Iniciou-se a movimentação da esteira com aumento progressivo da velocidade, observando a adaptação do eqüino à presença da sonda. A esteira foi parada, a sonda retirada e o fibroscópio introduzido e posicionado na faringe do animal, fixado ao cabresto com faixa de tecido (faixa umbilical). Os animais foram submetidos ao exercício com o aumento gradual da velocidade iniciando a passo com 1,8m/s por 5 minutos, seguido pelo trote a 4m/s por 3 minutos, pelo cânter a 6,2m/s por 2 minutos e pelo galope com 8m/s e 10m/s por 1 minuto com um período de desaquecimento de 2 minutos a 3,0m/s e 1 minuto a 1,6m/s com a esteira sem inclinação. As imagens obtidas foram gravadas em fitas de videocassete[10] e analisadas. Este exame é utilizado para avaliar possíveis alterações dinâmicas do funcionamento da laringe durante o exercício.

4.1.3.5. Avaliação cinemática do aparelho locomotor

Os eqüinos foram submetidos ao exercício na esteira de forma que se procedesse a todo o andamento: passo, trote, cânter e galope, sendo gravados em fita de videocassete por meio de uma câmera de vídeo[11]. Este exame foi realizado para verificar possíveis disfunções musculoesqueléticas detectáveis durante o exercício.

[10] Sony® – Fita de videocassete – 120 minutos.
[11] Sony®.

## 4.2. Treinamento de trabalho na esteira

Após todos os animais realizarem os procedimentos de ambientação, adaptação ao manejo, à locomoção sobre a manta da esteira, exames clínico e laboratorial de higidez, os exames preliminares em repouso e em movimento com o videoendoscópio e a cinemática do aparelho locomotor, foram eles submetidos ao treinamento de trabalho na esteira.

Antes de iniciar o treinamento, os animais foram preparados: pesados, escovados, casqueados e tricotomizados na região posterior à escápula esquerda e na região axial esquerda referente à área de auscultação cardíaca.

Durante o treinamento, a rotina empregada antes de iniciarem-se os exercícios, em cada animal consistiu na realização da limpeza dos cascos, aferição da freqüência respiratória, temperatura retal, temperatura do ambiente e a umidade relativa do ar[12]. Para a aferição da freqüência cardíaca fixou-se no animal uma cinta elástica acoplando-se à mesma o freqüencímetro[13], aplicou-se o gel condutor (para eletrocardiograma) na pele do animal no local tricotomizado (para melhorar a transmissão da freqüência cardíaca para o relógio[14]) e acoplou-se o cinto suspensor de segurança no animal, para então, aferir-se a freqüência cardíaca em repouso.

O protocolo de exercício estabelecido para o treinamento dos animais foi realizado uma vez ao dia, seis dias por semana, das 6:30h as 8:00h da manhã, durante 20 dias com a esteira sem inclinação, segundo o protocolo descrito a seguir, (Quadro 1). A freqüência cardíaca dos animais foi mensurada nos últimos 10 a 15 segundos de cada minuto durante o protocolo descrito e foi acompanhada durante 5 minutos após o desaquecimento com o animal em repouso para avaliar a recuperação aos níveis fisiológicos após o exercício. Ao final do exercício a temperatura retal, a freqüência respiratória, a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar foram novamente mensuradas.

---

[12] Termohigrômetro – Minipa MT 241® – China.
[13] Polar Heart Rate Monitors®– Canadá.
[14] Polar A1®– Canadá.

**Quadro 1** - Protocolo de exercício realizado durante o treinamento de 10 eqüinos adultos da raça Árabe, em esteira de alta velocidade, realizado no Laboratório do Centro de Medicina Esportiva Eqüina da FMVZ - UNESP - Campus de Botucatu

| **Protocolo de Treinamento**<br>**Esteira sem inclinação** | |
|---|---|
| **Velocidade** | **Tempo** |
| 1,8m/s | 5 minutos (aquecimento) |
| 4,0m/s | 3 minutos |
| 6,2m/s | 2 minutos |
| 8,0m/s | 1 minuto |
| 10,0m/s | 1 minuto |
| 3,0m/s | 2 minutos (desaquecimento) |
| 1,6m/s | 1 minuto (desaquecimento) |

4.3. Teste Padrão de Exercício Progressivo (TPEP)

Após vinte dias de treinamento, os animais foram submetidos ao Teste Padrão de Exercício Progressivo (TPEP), que foi realizado 48 horas após o último dia do treinamento.

4.3.1. Preparação dos animais

4.3.1.2. Cateterização arterial e venosa

No dia dos respectivos testes, os eqüinos foram preparados com a escovação dos pêlos e limpeza dos cascos. Aferiu-se a freqüência respiratória, temperatura retal, temperatura do ambiente e a umidade relativa do ar. Realizou-se a contenção do animal no tronco para a cateterização da artéria facial transversa, a região foi tricotomizada e realizou-se a anti-sepsia com iodo povidine, em seguida, aplicou-se um botão anestésico por meio da infusão subcutânea local de 0,2mL de lidocaína a 2% sem vasoconstritor[15] e introduziu-se um cateter 18G (1,3mm x 48mm)[16]; este foi fixado à pele por meio de um ponto simples com fio de sutura de náilon. No cateter acoplou-se um tubo extensor, adaptando-se em sua extremidade uma torneira de 3 vias para a colheita de sangue arterial e conseqüente realização dos exames hemogasométricos.

[15] Cristália®– Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.
[16] B.D.®– Cateter Intravenoso 18G®.

O processo de cateterização da veia jugular foi semelhante ao de cateterismo arterial, porém introduziu-se o cateter 14G[17] acoplando-o a um tubo extensor adaptado a um equipo de aproximadamente 1,0m de comprimento, e, em sua extremidade, acoplou-se uma torneira de 3 vias. Ambos os cateteres foram preenchidos com solução heparinizada (4UI de heparina sódica[18] /mL de solução de NaCl 0,9%[19] antes e após cada colheita, para evitar a coagulação do sangue em seu interior).

Após a cateterização, acoplou-se à cinta elástica, o freqüêncimetro e o cinto suspensor de segurança. Com os animais devidamente preparados, aguardaram-se 30 minutos para o retorno dos parâmetros basais após a manipulação, sendo então conduzidos à esteira e, em seguida, foi mensurada da freqüência cardíaca.

### 4.3.2. Colheita das amostras antes do exercício

Neste momento, em repouso (M0), retirou-se com uma seringa de 20mL o total de solução heparinizada e 5mL de sangue como margem de segurança para não diluir as amostras; este sangue foi descartado. A amostra de sangue arterial foi colhida por meio de uma seringa de 3mL, devidamente identificada, contendo heparina de lítio[20] e foi acondicionada em recipiente de isopor contendo água gelada e gelo triturado. O sangue venoso foi colhido em tubos a vácuo contendo EDTA para realização do hemograma e em tubos com gel coagulante para exames bioquímicos, sendo que uma alíquota de 20µL de sangue venoso sem anticoagulante foi destinada à dosagem imediata do lactato sanguíneo por meio de fitas reagentes utilizadas no lactímetro portátil[21]. Após as colheitas, os extensores foram preenchidos com solução heparinizada para evitar a coagulação sanguínea.

### 4.3.3. Colheita das amostras durante o exercício

Colhidas as amostras em repouso, realizou-se o Teste Padrão de Exercício Progressivo com a inclinação da esteira a +6%. O exercício iniciou com o animal a passo, à velocidade de 1,8m/s onde foram colhidas amostras do momento 1 (E1) ao final dos 5 minutos; seguido do trote com a velocidade de 4,0m/s, colheu-se o momento 2 (E2) ao final

---

[17] B.D.® - Intracath 14G®.
[18] Heparin® – Cristália® – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.
[19] J.P.® – Indústria Farmacêutica Ltda.
[20] B.D. Preset®– BD Vacuntainer Systems®.
[21] Lactímetro Portátil – Accutrend® – Roche®.

de 3 minutos; no cânter a velocidade de 6,0m/s, colheu-se o momento 3 (E3) ao final de 2 minutos e no galope nas velocidades crescentes de 8,0m/s, 9,0m/s, 10,0m/s e 11,0m/s, colheram-se amostras de sangue ao final de cada 1 minuto representando os momentos 4 (E4), 5 (E5), 6 (E6) e 7 (E7), respectivamente (Quadro 2). A esteira foi parada quando os animais entraram em exaustão, este momento foi definido como a velocidade máxima atingida por cada animal.

Os valores da freqüência cardíaca foram registrados nos 5 segundos finais de cada minuto de exercício. As amostras de sangue arterial e venoso e alíquota para dosagem imediata do lactato sanguíneo foram colhidas a partir dos 15 segundos finais de cada momento semelhante às colheitas em repouso, sempre retirando a solução heparinizada do circuito e recolocando após cada colheita, conforme o descrito anteriormente.

**Quadro 2** - Protocolo de exercício e colheita de amostras nos momentos realizados antes e durante o Teste Padrão de Exercício Progressivo em 10 eqüinos adultos da raça Árabe, em esteira de alta velocidade, realizado no Laboratório do Centro de Medicina Esportiva Eqüina da FMVZ - UNESP - Campus de Botucatu

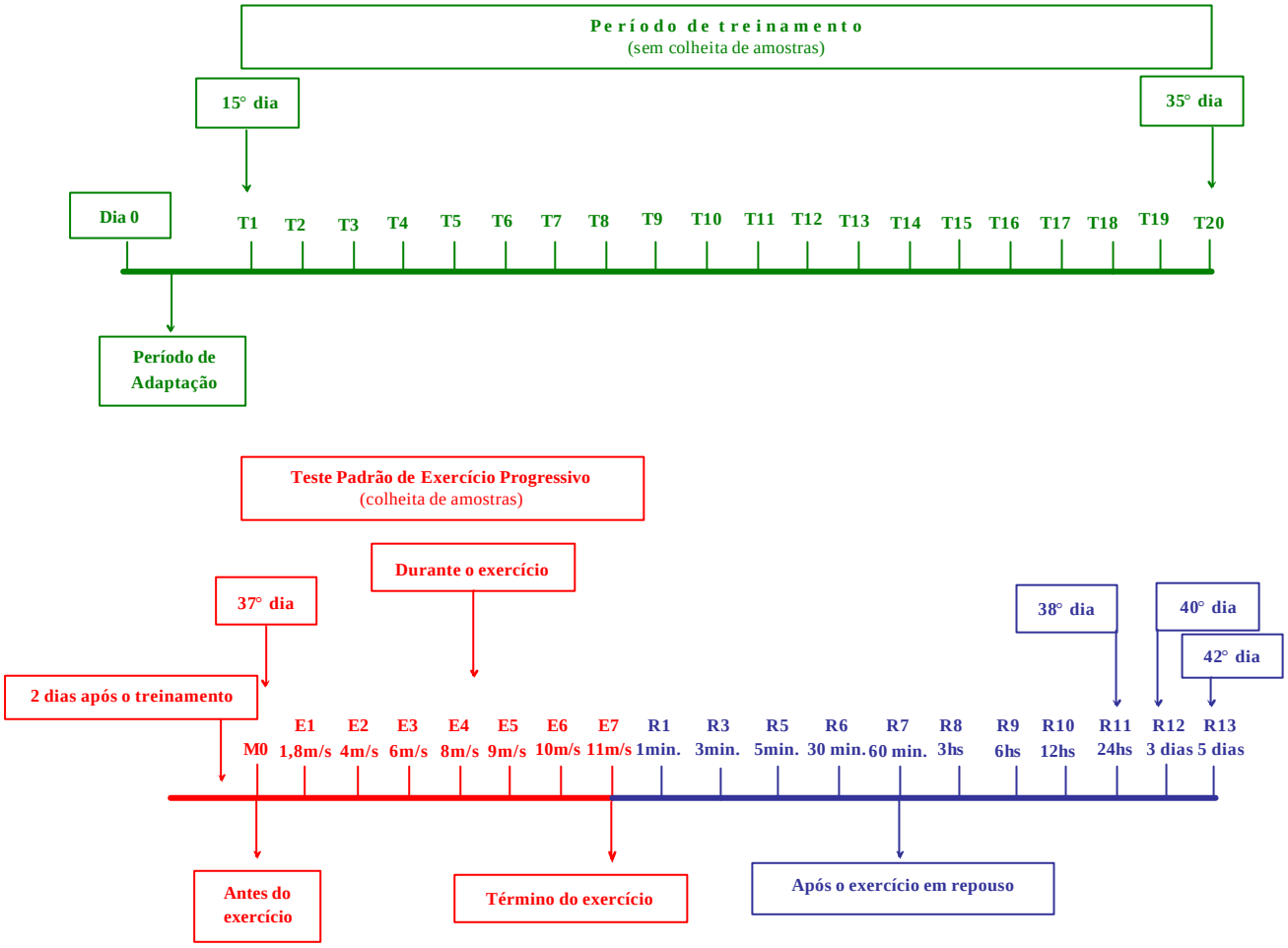
| **Teste Padrão de Exercício Progressivo**<br>**Inclinação da esteira: +6%** | | |
|---|---|---|
| **Momentos** | **Velocidade** | **Tempo** |
| **Antes do exercício** | | |
| M0 | Repouso | - |
| **Durante o exercício** | | |
| E1 | 1,8m/s | 5 minutos |
| E2 | 4,0m/s | 3 minutos |
| E3 | 6,0m/s | 2 minutos |
| E4 | 8,0m/s | 1 minuto |
| E5 | 9,0m/s | 1 minuto |
| E6 | 10,0m/s | 1 minuto |
| E7 | 11,0m/s | 1 minuto |

4.3.4. Colheita das amostras após o exercício

Após o término do exercício os animais foram mantidos na esteira e foram aferidas a freqüência respiratória, temperatura retal, temperatura do ambiente e a umidade relativa do ar. As amostras de sangue arterial, venoso e lactato sanguíneo foram colhidas em 1, 3 e 5, minutos após o exercício e aos 30 e 60 minutos seguintes, foram colhidas apenas amostras de

sangue venoso, correspondendo aos momentos R1, R3, R5, R6 e R7, respectivamente. A freqüência cardíaca também foi aferida nestes momentos.

Os animais foram encaminhados aos piquetes e foram colhidas amostras de sangue venoso nos seguintes momentos: às 3 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 3 dias e 5 dias após o Teste Padrão de Exercício Progressivo, correspondendo aos momentos R8, R9, R10, R11, R12 e R13, respectivamente. Os momentos das colheitas de amostras foram esquematizados a seguir:




T = Período de treinamento

M = Momento de colheita de amostras antes do Teste Padrão de Exercício Progressivo

E = Momento de colheita de amostras durante o Teste Padrão de Exercício Progressivo

R = Momento de colheita de amostras após o Teste Padrão de Exercício Progressivo em repouso

**Esquema 1 - Delineamento experimental e colheitas de amostras**

## 4.4. Exames laboratoriais

### 4.4.1. Malondialdeído sérico (MDA)

As amostras de sangue total foram dessoradas conforme foi descrito anteriormente, devidamente separadas em alíquotas, identificadas e armazenadas em freezer à temperatura de -20ºC para dosagem do malondialdeído sérico.

O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Nutrição do Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina da UNESP - Campus de Botucatu e as dosagens séricas de MDA foram determinadas por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)[22], em fluoroscopia de acordo com a metodologia descrita por Karatas et al. (2002).

### 4.4.2. Vitamina E sérica

As alíquotas de soro para a dosagem da vitamina E foram protegidas da luz com papel alumínio, identificadas e armazenadas em freezer à temperatura de -20ºC para dosagem da vitamina E sérica.

O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Nutrição do Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina da UNESP - Campus de Botucatu e as dosagens séricas de vitamina E foram determinadas por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), em fluoroscopia de acordo com a metodologia descrita por Arnaud et al. (1991).

### 4.4.3. Cortisol sérico

As alíquotas de soro para a determinação da concentração do cortisol sérico foram identificadas e armazenadas em freezer à temperatura de -20ºC.

O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ - UNESP - Campus de Botucatu e a determinação do cortisol sérico foi realizada por meio da técnica de

[22] Shimadzu®, Kioto, Tokyo.

radioimunoensaio (RIE), utilizando-se kit comercial[23] e a leitura foi realizada em contador gama[24].

4.4.4. Lactato sanguíneo

A determinação do lactato sanguíneo foi realizada imediatamente após a colheita do sangue venoso onde foi retirada uma alíquota de 20µL do tubo sem anticoagulante com uma pipeta automática, sendo a alíquota aplicada a uma fita reagente e a leitura realizada no lactímetro portátil.

4.4.5. Hemograma

As amostras de sangue venoso com EDTA foram processadas no mesmo dia da colheita e o hemograma, plaquetas e a distribuição do diâmetro dos eritrócitos (DDE) foram obtidos por meio do contador eletrônico de células [25].

4.4.6. Proteína total plasmática

A concentração da proteína total plasmática foi realizada com a amostra de sangue com EDTA no mesmo dia da colheita por meio da refratometria[26], obtendo-se o índice de refração do fluído, conforme Jain (1986).

4.4.7. Fibrinogênio plasmático

A determinação do fibrinogênio foi realizada com a amostra de sangue com EDTA no mesmo dia da colheita por meio do método indireto de precipitação pelo calor (56$^{o}$C) e a leitura realizada por meio da refratometria, conforme Jain (1986).

---

[23] Coat- a –Count® Cortisol, Diagnostic Products® Co., Loa Angeles, CA, USA.
[24] KineticCount 48®. Vitek Systems®, Missouri, USA.
[25] Cell-Dyn 3500 R®, Abbott Diagnostic®, USA.
[26] Atago® Co.Ltd. Japan.

4.4.8. Atividade sérica da creatinoquinase (CK), do aspartato aminotransferase (AST) e do lactato desidrogenase (LD)

As alíquotas de soro para a determinação da atividade sérica da creatinoquinase, do aspartato aminotransferase e do lactato desidrogenase foram identificadas e armazenadas em freezer à temperatura de -20ºC.

As amostras foram processadas por meio de kits comerciais[27] com leitura em espectrofotômetro semi-automático[28].

4.4.9. Hemogasometria

As amostras colhidas para exame hemogasométrico e de eletrólitos foram imediatamente acondicionadas em recipiente térmico com água gelada e gelo triturado e, ao final do Teste Padrão de Exercício Progressivo, foram encaminhadas ao Serviço de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina - UNESP - Campus de Botucatu para o processamento em analisador automático[29].

4.5. Análise estatística

Para avaliar a normalidade do conjunto de dados foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para as variáveis paramétricas foi utilizado o teste de Análise de Variância de Medidas Repetidas e para as variáveis não paramétricas o teste de Friedman. No caso de diferenças significativas foram realizadas comparações entre momentos por meio do teste de comparações múltiplas de Student-Newman-Keuls.

Foram realizadas correlações entre diferentes variáveis, para variáveis paramétricas utilizou-se teste de correlação de Pearson e para variáveis não paramétricas teste de correlação de Spearman (CURI, 1998).

Os dados foram apresentados na forma de médias e a variabilidade na forma de desvio padrão (DP). Foram consideradas significativas as diferenças com valor de $p<0,05$. A análise foi realizada utilizando-se o programa Sigma Stat for Windows®, versão 3.1 (Jandel Scientific, Erkrath, Germany).

---

[27] Celm® Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, São Paulo.
[28] Celm SB-190®.
[29] Rapid Point® – Analisador Automático.

# 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1. Exames de higidez

### 5.1.1. Exame clínico, videoendoscópico e laringoscópico do aparelho respiratório anterior com o animal em repouso e em movimento e avaliação cinemática da locomoção

Os exames realizados foram compatíveis com os de animais sadios.

### 5.1.2. Exames laboratoriais

Foram realizados exames laboratoriais para avaliar o estado de higidez dos animais. Os valores do hemograma, proteína total plasmática, fibrinogênio, plaquetas, enzimas musculares como a creatinoquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LD) e concentrações séricas do malondialdeído (MDA), vitamina E e cortisol dos animais que estão representados a seguir:

#### 5.1.2.1. Variáveis hematológicas

As variáveis hematológicas de higidez dos eqüinos da raça Árabe obtidas no experimento estão discriminadas na tabela 1 e os valores hematológicos de eqüinos sadios referendados na literatura podem ser observados na tabela 2.

**Tabela 1.** Hemograma, distribuição do diâmetro dos eritrócitos, plaquetas, proteína total plasmática e fibrinogênio de higidez de 10 eqüinos, adultos da raça Árabe

| Variáveis Hematológicas | Animais | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | * $\overline{x} \pm s$ |
| Eritrócitos ($x10^6$/µL) | 7,6 | 7,1 | 8,3 | 7,0 | 9,7 | 8,0 | 9,0 | 6,9 | 7,8 | 6,9 | 7,8±0,9 |
| Hemoglobina (g/dL) | 11,5 | 11,8 | 13,1 | 10,7 | 15,4 | 12,0 | 14,1 | 11,7 | 13,0 | 12,1 | 12,5±1,4 |
| Volume Globular (%) | 33 | 34 | 38 | 32 | 45 | 34 | 41 | 34 | 38 | 36 | 36,5±4,1 |
| VCM (fL) | 43,4 | 47,9 | 45,8 | 45,6 | 46,4 | 42,5 | 45,5 | 49,3 | 48,7 | 52,2 | 46,7±2,9 |
| HCM (pg) | 15,1 | 16,6 | 15,8 | 15,3 | 15,9 | 15,0 | 15,7 | 16,9 | 16,6 | 17,5 | 16,0±0,8 |
| CHCM (g/dL) | 34,8 | 34,7 | 34,5 | 33,4 | 34,2 | 35,3 | 34,4 | 34,4 | 34,2 | 33,6 | 34,4±0,6 |
| DDE (%) | 26,8 | 27,2 | 24,1 | 24,6 | 25,9 | 26,8 | 25,4 | 23,8 | 26,1 | 24,8 | 25,6±1,2 |
| Leucócitos Totais (/µL) | 13300 | 10800 | 9880 | 10300 | 12700 | 10700 | 12700 | 10400 | 5930 | 8540 | 10525±2181 |
| Neutrófilos Segmentados | 10100 | 6450 | 4940 | 5050 | 8710 | 5130 | 8960 | 7570 | 2960 | 5090 | 6496±2260 |
| Linfócitos | 2080 | 2740 | 4610 | 4190 | 2820 | 4510 | 3210 | 2200 | 2440 | 2750 | 3155±946 |
| Monócitos | 778 | 1100 | 228 | 645 | 741 | 759 | 252 | 296 | 353 | 364 | 552±293 |
| Eosinófilos | 304 | 370 | 86 | 381 | 384 | 203 | 239 | 315 | 138 | 308 | 273±104 |
| Basófilos | 71 | 180 | 18 | 32 | 63 | 62 | 0 | 2 | 37 | 27 | 49±52 |
| Leucócitos (%) | | | | | | | | | | | |
| Neutrófilos Segmentados | 75,7 | 59,5 | 50,0 | 49,0 | 68,5 | 48,1 | 70,8 | 72,9 | 50,0 | 59,6 | 60±11 |
| Linfócitos | 15,7 | 25,3 | 46,6 | 40,7 | 22,2 | 42,3 | 25,4 | 21,1 | 41,1 | 32,2 | 31±11 |
| Monócitos | 5,8 | 10,2 | 2,3 | 6,3 | 5,8 | 7,1 | 1,9 | 2,9 | 6,0 | 4,3 | 5±3 |
| Eosinófilos | 2,3 | 3,4 | 0,9 | 3,7 | 3,0 | 1,9 | 1,9 | 3,0 | 2,3 | 3,6 | 3±1 |
| Basófilos | 0,5 | 1,6 | 0,2 | 0,3 | 0,5 | 0,6 | 0 | 0 | 0,6 | 0,3 | 0 |
| Plaquetas ($x10^3$/µL) | 537 | 340 | 539 | 260 | 878 | 703 | 552 | 229 | 304 | 207 | 454,9±223,7 |
| Proteína Total (g/dL) | 6,8 | 7,0 | 7,0 | 6,8 | 6,8 | 6,6 | 6,2 | 6,0 | 6,8 | 6,2 | 6,6±0,4 |
| Fibrinogênio (mg/dL) | 400 | 600 | 400 | 200 | 200 | 200 | 200 | 400 | 400 | 400 | 340±135 |

* $\overline{x}$ : Média aritmética
s: Desvio padrão
VCM: Volume Corpuscular Médio
HCM: Hemoglobina Corpuscular Média
CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
DDE: Distribuição do Diâmetro dos Eritrócitos

**Tabela 2.** Valores de referência consultados na literatura do hemograma, distribuição do diâmetro dos eritrócitos, plaquetas, proteína total plasmática e fibrinogênio de higidez de eqüinos adultos

| Variáveis Hematológicas | Jain (1986) Árabe (n=6) | Kramer (2000) sangue quente (n=147) | Hodgson & Rose (1994) PSI | Fernandes (1994) Árabe (n=15) |
|---|---|---|---|---|
| Eritrócitos ($x10^6$/µL) | 8,41±1,2 | 6,8 - 12,9 | 7,0 - 11,0 | 8,30±0,3 |
| Hemoglobina (g/dL) | 13,8±2,1 | 11,0 - 19,0 | 11,0-17,0 | 14,1±0,4 |
| Volume Globular (%) | 39,3±5,0 | 32 - 53 | 32 - 46 | 38,6±1,0 |
| VCM (fL) | 46,9±1,9 | 37,0 - 58,0 | 42 - 47 | 47,1±2,4 |
| HCM (pg) | 16,4±0,9 | 10,0 - 20,0 | 14,0 - 17,0 | 17,4±1,2 |
| CHCM (g/dL) | 34,9±1,0 | 31,0 - 36,0 | 33,0 - 38,0 | 36,8±1,0 |
| DDE (%) | 14 - 25* | 24 - 27 | - | - |
| Leucócitos Totais (/µL) | 9.500±2.300 | 5.400 - 14.300 | 6.000 - 11.000 | 10.500±600 |
| Neutrófilos Segmentados | 4.700±1.500 | 2.260 - 8.580 | 2.500 - 6.500 | - |
| Linfócitos | 4.000±1.300 | 1.500 - 7.700 | 2.000 - 5.500 | - |
| Monócitos | 421±151 | 0 - 1.000 | 200 - 800 | - |
| Eosinófilos | 266±113 | 0 - 1.000 | 100 - 400 | - |
| Basófilos | 67±63 | 0 - 290 | 0 - 300 | - |
| Leucócitos (%) | | | | |
| Neutrófilos Segmentados | 49,3±7,2 | 22 -72 | - | - |
| Linfócitos | 41,9±7,2 | 17 - 68 | - | - |
| Monócitos | 4,7±1,8 | 0 - 14 | - | - |
| Eosinófilos | 3,2±1,6 | 0 - 10 | - | - |
| Basófilos | 0,7±0,7 | 0 - 14 | - | - |
| Plaquetas ($x10^3$/µL) | - | 100 - 350 | - | - |
| Proteína Total (g/dL) | 7,0±0,4 | 5,8 - 8,7 | - | - |
| Fibrinogênio (mg/dL) | 200±100 | 100 - 400 | < 400 | - |

VCM: Volume Corpuscular Médio
HCM: Hemoglobina Corpuscular Média
CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
DDE: Distribuição do Diâmetro dos Eritrócitos
* DDE de eqüinos de várias raças

Avaliando as variáveis hematológicas de higidez dos animais do experimento em relação aos valores da literatura observam-se número de plaquetas elevados, pode-se inferir diferenças entre técnicas. As plaquetas foram quantificadas pelo contador eletrônico de células da linha veterinária Cell-Dyn 3500R® e, provavelmente, os valores referendados por Kramer (2000) foram realizados por outro método. A diferença entre as técnicas está na precisão e acurácia em que os aparelhos modernos foram aperfeiçoados (KNOLL, 2000).

Nestes casos, o intervalo de confiança dos limites inferiores e superiores tem 95% de confiabilidade (LUMSDEN, 2000) e poderiam ser mais amplos quando se observa os valores dos eqüinos da raça Árabe nas condições ambientais, de manejo e alimentação existentes no Brasil.

Observa-se que o animal 2, comparado com os valores da literatura, estaria com hiperfibrinogemia, porém, ao exame clínico, não foram identificadas alterações que pudessem justificar uma possível afecção.

Os valores da literatura mais semelhantes aos encontrados no experimento foram de Kramer (2000) com animais de sangue quente. Provavelmente esta diferença refere-se ao número de animais utilizados (n=147) para avaliação das variáveis hematológicas, diferindo de Jain (1986) que utilizou apenas 6 animais da raça Árabe.

5.1.2.2. Variáveis bioquímicas

As variáveis bioquímicas de higidez dos eqüinos da raça Árabe obtidas no experimento estão discriminadas na tabela 3 e os valores bioquímicos de eqüinos sadios referendados na literatura podem ser observados na tabela 4.

**Tabela 3.** Atividade enzimática sérica da creatinoquinase (CK), do aspartato aminotransferase (AST), do lactato desidrogenase (LD) e concentrações séricas do malondialdeído (MDA), cortisol e vitamina E, de higidez de 10 eqüinos, adultos da raça Árabe

| Variáveis Bioquímicas | Animais | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | * $\overline{x}$ ± s |
| CK (UI/L) | 264 | 217 | 199 | 276 | 356 | 500 | 269 | 423 | 293 | 230 | 303±96 |
| AST (UI/L) | 267 | 316 | 236 | 216 | 304 | 311 | 277 | 303 | 210 | 254 | 269±39 |
| LD (UI/L) | 495 | 614 | 531 | 627 | 726 | 753 | 588 | 617 | 661 | 563 | 617,5±80,6 |
| MDA (nmol/mL) | 0,034 | 0,044 | 0,043 | 0,032 | 0,048 | 0,054 | 0,040 | 0,034 | 0,031 | 0,030 | 0,039±0,008 |
| Cortisol (ng/mL) | 47,0 | 44,0 | 77,0 | 57,0 | 28,0 | 62,0 | 39,0 | 26,0 | 57,0 | 61,0 | 49,8±16,0 |
| VitaminaE (µmol/L) | 3,85 | 3,72 | 2,44 | 2,50 | 2,57 | 3,31 | 3,04 | 3,09 | 5,50 | 4,13 | 3,42±0,94 |

* $\overline{x}$ : Média aritmética
s: Desvio padrão

**Tabela 4.** Valores de referência consultados na literatura da bioquímica sérica, mensurados em eqüinos adultos atletas sadios

| Variáveis Bioquímicas | Anderson (1975) PSI (n=10) | Hodgson & Rose (1994) | Fernandes (1994) Árabe (n=15) | Chiaradia et al. (1998) Maremmana (n=10) | Marc et al. (2000) Hannovariana (n=10) | Moffarts et al. (2005) PSI (n=40) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| CK (UI/L) | 42 – 170 | 100 - 300 | 84,3±20,8 | - | - | - |
| AST (UI/L) | 231 – 358 | 150 - 400 | 132,2±8,8 | - | - | - |
| LD (UI/L) | 375 – 944 | <250 | 321±31,8 | - | - | - |
| MDA (nmol/L) | - | - | - | 0,005 ≅ 0,007 | - | - |
| Cortisol (ng/mL) | - | - | - | - | <50 | - |
| Vitamina E (µmol/L) | - | - | - | - | - | 3,03±0,18 |

CK: creatinoquinase;
AST: Aspartato aminotransferase;
LD: Lactato desidrogenase;
MDA: Malondialdeído

Os valores médios da atividade enzimática sérica da CK foram superiores aos achados de Anderson (1975) e Fernandes (1994) e semelhantes aos achados de Hodgson & Rose (1994). Os valores médios da atividade enzimática do AST concordaram com os achados de Anderson (1975) e Hodgson & Rose (1994) sendo superiores aos achados de Fernandes (1994). Os valores médios da atividade enzimática sérica do LD corroboraram com Anderson (1975), sendo superior aos outros dois autores referendados na tabela acima.

Na avaliação do estado de higidez, os 10 eqüinos da raça Árabe apresentaram valores médios de MDA (0,039±0,008nmol/L) mais baixos que os encontrados por Chiaradia et al. (1998) no repouso, em garanhões sadios da raça Maremmana antes do exercício. Portanto, valores mais baixos de MDA sugerem que os animais não foram submetidos a estresse ou exercício físico antes do exame de higidez. Avellini et al. (1999) afirmam que o aumento do MDA está associado ao exercício físico intenso, indicando lipoperoxidação por meio da ação de radicais livres.

Os valores de cortisol sérico encontrados no exame de higidez (49,8±16,0ng/mL) apresentaram-se mais altos que os achados por Marc et al. (2000) que consideraram normais concentrações de cortisol abaixo ou iguais a 50ng/mL para eqüinos castrados da raça Hannovariana. Os valores diferiram de Kurosawa et al. (1998) que verificaram valores mais baixos de cortisol (36,5±8,6ng/mL) em eqüinos sadios da raça PSI, no repouso, antes do exercício. Possivelmente, a diferença entre os valores pode estar relacionada com a metodologia empregada, ao ciclo cicardiano, a faixa etária, ao sexo, ao manejo dos animais, ao tipo de atividade desempenhada, entre outros fatores.

Os valores médios da concentração de vitamina E (3,44±0,85µmol/L) obtidos no experimento foram semelhantes aos achados de Craig et al. (1991, 1992); Avellini et al. (1999) e Moffarts et al. (2005) em eqüinos hígidos sem suplementação. Os autores citados anteriormente utilizaram a mesma técnica do presente trabalho para a dosagem da vitamina E sérica, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Pode-se verificar que os valores normais para as espécies diferem entre autores, isto se deve às várias metodologias empregadas, ao estado fisiológico, à raça, ao sexo, à idade, à alimentação, ao tipo de trabalho realizado pelo animal, ao estabulamento ou semi-confinamento, entre outros. Quando há necessidade de comprovar o estado de higidez de um animal deve-se levar em consideração estes fatores. Sendo assim, é importante avaliar o estado clínico do animal em conjunto com os exames auxiliares de laboratório para não incorrer em erros de diagnóstico conforme recomendações de Lumsden (2000).

## 5.2. Treinamento de trabalho na esteira

Durante o protocolo de treinamento dos eqüinos da raça Árabe em esteira de alta velocidade, foram registrados os valores das freqüências cardíacas, respiratória, temperatura retal, temperatura ambiente e umidade relativa do ar que podem ser verificados nos itens a seguir:

### 5.2.1. Freqüência cardíaca durante o treinamento

Os valores médios das freqüências cardíacas dos 10 eqüinos durante vinte dias de treinamento podem ser observados na tabela 5.

**Tabela 5.** Médias das freqüências cardíacas de 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, mensuradas nos 10 segundos finais de cada velocidade, no transcorrer do protocolo de exercício no período de treinamento

| | Dias de treinamento | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Freqüência cardíaca (bpm) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Vel. (m/s) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | T9 | T10 | T11 | T12 | T13 | T14 | T15 | T16 | T17 | T18 | T19 | T20 |
| Repouso | 48 | 44 | 41 | 39 | 42 | 39 | 38 | 41 | 39 | 37 | 37 | 38 | 35 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 34 | 33 |
| 1,8 | 90 | 84 | 81 | 80 | 78 | 77 | 74 | 72 | 73 | 74 | 70 | 69 | 69 | 66 | 70 | 72 | 67 | 70 | 65 | 61 |
| 1,8 | 84 | 82 | 77 | 75 | 75 | 73 | 70 | 73 | 75 | 75 | 72 | 67 | 69 | 67 | 68 | 75 | 69 | 71 | 66 | 60 |
| 1,8 | 83 | 80 | 72 | 72 | 76 | 71 | 69 | 73 | 78 | 75 | 70 | 68 | 70 | 69 | 68 | 73 | 69 | 71 | 66 | 62 |
| 1,8 | 80 | 79 | 74 | 69 | 75 | 70 | 71 | 74 | 73 | 79 | 70 | 69 | 70 | 67 | 69 | 72 | 70 | 71 | 67 | 62 |
| 1,8 | 79 | 79 | 76 | 68 | 75 | 70 | 69 | 73 | 73 | 76 | 71 | 69 | 70 | 68 | 69 | 72 | 70 | 72 | 66 | 63 |
| 4,0 | 135 | 128 | 121 | 121 | 123 | 115 | 115 | 112 | 117 | 118 | 113 | 113 | 113 | 113 | 112 | 112 | 112 | 110 | 105 | 104 |
| 4,0 | 132 | 126 | 118 | 124 | 119 | 112 | 115 | 112 | 118 | 120 | 113 | 112 | 115 | 112 | 113 | 111 | 112 | 111 | 106 | 103 |
| 4,0 | 129 | 123 | 117 | 120 | 116 | 109 | 113 | 109 | 115 | 119 | 113 | 114 | 112 | 112 | 110 | 112 | 110 | 111 | 106 | 101 |
| 6,2 | 176 | 164 | 157 | 153 | 148 | 149 | 151 | 144 | 156 | 158 | 151 | 153 | 148 | 137 | 139 | 134 | 137 | 137 | 131 | 131 |
| 6,2 | 175 | 164 | 161 | 158 | 150 | 154 | 152 | 148 | 156 | 157 | 147 | 152 | 149 | 135 | 140 | 138 | 138 | 138 | 134 | 131 |
| 8,0 | 187 | 180 | 179 | 174 | 168 | 175 | 176 | 168 | 171 | 167 | 169 | 170 | 168 | 165 | 167 | 162 | 162 | 159 | 157 | 154 |
| 10,0 | 199 | 194 | 190 | 198 | 194 | 198 | 196 | 191 | 194 | 195 | 193 | 193 | 192 | 194 | 193 | 188 | 184 | 190 | 185 | 181 |
| 3,0 | 133 | 131 | 119 | 125 | 124 | 121 | 127 | 119 | 118 | 123 | 119 | 120 | 117 | 120 | 117 | 115 | 114 | 118 | 113 | 108 |
| 3,0 | 127 | 124 | 113 | 117 | 117 | 115 | 113 | 109 | 112 | 107 | 111 | 112 | 111 | 111 | 109 | 110 | 109 | 109 | 107 | 103 |
| 1,6 | 102 | 96 | 90 | 89 | 92 | 89 | 90 | 88 | 87 | 91 | 86 | 88 | 86 | 85 | 83 | 85 | 83 | 85 | 85 | 75 |
| 0,0 | 84 | 77 | 73 | 68 | 72 | 67 | 69 | 66 | 68 | 70 | 67 | 67 | 66 | 66 | 64 | 66 | 64 | 67 | 64 | 57 |
| 0,0 | 81 | 74 | 68 | 66 | 70 | 65 | 67 | 64 | 66 | 68 | 64 | 65 | 63 | 64 | 62 | 62 | 62 | 63 | 59 | 54 |
| 0,0 | 79 | 72 | 65 | 64 | 68 | 63 | 64 | 61 | 64 | 67 | 62 | 64 | 61 | 61 | 60 | 61 | 59 | 61 | 58 | 54 |
| 0,0 | 77 | 68 | 61 | 62 | 66 | 60 | 63 | 61 | 63 | 62 | 60 | 60 | 59 | 58 | 57 | 58 | 57 | 60 | 56 | 51 |
| 0,0 | 72 | 66 | 60 | 60 | 64 | 58 | 61 | 59 | 60 | 61 | 57 | 59 | 56 | 57 | 56 | 58 | 55 | 58 | 53 | 50 |

T: Dias de treinamento
bpm: batimentos por minuto

Observou-se o efeito benéfico do treinamento sobre a diminuição da freqüência cardíaca. Quando comparados os animais em repouso, no dia 1 (T1) e dia 20 (T20), esta resposta manteve-se em todos os momentos antes, durante e após o exercício, demonstrando a adaptação psicológica dos animais ao exercício (Gráfico 1). Evans (2000), relatou a diminuição da freqüência cardíaca após um período de treinamento em esteira de alta velocidade tanto no repouso como na freqüência máxima atingida durante o exercício, sugerindo que o treinamento pode influenciar na diminuição deste parâmetro.

A freqüência cardíaca de 200 batimentos por minuto, $V_{200}$, informa a capacidade de trabalho aeróbio do eqüino, a partir desta freqüência pode-se inferir que o animal iniciou o metabolismo anaeróbio. O treinamento realizado no experimento demonstrou no T1, $V_{200}$ a velocidade de 10m/s (199bpm), no decorrer dos dias T20 observa-se a diminuição da

freqüência cardíaca (181bpm) na mesma velocidade. Hodgson & Rose (1994), não observaram alterações na freqüência cardíaca máxima após o exercício em eqüinos submetidos ao treinamento. Ohmura et al. (2002) encontraram o aumento do $V_{200}$ com o aumento da intensidade do treinamento em eqüinos jovens da raça PSI.

Observar-se que durante o período de treinamento, na fase de recuperação após o exercício, que os valores de freqüência cardíaca foram menores no T20 (108-75bpm) quando comparados ao T1 (133-102bpm) (Tabela 5 e Gráfico 2). Hodgson & Rose (1994), descrevem na fase de recuperação em eqüinos com freqüência cardíaca maior de 65bpm, após 30 minutos do exercício, a presença de desidratação e exaustão.

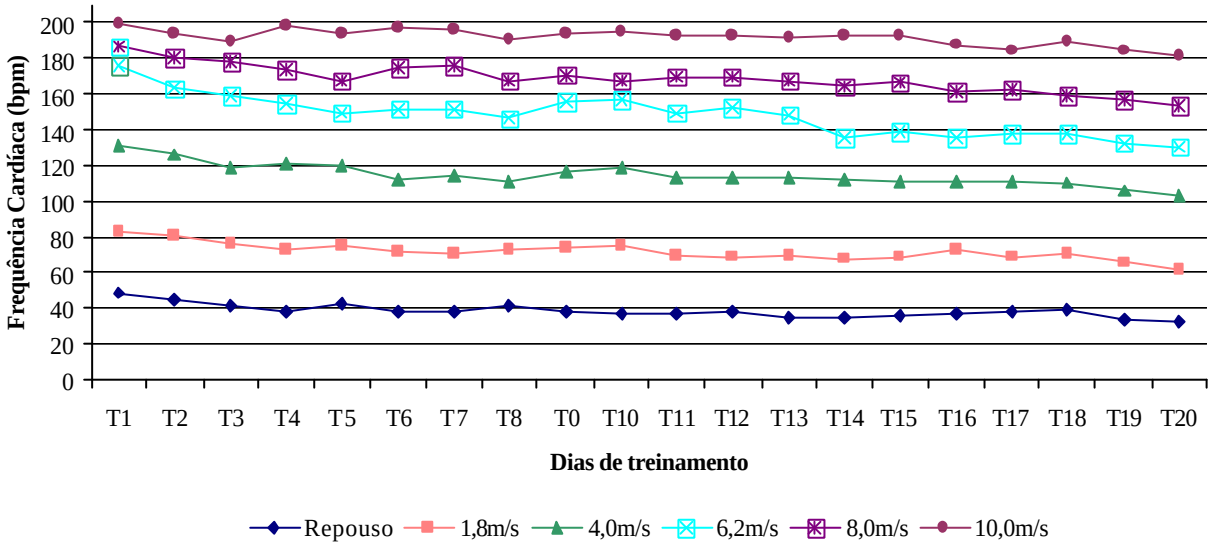



**Gráfico 1.** Médias das freqüências cardíacas (bpm) de 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, mensuradas nos 10 segundos finais de cada velocidade (m/s), no transcorrer do protocolo de exercício no período de treinamento

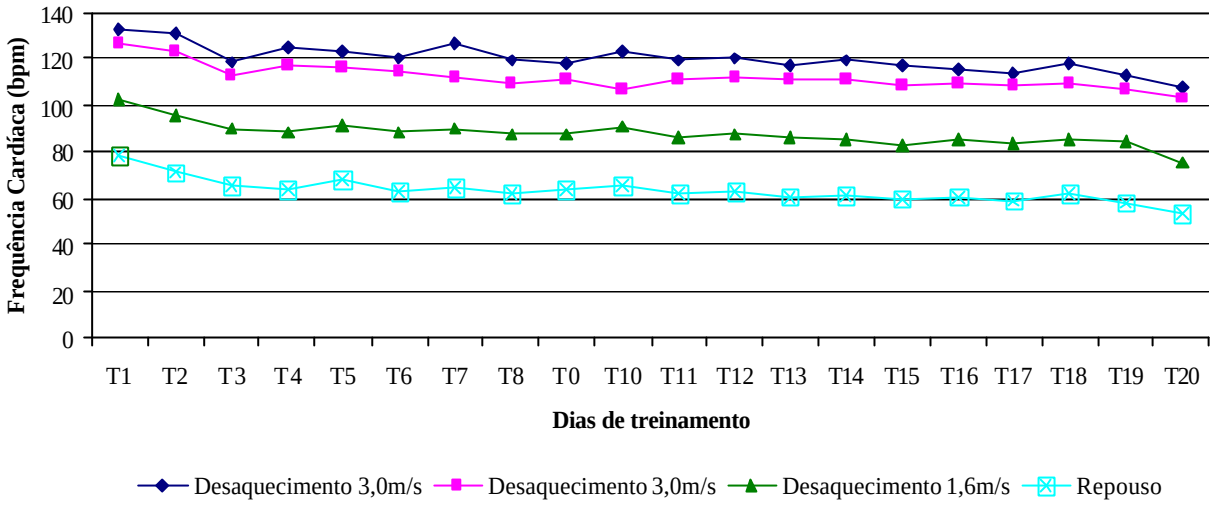



**Gráfico 2.** Médias das freqüências cardíacas (bpm) de 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, mensuradas nos 10 segundos finais de cada velocidade (m/s) do período desaquecimento e nos 5 minutos em repouso após o término do exercício no treinamento

5.2.2. Freqüência respiratória durante o treinamento

Os valores médios da freqüência respiratória dos 10 eqüinos durante vinte dias de treinamento podem ser observados na tabela 6.

**Tabela 6.** Médias das freqüências respiratórias em movimentos por minuto (mpm) de 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, mensuradas antes e após o exercício no período de treinamento

| | Dias de treinamento | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Freqüência respiratória (mpm) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Exercício | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | T9 | T10 | T11 | T12 | T13 | T14 | T15 | T16 | T17 | T18 | T19 | T20 |
| Antes do exercício | 22 | 20 | 20 | 17 | 25 | 20 | 17 | 19 | 13 | 17 | 16 | 16 | 19 | 14 | 12 | 16 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| Após o exercício | 78 | 71 | 61 | 64 | 79 | 61 | 64 | 63 | 64 | 69 | 49 | 54 | 63 | 56 | 45 | 51 | 46 | 55 | 42 | 41 |

T: Dias de treinamento

As respostas da freqüência respiratória ao treinamento apresentaram o mesmo comportamento que a freqüência cardíaca, diminuindo ao longo do treinamento (Tabela 6 e Gráfico 3), podendo ser atribuída a menor ansiedade dos animais observada antes do exercício

e principalmente pelo aumento da capacidade aeróbia devido ao aumento do consumo máximo de oxigênio conseqüente ao treinamento (GOTTLIEB-VEDI, 1995).

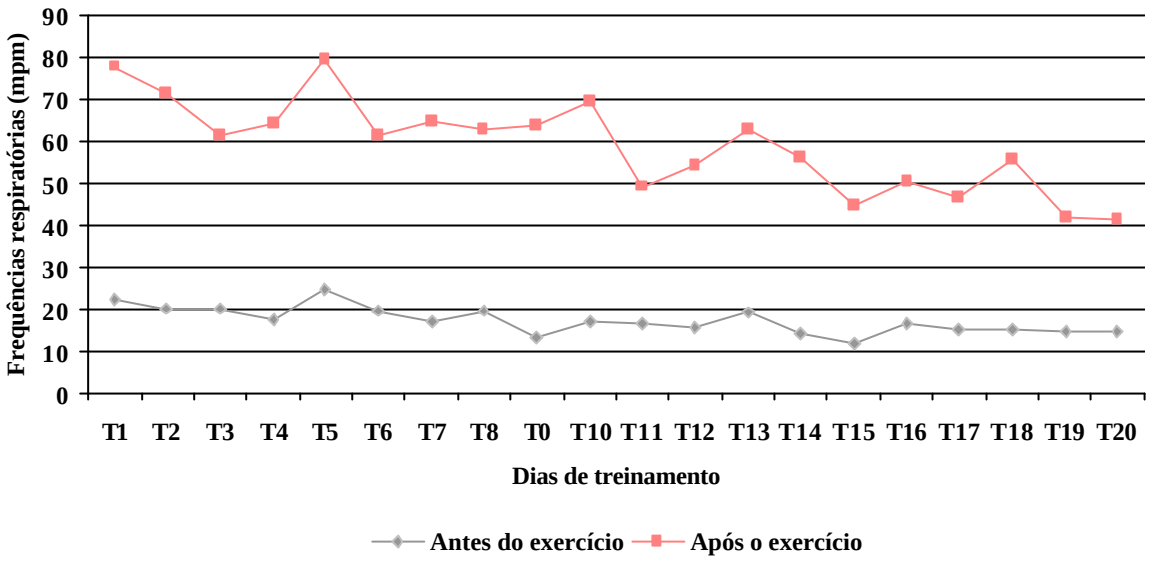



**Gráfico 3.** Médias das freqüências respiratórias (mpm) de 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, mensuradas antes e após o exercício no período de treinamento

5.2.3. Temperatura retal durante o treinamento

Os valores médios da temperatura retal dos 10 eqüinos durante vinte dias de treinamento podem ser observados na tabela 7.

**Tabela 7.** Médias da temperatura retal (ºC) dos 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, mensuradas antes e após o exercício no período de treinamento

| | Temperatura retal º C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dias de treinamento | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Exercício | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | T9 | T10 | T11 | T12 | T13 | T14 | T15 | T16 | T17 | T18 | T19 | T20 |
| Antes do exercício | 38,0 | 37,9 | 37,4 | 37,3 | 37,7 | 37,7 | 37,3 | 37,4 | 37,3 | 37,8 | 37,4 | 37,8 | 37,8 | 37,4 | 37,4 | 37,4 | 37,5 | 37,4 | 37,4 | 37,4 |
| Após o exercício | 39,2 | 39,0 | 38,6 | 38,5 | 38,7 | 38,8 | 38,5 | 38,5 | 38,5 | 38,9 | 38,5 | 38,8 | 38,9 | 38,5 | 38,5 | 38,5 | 38,5 | 38,5 | 38,4 | 38,4 |

T: Dias de treinamento

As respostas da temperatura retal antes e após o treinamento diminuíram ao longo dos dias (Tabela 7 e Gráfico 4). Após os exercícios observa-se que os animais apresentaram-se dentro dos valores de normalidade, não apresentando hipertermia (SPEIRS, 1999).

### 5.2.4. Temperatura ambiente (TA) e umidade relativa do ar (UR) durante o treinamento

Os valores médios da temperatura ambiente e umidade relativa do ar durante vinte dias de treinamento podem ser observados na tabela 8.

**Tabela 8.** Médias da temperatura ambiente (TA) e umidade relativa do ar (UR) no Centro de Medicina Esportiva Eqüina, mensuradas antes e após o exercício de 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, durante o período de treinamento

| | Dias de treinamento | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | T9 | T10 | T11 | T12 | T13 | T14 | T15 | T16 | T17 | T18 | T19 | T20 |
| TA (ºC) | 24,5 | 24,4 | 23,1 | 22,1 | 23,4 | 23,9 | 23,7 | 23,8 | 23,6 | 24,2 | 23,0 | 24,4 | 23,8 | 22,5 | 21,6 | 23,1 | 23,3 | 23,4 | 24,1 | 22,5 |
| UR (%) | 65 | 62 | 65 | 73 | 71 | 67 | 67 | 65 | 68 | 65 | 68 | 65 | 67 | 69 | 68 | 63 | 64 | 66 | 62 | 71 |

TA: temperatura ambiente
UR: umidade relativa do ar
T: Dias de treinamento

O clima da região de Botucatu apresenta temperatura média anual de 19ºC, observa-se que o laboratório do Centro de Medicina Esportiva Eqüina é um ambiente fresco e úmido, vale ressaltar que o período do experimento foi de março a novembro e foi realizado entre 6:30 e 8 horas da manhã onde as temperaturas ambientes são mais baixas (Gráfico 4).

Observando o gráfico 4 sugere-se a influência da umidade na freqüência respiratória no dias dos testes, quanto maior a umidade, menor é a freqüência respiratória. Hargreaves et al. (1999), sugerem que as condições de calor e umidade alteram a termorregulação dos eqüinos interferindo no desempenho.

A avaliação dos animais durante o treinamento é importante para a obtenção do sucesso no dia do teste. Um treinamento planejado com a intensidade de exercício compatível com a prova a que serão submetidos, a coleta de dados sobre o comportamento, alterações nos parâmetros fisiológicos como a freqüência cardíaca, respiratória, temperatura retal confirmam os resultados do protocolo empregado.

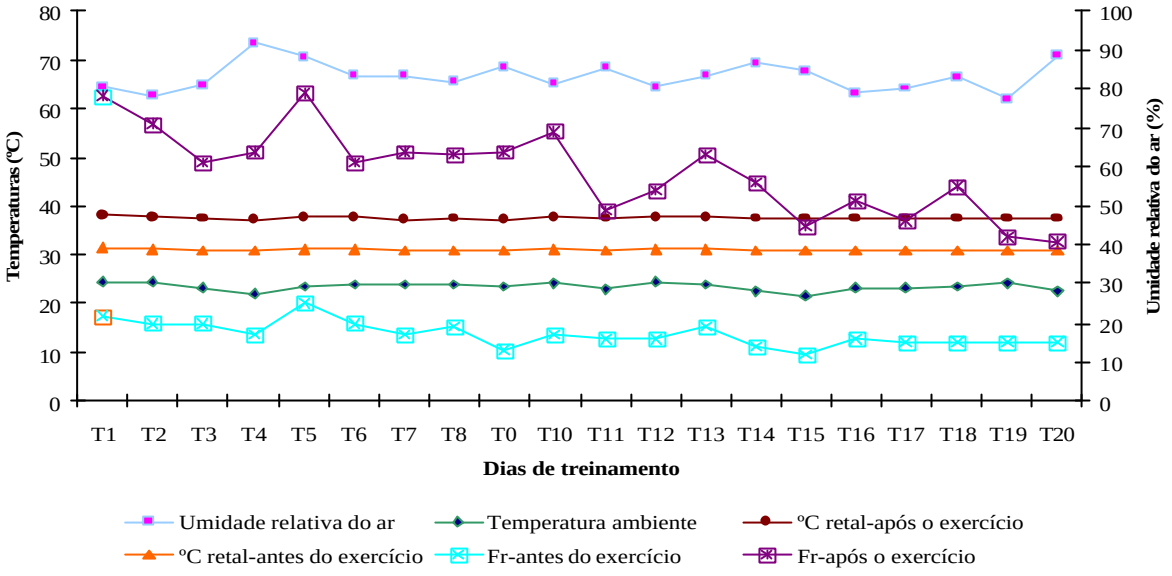



**Gráfico 4.** Médias da temperatura retal (ºC), freqüência respiratória (mpm) e temperatura ambiente (ºC) e umidade relativa do ar (%) no Laboratório do Centro de Medicina Esportiva Eqüina, mensuradas antes e após o exercício de 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, durante o período de treinamento

## 5.3. Teste Padrão de Exercício Progressivo (TPEP)

Após o treinamento os animais foram submetidos ao TPEP onde foram colhidas amostras de sangue antes, durante e após os testes. Os resultados das variáveis analisadas podem ser observados nos itens a seguir:

### 5.3.1. Malondialdeído, vitamina E, cortisol e lactato sanguíneo antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo

Os resultados apresentados na tabela 9 evidenciam o comportamento sérico do malondialdeído, vitamina E, cortisol e lactato sanguíneo antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo.

**Tabela 9.** Valores médios e desvios-padrão ($\bar{x} \pm s$) das concentrações séricas do malondialdeído (MDA), vitamina E, cortisol e lactato sanguíneo de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), 30min. (R6), 60min. (R7), 3hs (R8), 6hs (R9), 12hs (R10), 24hs (R11), 3 dias (R12) e 5 dias (R13) o Teste Padrão de Exercício Progressivo

| Momentos | MDA (nmol/mL) | Vitamina E (µmol/L) | Cortisol (ng/mL) | Lactato (mmol/L) |
|---|---|---|---|---|
| M0 (repouso) | $0,045^{a}\pm0,014$ | $4,38^{a}\pm1,2$ | $75,4^{ef}\pm26,0$ | $1,7^{a}\pm0,1$ |
| E1 (1,8m/s) | $0,046^{a}\pm0,014$ | $5,03^{a}\pm2,3$ | $76,2^{e}\pm21,4$ | $1,7^{a}\pm0,3$ |
| E2 (4,0m/s) | $0,041^{a}\pm0,013$ | $4,85^{a}\pm3,2$ | $78,5^{ef}\pm22,4$ | $2,2^{a}\pm0,4$ |
| E3 (6,0m/s) | $0,046^{a}\pm0,013$ | $5,22^{a}\pm2,7$ | $81,0^{efg}\pm20,3$ | $3,2^{a}\pm1$ |
| E4 (8,0m/s) | $0,043^{a}\pm0,016$ | $4,19^{a}\pm1,4$ | $84,4^{efg}\pm22,7$ | $3,7^{a}\pm1$ |
| E5 (9,0m/s) | $0,046^{a}\pm0,012$ | $4,16^{a}\pm1,3$ | $83,6^{efg}\pm23,9$ | $5,6^{c}\pm2$ |
| E6 (10m/s) | $0,051^{c}\pm0,011$ | $4,06^{a}\pm1,1$ | $81,0^{efg}\pm27,3$ | $8,5^{d}\pm3$ |
| E7 (11m/s) | 0,051±0,006* | 3,85±1,8* | 100,8±7,2* | 9,8±2* |
| R1 (1min) | $0,055^{c}\pm0,011$ | $4,79^{a}\pm1,6$ | $88,9^{fg}\pm21,8$ | $13,2^{b}\pm4$ |
| R3 (3min) | $0,060^{c}\pm0,018$ | $4,41^{a}\pm1,6$ | $88,0^{efg}\pm23,0$ | $12,5^{b}\pm4$ |
| R5 (5min) | $0,063^{d}\pm0,017$ | $4,35^{a}\pm1,6$ | $96,1^{h}\pm23,7$ | $14,4^{b}\pm4$ |
| R6 (30min) | $0,087^{b}\pm0,032$ | $4,63^{a}\pm1,7$ | $110,8^{b}\pm32,4$ | ** |
| R7 (60min) | $0,082^{d}\pm0,043$ | $4,19^{a}\pm1,6$ | $101,6^{g}\pm42,3$ | ** |
| R8 (3h) | $0,060^{c}\pm0,028$ | $4,10^{a}\pm1,6$ | $62,2^{d}\pm38,5$ | ** |
| R9 (6h) | $0,050^{a}\pm0,02$ | $5,57^{a}\pm3,7$ | $33,6^{a}\pm11,6$ | ** |
| R10 (12h) | $0,046^{a}\pm0,02$ | $3,96^{a}\pm1,3$ | $51,0^{c}\pm31,7$ | ** |
| R11(24h) | $0,050^{a}\pm0,022$ | $4,59^{a}\pm2,7$ | $45,7^{c}\pm16,9$ | ** |
| R12 (3d) | $0,043^{a}\pm0,02$ | $3,97^{a}\pm0,9$ | $50,9^{c}\pm26,3$ | ** |
| R13 (5d) | $0,043^{a}\pm0,015$ | $3,87^{a}\pm1,2$ | $37,1^{a}\pm11,1$ | ** |

[a]Para letras iguais não há diferença significativa ($p<0,05$) entre os momentos
* Valores não foram submetidos a análise estatística pois, apenas 4 dos 10 animais alcançaram o momento E7
** Dados não coletados

No presente trabalho, os valores de MDA (0,045±0,014nmol/L) encontrados no repouso (M0) corroboram os de Chiaradia et al. (1998) quando avaliaram eqüinos da raça Maremmana no repouso antes de realizarem exercícios em diferentes intensidades.

Foi observado um aumento gradual do malondialdeído sérico durante o exercício progressivo em esteira de alta velocidade (Gráfico 5). No momento R6 aos 30 minutos após o Teste Padrão de Exercício Progressivo houve um aumento significativo. Segundo achados de

Chiaradia et al. (1998), a presença de valores elevados de MDA no plasma sugere que o exercício físico foi capaz de produzir radicais livres estimulando a lipoperoxidação e este efeito está relacionado com a intensidade do exercício.

Os valores de MDA encontrados retornaram aos valores basais a partir das 12 horas (R10) 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. Isto sugere que a capacidade antioxidante dos animais deste experimento foi eficiente em eliminar os radicais livres em poucas horas.

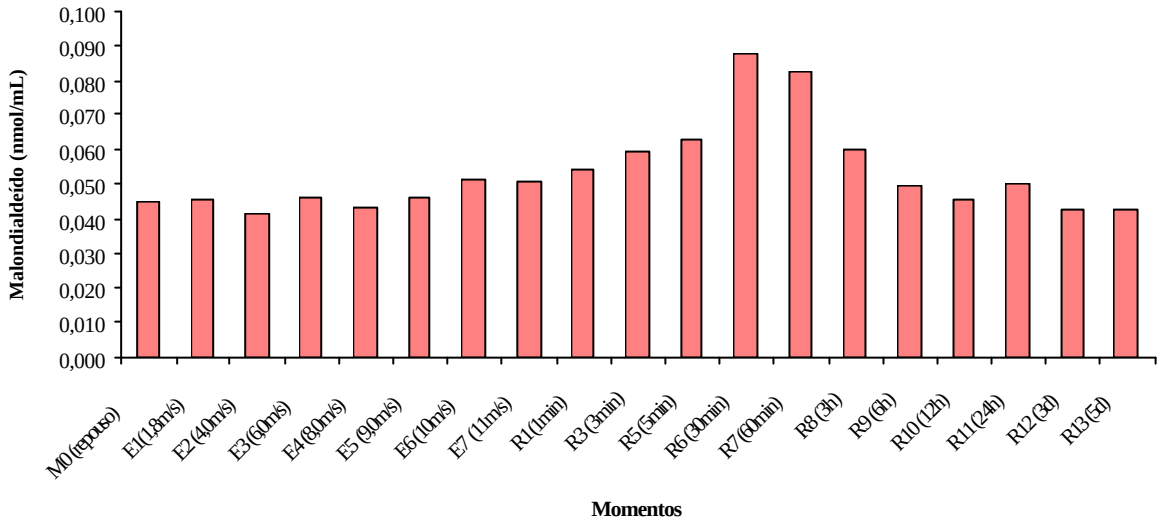



**Gráfico 5.** Médias das concentrações séricas do malondialdeído (MDA), em nmol/L, de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensuradas antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), 30min. (R6), 60min. (R7), 3hs (R8), 6hs (R9), 12hs (R10), 24hs (R11), 3 dias (R12) e 5 dias (R13) do Teste Padrão de Exercício Progressivo

Os resultados de vitamina E sérica obtidos no experimento apresentaram-se em níveis mínimos basais não demonstrando alterações significativas antes, durante e após o TPEP concordando com os achados de Avellini et al. (1999), quando submeteram garanhões da raça Maremmana a sessões de galope em máxima velocidade aos 200m e 3.000m, intercaladas com descanso.

Comparando-se os níveis de vitamina E nos eqüinos do teste de higidez (3,44±0,85µmol/L) e o valor encontrado no M0 (4,38±1,2µmol/L) observa-se uma discreta elevação que persistiu durante o exercício a 6m/s (E3=5,22±2,7µmol/L) e 6 horas

(R9=5,57±3,7µmol/L) após o exercício. Provavelmente, a vitamina E foi retirada dos locais de armazenamento presentes no fígado e tecido adiposo sendo redistribuída no organismo para manter os níveis basais e evitar lesões oxidativas resultantes do exercício.

Quando este processo ocorre em animais não suplementados, os níveis de vitamina E não são substituídos, favorecendo a ocorrência de lesões oxidativas (TAKANAMI et al., 2000). Nos animais deste experimento sugere-se que este evento ocorreu, pois os valores de vitamina E obtidos a partir de 3 dias (R12=3,97±0,9µmol/L) (Gráfico 6) após o exercício foram semelhantes aos encontrados no teste de higidez e menores que os encontrados no M0.

A elevação da vitamina E conforme os momentos citados anteriormente pode ser justificada pela mobilização dos reservatórios ou pela existência de outros antioxidantes naturais de baixo peso molecular presentes no sangue e nos tecidos como ácido úrico, bilirrubina, ácido ascórbico e tiois que provavelmente foram eficientes na redução dos radicais livres formados durante o exercício (McARDLE et al., 1998; AVELLINI et al., 1999), porém este achado poderia ser comprovado utilizando-se grupos de animais suplementados.

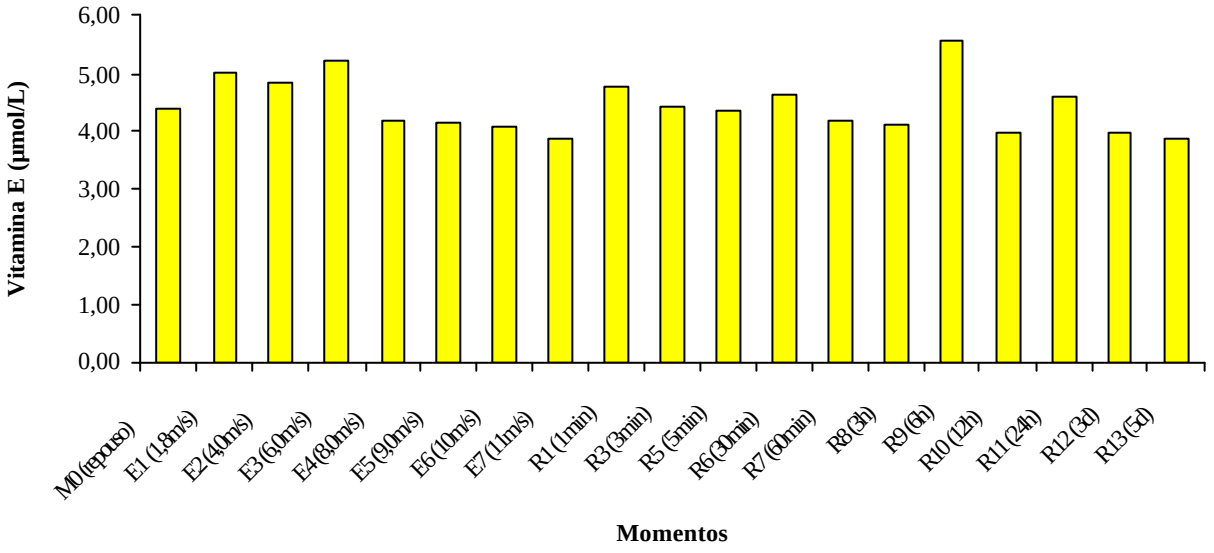



**Gráfico 6.** Médias das concentrações séricas de vitamina E, em µmol/L, de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensuradas antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), 30min. (R6), 60min. (R7), 3hs (R8), 6hs (R9), 12hs (R10), 24hs (R11), 3 dias (R12) e 5 dias (R13) do Teste Padrão de Exercício Progressivo

Observou-se uma correlação positiva (r=0,17, p<0,02), entre os valores de vitamina E e MDA. A vitamina E está diretamente ligada ao estresse oxidativo devido à função de antioxidante, protegendo as membranas celulares dos efeitos deletérios dos radicais livres.

As concentrações basais de cortisol no dia do teste (M0=75,4±26,0ng/mL), foram diferentes das concentrações obtidas às 6 horas (R9=33,6±11,6ng/mL), aos 5 dias após o exercício (R13=37,1±11,1ng/mL) e dos valores basais de higidez (49,8±16,0ng/mL), observam-se semelhanças entre as concentrações de cortisol de higidez e após o exercício a partir do R9. Valores de cortisol acima ou iguais a 50ng/mL foram considerados elevados em eqüinos da raça Hannovariana (MARC et al., 2000), concluindo-se que o cortisol sérico elevado no repouso (M0) deste experimento pode estar associado com a resposta dos animais a ansiedade e aos procedimentos realizados no dia do teste.

O exercício progressivo em esteira de alta velocidade provocou nos eqüinos um efeito significante nas concentrações de cortisol sérico durante e após exercício. Aos 30 minutos (R6) obteve-se o valor máximo de cortisol (110,8±32,4ng/mL) (Gráfico 7), em geral, a magnitude da resposta do cortisol é conseqüente à intensidade do exercício como a velocidade e a inclinação da esteira, estando relacionada também com a duração do mesmo (DESMECHT et al., 1996; MARC et al., 2000).

Segundo Marc et al. (2000) as concentrações de cortisol foram significativamente elevadas aos 30 minutos após o exercício, diferindo de Nesse et al. (2002) que obtiveram níveis de cortisol elevados em eqüinos aos 60 minutos após o exercício.

A taxa de depuração do cortisol deste trabalho diferiu dos achados de Kurosawa et al. (1998) que identificou o retorno dos níveis de cortisol aos 15 minutos após o exercício em eqüinos PSI, em esteira de alta velocidade.

O comportamento entre o cortisol e o MDA sérico foi semelhante e os valores máximos encontrados foram aos 30 minutos (R6) após o TPEP. Houve uma correlação positiva (r=0,24, p<0,001) entre as duas variáveis que aumentam simultaneamente, indicando que o exercício foi eficiente em promover o estresse nos eqüinos e por seguinte, promover o estresse oxidativo formando radicais livres.

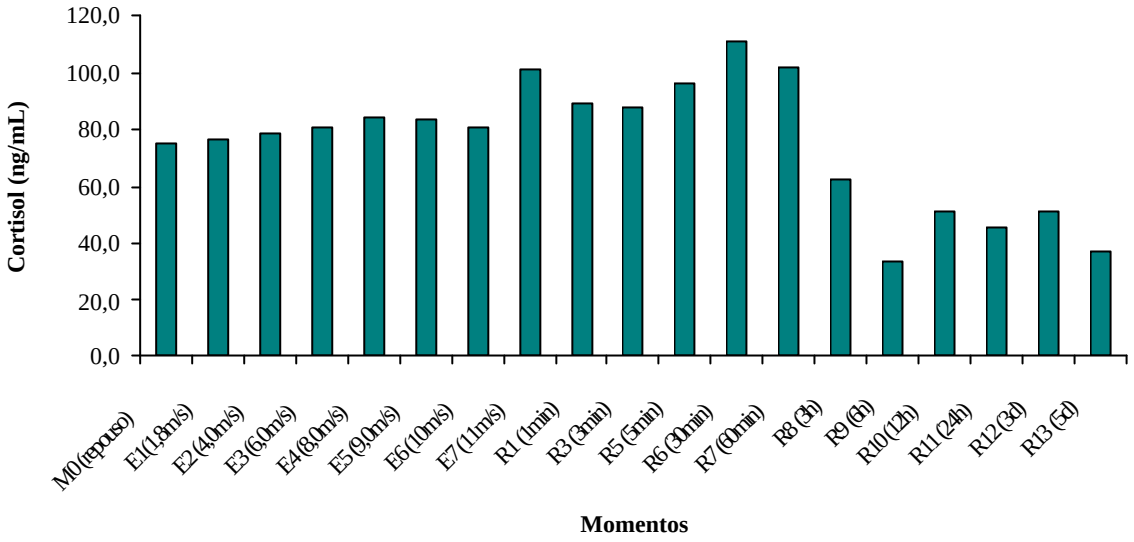



**Gráfico 7.** Médias das concentrações séricas de cortisol, em ng/mL, de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensuradas antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), 30min. (R6), 60min. (R7), 3hs (R8), 6hs (R9), 12hs (R10), 24hs (R11), 3 dias (R12) e 5 dias (R13) do Teste Padrão de Exercício Progressivo

As médias das concentrações de lactato sanguíneo aumentaram exponencialmente a partir do E5 (5,6±2mmol/L), E6 (8,5±3mmol/L), R1 (13,2±4mmol/L), R3 (12,5±4mmol/L) e R5 (14,4±4mmol/L) sendo significativamente maiores do que os valores encontrados no repouso (M0=1,7±0,1mmol/L) (Gráfico 8).

A velocidade do exercício onde o lactato atingiu 4mmol/L ($V_4$) foi 8,0m/s, concordando com Prince et al. (2002) que compararam as respostas do lactato em eqüinos da raça Árabe e Puro Sangue Inglês (PSI) submetidos a três tipos de testes, inclusive o teste progressivo, e observaram que o $V_4$ do lactato na velocidade de 8,3±0,4m/s foi significativo apenas para os cavalos da raça Árabe. O grau de produção do lactato reflete a intensidade e o tipo de exercício, se aeróbio ou anaeróbio (DESMECHT et al., 1996) sendo indicador de desempenho em eqüinos (COUROUCÉ et al., 1997).

Após o exercício, o lactato continuou aumentando e, possivelmente, foi decorrente de seu efluxo 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.

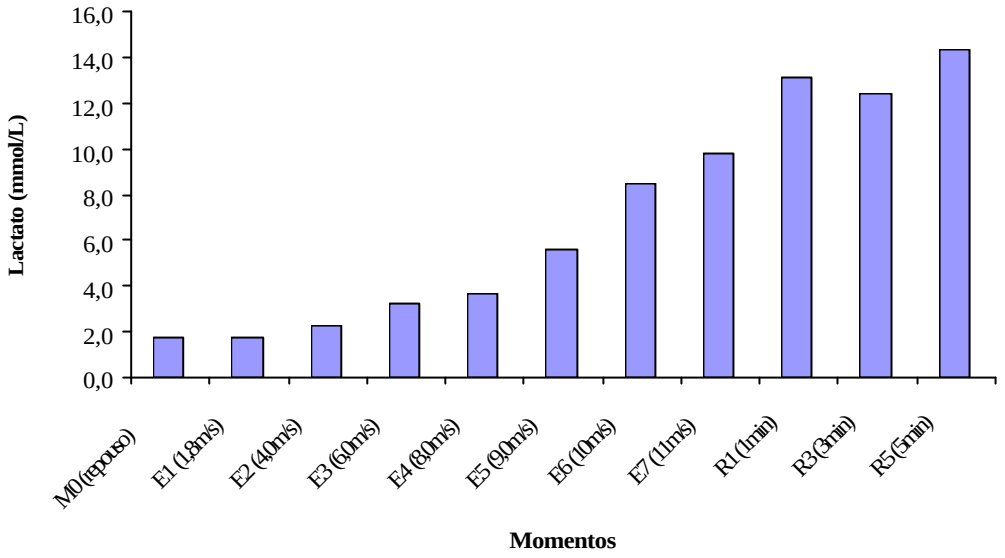



**Gráfico 8.** Médias das concentrações de lactato sanguíneo, em mmol/L, de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5) o Teste Padrão de Exercício Progressivo

No exercício intenso, altas concentrações de lactato são detectadas no sangue periférico, indicando metabolismo anaeróbio das células musculares para a obtenção de energia. Nestes casos, a baixa tensão de oxigênio estimula a conversão da enzima xantina desidrogenase em xantina oxidase, esta utiliza o oxigênio molecular como redutor de elétrons tornando-se um radical livre (SJÖDIN et al., 1990). Diante deste fato, sugere-se que a correlação positiva ($r=0,42$, $p<0,00$) entre o lactato sanguíneo e o MDA é devido à presença de radicais livres formados durante o metabolismo anaeróbio.

Houve correlação ($r=0,29$, $p<0,003$) entre as concentrações de lactato sanguíneo e cortisol sérico, evidenciando que no Teste Padrão de Exercício Progressivo houve predominância do metabolismo anaeróbio nas altas velocidades e a alta intensidade do exercício produziu o estresse nos animais. A mensuração simultânea das duas variáveis pode

ser útil para avaliar diferentes tipos de exercício, ajustando os protocolos de treinamento (DESMECHT et al., 1996).

### 5.3.2. Eritrograma, distribuição do diâmetro dos eritrócitos, plaquetas, proteína plasmática total antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo

Os resultados apresentados na tabela 10 evidenciam o comportamento do eritrograma, plaquetas, distribuição do diâmetro dos eritrócitos e proteína plasmática total antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo.

**Tabela 10.** Valores médios e desvios-padrão ($\bar{x} \pm s$) do número de eritrócitos (He), hemoglobina (Hb), volume globular (VG), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), distribuição do diâmetro dos eritrócitos (DDE), plaquetas e proteína plasmática total (PPT) de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5) o Teste Padrão de Exercício Progressivo

| Momentos | He ($x10^6$/µL) | Hb (g/dL) | VG (%) | VCM (fL) | HCM (pg) | CHCM (g/dL) | DDE (%) | Plaquetas ($x10^6$/µL) | PPT (g/dL) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| M0 (repouso) | $7,5^{b}\pm1,0$ | $11,9^{a}\pm1,3$ | $34^{a}\pm3,5$ | $45,8^{a}\pm3,7$ | $16,0^{a}\pm1,1$ | $34,9^{b}\pm0,8$ | $25,2^{ad}\pm1,9$ | $0,438^{a}\pm0,2$ | $6,4^{a}\pm0,4$ |
| E1 (1,8m/s) | $8,3^{a}\pm1,1$ | $13,2^{b}\pm1,5$ | $38^{c}\pm4,5$ | $46,0^{a}\pm3,3$ | $16,0^{a}\pm1,0$ | $34,9^{b}\pm0,9$ | $25,2^{acd}\pm1,7$ | $0,553^{c}\pm0,3$ | $6,7^{c}\pm0,4$ |
| E2 (4,0m/s) | $9,1^{c}\pm0,9$ | $14,5^{c}\pm1,1$ | $42^{d}\pm3,2$ | $45,9^{a}\pm3,0$ | $16,0^{a}\pm1,0$ | $34,8^{b}\pm0,6$ | $25,8^{bc}\pm1,1$ | $0,74^{d}\pm0,4$ | $6,9^{cd}\pm0,4$ |
| E3 (6,0m/s) | $9,7^{d}\pm1,1$ | $15,4^{d}\pm1,3$ | $44^{e}\pm3,8$ | $45,6^{a}\pm3,1$ | $16,0^{a}\pm1,0$ | $35,1^{b}\pm0,9$ | $26,9^{b}\pm1,6$ | $1,054^{b}\pm0,7$ | $7,0^{de}\pm0,4$ |
| E4 (8,0m/s) | $9,9^{deh}\pm1,1$ | $15,6^{d}\pm1,3$ | $45^{be}\pm3,3$ | $45,6^{a}\pm3,2$ | $15,9^{a}\pm1,0$ | $34,8^{b}\pm0,9$ | $26,4^{bd}\pm1,3$ | $1,046^{b}\pm0,7$ | $7,0^{de}\pm0,3$ |
| E5 (9,0m/s) | $10,2^{fg}\pm1,2$ | $16,0^{e}\pm1,3$ | $46^{b}\pm3,7$ | $45,3^{a}\pm3,3$ | $15,8^{a}\pm1,0$ | $34,9^{b}\pm0,8$ | $27,0^{b}\pm2,0$ | $1,181^{b}\pm0,9$ | $7,3^{be}\pm0,4$ |
| E6 (10m/s) | $10,3^{f}\pm1,2$ | $16,2^{f}\pm1,3$ | $46^{b}\pm3,7$ | $45,2^{a}\pm3,8$ | $15,8^{a}\pm1,0$ | $35,0^{b}\pm1,3$ | $27,2^{b}\pm1,7$ | $1,224^{b}\pm1,0$ | $7,3^{be}\pm0,3$ |
| E7 (11m/s) | 10,4±1,4* | 16,4±1,0* | 47±2,9* | 45,9±4,6* | 15,9±1,2* | 34,7±1,3* | 27,7±2,4* | 1,465±1,3* | 7,5±0,5* |
| R1 (1min) | $10,2^{f}\pm1,1$ | $16,1^{ef}\pm1,2$ | $46^{b}\pm3,3$ | $45,8^{a}\pm3,2$ | $15,8^{a}\pm1,0$ | $34,6^{bc}\pm0,8$ | $27,3^{b}\pm1,7$ | $1,033^{b}\pm0,8$ | $7,5^{b}\pm0,4$ |
| R3 (3min) | $9,9^{h}\pm1,3$ | $15,8^{g}\pm1,4$ | $46^{b}\pm4,2$ | $46,7^{b}\pm3,1$ | $15,8^{a}\pm1,0$ | $34,2^{ac}\pm0,7$ | $27,1^{b}\pm1,2$ | $1,016^{b}\pm0,7$ | $7,4^{b}\pm0,5$ |
| R5 (5min) | $9,7^{de}\pm1,3$ | $15,5^{d}\pm1,4$ | $46^{b}\pm4,0$ | $47,4^{b}\pm3,9$ | $15,8^{a}\pm1,0$ | $34,0^{a}\pm0,6$ | $27,3^{b}\pm1,8$ | $0,849^{d}\pm0,6$ | $7,3^{be}\pm0,6$ |

[a]Para letras iguais não há diferença significativa ($p<0,05$) entre os momentos

* Valores não foram submetidos a análise estatística pois, apenas 4 dos 10 animais alcançaram o momento E7

Os valores médios do número de eritrócitos aumentaram logo após o início do exercício apresentando valores mais altos no E6 (10m/s) (10,3±1,2x$10^6$/µL) em relação ao M0 (repouso). O aumento do número de eritrócitos e volume globular observados no experimento estão diretamente relacionados com a liberação de catecolaminas que estimulam a contração esplênica e também pode ser decorrente da redução do volume plasmático, conseqüente da perda de líquidos do organismo pelo suor. A contração esplênica desempenha um papel importante nos eqüinos aumentando os níveis de oxigênio tecidual durante o exercício (JAIN, 1986; SMITH et al., 1989; McKEEVER et al., 1993). A normalização do número de eritrócitos e VG em equinos submetidos ao exercício ocorrem cerca de 40 a 60 minutos após o exercício, porém este tempo é dependente do tipo de exercício realizado (JAIN, 1986).

O volume globular aumentou cerca de 35,3% do M0 ao E6 (10m/s), com valores de 34% e 46%, respectivamente. O valor do M0 corroborara com Boucher et al. (1981) em relação ao grupo controle de eqüinos antes de uma prova de enduro e Hodgson & Rose (1994) com eqüinos sadios da raça PSI.

Acompanhando o VG e o número de eritrócitos, a concentração de hemoglobina foi maior no E6 (10m/s) cerca de 16,2±1,3g/dL. A concentração de hemoglobina aumentou nos eritrócitos durante o exercício, indicando a perda de fluido do eritrócito para o meio extracelular (HANZAWA et al., 1995).

Os valores médios dos índices hematiméticos VCM e CHCM não alteraram durante o exercício sendo observada uma diferença significativa nos momentos após o exercício R3 e R5 e o HCM não alterou durante e após o exercício. Estes índices hematiméticos diferem de Boucher et al. (1981) que constataram a redução do VCM e HCM e a elevação do CHCM após uma prova de enduro devido à liberação de eritrócitos menores e envelhecidos, durante a esplenocontração.

A distribuição do diâmetro dos eritrócitos aumentou durante o exercício a partir do E3 (6m/s) em relação ao repouso e manteve-se elevada mesmo após o exercício. Esta elevação está relacionada com a contração esplênica que enviou para o sangue periférico eritrócitos de diferentes diâmetros como os equinócitos. Estes são eritrócitos de superfície irregular, menores e estão armazenados no baço. Smith et al. (1989) encontraram menos de 3% de equinócitos no sangue periférico de eqüinos submetidos ao exercício.

O número de plaquetas aumentou cerca de 279% a partir do repouso, os maiores valores encontrados foram durante o exercício no E6 (10m/s) (1,224±1,0x$10^6$/µL). Após 5 minutos (R5) do exercício o número de plaquetas tendeu a diminuir apresentando diferença significativa em relação aos momentos durante o exercício. Lepherd (1977) utilizando pôneis

não-esplenectomizados e esplenectomizados não encontraram diferenças no número e tamanho de plaquetas entre os dois grupos após o exercício, diferentemente de Jain (1993), que atribuiu o aumento do número de plaquetas após o exercício à contração esplênica.

A concentração de proteína plasmática total aumentou durante o exercício sendo significativa a partir do E1 (1,8m/s) e os maiores valores encontrados foram após o exercício nos momentos R1 e R3. Embora a elevação de PPT seja significativa, os valores apresentaram-se dentro do intervalo fisiológico segundo Jain (1986), e corroboraram Balogh et al. (2001). Sugere-se que o exercício promoveu uma desidratação leve, porém em maior proporção ocorreu à distribuição do líquido do meio intravascular para o meio extravascular.

Estudos realizados com eqüinos submetidos a exercícios progressivos submáximos de curta duração em ambientes frio e seco e quente e úmido não comprovaram o efeito do clima e pôde-se concluir que as alterações da concentração de proteína total plasmática foram decorrentes da troca de fluidos do meio intravascular para o meio extravascular, visto que o comportamento da PPT foi igual em ambas condições (HARGREAVES et al., 1999).

#### 5.3.2.1. Leucograma e fibrinogênio antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo

Os resultados apresentados na tabela 11 evidenciam o comportamento do cortisol sérico, leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos, fibrinogênio plasmático e proteína plasmática total antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo.

**Tabela 11.** Valores médios e desvios-padrão ($\bar{x} \pm s$) do cortisol sérico, leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos, fibrinogênio plasmático e proteína plasmática total (PPT) de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5) o Teste Padrão de Exercício Progressivo

| Momentos | Cortisol (ng/mL) | Leucograma ($x10^3/\mu L$) | | | | | | Fibrin. (mg/dL) | PPT (g/dL) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Leucócitos Totais | Neutr. Seg. | Linf | Monóc. | Eosin. | Basóf. | | |
| M0 (repouso) | 75,4±26,0 | $8,3^{a}\pm1,5$ | $4,3^{a}\pm1,2$ | $3,4^{a}\pm0,9$ | $0,4^{a}\pm0,1$ | $0,3^{ac}\pm0,1$ | $0,1^{a}\pm0,1$ | $280^{a}\pm132$ | $6,4^{a}\pm0,4$ |
| E1 (1,8m/s) | 76,2±21,4 | $9,7^{b}\pm1,8$ | $4,7^{c}\pm1,3$ | $4,0^{c}\pm1,2$ | $0,6^{a}\pm0,2$ | $0,3^{bc}\pm0,1$ | $0,1^{a}\pm0,0$ | $310^{a}\pm152$ | $6,7^{c}\pm0,4$ |
| E2 (4,0m/s) | 78,5±22,4 | $10,3^{b}\pm1,7$ | $5,0^{b}\pm1,2$ | $4,3^{b}\pm1,5$ | $0,6^{a}\pm0,4$ | $0,3^{bc}\pm0,1$ | $0,1^{a}\pm0,1$ | $310^{a}\pm120$ | $6,9^{cd}\pm0,4$ |
| E3 (6,0m/s) | 81,0±20,3 | $10,4^{b}\pm1,6$ | $5,0^{b}\pm1,2$ | $4,5^{b}\pm1,2$ | $0,6^{a}\pm0,2$ | $0,3^{b}\pm0,1$ | $0,1^{a}\pm0,0$ | $350^{a}\pm143$ | $7,0^{de}\pm0,4$ |
| E4 (8,0m/s) | 84,4±22,7 | $10,5^{b}\pm1,5$ | $4,6^{c}\pm1,6$ | $4,9^{b}\pm1,5$ | $0,5^{a}\pm0,2$ | $0,3^{bc}\pm0,2$ | $0,1^{a}\pm0,1$ | $380^{a}\pm148$ | $7,0^{de}\pm0,3$ |
| E5 (9,0m/s) | 83,6±23,9 | $10,3^{b}\pm2,0$ | $4,7^{c}\pm1,9$ | $4,8^{b}\pm1,6$ | $0,4^{a}\pm0,4$ | $0,3^{ac}\pm0,1$ | $0,1^{a}\pm0,1$ | $340^{a}\pm135$ | $7,3^{be}\pm0,4$ |
| E6 (10m/s) | 81,0±27,3 | $10,1^{b}\pm2,5$ | $4,6^{c}\pm1,6$ | $4,5^{b}\pm1,8$ | $0,5^{a}\pm0,2$ | $0,4^{bc}\pm0,3$ | $0,1^{a}\pm0,0$ | $311^{a}\pm169$ | $7,3^{be}\pm0,3$ |
| E7 (11m/s) | 100,8±7,2* | 9,7±0,7* | 4,9±1,1* | 4,1±0,6* | 0,4±0,3* | 0,2±0,1* | 0 | 400±0* | 7,5±0,5* |
| R1 (1min) | 88,9±21,8 | $10,0^{b}\pm2,1$ | $4,7^{c}\pm1,6$ | $4,6^{b}\pm1,5$ | $0,3^{a}\pm0,2$ | $0,3^{ac}\pm0,3$ | $0,2^{a}\pm0,2$ | $410^{a}\pm213$ | $7,5^{b}\pm0,4$ |
| R3 (3min) | 88,0±23,0 | $10,4^{b}\pm2,0$ | $4,8^{c}\pm1,2$ | $4,8^{b}\pm1,5$ | $0,5^{a}\pm0,2$ | $0,2^{ac}\pm0,1$ | $0,1^{a}\pm0,2$ | $340^{a}\pm135$ | $7,4^{b}\pm0,5$ |
| R5 (5min) | 96,1±23,7 | $10,0^{b}\pm2,1$ | $4,8^{c}\pm1,3$ | $4,5^{b}\pm1,5$ | $0,4^{a}\pm0,2$ | $0,2^{ac}\pm0,1$ | $0,1^{a}\pm0$ | $360^{a}\pm165$ | $7,3^{be}\pm0,6$ |

[a]Para letras iguais não há diferença significativa ($p<0,05$) entre os momentos.
* Valores não foram submetidos a análise estatística pois, apenas 4 dos 10 animais alcançaram o momento E7.

Os valores médios do número de leucócitos totais aumentaram durante e após o exercício em relação ao M0 ($8,3\pm1,5x10^3/\mu L$). O maior valor encontrado foi $10,5\pm1,5x10^3/\mu L$ no E4 (8m/s), porém não ultrapassaram os valores de referência para a espécie (JAIN, 1986; FERNANDES, 1994; HODGSON & ROSE, 1994; KRAMER, 2000).

Os valores dos neutrófilos segmentados e linfócitos aumentaram durante e após o exercício e diferiram estatisticamente do M0 e E6 (10m/s), pode-se atribuir à contração esplênica e a liberação de catecolaminas que estimulam a demarginação dos neutrófilos (JAIN, 1986), porém os valores não ultrapassaram a referência para a espécie (ALLEN et al., 1984; JAIN, 1986; HODGSON & ROSE, 1994). Estes foram semelhantes aos achados Smith

et al. (1989) os quais aumentaram após o exercício, porém não apresentaram leucocitose, neutrofilia e linfocitose.

Os valores de monócitos e basófilos não alteraram durante o exercício e os valores de eosinófilos foram estatisticamente significativos no E3 (6m/s) em relação ao M0, porém não ultrapassaram os valores de referência para a espécie (ALLEN et al., 1984; JAIN, 1986; HODGSON & ROSE, 1994).

O fibrinogênio plasmático não alterou estatisticamente durante e após o exercício. A concentração do fibrinogênio não ultrapassou os valores de referência para a espécie (JAIN, 1986; HODGSON & ROSE, 1994). Smith et al. (1989) não encontraram alterações significativas nos valores de fibrinogênio em eqüinos submetidos ao exercício de alta velocidade.

O exercício induz aumentos transitórios das catecolaminas plasmáticas e do cortisol, estes mobilizam os linfócitos do baço e também estimulam a demarginação dos neutrófilos restringindo-os na circulação sanguínea, impedindo a migração para os tecidos (PICCIONE et al., 2001). Irvine & Alexander (1994) e Piccione et al. (2001) encontraram periodicidade do ciclo circadiano influenciando nos valores dos leucócitos totais em eqüinos atletas, afirmando que o repetido ritmo de treinamento pode ser sincronizador da atividade.

### 5.3.4. Atividade das enzimas musculares antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo

Os resultados apresentados na tabela 12 evidenciam o comportamento sérico do malondialdeído (MDA) e cortisol, lactato sanguíneo e da atividade enzimática sérica da creatinoquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LD), antes, durante e após o TPEP.

**Tabela 12.** Valores médios e desvios-padrão ($\bar{x} \pm s$) das concentrações séricas do malondialdeído (MDA) e cortisol, lactato sanguíneo e da atividade enzimática sérica da creatinoquinase (CK), do aspartato aminotransferase (AST) e do lactato desidrogenase (LD), de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), 30min. (R6), 60min. (R7), 3hs (R8), 6hs (R9), 12hs (R10), 24hs (R11), 3 dias (R12) e 5 dias (R13) o Teste Padrão de Exercício Progressivo

| Momentos | MDA (nmol/L) | Cortisol (ng/mL) | Lactato (mmol/L) | CK (UI/L) | AST (UI/L) | LD (UI/L) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| M0 (repouso) | $0,045^{a}\pm0,014$ | $75,4^{ef}\pm26,0$ | $1,7^{a}\pm0,1$ | $260^{a}\pm103$ | $256^{a}\pm48$ | $457^{a}\pm168$ |
| E1 (1,8m/s) | $0,046^{a}\pm0,014$ | $76,2^{e}\pm21,4$ | $1,7^{a}\pm0,3$ | $281^{c}\pm107$ | $269^{c}\pm52$ | $548^{b}\pm154$ |
| E2 (4,0m/s) | $0,041^{a}\pm0,013$ | $78,5^{ef}\pm22,4$ | $2,2^{a}\pm0,4$ | $291^{d}\pm121$ | $279^{c}\pm52$ | $546^{b}\pm196$ |
| E3 (6,0m/s) | $0,046^{a}\pm0,013$ | $81,0^{efg}\pm20,3$ | $3,2^{a}\pm1$ | $298^{efg}\pm119$ | $290^{d}\pm54$ | $548^{b}\pm200$ |
| E4 (8,0m/s) | $0,043^{a}\pm0,016$ | $84,4^{efg}\pm22,7$ | $3,7^{a}\pm1$ | $300^{fg}\pm119$ | $297^{e}\pm55$ | $582^{b}\pm174$ |
| E5 (9,0m/s) | $0,046^{a}\pm0,012$ | $83,6^{efg}\pm23,9$ | $5,6^{c}\pm2$ | $308^{g}\pm129$ | $310^{b}\pm60$ | $568^{b}\pm212$ |
| E6 (10m/s) | $0,051^{c}\pm0,011$ | $81,0^{efg}\pm27,3$ | $8,5^{d}\pm3$ | $320^{h}\pm131$ | $317^{b}\pm63$ | $588^{b}\pm233$ |
| E7 (11m/s) | 0,051±0,006* | 100,8±7,2* | 9,8±2* | 341±188* | 294±54* | 562±115* |
| R1 (1min) | $0,055^{c}\pm0,011$ | $88,9^{fg}\pm21,8$ | $13,2^{b}\pm4$ | $305^{g}\pm118$ | $325^{b}\pm56$ | $557^{b}\pm218$ |
| R3 (3min) | $0,060^{c}\pm0,018$ | $88,0^{efg}\pm23,0$ | $12,5^{b}\pm4$ | $305^{g}\pm119$ | $329^{b}\pm55$ | $577^{b}\pm246$ |
| R5 (5min) | $0,063^{d}\pm0,017$ | $96,1^{h}\pm23,7$ | $14,4^{b}\pm4$ | $295^{efg}\pm108$ | $331^{b}\pm53$ | $548^{b}\pm183$ |
| R6 (30min) | $0,087^{b}\pm0,032$ | $110,8^{b}\pm32,4$ | ** | $275^{d}\pm77$ | $275^{c}\pm59$ | $506^{b}\pm203$ |
| R7 (60min) | $0,082^{d}\pm0,043$ | $101,6^{g}\pm42,3$ | ** | $290^{de}\pm91$ | $268^{c}\pm48$ | $520^{b}\pm155$ |
| R8 (3h) | $0,060^{c}\pm0,028$ | $62,2^{d}\pm38,5$ | ** | $344^{b}\pm115$ | $272^{c}\pm58$ | $548^{b}\pm200$ |
| R9 (6h) | $0,050^{a}\pm0,02$ | $33,6^{a}\pm11,6$ | ** | $355^{h}\pm138$ | $273^{c}\pm54$ | $502^{b}\pm162$ |
| R10 (12h) | $0,046^{a}\pm0,02$ | $51,0^{c}\pm31,7$ | ** | $318^{h}\pm139$ | $278^{c}\pm57$ | $542^{b}\pm257$ |
| R11 (24h) | $0,050^{a}\pm0,022$ | $45,7^{c}\pm16,9$ | ** | $295^{fg}\pm85$ | $281^{c}\pm58$ | $632^{b}\pm285$ |
| R12 (3d) | $0,043^{a}\pm0,02$ | $50,9^{c}\pm26,3$ | ** | $303^{g}\pm74$ | $274^{c}\pm51$ | $498^{b}\pm139$ |
| R13 (5d) | $0,043^{a}\pm0,015$ | $37,1^{a}\pm11,1$ | ** | $260^{de}\pm71$ | $269^{c}\pm33$ | $515^{b}\pm189$ |

[a]Para letras iguais não há diferença significativa ($p<0,05$) entre os momentos
* Valores não foram submetidos a análise estatística pois, apenas 4 dos 10 animais alcançaram o momento E7
** Momentos não coletados

A atividade sérica da CK no M0 foi significativamente menor que a de todos os momentos durante e após o exercício. Pode-se observar que os valores da enzima aumentaram gradativamente durante o exercício, e observa-se que nos momentos E5 (9m/s), E6 (10m/s), E7 (11m/s), R1 (1 minuto), 3 (3 minutos), 5 (5 minutos), 8 (2 horas), 9 (6 horas), 10 (12

horas) e 12 (3 dias), os valores médios foram mais elevados do que os valores de higidez apresentados por Hodgson & Rose (1994).

A vida média da creatinoquinase é curta e o pico da concentração sérica da enzima pode ser observado de 6 a 8 horas após a lesão (Gráfico 9), observa-se que o valor mais alto atingido pela enzima foi no R9 (355±138UI/L) após o exercício. A CK é o indicador mais sensível de lesões musculares elevando-se rapidamente, indicando lesão ativa, retornado dentro de 24 horas aos valores basais, quando os estímulos forem cessados (KANEKO, 1997).

Apesar da atividade da enzima CK apresentar-se mais alta do que os valores de referência para eqüinos, os animais não apresentaram sinais clínicos de fadiga muscular ou claudicação confirmando as observações de Muñoz et al. (2002) que obtiveram valores máximos de CK após o exercício de 364UI/L para eqüinos Árabes. Sugere-se que este aumento da CK durante e após o exercício está correlacionado com o aumento de permeabilidade da membrana celular onde a enzima encontra-se localizada (ANDERSON, 1975; SICILIANO et al., 1995; MUÑOZ et al., 2002).

Os valores séricos da AST no M0 foram estatisticamente significativos em relação a todos os momentos durante e após o exercício. Pode-se observar que os valores da enzima aumentaram gradativamente durante o exercício e a partir do E5 (9m/s) até o R5 (5 minutos após o exercício), os valores não diferiram estatisticamente entre si, porém diferiram do R6 (30 minutos) até o R13 (5 dias).

Os aumentos da AST embora significativos apresentaram-se dentro do intervalo de referência citado na literatura para eqüinos atletas (ANDERSON, 1975; HODGSON & ROSE, 1994).

O LD aumentou durante e após o exercício em relação ao M0, onde o maior valor obtido foi no R11 (24 horas) (632±285UI/L), sem significado estatístico. Os valores obtidos corroboram Anderson (1975) e diferem de Hodgson & Rose (1994), Fernandes (1994) e Balogh et al. (2001) que encontraram valores mais baixos.

Os resultados obtidos no experimento estão de acordo com os resultados de Toledo et al. (2001), que demonstraram que o aumento da atividade do LD após o exercício não foi significante, isto se deve ao fato desta enzima estar presente em muitos tecidos e para avaliação do perfil muscular, recomenda-se o uso das isoenzimas.

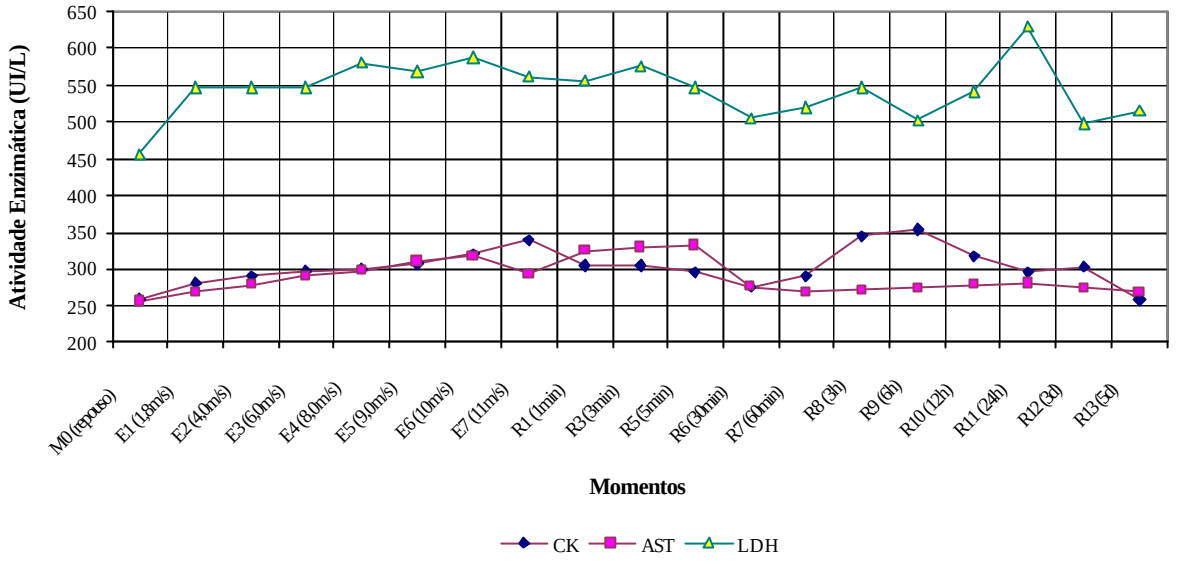



**Gráfico 9.** Médias da atividade sérica das enzimas musculares creatinoquinase (CK), do aspartato aminotransferase (AST) e do lactato desidrogenase (LD), em UI/L, de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), 30min. (R6), 60min. (R7), 3hs (R8), 6hs (R9), 12hs (R10), 24hs (R11), 3 dias (R12) e 5 dias (R13) o Teste Padrão de Exercício Progressivo

Observa-se no gráfico 9 o comportamento da CK, AST e LD, relacionado aos momentos de exercício e de colheita. Houve correlação positiva entre as enzimas, CK e AST ($r=0,53$, $p<0,001$) e quando utilizadas em conjunto são de valor diagnóstico e auxílio prognóstico para lesões musculares, podendo-se inferir lesões ativas ou crônicas. O valor da AST eleva-se dentro de 24 horas retornando aos valores basais dentro de 7 a 14 dias e a CK eleva-se e retorna aos valores basais mais rapidamente (KANEKO, 1997).

A explicação para o aumento das enzimas após o exercício quando correlacionadas significativamente com o MDA (CK: $r=0,34$, $p<0,001$; AST: $r=0,21$, $p<0,003$ e LD: $r=0,24$, $p<0,01$), é devido a exacerbação do metabolismo oxidativo que ocorre durante o exercício. Há um aumento da produção de ROS que reagem com os lipídios das membranas celulares provocando a lipoperoxidação e conseqüentemente, a perda da fluidez da membrana e o aumento da permeabilidade da mesma resultando no extravasamento das proteínas e enzimas como a CK e AST para o sangue (SJÖDIN et al., 1990).

Segundo Anderson (1975), Muñoz et al. (2002) e Hodgson & Rose (1994), estas enzimas podem ser influenciadas pela fase de treinamento e pelo tipo de exercício. Houve correlação entre as enzimas e o lactato (CK: $r=0,30$, $p<0,002$; AST: $r=0,51$, $p<0,001$ e LD:

r=0,30, p<0,002). Este em altas concentrações na circulação e no músculo é altamente lesivo para a membrana das células musculares devido à diminuição do pH.

No presente experimento, sugere-se que o treinamento realizado nos animais foi suficiente para promover adaptações no tecido muscular para a realização do TPEP, pois embora os animais apresentassem aumento de enzimas, do lactato e do MDA, observou-se que a recuperação foi eficiente e os animais não apresentaram lesão muscular.

5.3.5. Hemogasometria antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo

Os resultados apresentados na tabela 13 evidenciam o comportamento do lactato sanguíneo do sangue venoso, potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de $O_2$ ($PaO_2$), pressão parcial de $CO_2$ ($PaCO_2$), saturação de hemoglobina por $O_2$ ($SaO_2$), concentração total de $CO_2$ ($ctCO_2$), íon bicarbonato ($HCO_3$) e excesso de base (EB), do sangue arterial antes, durante e após o TPEP.

**Tabela 13.** Valores médios e desvios-padrão ($\bar{x} \pm s$) do lactato sanguíneo do sangue venoso, potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de $O_2$ ($PaO_2$), pressão parcial de $CO_2$ ($PaCO_2$), saturação de hemoglobina por $O_2$ ($SaO_2$), concentração total de $CO_2$ ($ctCO_2$), íon bicarbonato ($HCO_3$) e excesso de base (EB) do sangue arterial de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), o Teste Padrão de Exercício Progressivo

| Momentos | Lactato (mmol/L) | pH (mmol/L) | $PaO_2$ (mmHg) | $PaCO_2$ (mmHg) | $SaO_2$ (%) | $ctCO_2$ (mmol/L) | $HCO_3$ (mmol/L) | EB (mmol/L) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| M0 (repouso) | $1,7^{a}\pm0,1$ | $7,44^{b}\pm0,04$ | $84,65^{cd}\pm11,40$ | $40,92^{b}\pm3,72$ | $96,4^{e}\pm1,1$ | $28,4^{b}\pm2,2$ | $27,1^{bf}\pm2,2$ | $2,7^{bf}\pm2,1$ |
| E1 (1,8m/s) | $1,7^{a}\pm0,3$ | $7,45^{b}\pm0,02$ | $87,16^{d}\pm14,69$ | $38,93^{e}\pm4,07$ | $96,6^{e}\pm1,7$ | $26,5^{f}\pm5,6$ | $25,4^{f}\pm5,4$ | $1,3^{f}\pm5,0$ |
| E2 (4,0m/s) | $2,2^{a}\pm0,4$ | $7,47^{b}\pm0,03$ | $74,79^{a}\pm13,98$ | $36,23^{d}\pm4,75$ | $95,1^{de}\pm2,5$ | $25,7^{ef}\pm4,9$ | $24,6^{f}\pm4,6$ | $1,1^{f}\pm4,2$ |
| E3 (6,0m/s) | $3,2^{a}\pm1$ | $7,44^{b}\pm0,03$ | $77,57^{ac}\pm12,99$ | $35,04^{d}\pm3,88$ | $95,4^{de}\pm2,3$ | $24,4^{ef}\pm2,6$ | $23,3^{ef}\pm2,5$ | $-0,3^{ef}\pm2,4$ |
| E4 (8,0m/s) | $3,7^{a}\pm1$ | $7,41^{b}\pm0,05$ | $72,92^{a}\pm6,77$ | $35,74^{d}\pm3,44$ | $94,7^{de}\pm1,5$ | $23,3^{de}\pm2,6$ | $22,2^{ef}\pm2,5$ | $-1,8^{e}\pm3,1$ |
| E5 (9,0m/s) | $5,6^{c}\pm2$ | $7,36^{d}\pm0,05$ | $72,52^{a}\pm8,56$ | $35,76^{d}\pm2,93$ | $93,8^{cd}\pm2,0$ | $20,9^{d}\pm2,3$ | $19,8^{d}\pm2,3$ | $-4,8^{d}\pm2,9$ |
| E6 (10m/s) | $8,5^{d}\pm3$ | $7,29^{c}\pm0,06$ | $69,87^{a}\pm8,91$ | $32,01^{d}\pm3,70$ | $91,9^{a}\pm2,5$ | $16,4^{c}\pm3,6$ | $15,4^{c}\pm3,5$ | $-9,8^{c}\pm4,1$ |
| E7 (11m/s) | 9,8±2* | 7,22±0,10* | 65,93±9,70* | 29,25±5,46* | 89,0±3,5* | 14,5±4,0* | 13,5±3,9* | -12,6±5,1* |
| R1 (1min) | $13,2^{b}\pm4$ | $7,23^{a}\pm0,10$ | $101,79^{b}\pm4,65$ | $21,92^{a}\pm6,22$ | $96,7^{bde}\pm0,8$ | $10,1^{a}\pm4,0$ | $9,4^{a}\pm3,8$ | $-15,9^{a}\pm5,0$ |
| R3 (3min) | $12,5^{b}\pm4$ | $7,19^{a}\pm0,10$ | $94,77^{b}\pm5,63$ | $24,78^{c}\pm7,40$ | $95,7^{e}\pm1,4$ | $10,5^{a}\pm4,2$ | $9,7^{a}\pm4,0$ | $-16,5^{a}\pm5,1$ |
| R5 (5min) | $14,4^{b}\pm4$ | $7,19^{a}\pm0,09$ | $97,21^{b}\pm7,69$ | $24,98^{c}\pm6,33$ | $95,7^{e}\pm0,6$ | $10,5^{a}\pm4,5$ | $9,7^{a}\pm4,3$ | $-16,7^{a}\pm5,3$ |

[a]Para letras iguais não há diferença significativa (p<0,05) entre os momentos
* Valores não foram submetidos a análise estatística pois, apenas 4 dos 10 animais alcançaram o momento E7

Avaliando os parâmetros hemogasométricos, observa-se que o potencial hidrogeniônico (pH) a partir do E5 (9m/s) reduziu-se, com significância estatística, ao valor mínimo (7,19±0,09) (Gráfico 10) após o término do exercício no R5 (5 minutos), caracterizando a acidose decorrente do aumento do ácido lático produzido pelas células musculares na circulação sanguínea. A acidose metabólica foi relatada por Manohar et al. (2001) com valores de 7,124±0,026 em eqüinos PSI submetidos ao exercício progressivo em esteira com velocidade de até 14m/s com +3,5% de inclinação.

A redução da pressão parcial de oxigênio no sangue arterial iniciou a partir do E2 (4m/s) chegando a valores muito baixos de 69,87±8,91mmHg, estatisticamente significativo em relação ao M0. Os valores de referência para a $PaO_2$ de eqüinos sadios referendados por Speirs (1999) variam de 81,9-85,3mmHg, sugere-se que os animais entraram em hipóxia durante o exercício pois os animais reduziram em 20% a concentração de oxigênio nos alvéolos. Entretanto, esses baixos resultados na $PaO_2$ no exercício, principalmente nas velocidades mais altas, podem ser devido às condições em que foi realizado este experimento, onde não houve a correção da temperatura do sangue arterial (JONES et al., 1989, TAYLOR et al., 1998). Porém, achados freqüentes na literatura referem que homens e eqüinos apresentam o quadro de hipóxia induzida pelo exercício em altas velocidades, e os autores sugerem que os fatores responsáveis são a hipoventilação relativa e a difusão limitada do transporte de oxigênio nos capilares alveolares (WAGNER et al., 1989; MANOHAR et al., 2001).

As pressões parciais de oxigênio diminuíram durante o teste, provavelmente em decorrência da alta freqüência respiratória durante o galope e pela limitação do fluxo aéreo para os pulmões devido ao sincronismo dos movimentos respiratórios com cada galão durante os exercícios em altas velocidades (BAYLY, 1999). Após o exercício observou-se o aumento da pressão parcial de oxigênio, podendo ser correlacionado 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 freqüência respiratória (CARLSON, 1995).

Após o exercício observa-se o aumento estatisticamente significativo da $PaO_2$ com valores que em média chegam a 101,79±4,65mmHg no momento R1 (1 minuto) após o exercício. Este fenômeno é denominado de hiperventilação, onde os eqüinos tentam compensar a hipóxia com o aumento de oxigênio e eliminação do gás carbônico para reduzir a acidose.

Os valores da pressão parcial de $CO_2$ (40,92±3,72mmHg), no repouso, corroboraram com Kaneko (1997) (38-46mmHg) e Speirs (1999) (41,4-43,0mmHg), porém,

durante o exercício, logo após o E1 (1,8m/s), os animais apresentaram hipocapnia que se manteve até o término do exercício com valores mais baixos no momento R1 (1 minuto) de 21,92±6,22mmHg, o qual correspondeu ao mesmo momento em que os animais iniciaram a hiperventilação. Taylor et al. (1995) verificaram hipocapnia em cavalos da raça Árabe justificada pelo processo de hiperventilação durante os repetidos exercícios de rápida aceleração, *sprints*, porém Watanabe (2004) atribuiu a hipocapnia às menores taxas metabólicas quanto à retenção de $CO_2$ durante alta intensidade de exercício, em eqüinos da raça Árabe.

A saturação de hemoglobina por $O_2$ é dependente da pressão parcial de oxigênio, e por isso estas apresentam o mesmo comportamento, verificando-se uma redução da $SaO_2$ durante o exercício a partir do E2 (4m/s) sendo estatisticamente significativo no E6 (91,9±2,5%) (Tabela 13, Gráfico 11). Hodgson & Rose (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 mais concentrações de oxigênio para manter a saturação do oxigênio na hemoglobina.

Observa-se que as concentrações do íon bicarbonato reduziram cerca de 65% do início do exercício (27,1±2,2mmol/L) ao momento R1 (1 minuto) (9,4±3,8mmol/L), continuando em valores baixos no R5 (5 minutos) após o exercício quando comparados aos valores apresentados por Kaneko (1997) (24-30mmol/L). Esta redução do $HCO_3^-$ está associada ao tamponamento do pH sanguíneo. Acompanhando o consumo do $HCO_3^-$, as concentrações totais de gás carbônico reduziram ao longo do exercício observando-se valores mínimos após o exercício a partir do R1 (1 minuto) (10,1±4,0mmol/L), mantendo-se reduzido até o R5 (5 minutos), os achados corroboram com Manohar et al. (2001).

O mesmo comportamento foi verificado no excesso de base, observa-se a redução com déficit negativo a partir do E3 (6m/s) aumentando até o R5 (5 minutos) após o exercício, significando um desequilíbrio nos íons para manter o tamponamento sanguíneo.

Observou-se também uma diminuição do íon bicarbonato e do excesso de base conforme o aumento da intensidade do exercício, sugerindo o aumento do consumo pela tentativa de tamponamento do pH sanguíneo e muscular (EVANS, 2000).

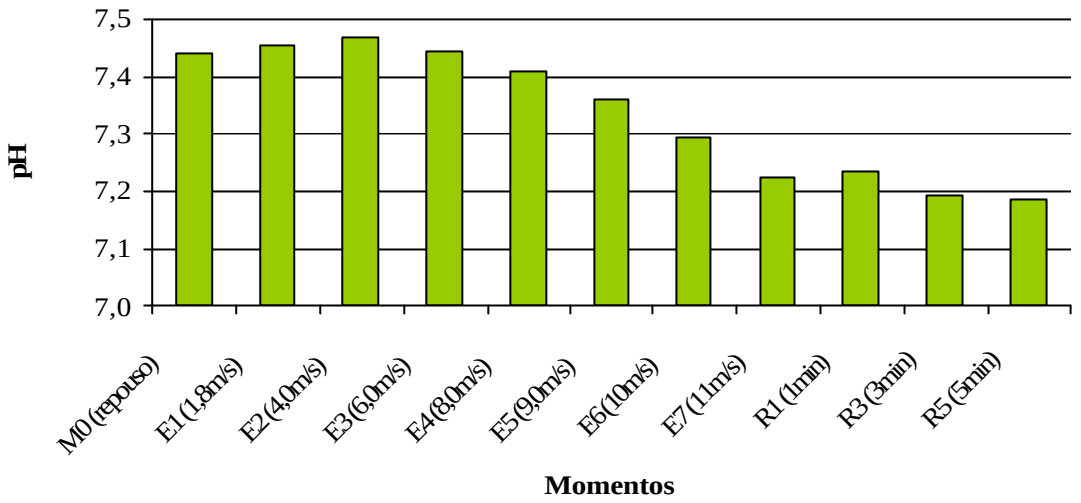



**Gráfico 10.** Valores médios do potencial hidrogeniônico (pH) do sangue arterial de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), do Teste Padrão de Exercício Progressivo

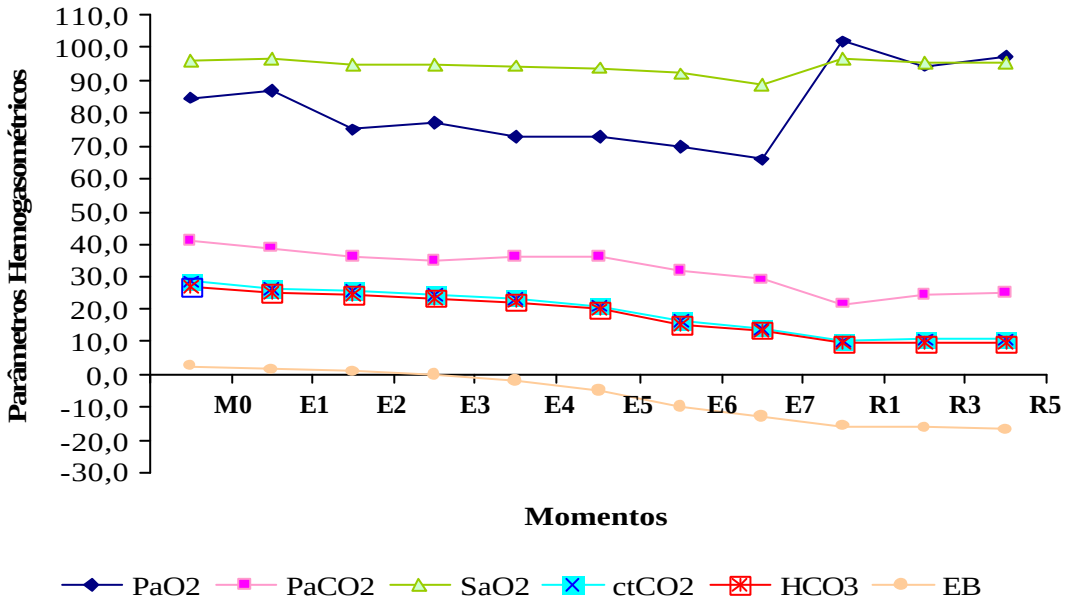



**Gráfico 11.** Valores médios da pressão parcial de $O_2$ ($PaO_2$) (mmHg), pressão parcial de $CO_2$ ($PaCO_2$) (mmHg), saturação de hemoglobina por $O_2$ ($SaO_2$) (%), concentração total de $CO_2$ ($ctCO_2$) (mmol/L), íon bicarbonato ($HCO_3$) (mmol/L) e excesso de base (EB) (mmol/L) do sangue arterial de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), do Teste Padrão de Exercício Progressivo

### 5.3.6. Eletrólitos do sangue arterial antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo

Os resultados apresentados na tabela 14 evidenciam o comportamento da proteína plasmática total (PPT) do sangue venoso e do sódio, potássio e cloro do sangue arterial antes, durante e após o TPEP.

**Tabela 14.** Valores médios e desvios-padrão ($\bar{x} \pm s$) da proteína plasmática total (PPT) do sangue venoso e do sódio, potássio e cloro do sangue arterial de 10 eqüinos adultos, da raça Árabe mensurados antes (M0), durante 1,8m/s (E1), 4m/s (E2), 6m/s (E3), 8m/s (E4), 9m/s (E5), 10m/s (E6) e 11m/s (E7) e após 1min. (R1), 3min. (R3), 5min. (R5), o Teste Padrão de Exercício Progressivo

| Momentos | PPT (g/dL) | Sódio (mmol/L) | Potássio (mmol/L) | Cloro (mmol/L) |
|---|---|---|---|---|
| M0 (repouso) | $6,4^{a}\pm0,4$ | $133,3^{a}\pm2,5$ | $4,1^{c}\pm0,4$ | $103^{c}\pm2,5$ |
| E1 (1,8m/s) | $6,7^{c}\pm0,4$ | $136,3^{c}\pm4,9$ | $4,3^{c}\pm1,0$ | $105^{ac}\pm10,2$ |
| E2 (4,0m/s) | $6,9^{cd}\pm0,4$ | $135,4^{c}\pm4,4$ | $5,0^{d}\pm1,1$ | $106^{c}\pm8,8$ |
| E3 (6,0m/s) | $7,0^{de}\pm0,4$ | $136,2^{c}\pm3,0$ | $5,8^{e}\pm0,8$ | $104^{c}\pm3,2$ |
| E4 (8,0m/s) | $7,0^{de}\pm0,3$ | $137,0^{c}\pm2,9$ | $6,4^{f}\pm0,9$ | $103^{c}\pm2,9$ |
| E5 (9,0m/s) | $7,3^{be}\pm0,4$ | $139,3^{c}\pm3,8$ | $6,9^{g}\pm0,9$ | $104^{d}\pm2,9$ |
| E6 (10m/s) | $7,3^{be}\pm0,3$ | $140,7^{b}\pm3,0$ | $7,2^{b}\pm1,1$ | $106^{b}\pm2,0$ |
| E7 (11m/s) | 7,5±0,5* | 142,9±3,7* | 7,9±1,3* | 104±2,6* |
| R1 (1min) | $7,5^{b}\pm0,4$ | $141,4^{b}\pm4,0$ | $5,0^{d}\pm0,9$ | $101^{ac}\pm2,9$ |
| R3 (3min) | $7,4^{b}\pm0,5$ | $139,5^{b}\pm2,6$ | $4,1^{c}\pm0,3$ | $99^{a}\pm2,5$ |
| R5 (5min) | $7,3^{be}\pm0,6$ | $138,7^{c}\pm3,0$ | $3,8^{a}\pm0,3$ | $99^{a}\pm2,5$ |

[a]Para letras iguais não há diferença significativa ($p<0,05$) entre os momentos
* Valores não foram submetidos a análise estatística pois, apenas 4 dos 10 animais alcançaram o momento E7

As concentrações dos eletrólitos foram obtidas por meio do exame hemogasométrico observando-se um aumento do sódio após o início do exercício com maior valor significativo no E6 (10m/s) mantendo-se no R1 (1 minuto) e R3 (3 minutos), voltando a reduzir, no R5 (5 minutos) após o exercício. O aumento das concentrações de sódio estão relacionados à distribuição de líquidos do plasma para o interstício (AGUILERA-TEJERO et

al, 2000) embora estejam dentro dos valores de referência para a espécie (132-146mmol/L) (KANEKO, 1997).

As concentrações de potássio elevaram-se a partir do E2 (4m/s) durante o exercício, onde a maior concentração significativa foi obtida no E6 (10m/s) (7,2±1,1mmol/L), reduzindo após o exercício no R1 (1 minuto), R3 (3 minutos) e R5 (5 minutos) que obteve valores mais baixos (3,8±0,3mmol/L) das concentrações basais iniciais (4,1±0,4mmol/L). Comparando os valores obtidos com a literatura (2,6-5,0mmol/L) sugere-se uma hiperpotassemia transitória em decorrência do exercício (KANEKO, 1997). As concentrações de potássio alteram-se devido ao desequilíbrio ácido-básico, ao aumento de catecolaminas e ao exercício que aumenta a freqüência da contração muscular promovendo a perda do potássio pelas células musculares (MAXSON-SAGE et al., 1998; ART & LEKEUX, 2005), como também pela perda do potássio pelos eritrócitos, pois, nesta espécie, o potássio está presente em grandes concentrações intraeritrocitária (KANEKO, 1997).

As concentrações de cloro foram inconstantes durante o exercício apresentando um aumento no E5 (9m/s) e E6 (10m/s) em relação ao repouso reduzindo, após o exercício no R3 (3 minutos) e R5 (5 minutos) com valores mais baixos do que as concentrações basais, porém dentro dos valores de normalidade para a espécie (99-109mmol/L) (KANEKO, 1997). Esta redução está associada com o balanço entre os íons sódio e cloretos como também pela requisição das fibras musculares (AGUILERA-TEJERO et al., 2000).

Segundo Aguilera-Tejero et al. (2000), há um aumento nas concentrações de sódio e potássio durante o exercício de alta intensidade acompanhado com nenhuma alteração ou uma tendência de diminuir as concentrações de cloretos. Esses achados adicionados ao íon bicarbonato resultam na elevação do ânion *gap* após o exercício e estas mudanças de concentrações contribuem para atenuar a acidose aumentando as concentrações de lactato.

### 5.3.7. Freqüência cardíaca antes, durante e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo

Os resultados apresentados na tabela 15 evidenciam o comportamento da freqüência cardíaca no repouso, durante e após o TPEP.

**Tabela 15.** Médias e desvio-padrão das freqüências cardíacas em batimentos por minuto (bpm) de 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, mensuradas nos 5 segundos finais de cada velocidade (m/s), no transcorrer do Teste Padrão de Exercício Progressivo

| | | **Animais** |
|---|---|---|
| Momentos de colheita | Velocidade (m/s) | FC (bpm) |
| M0 | Repouso | 36,2[a]±6,12 |
| | 1,8 | 98,9[ef]±11,51 |
| | 1,8 | 96,4[ef]±8,51 |
| | 1,8 | 91,8[e]±6,92 |
| | 1,8 | 91,6[e]±7,65 |
| E1 | 1,8 | 92,1[e]±6,40 |
| | 4,0 | 146,8[i]±15,60 |
| | 4,0 | 149,9[i]±11,95 |
| E2 | 4,0 | 151,0[i]±14,22 |
| | 6,0 | 178,3[j]±14,82 |
| E3 | 6,0 | 181,7[j]±13,05 |
| E4 | 8,0 | 202,6[k]±11,29 |
| E5 | 9,0 | 214,3[b]± 9,74 |
| E6 | 10,0 | 218,1[b]±9,87 |
| E7 | 11,0 | 226±4,9* |
| R1 | 1 minuto | 133,1[h]±23,93 |
| | 2 minutos | 114,5[g]±18,55 |
| R3 | 3 minutos | 108,6[fg]±13,51 |
| | 4 minutos | 101,4[ef]±10,92 |
| R5 | 5 minutos | 99,0[ef]±13,25 |
| | 15 minutos | 86,1[e]±13,54 |
| R6 | 30 minutos | 72,0[d]±17,24 |
| R7 | 60 minutos | 53,4[c]± 7,85 |

[a]Para letras iguais não há diferença significativa ($p<0,05$) entre os momentos
* Valores não foram submetidos a análise estatística pois, apenas 4 dos 10 animais alcançaram o momento E7

Os eqüinos obtiveram respostas diferentes ao exercício onde 6 animais atingiram a velocidade de 10m/s e 4 animais, 11m/s.

Analisando as médias das freqüências cardíacas durante o Teste Padrão de Exercício Progressivo, observou-se um rápido aumento significativo logo após o início do exercício E1 (1,8m/s) e nos momentos subseqüentes conforme a mudança do andamento do trote no E2 (4m/s) para cânter E3 (6,0m/s) e galope E4 (8m/s), conforme Evans (2000). A freqüência cardíaca aumentou conforme o aumento da velocidade do exercício estando

associada ao aumento da atividade simpática ou liberação de catecolaminas (HODGSON & ROSE, 1994).

Segundo Jones (1989), a mensuração da velocidade de exercício na qual a freqüência cardíaca atinge 200bpm, disponibiliza informações úteis para avaliar a capacidade de trabalho aeróbio.

Durante o exercício, a freqüência cardíaca eleva-se de forma linear proporcional ao aumento da velocidade de exercício até atingir 210bpm (JONES, 1989), e freqüentemente, atinge um valor o qual não se eleva mesmo com o aumento da intensidade de trabalho. Segundo Physick-Sheard, (1985) a freqüência cardíaca máxima em eqüinos de corrida compreende valores de 240-250bpm, diferindo dos achados do presente trabalho em que se observa valor menor (226±4,9bpm).

### 5.3.8. Temperatura retal, temperatura ambiente (TA) e umidade relativa do ar (UR) antes e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo

A tabela 16 representa os resultados da temperatura retal dos animais e a tabela 17 a temperatura ambiente e umidade relativa do ar mensuradas no dia do TPEP.

**Tabela 16.** Temperatura retal de 10 eqüinos, adultos, da raça Árabe, mensuradas antes e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo

| | Animais | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Temperatura retal (TPEP) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | ***$\overline{X}$ ± s** |
| Pré-TPEP | 36,7 | 37,8 | 39,0 | 37,5 | 37,9 | 37,3 | 38,0 | 38,4 | 37,8 | 38,5 | **37,9[a]±0,7** |
| Pós-TPEP | 40,0 | 39,6 | 41,3 | 39,2 | 38,9 | 39,6 | 39,7 | 39,0 | 39,6 | 40,3 | **39,7[b]±0,7** |

[a]Para letras iguais não há diferença significativa ($p<0,05$) entre os momentos

* $\overline{X}$ : Média aritmética
s: Desvio padrão

A temperatura retal dos animais diferiu estatisticamente antes e após o TPEP, demonstrando o aumento do metabolismo dos animais durante o exercício.

**Tabela 17.** Temperatura ambiente (TA) e umidade relativa do ar (UR) no Laboratório do Centro de Medicina Esportiva Eqüina, mensuradas no dia do Teste Padrão de Exercício Progressivo

| | Animais | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | ***$\overline{X}$ ± s** |
| TA (ºC) | 21,9 | 21,1 | 24,6 | 25,8 | 21,5 | 24,2 | 23,3 | 24,1 | 24,9 | 26,1 | **23,8±1,8** |
| UR (%) | 75 | 71 | 62 | 54 | 76 | 88 | 66 | 60 | 61 | 57 | **67,0±10,4** |

* $\overline{X}$ : Média aritmética
s: Desvio padrão

A média da temperatura ambiente nos dias dos testes foi 23,8±1,8ºC, segundo Hargreaves et al. (1999), temperaturas médias de 18ºC e 31ºC são consideradas fresca e quente, respectivamente; e umidade relativa do ar de 47% e 69% são consideradas seco e úmida, respectivamente. Os autores submeteram eqüinos a diferentes climas e encontraram maiores freqüências cardíacas, respiratórias, aumentos de proteína plasmática total e volume globular em condições quente e úmida.

Williams et al. (2002) encontraram elevadas concentrações de cortisol em clima quente e úmido, porém sugerem que este não é um bom índice para avaliar o estresse térmico.

Embora os dados não tenham análise estatística, observam-se poucas oscilações da temperatura ambiente e maiores oscilações da umidade relativa do ar nos dias dos testes, comparando-a com a temperatura retal mensurada antes e após o TPEP, sugere-se que estas não influenciaram este parâmetro.

Os resultados da temperatura retal antes e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo, temperatura ambiente e umidade relativa do ar no dia do teste podem ser observados no gráfico 12.

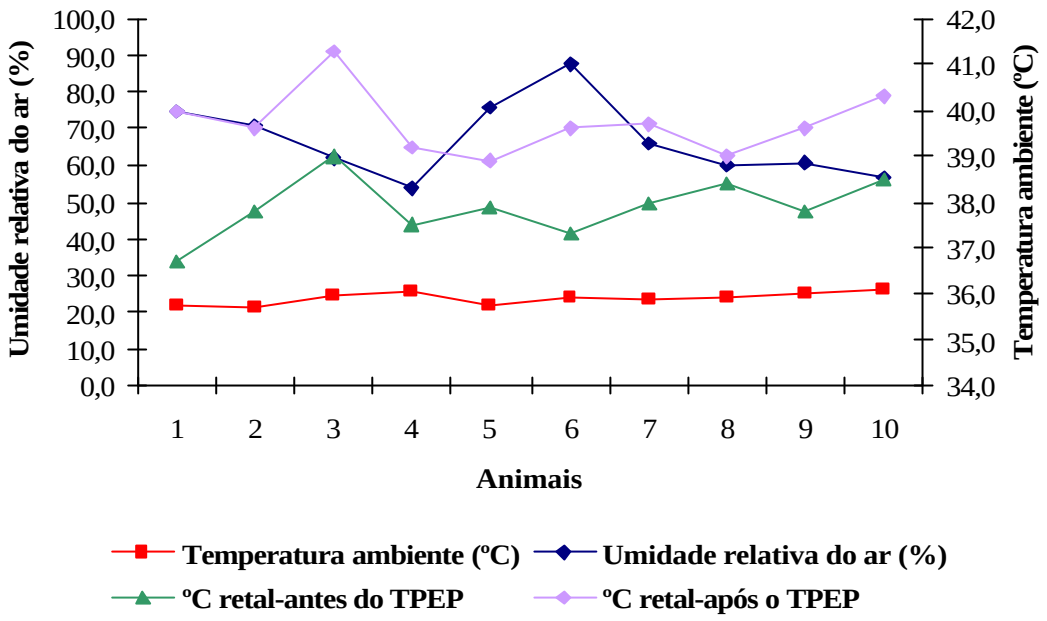



**Gráfico 12.** Médias da temperatura retal (ºC), temperatura ambiente (ºC) e umidade relativa do ar (%) no Laboratório do Centro de Medicina Esportiva Eqüina, mensuradas antes e após o Teste Padrão de Exercício Progressivo de 10 eqüinos da raça Árabe

## 6. CONCLUSÕES

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

- O exercício progressivo induziu o estresse oxidativo e lipoperoxidação em eqüinos da raça Árabe por meio da produção de malondialdeído sérico após 30 minutos.

- Apesar da detecção de níveis basais de vitamina E, sugere-se que esta e/ou outras substâncias antioxidantes naturais foram eficientes na proteção das membranas celulares evitando a propagação da lipoperoxidação.

- O exercício promoveu alterações no hemograma, distribuição do diâmetro dos eritrócitos, plaquetas e proteína plasmática total por efeito da contração esplênica e/ou por hemoconcentração.

- No leucograma observou-se aumentos fisiológicos dos leucócitos totais, neutrófilos segmentados e linfócitos, sugerindo ação do cortisol sob estes parâmetros.

- O exercício progressivo e o estresse oxidativo foram os possíveis responsáveis por promoverem alterações na membrana das células musculares aumentando os valores séricos das enzimas creatinoquinase, aspartato aminotransferase e lactato desidrogenase.

- O exercício progressivo promoveu acidose metabólica e hipóxia transitória nos eqüinos com a redução do pH, pressão parcial de $O_2$, pressão parcial de $CO_2$, saturação de hemoglobina por $O_2$, concentração total de $CO_2$, íon bicarbonato e excesso de base.

- O exercício progressivo promoveu aumentos fisiológicos do sódio e do cloro e uma hipercalemia transitória.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS[1]

ABUJA, P.M.; ALBERTINI, R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam, v.306, p.1-17, 2001.

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.

ALLEN, B.V.; KANE, C.E.; POWELL, D.G. Leucocyte counts in the healthy English Thoroughbred in training. **Equine Vet. J.**, London, v.16, n.3, p.207-209, 1984.

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.

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.

ART, T.; LEKEUX, P. Exercise-induced physiological adjustments to stressful conditions in sports horses. **Livest. Prod. Sci.**, Amsterdam, v.92, n.2, p.101-111, 2005.

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.

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.

BAYLY, W.M.; REDMAN, M.J.; SIDES, R.H. Effect of breathing frequency and airflow on pulmonary function in high-intensity equine exercise. **Equine Vet. J.**, London, v.30, suppl., p.19-23, 1999.

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.

[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.

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.; WILHELMSEN, 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.

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

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.; IBRAHIM, W.; WEI, Z.; CHAN, A.C. Vitamin E regulates mitochondrial hydrogen peroxide generation. **Free Radic. Biol. Med.**, Oxford, v.27, n.5/6, p.580-587, 1999.

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

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

COUROUCÉ, A.; CHATARD, J.C.; AUVINET, B. Estimation of performance potential of Standardbred trotters from blood lactate concentrations measured in field conditions. **Equine Vet. J.**, London, v.29, n.5, p.365-369, 1997.

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.

CRAIG, A.M.; BLYTHE, L.L.; ROWE, K.E.; LASSEN, E.D.; BARRINGTON, R.; WALKER, L.L. Variability of $\alpha$-tocopherol values associated with procurement, storage and freezing of equine serum and plasma samples. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v.53, n.12, p.2228-2234, 1992.

CRAIG, A.M.; BLYTHE, L.L.; ROWE, K.E.; LASSEN, E.D.; WALKER, L.L. Evaluation of the oral vitamin E absorption test in horses. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v.52, n.6, p.912-916, 1991.

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

DESMECHT, D.; LINDEN, A.; AMORY, H.; ART, T.; LEKEUX, P. Relationship of plasma lactate production to cortisol release following completion of different types of sporting events in horses. **Vet. Res. Commun.**, Amsterdam, v.20, p.371-379, 1996.

DRAPER, H.H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods Enzymol.**, New York, v.186, p.421-431, 1990.

DRAPER, H.H; SQUIRES, E.J.; MAHMOODI, H.; WU, J.; AGARWAL, S.; HADLEY, M. A comparative evaluation on thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. **Free Radic. Biol. Med.**, Oxford, v.15, p.353-363, 1993.

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

EVANS, D.L.; RAINGER, J.E.; HODGSON, D.R.; EATON, M.D.; ROSE, R.J. The effects of intensity and duration of training on blood lactate concentrations during and after exercise. **Equine Vet. J.**, London, v.18, supl., p.422-425, 1995.

FARRELL, P.A.; GARTHWAITE, T.L.; GUSTAFSON, A.B. Plasma adrenocorticotropin and cortisol responses to submaximal and exhaustive exercise. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v.55, p.1441-1444, 1983.

FERNANDES, W.R. **Alterações dos parâmetros do eletrocardiograma e da crase sanguínea em eqüinos das raças Árabe e Mangalarga, bem como de mestiços, submetidos à prova de enduro**. 1994. 73p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Med. Brasil**, São Paulo, v.43, n.1, p.61-68, 1997.

GATÉ, L.; PAUL, J.; NGUYEN BA, G. ; TEW, K.D. ; TAPIERO, H. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. **Biomed. Pharmacother.**, Paris, v.52, p.169-180, 1999.

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.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. 3.ed. New York: Oxford University Press. 2000. 936 p.

HANZAWA, K.; KUBO, K.; KAI, M.; HIRAGA, A.; WATANABE, S. Effects of exercise on erythrocytes in normal and splenectomised Thoroughbred horses. **Equine Vet. J.**, London, v.18, suppl., p.439-442, 1995.

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.

HARTMANN, A.; NIEB, A.M.; GRÜNERT-FUCHS, M.; POCH, B.; SPEIT, G. Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.346, p.195-202, 1995.

HARTMANN, A.; PFUHLER, S.; DENNOG, C.; GERMANDIK, D.; PILGER, A.; SPEIT, G. Exercise-induced DNA effects in human leukocytes are not accompanied by increased formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine or induction of micronuclei. **Free Radic. Biol. Med.**, Oxford, v.24, n.2, p.245-251, 1998.

HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. **The athletic horse:** principles and practice of equine sports medicine. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. 497 p.

IRVINE, C.H.G.; ALEXANDRE, S.L. Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. **Domest. Anim. Endocrinol.,** Stoneham, v.11, n.2, p.227-238, 1994.

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

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

JENSEN-WAERN, M.; LINDBERG, A.; JOHANNISSON, A.; GRÖNDAHL, G.; LINDGREN, J.A.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B. The effects of an endurance ride on metabolism and neutrophil function. **Equine Vet. J.**, London, v.30, supl., p.605-609, 1999.

JENTZSCH, A.M.; BACHMANN, H.; FÜRST, P.; BIESALSKI, H.K. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Radic. Biol. Med.**, Oxford, v.20, n.2, p.251-256, 1996.

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

JONES, J.H.; TAYLOR, C.R.; LINDHOLM, A.; STRAUB, R.; LONGWORTH, K.E.; KARAS, R.H. Blood gas measurements during exercise: errors due to temperature correction. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v.67, n.2, p.879-884, 1989.

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.**, Philadelphia, v.9, n.3, 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.

KNOLL, J.S. Clinical automated hematology systems. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm´s veterinary hematology.** 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams, 2000. p.3-11.

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.; FERRANTE, P.L.; TAYLOR, L.E.; CUSTALOW, S.E. Blood hydrogen ion and lactate concentrations during strenuous exercise in the horse. **Equine Vet. J.**, London, v.18, supl., p.266-269, 1995.

KROTKIEWSKI, M.; BRZEZINSKA, Z. Lipid peroxides production after strenuous exercise and in relation to muscle morphology and capillarization. **Muscle Nerve**, New York, v.19, p.1530, 1996.

KUROSAWA, M.; NAGATA, S.; TAKEDA, F.; MIMA, K.; HIRAGA, A.; KAI, M.; TAYA, K. Plasma catecholamine, adrenocorticotropin and cortisol responses to exhaustive incremental treadmill exercise of the Thoroughbred horse. **J. Equine Sci.**, Tokyo, v.9, n.1, p.9-18, 1998.

LEPHERD, E.E. Effect of exercise on platelet size and number in ponies. **Vet. Rec.**, London, v.101, p.488, 1977.

LEWIS, L.D. **Nutrição clínica eqüina:** alimentação e cuidados. São Paulo: Roca, 2000. 710p.

LUMSDEN, J.H. Reference values. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm´s veterinary hematology.** 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams, 2000. p.12-15.

MANDEL, G.L.; RUBIN, W.; HOOK, E.W. The effect of an NADH oxidase inhibitor (hydrocortisone) on polymorphonuclear leukocyte bactericidal activity. **J. Clin. Invest.,** New York, v. 49, p.1381-1388, 1970.

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.

MARC, M.; PARVIZI, N.; ELLENDORFF, F.; KALLWEIT, E.; ELSAESSER, F. Plasma cortisol and ACTH concentrations in the warm blood horse in response to a standardized treadmill exercise test as physiological markers for evaluation of training status. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v.78, p.1936-1946, 2000.

MASTALOUDIS, A.; LEONARD, S.W.; TRABER, M.G. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. **Free Radic. Biol. Med.**, Oxford, v.31, n.7, p.911-922, 2001.

MAXSON-SAGE, A.; PARENTE, E.J.; BEECH, J.; LINDBORG, S.; MAY, L.L. Effect of high-intensity exercise on arterial blood gas tensions and upper airway and cardiac function in clinically normal Quarter horses and horses heterozygous and homozygous for hyperkalemic periodic paralysis**. Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v.59, n.5, p.615-618, 1998.

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.

McBRIDE, J.M.; KRAEMER, W.J.; TRIPLETT- McBRIDE, T.; SEBASTIANELLE, W. Effect of resistance exercise on free radical production. **Med. Sci. Sports Exerc.**, Madison, v.30, n.1, p.67-72, 1998.

McKEEVER, K.H.; HINCHCLIFF, K.W.; REED, S.M.; ROBERTSON, J.T. Role of decreased plasma volume in hematocrit alterations during incremental treadmill exercise in horses. **Am. J. Physiol.**, Baltimore, v.265, n.2, p.404-408, 1993.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Veterinary laboratory medicine:** interpretation and diagnosis. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1992. 350p.

MOFFARTS, B.; KIRSCHVINK, N.; ART, T.; PINCEMAIL, J.; LEKEUX, P. Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidant status in trained thoroughbred horses. **Vet. J.**, London, v.169, p.65-74, 2005.

MUÑOZ, A.; CASTEJÓN, F.M.; RUBIO, M.D.; VIVO, R.; AGUERA, E.I.; ESCRIBANO, B.M.; SANTISTEBAN, R. How erythrocyte and plasma lactate concentration are related in andalusian horses during an exercise test and recuperation. **J. Equine Sci.**, Tokyo, v.7, n.2, p.35-42, 1996.

MUÑOZ, A.; RIBER, C.; SANTISTEBAN, R.; LUCAS, R.G.; CASTEJÓN, F.M Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabian breeds, **Equine Vet. J.,** London, v.34, suppl., p.245-251, 2002.

NESSE, L.L.; JOHANSEN, G.I.; BLOM, A.K. Effects of racing on lymphocyte proliferation in horses. **Am. J. Vet. Res.,** Schaumburg, v.63, p.528-530, 2002.

NIESS, A.; HARTMAN, A.; GRUNERT-FUCHS, M.; POCH, B.; SPEIT,G. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. **Int. J. Sports Med.**, Stuttgart, v.17, n.6, p.397-403, 1996.

OHMURA, H.; HIRAGA, A.; MATSUI, A.; AINDA, H.; INOUE, Y.; SAKAMOTO, K.; TOMITA, M.; ASAI, Y. Changes in running velocity at heart rate 200 beats/min ($V_{200}$) in young Thoroughbred horses undergoing conventional endurance training. **Equine Vet. J.**, London, v.34, n.6, p.634-635, 2002.

PEIXOTO, A.P.C. **Eritrograma, metabolismo oxidativo, fragilidade osmótica de eritrócitos e níveis séricos de vitamina E, de bovinos da raça holandesa (*Bos* taurus *taurus*) do nascimento até um ano de idade, tratados e não tratados com acetato de dl - alfa tocoferol.** 2000. 117p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

PERCÁRIO, S.; ROMALDINI, H.; ODORIZZI, V.F. Papel dos radicais livres e da defesa antioxidante no broncoespasmo agudo induzido em cobaias. **Laes/Haes**, São Paulo, n.133, p.126-156, 2001.

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.

PICCIONE, G.; ASSENZA, A.; FAZIO, F.; GIUDICE, E.; CAOLA, G. Different periodicities of some hematological parameters exercise-loaded athletic horses and sedentary horses. **J. Equine Sci.**, Tokyo, v.12, n.1, p.17-23, 2001.

PRINCE, A.; GEOR, R.; HARRIS, P.; HOEKSTRA, K.; GARDNER, S.; HUDSON, C.; PAGAN, J. Comparison of the metabolic responses of trained Arabians and Thoroughbreds during high-and low-intensity exercise. **Equine Vet. J.**, London, v.34, suppl., p.95-99, 2002.

PYNE, D.B. Regulation of neutrophil function during exercise. **Sports Med.**, Auckland, v.17, n.4, p.245-258, 1994.

RAIDAL, S.L.; LOVE, D.N.; BAILEY, G.D.; ROSE, R.J. Effects of single bouts of moderate and high intensity exercise and training on equine peripheral blood neutrophil function. **Res. Vet. Sci.**, London, v.68, p.141-146, 2000.

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.

SEEHERMAN, 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. Antioxidants in exercise nutrition. **Sports Med.**, Auckland, v.31, n.13, p.891-908, 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.

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.

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

TAKANAMI, Y.; IWANE, H.; KAWAI, Y.; SHIMOMITSU, T. Vitamin E supplementation and endurance exercise: Are there benefits?. **Sports Med.**, Auckland, v.29, n.2, p.73-83, 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.

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

TOLEDO, P.S.; DOMINGUES JÚNIOR, M.; FERNANDES, W.R.; MAGONE, M. Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatina quinase, gama-glutamiltransferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça P.S.I. submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Rev. Bras. Cienc. Vet.**, Niteroi, v.8, n.2, p.73-77, 2001.

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

TSAI, K.; HSU, T.G.; HSU, K.M.; CHENG, H.; LIU, T.Y.; HSU, C.F.; KONG, C.W. Oxidative DNA damage in human peripheral leukocytes induced by massive aerobic exercise. **Free Radic. Biol. Med.**, Oxford, v.31, n.11, p.1465-1472, 2001.

VALBERG, S.; JONSSON, L.; LINDHOLM, A.; HOLMGREN, N. Muscle histopathology and plasma aspatate aminotransferase, creatine kinase and myoglobin changes with exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. **Equine Vet. J.**, London, v.25, n.1, p.11-16, 1993.

WAGNER, P.D.; GILLESPIE, J.R.; LANDGREN, G.L.; FEDDE, M.R.; JONES, B.W.; DeBOWES, R.M.; PIESCHL, R.L.; ERICKSON, H.H. Mechanism of exercise-induced hypoxemia in horses. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v.66, n.3, p.1227-1233, 1989.

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.

WILLIAMS, R.J.; MARLIN, D.J.; SMITH, N.; HARRIS, R.C.; HARESIGN, W.; MOREL, M.C.D. Effects of cool and hot humid environmental conditions on neuroendocrine responses of horses to treadmill exercise. **Vet. J.**, London, v.164, p.54-63, 2002.

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

WONG, S.H.Y.; KNIGHT, J.A.; HOPFER, S.M.; ZAHARIA, O.; JR LEACH, C.N.; JR SUNDERMAN, F.W. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondiadehyde-thiobarbituric acid adduct. **Clin. Chem.**, Washington, v.33, n.2, p.214-220, 1987.