

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESPOSTAS ENDÓCRINAS, METABÓLICAS, CARDÍACAS
E HEMATOLÓGICAS DE EQÜINOS SUBMETIDOS AO
EXERCÍCIO INTENSO E À ADMINISTRAÇÃO DE CAFEÍNA,
AMINOFILINA E CLEMBUTEROL**

**Guilherme de Camargo Ferraz
Médico Veterinário**

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
DEZEMBRO DE 2006**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESPOSTAS ENDÓCRINAS, METABÓLICAS, CARDÍACAS
E HEMATOLÓGICAS DE EQÜINOS SUBMETIDOS AO
EXERCÍCIO INTENSO E À ADMINISTRAÇÃO DE CAFEÍNA,
AMINOFILINA E CLEMBUTEROL**

Guilherme de Camargo Ferraz

Orientador: Antonio de Queiroz Neto

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

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
DEZEMBRO DE 2006**

Ferraz, Guilherme de Camargo
F381r Respostas endócrinas, metabólicas, cardíacas e hematológicas de eqüinos submetidos ao exercício intenso e à administração de cafeína, aminofilina e clenbuterol / Guilherme de Camargo Ferraz. -- Jaboticabal, 2006
viii, 111 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006

Orientador: Antonio de Queiroz Neto

Banca examinadora: José de Correa Lacerda Neto, Wilson Roberto Fernandes, Flavio Desessards de La Corte

Bibliografia

1. Eqüinos. 2. Fisiologia do Exercício. 3. Farmacologia. 4. Cafeína. 5. Aminofilina 6. Clenbuterol. 7. Limiar-Lactato I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:612.766.1:636.1

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Guilherme de Camargo Ferraz – Nascido na cidade de Campinas – SP, 26 de julho de 1973, portador do RG 24716968-7 SSP/SP. Médico Veterinário graduado pela Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias do Campus de Jaboticabal, com início em março de 1994 e término em Janeiro de 1999. Durante a graduação, no período de 1996 a 1998, realizou iniciação científica, orientado pela Prof. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati. Concluiu o Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária junto ao Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”- FCAV/UNESP, área de Clínica Médica de Grandes Animais, sob orientação do Prof. Dr. José Jurandir Fagliari. Em 21 de fevereiro de 2003 obteve título de mestre sob a orientação do Prof. Antonio de Queiroz Neto com a dissertação intitulada “Avaliação da suplementação crônica com creatina sobre o desempenho atlético de eqüinos”. Subseqüentemente, em março de 2003 ingressou no programa de pós-graduação FCAV/UNESP, nível doutorado, em Medicina Veterinária, área de concentração em Clínica Médica Veterinária. Atualmente, é docente da FMU - Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, sendo responsável pelas disciplinas de Farmacologia Veterinária e Toxicologia Veterinária e Plantas Tóxicas.

Aos meus pais, Geraldo e Dolores
pelo auxílio para trilhar os caminhos da vida e
amor recebidos.

Aos meus irmãos, Mariana, Thiago e Pedro
todos mosqueteiros, muita paz e amor.

À minha companheira Maria Luiza,
pelo apoio imprescindível e incondicional.

Carinho cotidiano.

Te amo.

Trago amor e esperança
Nesta odisséia triunfal
Voa Gavião, faz a festa pro povão!
“Salve o Corinthians
o campeão dos campeões”

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – UNESP**, principalmente ao Hospital Veterinário, o Departamento de Morfologia Animal e a Eqüinocultura, por fornecer os eqüinos e os equipamentos utilizados para execução do experimento.

Ao meu orientador e amigo Professor Doutor **Antonio de Queiroz Neto**, pela coordenação, confiança e ensinamentos, profissionais e pessoais.

Ao Professor Doutor José de Correa Lacerda Neto, pelas inúmeras idéias, discussões e empréstimo dos eqüinos utilizados neste projeto.

Ao cavalo, espécie animal sublime.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo financiamento deste projeto de pesquisa.

A todos os professores da FCAV, muito obrigado.

Ao amigo, Antônio Raphael Teixeira Neto, pela inestimável ajuda com o lactato e o incentivo marcante para a realização desta pesquisa.

À amiga Flora D'Angelis, pelas dificuldades encontradas neste experimento, aliás todas vencidas.

Aos colegas do Departamento Fabiana Christovão, Eduardo, Luana, Carla Braga, Andrey Caribe Colômbia, Gustavo Milhomens. Sem vocês, nada disso seria possível.

Ao colega Guilherme Zamur pela ajuda computacional e estatística, bem como pela indicação para a Farmacologia.

Aos colegas, técnicos de laboratórios, Damaris, Isabel Mataqueiro e Vando, importantíssimos para a execução de qualquer projeto de pesquisa.

Aos amigos, Ricardo Miyassaka, Andréia Aita, Zé Carioca, Renata, Adriana, pela imensa contribuição durante as colheitas.

Aos colegas do Setor de Eqüinocultura, Samira, Deco, Alex, Rita e Lúri pelo auxílio no manejo dos cavalos.

Aos amigos Nara Benato, Jair Engracia, Gustavo Sabatini, Leslie Scarpelli, João Carlos Cioffi, Rodrigo Stanley Bazolli, Carlinhos, muito obrigado pelo acompanhamento e torcida à distância.

Ao Prof. Dr. Gener, docente do Departamento de Ciências Exatas da FCAV, pela orientação na compilação e análise estatística dos dados.

Ao Vitão e a Maria muito obrigado pelo apoio e pela compreensão.

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
SUMMARY.....	2
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	3
CAPÍTULO 2 – RESPOSTAS AO EXERCÍCIO DE INTENSIDADE CRESCENTE EM EQUINOS: ALTERAÇÕES NA HEMATOLOGIA, METABOLISMO, CORTISOL, INSULINA E FREQUÊNCIA CARDÍACA.	
Resumo.....	11
1. Introdução.....	12
2. Material e Métodos.....	14
3. Resultados.....	18
4. Discussão.....	27
5. Conclusões.....	30
6. Referências.....	31
CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE CAFEÍNA SOBRE O DESEMPENHO ATLÉTICO DE EQUINOS.	
Resumo.....	35
1. Introdução.....	36
2. Material e Métodos.....	38
3. Resultados.....	43
4. Discussão.....	53
5. Conclusões.....	57
6. Referências.....	59
CAPÍTULO 4 – AMINOFILINA PODE PREJUDICAR O CONTROLE DA GLICEMIA, MAS MELHORA A CAPACIDADE ANAERÓBICA DE EQUINOS NO EXERCÍCIO INTENSO.	
Resumo.....	63
1. Introdução.....	64
2. Material e Métodos.....	66
3. Resultados.....	71
4. Discussão.....	76
5. Conclusões.....	78
6. Referências.....	79
CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE CLEMBUTEROL SOBRE O DESEMPENHO ATLÉTICO DE EQUINOS.	
Resumo.....	82
1. Introdução.....	83
2. Material e Métodos.....	84
3. Resultados.....	89
4. Discussão.....	94
5. Conclusões.....	96
6. Referências.....	97

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2- RESPOSTAS AO EXERCÍCIO DE INTENSIDADE CRESCENTE EM EQÜINOS: ALTERAÇÕES TRANSITÓRIAS NA HEMATOLOGIA, METABOLISMO, CORTISOL, INSULINA E FREQUÊNCIA CARDÍACA.

Figura 1. Mudanças na hematologia associadas com o exercício de intensidade crescente em esteira rolante em 24 cavalos da raça Puro Sangue Árabe.....20

Figura 2. Insulinemia e glicemia de eqüinos submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey.....23

Figura 3. Mudanças na frequência cardíaca (A) e na lactacidemia (B) de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA) submetidos à exercício de intensidade crescente em esteira rolante. Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).....26

CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE CAFEÍNA SOBRE O DESEMPENHO ATLÉTICO DE EQUINOS.

Figura 1. Representação esquemática da molécula de cafeína.....36

Figura 2. Representação gráfica das alterações na frequência cardíaca (A) e lactacidemia (B) de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa ou não de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. * Aumento estatístico de CAF (cafeína) em relação a C (controle) pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).....46

Figura 3. Resposta do hematócrito de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa ou não de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. * Aumento estatístico de CAF (cafeína) em relação a C (controle) pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).....47

Figura 4. Resposta da insulinemia de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa ou não de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. * Redução estatística de CAF (cafeína) em relação a C (controle) pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).....48

Figura 5. Resposta da glicemia de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa ou não de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. * Aumento estatístico de CAF (cafeína) em relação a C (controle) pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).....50

Figura 6. Resposta da concentração plasmática de cortisol de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa ou não, de $5,0 \text{ mg/kg}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. * Redução estatística de CAF (cafeína) em relação a C (controle) pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).....51

CAPÍTULO 4 – AMINOFILINA PREJUDICA O CONTROLE DA GLICEMIA, MAS MELHORA A CAPACIDADE ANAERÓBICA DE EQUINOS NO EXERCÍCIO INTENSO.

Figura 1. Representação gráfica referente as mudanças na V_4 e V_2 relacionadas com a administração aguda de 10 mg.kg^{-1} de aminofilina, pela via intravenosa, em eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante. $N=12$ para C (controle) e AM (aminofilina). * Indica redução estatística ($p \leq 0,05$) na V_4 e V_2 para o grupo AM.....73

Figura 2. Representação gráfica referente aos valores de insulínia (A) e glicemia (B) de eqüinos durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante e submetidos à administração intravenosa de 10 mg.kg^{-1} de aminofilina (AM) ou solução fisiológica 0,9% (C). * Indica diferença estatística entre AM e C.....75

CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE CLEMBUTEROL SOBRE O DESEMPENHO ATLÉTICO DE EQUINOS.

Figura 1. Representação gráfica referente às mudanças na V_4 e V_2 relacionadas com a administração aguda de $0,8 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ de cloridrato de clenbuterol, pela via intravenosa, em eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante. $n=12$ para C (controle) e CL (clenbuterol).....90

Figura 2. Representação gráfica referente as mudanças na V_{140} , V_{160} , V_{180} e V_{200} (velocidades nas quais as freqüências cardíacas são de 140, 160, 180 e 200 bpm, respectivamente) relacionadas com a administração aguda de $0,8 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ de cloridrato de clenbuterol, pela via intravenosa, em eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante.

N=12 para C (controle) e CL (clenbuterol). * Indica redução estatística ($p \leq 0,05$) na V_{140} , V_{160} , V_{180} e V_{200} para o grupo CL.....91

Figura 3. Representação gráfica referente aos valores de glicemia (A) e insulinemia (B) de eqüinos durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante e submetidos à administração intravenosa de $0,8 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de cloridrato de clenbuterol (CL) ou solução fisiológica 0,9% (C). * Indica diferença estatística entre CL e C.....93

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2- RESPOSTAS AO EXERCÍCIO DE INTENSIDADE CRESCENTE EM EQUINOS: ALTERAÇÕES TRANSITÓRIAS NA HEMATOLOGIA, METABOLISMO, CORTISOL, INSULINA E FREQUÊNCIA CARDÍACA.

Tabela 1. Mudanças (Média \pm E.P.M.) em variáveis fisiológicas de equinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos à exercício com intensidade crescente em esteira rolante.....19

Tabela 2. Mudanças (Média \pm E.P.M.) nas concentrações plasmáticas de glicose, insulina de equinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos à exercício com intensidade crescente em esteira rolante.....22

Tabela 3. Efeitos (Médias \pm EPM) sobre a frequência cardíaca e a concentração de lactato sangüíneo de cavalos da raça Puro Sangue Árabe (PSA) submetidos a exercício físico de intensidade crescente em esteira rolante.....25

CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE CAFEÍNA SOBRE O DESEMPENHO ATLÉTICO DE EQUINOS.

Tabela 1. Efeitos da administração intravenosa de cafeína sobre índices de desempenho atlético de equinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), associados com o exercício de intensidade crescente em esteira rolante.....45

Tabela 2. Efeitos (Médias \pm EPM) causados pela administração intravenosa de cafeína sobre variáveis bioquímicas de cavalos submetidos a exercício físico de intensidade crescente.....52

CAPÍTULO 4 – AMINOFILINA PREJUDICA O CONTROLE DA GLICEMIA, MAS MELHORA A CAPACIDADE ANAERÓBICA DE EQUINOS NO EXERCÍCIO INTENSO.

Tabela 1. Efeitos (Médias \pm EPM) causados pela administração intravenosa de aminofilina sobre a glicemia, insulinemia, lactacidemia e frequência cardíaca de equinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos a exercício físico de intensidade crescente.....74

RESPOSTAS ENDÓCRINAS, METABÓLICAS, CARDÍACAS E HEMATOLÓGICAS DE EQUINOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO INTENSO E À ADMINISTRAÇÃO DE CAFEÍNA, AMINOFILINA E CLEMBUTEROL

RESUMO

Métodos costumeiramente empregados no estudo da fisiologia do exercício podem ser utilizados para avaliar os efeitos de substâncias lícitas (ergogênicos) ou ilícitas (doping) sobre a capacidade atlética. Estudaram-se algumas respostas endócrinas, metabólicas, cardíacas e hematológicas de equinos, treinados, da raça Puro Sangue Árabe (PSA) submetidos ao exercício intenso e à administração isolada de cafeína (CAF), aminofilina (AM) ou clenbuterol (CL), 30 minutos antes do esforço físico, nas doses de 5 mg.kg^{-1} , 10 mg.kg^{-1} e $0,8 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ de peso corpóreo, respectivamente. Para avaliação dos efeitos do exercício e fármacos empregou-se exercícios testes em esteira rolante, utilizando-se inclinação de 10% com incrementos de velocidade, sendo realizadas colheitas de sangue 15 segundos antes do término de cada etapa. Nas amostras de sangue foram quantificados hematócrito, contagem de hemácias, hemoglobina e leucócitos totais, além da glicemia, lactacidemia, insulinemia, cortisolemia. Também avaliou-se a frequência cardíaca. Para todas análises estatísticas realizadas, estabeleceu-se como nível de significância $p \leq 0,05$. Os resultados mostram que a CAF elevou significativamente a lactacidemia, glicemia e o hematócrito, mas reduziu a insulinemia e a cortisolemia. Para AM houve elevação significativa da glicemia no início do exercício e redução nas etapas de exercício máximo, sendo também observado aumento da lactacidemia. O CL provocou elevação significativa da frequência cardíaca e insulinemia. A cafeína prejudicou a capacidade aeróbica, mas aumentou metabolismo anaeróbico. Já a aminofilina parece interferir na homeostase da glicemia durante o exercício intenso, mas melhorou a via glicolítica anaeróbica. Finalmente, o clenbuterol não melhorou a capacidade aeróbica e, marcadamente, prejudicou a resposta cardíaca, bem como aumentou a insulinemia.

Palavras-chave: equinos, exercício, desempenho atlético, cafeína, aminofilina, clenbuterol.

METABOLIC, ENDOCRINE AND HEMATOLOGIC RESPONSES OF HORSES SUBMITTED TO INTENSE EXERCISE AND CAFFEINE, AMINOPHYLLINE AND CLENBUTEROL AFTER ADMINISTRATION

SUMMARY

Currently, equine exercise physiology is in a considerable development in Brazil. The use of scientific methods for the evaluation of the exercise and training protocols is fundamental for the maximization of equine performance. It also can be applied to evaluate the effects of legal (ergogenics) and/or illegal substances during competitions on athletic horses. Some metabolic, endocrine, cardiac and hematologic responses of trained Arab horses submitted to intense exercise and to the administration of caffeine, aminophylline and clenbuterol, a single dose given at 30 minutes before the effort. Doses were, respectively, 5 mg.kg⁻¹, 10 mg.kg⁻¹ and 0,8 µg.kg⁻¹. A treadmill was employed for the evaluation of exercise and drug effects, with 10% slope and speed increments. Blood samples were withdrawn 15 seconds before the end of each exercise bout. Hematocrit, erythrocytes and leucocytes count, hemoglobin, glucose, lactate, insulin and cortisol concentration, were determined. Heart rate was also monitored at the same time points. A minimum criterion of $P \leq 0,05$ was adopted for statistical significance. Our results revealed significant variations in all physiologic parameters studied. Caffeine impaired the aerobic capacity but improved the aerobic potency. Aminophylline interfered in glycemic curve during intense exercise, but improved anaerobic performance. Finally, clenbuterol did not improve the parameters association with aerobic metabolism, but, markedly, impaired cardiac response, and increased insulin concentration compromising glycemic control during intense exercise.

Key- words: horses, exercise, performance, caffeine, aminophylline, clenbuterol.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

A fisiologia do exercício começou a ser estudada na década de 1920, com a espécie humana. Posteriormente, em 1960, com a utilização de esteiras rolantes de alto desempenho para o estudo das respostas cardiovasculares de cavalos atletas, realizado pelo professor sueco Sune Persson, a ciência do exercício físico de eqüinos se incorporou à atividade econômica desta espécie. Atualmente é ferramenta imprescindível no monitoramento e avaliação de atletas da espécie eqüina (EVANS, 2000).

No Brasil, observa-se que o desenvolvimento de estudos sobre fisiologia do exercício na espécie eqüina está ainda no início. A utilização de esteira ocorre somente em centros avançados de pesquisa, que estão fornecendo os primeiros resultados para o complexo agronegócio cavalo, sendo que esta atividade profissionaliza-se a cada ano. Exemplificando, os hipódromos nacionais tornaram-se vitrine para o mercado externo e crescem anualmente as exportações do cavalo de corrida (VILELLA, 2006).

As respostas metabólicas e musculares esqueléticas, frente à prática de esforço físico, sob condições laboratoriais controladas, obtidas por meio do emprego sistemático de esteira rolante, podem ser utilizadas para diversos estudos relacionados ao desempenho esportivo dos cavalos.

Dentre as subdivisões da fisiologia do exercício, destaca-se a parte que avalia o desempenho atlético por meio da determinação da dinâmica de variáveis fisiológicas, como frequência cardíaca (FC), limiar de lactato, hematologia e as respostas endócrinas.

O exercício físico é o estímulo estressante mais fisiológico que existe, pois submete o organismo à grandes alterações nos parâmetros destas variáveis. Neste contexto, elevações no hematócrito que podem indicar condições mórbidas, relacionadas com hemoconcentração, decorrente de processos fisiopatogênicos que, na maioria das vezes, são revertidos somente por meio de intervenções terapêuticas podem, por outro lado, ocorrer durante a prática de exercício físico. O esforço induz a liberação de catecolaminas que, ao promoverem a contração esplênica com liberação

de hemácias para a circulação sanguínea, proporcionam melhor perfusão tecidual, principalmente para o sistema nervoso central (SNC) e musculatura esquelética (INOUE, 2005). Neste caso, ao término do esforço físico ocorre recuperação e esta variável retorna ao seu valor de repouso, sem que a variação represente enfermidade.

Tanto atletas da espécie humana (FOSS e KETEVIAN, 2000) como da eqüina (EVANS, 2000) sofrem alterações físicas, neurológicas, metabólicas, cardiovasculares, endócrinas e psíquicas, relacionadas com o tipo de esforço, submáximo prolongado ou máximo de curta duração. Desta maneira, respeitando-se a individualidade inerente aos diferentes organismos, cada atleta responde ao exercício de maneira diferenciada sendo que esse comportamento pode ser avaliado.

A Fisiologia do Exercício é fundamento essencial para avaliação de programas de treinamento que contribuem para adaptação de atletas da espécie eqüina aos fatores estressantes presentes numa atividade esportiva. Adicionalmente, existe a busca do melhor desempenho atlético por meio da utilização de suplementos nutricionais lícitos objetivando-se a produção de um efeito ergogênico efetivo, ou seja, o aumento da capacidade de realização de trabalho físico. Exemplificando, um estudo (FERRAZ et al., 2006) realizado no laboratório de Fisiologia do Exercício Eqüina, do Departamento de Fisiologia e Morfologia Animal, situado no campus da Unesp de Jaboticabal, verificou o efeito ergogênico proveniente da suplementação oral e prolongada com 75g de creatina monohidratada. Esta fornece uma molécula de fosfato para a formação de adenosina trifosfato, o ATP, substrato energético fundamental para a contração muscular esquelética.

Outra maneira de aumentar a capacidade atlética é por meio do emprego de práticas ilícitas, mediante a administração de substâncias que melhoram artificialmente o desempenho, caracterizado como doping. Assim, a avaliação do desempenho atlético de eqüinos submetidos à administração de substâncias ilegais, torna-se necessária. O cotidiano das atividades esportivas eqüestres mostra a utilização destes agentes com o objetivo de se obter êxito nas competições de elite que estão fortemente relacionadas com aspectos comerciais, sendo o sucesso atlético não somente associado ao prestígio, mas também a uma considerável compensação financeira (KUIPERS, 2001).

Segundo KUIPERS (2001), organizações esportivas internacionais possuem um forte posicionamento contra o doping, juntamente com a comunidade científica que se posiciona contra a utilização de substâncias ilegais. Para a proteção do bom atleta e para obtenção de bases científicas sólidas que visam banir o emprego de procedimentos ilegais nas diversas competições esportivas, estudos devem ser conduzidos para determinação dos possíveis efeitos sobre o desempenho atlético e seus riscos à saúde.

Existem algumas diferenças fundamentais entre o doping na espécie humana e de animais. Uma dessas diferenças relaciona-se à ausência do livre arbítrio por parte dos animais. Estes, obviamente, não participam da decisão sobre quais fármacos serão administrados, e nem das conseqüências de sua administração. Frequentemente, chegam informações de atletas da espécie humana que receberam tratamento medicamentoso nos intervalos de partidas. Espera-se que a opção por esse procedimento tenha ocorrido após avaliação, por parte do atleta e da equipe médica, sobre os “prós” e “contras”. No caso de eqüinos, como essa avaliação por parte do atleta é impossível de ocorrer, talvez este dado torne-se um motivo para que as regras antidopagem sejam mais rigorosas nesta espécie diferentemente da espécie humana.

Outra questão importante refere-se, ainda, à postura ética envolvidas na terapia medicamentosa de cavalos em treinamento. Se por um lado as atuais normas têm contribuído para a seriedade e lisura das competições, por outro lado, sua rigidez e inflexibilidade podem estar influenciando a não adoção da terapia adequada por receio de um resultado positivo no exame antidopagem. Como exemplo, tem-se a não prescrição de penicilina procaína devido ao temor da detecção do anestésico local no material colhido tendo em vista que este fármaco pode ser detectado pelo exame antidopagem até noventa dias após a sua utilização (TOBIN, 1981).

Finalmente, é oportuno chamar a atenção para substâncias que podem causar os chamados “positivos acidentais”, particularmente aquelas consideradas normais na dieta ou contaminantes ambientais. Nesse grupo enquadram-se o arsênico, a teobromina e a cafeína (TOBIM, 1981).

Pesquisas científicas que enfocam o tema doping devem ser realizadas com o objetivo de mostrar que fármacos regularmente utilizados na clínica ou abundantes no ambiente, possam se tornar, em algumas situações, agentes que provocam alterações artificiais no desempenho atlético. Portanto, as investigações científicas devem ter relação próxima com os tratamentos farmacológicos empregados no cotidiano da clínica.

A responsabilidade da comunidade científica é estender os resultados obtidos aos profissionais que atuam nos esportes eqüestres, bem como aos proprietários, contribuindo, em parte, para a educação e conscientização deste universo que envolve a atividade eqüestre. Esta educação torna-se fundamental devido às concepções equivocadas, principalmente sobre o doping. Na comunidade esportiva eqüestre existem informações insuficientes sobre os efeitos que a utilização ilegal de substâncias provoca no desempenho durante o exercício. De fato, alguns proprietários, treinadores e veterinários não tem consciência que algumas destas substâncias não melhoram a capacidade atlética, como podem vir a trazer prejuízos ao seu desempenho. Mesmo substâncias cujas utilizações terapêuticas sugerem possível efeito ergogênico podem, na realidade, causar efeitos tóxicos à saúde dos atletas e, até mesmo, prejudicar o seu desempenho em uma situação de competição. Não é porque um fármaco apresenta efeito benéfico sobre determinada função fisiológica de um organismo enfermo, ou até mesmo hígido, que seus efeitos sobre um atleta em exercício sejam positivos. Portanto, esta linha de pesquisa faz-se necessária.

Embora exista o consenso de que o atleta deva vencer por seus próprios meios, é muito difícil a definição do que seria uma substância ou procedimento que melhoraria artificialmente o desempenho do atleta. É muito tênue a linha que separa as substâncias aceitas das não aceitas, e não é raro que uma determinada substância ora esteja de um lado dessa linha e ora esteja do outro.

Talvez, uma substância dopante possa ser definida como aquela utilizada para alterar o desempenho e que a curto, médio ou longo prazo, venha a causar mal ao animal, diminuindo a qualidade e/ou duração da sua vida. Este dado aproxima bastante

as definições de “substância dopante” e “agente toxicante” (CASARETT e DOULL’S, 1996).

Muitas sugestões já foram feitas para definir doping, mas todas esbarraram em obstáculos que inviabilizaram sua universalização. Como exemplo de obstáculo salta aos olhos a dificuldade de definição de alguns conceitos acessórios como “nutriente normal” ou “medicação ilegal”. TOBIN (1981), discorrendo sobre essa dificuldade, destaca a definição corrente entre os profissionais do cavalo: “doping é tudo o que as autoridades competentes decidirem ser doping”. De fato, parece que esta opinião vem sendo compartilhada por muitos. Talvez para não ter sua definição adjetivada com palavras tais como: incompleta, falha, prolixa e redundante, dentre outras, a Agência Mundial Antidopagem no seu Código Mundial Antidopagem (WADA, 2003) do qual o Brasil é signatário, define o doping em seu artigo 1: “doping é definido como a ocorrência de violação de uma ou mais das regras antidopagem constantes do artigo 2.1 até o artigo 2.8 deste Código”. Apesar dessa “definição” que não define, a leitura do código mostra que o mesmo foi fundamentado no melhor espírito do esporte, além de harmonizar um programa internacional que visa coordenar as atividades relativas à detecção, inibição e prevenção do doping.

Embora o Código se refira sempre ao “atleta”, fica implícito que o foco é o atleta da espécie humana. O único artigo que faz menção à animais trata-se do artigo 16, intitulado “controle do doping para animais em competições esportivas”. Nesse artigo o Código delega a responsabilidade do estabelecimento e implementação das regras e procedimentos necessários à respectiva Federação Internacional do esporte em questão. No caso dos esportes hípicas, a entidade responsável é a “Federation Equestre Internationale” - FEI, com sede em Lausanne, na Suíça, por meio de seu Regulamento Veterinário (FEI, 2006) sendo que, para o turfe, esta regulamentação é feita pela “Association of Racing Commissioners International – ARCI.

Neste trabalho avaliou-se algumas substâncias, como as metilxantinas que são amplamente estudadas. Tanto na espécie humana (MOTL et al., 2006; TURLEY e GERST, 2006) como na eqüina (SAVAGE et al., 2005; CARREGARO et al., 2004), os estudos da interferência destes fármacos sobre o desempenho atlético estão sendo

intensamente realizados. Dentre as drogas que compõe o grupo das metilxantinas, indubitavelmente, a cafeína é a principal representante, sendo a substância psicoestimulante mais consumida do mundo na forma de alimento ou bebida. O consumo diário de cafeína não é classificado como abuso de drogas pelo DSM-IV – Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder. Recentemente, entretanto, a sensação de euforia produzida pela cafeína, em alguns indivíduos, pode tornar sua utilização crônica e causar dependência, fato que está fazendo a comunidade científica rever este conceito (FREDHOLM et al., 1999).

Outra metilxantina, a aminofilina com destacada ação broncodilatadora, é utilizada illicitamente para aumento do desempenho atlético em cavalos. Escassas informações na literatura sobre este fármaco e sua influência no aumento da capacidade atlética foram decisivas para que a aminofilina integrasse as substâncias estudadas nesta pesquisa. Sabe-se que a infusão intravenosa deste fármaco exerce efeito benéfico sobre a dor idiopática de peito induzida pelo exercício em indivíduos da espécie humana (YESILDAG et al., 1999).

Outro fármaco que vem sendo empregado de maneira ilícita, tanto na espécie humana como na eqüina, é o clenbuterol, que promove ação anabólica quando administrado cronicamente e em doses elevadas. Observa-se sua utilização intensa nas academias de fisiculturismo por indivíduos da espécie humana que fazem uso da automedicação deste fármaco e, imediatamente após, iniciam a prática de exercício. Não obstante, o mesmo emprego se verifica no meio eqüestre. Por ser um broncodilatador (KEARNS et al., 2006) e associado ao seu efeito anabólico (ANIELSKY et al., 2005), o clenbuterol vem sendo empregado ilegalmente na tentativa de melhorar o desempenho atlético de eqüinos.

REFERÊNCIAS (ABNT - NRB-6023, agosto de 2002)

ANIELSKI, P.; THIEME, D.; SCHLUPP, A.; GROSSE, J.; ELLENDORFF, F.; MUELLER R. K. Detection of testosterone, nandrolone and precursors in horse hair. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 383, n. 6, p. 903-908, 2005.

CARREGARO, A. B.; MATAQUEIRO, M. I.; SOARES, O. A. B.; QUEIROZ-NETO A. Study of caffeine in urine and saliva of horses subjected to urinary acidification. **Journal of Applied Toxicology**, v. 24, n. 6, p. 513-518, 2004.

CASARETT, L. e DOULL, J. **Toxicology: The Basic Sciences of Poisons**. Eds: MO. Amdur, J. Doull e C.D. Klaassen. Pergamon Press, 1996, 1033p.

EVANS, D. L. Training and fitness in athletic horses. Sydney: **RIRDC.**, p. 64, 2000.

FEI. Equine Anti-Doping and Medication Control Rules. Fédération Equestre Internationale, ed 1. 2006. Disponível em: http://www.horsesport.org/PDFS/FEI/05_01/EADMCR-2006.pdf. Acesso em 20 ago. 2006.

FOSS, M. J.; KETEVAN, S. J. **Bases fisiológicas do exercício e do esporte**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 560p.

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; D'ANGELIS, F. H. F.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Long-term creatine supplementation improves the aerobic capacity of horses. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 514-519, 2006.

FREDHOLM, B. B.; BÄTTIG, K.; HOLMÉN, J.; NEHLIG, A.; ZVARTAU, E. E. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. **Pharmacological Reviews**, Bethesda, v. 51, n. 1, p. 83-133, 1999.

INOUE, Y.; MATSUI, A.; ASAI, Y.; AOKI, F.; MATSUI, T.; YANO, H. Effect of exercise on iron metabolism in horses. **Biological Trace Element Research**, Totowa, v. 107, n. 1, p. 33-42, 2005.

KEARNS, C.F.; MCKEEVER, K.H.; MALINOWSKI, K. Changes in adiponectin, leptin, and fat mass after clenbuterol treatment in horses. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Indianápolis, v. 38, n. 2, p. 262-267, 2006.

KUIPERS H. Doping in Sport: Exercise scientists have to take responsibility. **International Journal of Sports Medicine**, New York, v. 22, n. 8, p. 545, 2001.

MOTL, R.W.; O' CONNOR, P.J.; TUBANDT, L.; PUETE T. Effect of caffeine on leg muscle pain during cycling exercise among females. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Indianápolis, v. 38, n. 3, p. 598-604, 2006.

SAVAGE, K. A.; COLAHAN, P. T.; TEBBETT, I. R.; RICE, B. L.; FRESHWATER L. L.; JACKSON, C. A. Effects of caffeine on exercise performance of physically fit Thoroughbreds. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 66, n. 4, p. 569-573, 2005.

TOBIN, T. **Drugs and the performance horse**, 1st Springfield: Thomas Books Pub., 1981, 463p.

TURLEY K.R.; GERST J.W. Effects of caffeine on physiological responses to exercise in young boys and girls. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Indianápolis. v. 38, n. 3, p. 520-526, 2006.

VILELLA, J. Cavalo puro-sangue, um hobby bem lucrativo, atrai empresários. **Valor Econômico**, São Paulo, p. B4, 07 ago. 2006.

YESILDAG, O.; YAZICI, M.; YILMAZ O.; UCAR R.; SAGKAN O. The effect of aminophylline infusion on the exercise capacity in patients with syndrome X. **Acta Cardiologica**, Leuven, v. 54, n. 6, p. 335-337, 1999.

WADA. **World Anti-Doping Code World Anti-Doping Agency (WADA)**, Montreal, Canada. 2003, 78p.

CAPÍTULO 2 – RESPOSTAS AO EXERCÍCIO DE INTENSIDADE CRESCENTE EM EQÜINOS: ALTERAÇÕES NA HEMATOLOGIA, METABOLISMO, CORTISOL, INSULINA E FREQUÊNCIA CARDÍACA

RESUMO

Estudaram-se os efeitos do exercício intenso sobre algumas variáveis fisiológicas de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA). Utilizaram-se 24 eqüinos, treinados, que foram submetidos a exercício teste de intensidade crescente em esteira rolante. Para tanto, após aquecimento por 4 minutos a $4,0 \text{ m.s}^{-1}$, a esteira foi inclinada (10%) e a velocidade foi gradativamente aumentada, a intervalos de 1 minuto, para 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10 m.s^{-1} . A partir desta etapa de esforço máximo, procedeu-se a desaceleração, retomando a velocidade para $3,0 \text{ m.s}^{-1}$, por 20 minutos, que correspondeu ao período de desaquecimento ativo. As colheitas de sangue foram realizadas 15 segundos antes do término de cada etapa. Com as amostras de sangue foram avaliados, hematócrito, hemácias, hemoglobina, leucócitos totais, glicemia, lactacidemia, insulinemia e cortisolemia. Para frequência cardíaca utilizaram-se as mesmas etapas do exercício teste. Os resultados mostram que houve variação significativa ($p \leq 0,05$), a partir do repouso, entre os valores médios das variáveis hematimétricas. A glicemia manteve-se estatisticamente constante em todas as etapas na fase de exercício, elevando-se significamente na fase de desaquecimento. Houve diminuição estatística significativa ($p \leq 0,05$) da insulinemia, não havendo variação nas concentrações médias de cortisol plasmático. A frequência cardíaca e o lactato sanguíneo mostraram evidente aumento ($p \leq 0,05$) em relação ao incremento da intensidade de esforço. Concluiu-se que a atividade neural simpática é a maior responsável pelas alterações em variáveis fisiológicas durante o exercício intenso.

Palavras-Chave: Hematologia, cortisol, insulina, lactato, frequência cardíaca, exercício, eqüinos.

INTRODUÇÃO

As exigências básicas para a realização de testes que avaliam o desempenho de atletas da espécie humana ou eqüina são a padronização e a repetitividade. Para que tais quesitos sejam obtidos, faz-se necessária a utilização de uma esteira rolante sob condições laboratoriais como temperatura e umidade relativa do ar (SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN e CLAYTON, 1999). Segundo FOSS e KETAYIAN (2000), esteiras rolantes acionadas por motor consistem de uma superfície para caminhar ou correr, semelhante a uma correia de transporte, onde é possível controlar tanto a velocidade quanto a elevação para corrida ascendente.

Dentre os vários aspectos que envolvem a avaliação do desempenho atlético na espécie eqüina, o estudo da eficiência do metabolismo energético possui papel decisivo para a determinação do potencial de cavalos atletas. Existem várias informações na literatura internacional a respeito do tema (HODGSON e ROSE, 1994; EVANS, 2000; TRILK et al., 2002). Contudo, é reduzido o número de informações científicas obtidas sob condições tropicais, relativos a nutrição, manejo sanitário, temperatura e umidade.

Amostras de sangue são freqüentemente obtidas durante testes para avaliação do desempenho atlético. Variáveis hematológicas como o hematócrito e a concentração de hemoglobina plasmática podem ser utilizadas para avaliação dos efeitos, tanto do exercício como do treinamento (TYLER-MCGOWAN et al., 1999).

A glicose plasmática é principal substrato energético que pode ser utilizado tanto pelo sistema nervoso central (POWERS, 2000) como pela fibra muscular esquelética durante o exercício (COGGAN et al., 1991). Contudo, pode ocorrer hiper ou hipoglicemia dependendo da intensidade e duração do exercício (LINDNER, 1997). A insulina (MALINOWKSKI et al., 2002; GORDON, et al., 2006), o cortisol (GORDON, et al., 2006), a adrenalina e o glucagon (SIMÕES et al., 1999) são hormônios envolvidos diretamente na regulação e no equilíbrio da glicemia durante o exercício.

Outras variáveis fisiológicas, como a freqüência cardíaca (FC) e a concentração de lactato sangüíneo são largamente empregadas para a avaliação dos efeitos do exercício e do desempenho atlético sendo, atualmente, ferramentas necessárias à

maximização de qualquer programa de treinamento, tanto para atletas da espécie humana (SIMÕES et al., 2003; MCMILLAN et al., 2005) como para a equina (TRILK et al., 2002; FERRAZ et al., 2006).

A FC é facilmente aferida durante o exercício e fornece um índice indireto da capacidade e função cardiovasculares (HODGSON e ROSE , 1994), possuindo uma relação linear com o exercício de intensidade crescente. Por outro lado, em exercícios de baixa intensidade, esta relação pode ser influenciada por fatores ambientais que provocam ansiedade e excitação (TRILK et al., 2002).

Como comentado anteriormente, a glicose constitui uma importante fonte de energia para a fibra muscular. O metabolismo anaeróbico de glicose representa um imprescindível e rápido mecanismo de geração de energia, embora seja de baixa produção. Vários fatores regulam a atividade da via glicolítica, como a disponibilidade de oxigênio e as concentrações de ATP/ADP. Diminuições na relação ATP/ADP estimulam a glicólise anaeróbica aumentando em até 100 vezes a produção de moléculas de piruvato. Em exercícios de intensidades baixa ou moderada, a grande maioria do piruvato produzido penetra na mitocôndria e participa do ciclo de Krebs. Similarmente, a beta oxidação será estimulada para fornecer energia por mecanismo aeróbico. Entretanto, conforme se aumenta a intensidade do exercício atinge-se um ponto em que uma quantidade insuficiente de oxigênio está disponível para a fosforilação oxidativa e uma proporção de NADH_2 é reoxidada, via piruvato, sendo metabolizada a lactato. À medida que a intensidade do exercício aumenta maior quantidade de lactato é produzida e uma maior proporção de energia é suprida pelas vias anaeróbicas (EATON et al., 1992).

O acúmulo contínuo de ácido láctico nas fibras musculares em exercício anaeróbico virá, por fim, a exceder a capacidade de tamponamento físico-químico e de transporte dos íons H^+ pelas células. O pH intracelular diminui, afetando tanto o processo de contração como os mecanismos que regulam a remoção de ADP nos sítios das pontes cruzadas entre a actina e a miosina (HARRIS e HARRIS, 1998).

Neste contexto, SEEHERMAN e MORRIS (1990) afirmaram que testes de desempenho de eqüinos devem fornecer parâmetros clínicos e metabólicos capazes de fornecer informações relativas à capacidade adaptativa dos eqüinos frente ao exercício. Desta maneira, o propósito deste estudo foi verificar as alterações em variáveis fisiológicas que podem ser utilizadas para a avaliação da performance atlética de eqüinos, relacionadas ao exercício físico intenso em esteira rolante.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Utilizaram-se 24 eqüinos treinados (FERRAZ et al., 2006), machos ou fêmeas, Puro Sangue Árabe (PSA), todos provenientes do Setor de Eqüinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, com peso corpóreo médio (\pm E.P.M.) de $390 \pm 25,4$ kg e idade média de $8,6 \pm 3,3$ anos. Os animais foram submetidos a exame clínico completo e, estando aparentemente hígidos, foram selecionados para comporem os grupos experimentais.

Protocolo do exercício teste (ET)

Os eqüinos foram adaptados ao exercício em esteira rolante de alto desempenho¹ e submetidos ao exercício teste (ET) com duração de 30 minutos. Para tanto, empregou-se exercício de aquecimento durante 4 minutos a velocidade de $4,0 \text{ m.s}^{-1}$, a qual foi incrementada, a intervalos de 1 minuto, para 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10 m.s^{-1} . A partir desta etapa de esforço máximo, procedeu-se a desaceleração, retomando a velocidade para $3,0 \text{ m.s}^{-1}$, por 20 minutos, que correspondeu ao período de desaquecimento ativo. Toda a fase de esforço físico, com incremento da velocidade, foi realizada com a esteira a 10% de inclinação.

¹ Esteira Galloper®, Sahinco LTDA, Palmital, SP, Brasil.

Momentos de colheita

Para determinação da FC e lactacidemia utilizou-se os momentos 0; 4; 5; 6; 7; 8; 9 e 10 minutos, na fase de exercício. Na fase de desaquecimento ativo empregaram-se os momentos 15; 20 e 30 minutos. As outras variáveis fisiológicas, hematócrito, glicose, insulina e cortisol foram determinadas nos momentos 0; 4; 6; 8 e 10 minutos na fase de exercício. Para a fase de desaquecimento aproveitaram-se os mesmos momentos descritos para a FC e lactacidemia.

Amostras de sangue

Para obtenção das amostras de sangue foi criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleceu procedimentos adequados para a colheita, processamento e armazenamento. As colheitas de sangue foram realizadas 15 segundos antes do término de cada etapa de velocidade do exercício teste. Previamente à realização do exercício, os animais foram tricotomizados e assepticamente preparados para venocateterização, utilizando-se a veia jugular esquerda como ponto de colheita. Acoplou-se ao cateter intravenoso², um tubo extensor³ para facilitar as colheitas com o animal em movimento. Após cada colheita, todo o conjunto foi lavado com solução de heparina a 2,5%. Pelo procedimento, desprezavam-se 2,0 mL de sangue advindos do início de cada colheita.

Hematologia

Para obtenção das variáveis hematológicas hematócrito, hemoglobina, hemácias e leucócitos foram utilizadas as etapas de exercício 0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10 m.s⁻¹. Para tanto, empregaram-se aparelhos diluidor⁴ e contador⁵. O hematócrito foi realizado pelo método do microhematócrito (GOLDENFARB et al., 1971) e a concentração de hemoglobina foi determinada pela metodologia colorimétrica cianeto de hemoglobina

² Cateter Insyte™ 14_{GA}X1.75_{IN} 2,1 x 45 mm –330mL/min., Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda, SP, Brasil.

³ Tubo extensor 10 Fr5 x 60 cm, Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda, SP, Brasil.

⁴ CELM - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos - Alameda Amazonas, 764 - Alphaville - Barueri - SP.

⁵ D.C. 510, CELM® - Equipadora de Laboratórios Modernos - Alameda Amazonas, 764 - Alphaville - Barueri - SP.

(HiCN)⁶. Todas as amostras foram colhidas em tubos com pressão negativa⁷ e as análises feitas em duplicatas.

Glicose

O volume de 3,0 mL de sangue foi obtido nas mesmas etapas descritas no item Hematologia e acondicionado em tubos de vidro. A amostra sangüínea destinada à dosagem de glicose foi processada com anticoagulante⁸ contendo inibidor da glicólise, fluoreto de potássio, e posteriormente analisadas por espectrofotometria⁹.

Cortisol e Insulina

Concomitantemente, 10,0 mL de sangue foram obtidos nas mesmas etapas descritas no item Hematologia, acondicionados em tubos com pressão negativa¹⁰, contendo heparina sódica, sendo imediatamente, centrifugadas sob refrigeração¹¹ para posterior congelamento do plasma a -20°C. Para dosagem do cortisol e da insulina plasmáticos, empregou-se kit comercial de radioimunoensaio em fase sólida.¹²

Freqüência cardíaca

A FC (bpm) foi estabelecida com um freqüencímetro digital¹³ específico para eqüinos sendo realizadas três aferições a cada etapa de esforço. As médias obtidas em cada etapa de esforço foram compiladas para a elaboração das representações gráficas.

⁶ Kit Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil.

⁷ Tubos EDTA, 5,0 mL Vacueteiner BD®, BD – Brasil - Rua Alexandre Dumas, 1976 Chácara Santo Antonio, São Paulo - SP.

⁸ Glistab® (Labtest Cat 29),®, Lagoa Santa, MG, Brasil.

⁹ Analisador bioquímica semi automático Labquest (Bio 2000), Barueri, SP.

¹⁰ Tubos EDTA, 5,0 mL Vacueteiner BD®, BD – Brasil - Rua Alexandre Dumas, 1976 Chácara Santo Antonio, São Paulo - SP.

¹¹ ALC - Multispeed refrigerated centrifug PK121R, New Jersey, EUA.

¹² DPC (Coat-a-count) -Diagnostic Products Corp., Los Angeles, California, EUA.

¹³ Freqüencímetro S610 Polar®, Port Washington, New York, EUA.

Lactato

Para dosagem da concentração de lactato, 0,5 mL de sangue foi separado e processado em tubos Eppendorf com 1,0 mL de solução fluoreto de sódio a 1%, que é hipotônica em relação às hemácias, provocando hemólise e inibição da glicólise, prevenindo assim a coagulação sangüínea e a produção de lactato pelas hemácias (SIMÕES et al., 1998). A lactacidemia foi determinada eletro-enzimaticamente utilizando-se o lactímetro¹⁴ sendo que as amostras foram analisadas em duplicatas.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa computacional SAS System for Windows V8 e os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Para a comparação das variáveis fisiológicas obtidas no exercício teste, com o objetivo de avaliar as diferenças dentro de cada etapa de esforço, foi realizada análise de variância. Para as diferenças estatísticas detectadas no teste F realizou-se a comparação dos valores médios obtidos em cada etapa de esforço físico, tanto na fase de exercício como no desaquecimento ativo, através do teste de Tukey. Também foi realizado o teste t de Student para amostras pareadas com a finalidade de comparar o repouso com as demais etapas de esforço. Para todas análises realizadas, estabeleceu-se como nível de significância $p \leq 0,05$.

¹⁴ Yelow Springs Instrument Co., Yelow Springs, Ohio, EUA.

RESULTADOS

Hematologia

A análise da Tabela 1 indica que, de uma maneira geral, houve aumento significativo ($p \leq 0,05$), a partir do repouso, entre as médias de hematócrito, hemoglobina, hemácias e leucócitos. As variáveis analisadas obtiveram aumento de concentração até a etapa de esforço máximo (10 m.s^{-1}). Nesta etapa, os valores médios foram máximos e o hematócrito, a concentração de hemoglobina e o número de hemácias foram de $53 \pm 0,7\%$, $17 \pm 0,41 \text{ mg.dl}^{-1}$ e $10,66 \pm 0,24, \times 10^6/\mu\text{L}$, respectivamente. Exceções a este fato foram os leucócitos que tiveram concentração máxima no primeiro ponto de coleta da fase de desaquecimento ativo.

A Figura 1 revela a tendência de aumento das variáveis hematimétricas durante o teste de esforço físico. Observou-se um padrão semelhante, em que estas variáveis aumentaram conforme intensificou-se o esforço. Após o término deste, gradativamente tenderam aos valores iniciais.

Tabela 1. Variáveis hematológicas (Média \pm E.P.M.) de equinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos à exercício com intensidade crescente em esteira rolante.

(n=24)	Velocidade (m.s ⁻¹)										CV	F	P
	Exercício (10min.)					Desaquecimento ativo (20min.)							
	R	4	6	8	10	3							
Hematócrito (%)	39 \pm 1 E	45 \pm 0,4 DC	50 \pm 0,5 B	50 \pm 0,4 B	53 \pm 0,7 A	50 \pm 0,6 B	47 \pm 0,7 CB	44 \pm 0,7 D	6.7	16.61	<0.0001		
Hemoglobina (mg/dl)	13 \pm 0,44 D	14 \pm 0,51 DC	15 \pm 0,46 ABC	16 \pm 0,57 A	17 \pm 0,41 A	16 \pm 0,57 AB	16 \pm 0,39 ABC	15 \pm 0,32 BCD	6.24	13.25	<0.0001		
Hemácias (x10 ⁶ /uL)	8,49 \pm 0,28 C	9,72 \pm 0,23 B	10,72 \pm 0,31 AB	10,89 \pm 0,26 A	10,66 \pm 0,24 AB	10,53 \pm 0,26 AB	10,58 \pm 0,26 AB	9,99 \pm 0,28 AB	6.24	11.44	<0.0001		
Leucócitos (x10 ³ /uL)	8,73 \pm 0,36 C	9,90 \pm 0,33 B	10,10 \pm 0,41 AB	10,19 \pm 0,43 AB	10,62 \pm 0,53 AB	11,28 \pm 0,52 A	10,77 \pm 0,46 AB	9,91 \pm 0,44 B	11.16	13.39	<0.0001		

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. R= Repouso. C.V. = Coeficiente de variação. F= Resultado do teste F de análise de variância. P= Probabilidade. E.P.M.= Erro padrão da média.

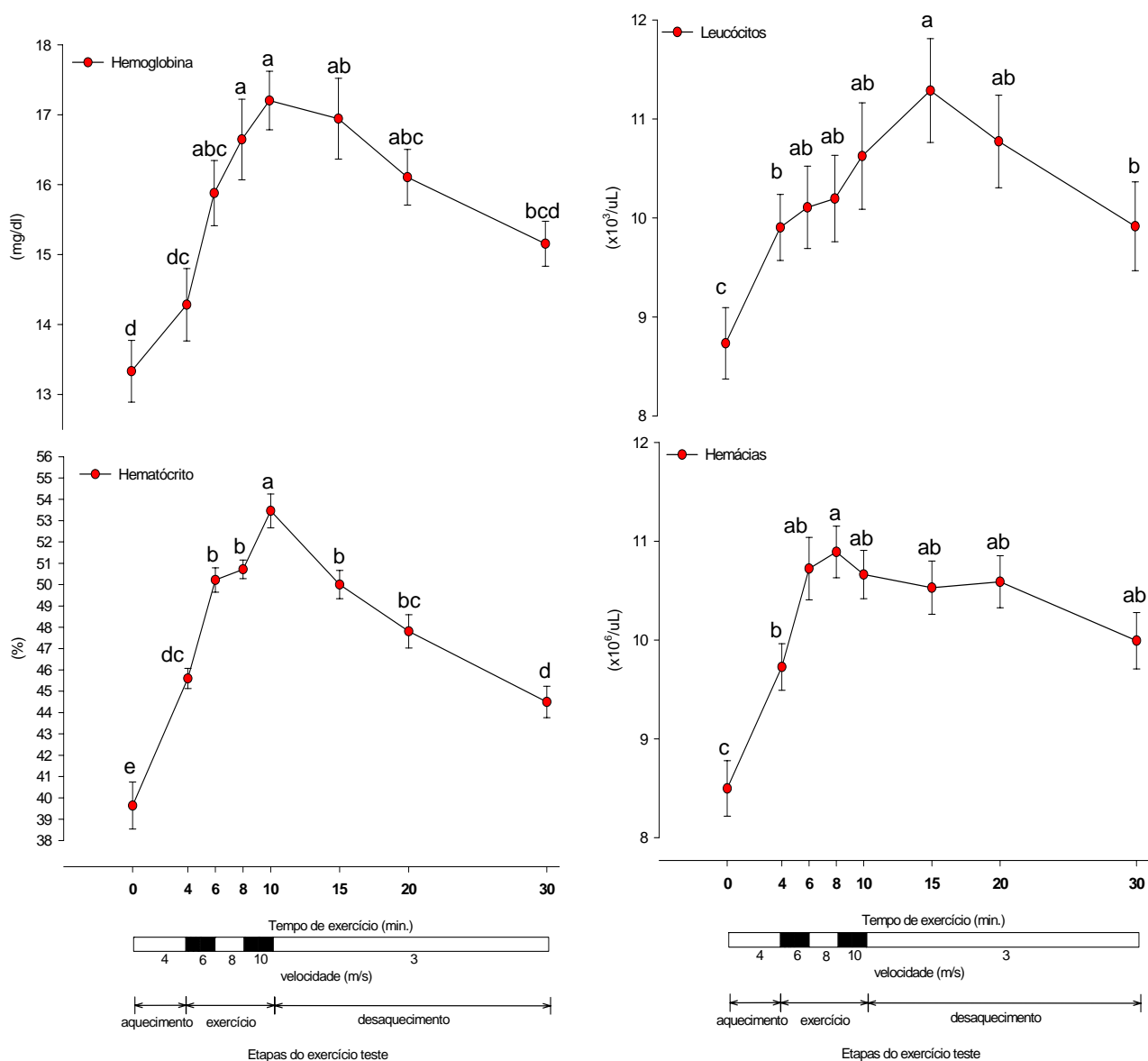


Figura 1. Mudanças na hematologia (médias \pm E.P.M.) associadas ao exercício de intensidade crescente em esteira rolante em 24 cavalos da raça Puro Sangue Árabe. Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Glicose, insulina e cortisol.

Como observado na Tabela 2 e Figura 2A, a concentração de glicose plasmática manteve-se constante em todas as etapas na fase de exercício. Entretanto, na fase de desaquecimento ativo, houve evidente aumento com expressiva diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Com relação a insulinemia, houve diminuição significativa ($p \leq 0,05$) quando comparado com o início do exercício, o que pode ser observado na Figura 2B. Na etapa de repouso, a concentração plasmática de insulina foi de 76 ± 16 pmol/L sofrendo redução para 28 ± 6 pmol/L na etapa de esforço máximo, de 10 m.s^{-1} . Subseqüentemente, no período de desaquecimento ativo, ocorre clara tendência de recuperação na insulinemia que, durante todo o desaquecimento, se equivale estatisticamente à concentração de repouso.

Não houve diferença estatística nas concentrações plasmáticas de cortisol ao longo de todo exercício teste (Tabela 2). Para a insulina e o cortisol, os coeficientes de variação intra-ensaio foram de 9,9 e 10,8%, respectivamente.

Tabela 2. Mudanças (Média \pm E.P.M.) nas concentrações plasmáticas de glicose, insulina de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos à exercício com intensidade crescente em esteira rolante.

Variável Fisiológica (n=24)	Velocidade (m.s ⁻¹)							CV	F	P	
	R	4	6	8	10	Desaquecimento ativo (20 min.)					
Glicose (mmol/L)	4,45 \pm 0,23 B	4,18 \pm 0,15 B	4,02 \pm 0,15 B	4,22 \pm 0,18 B	4,71 \pm 0,20 B	6,86 \pm 0,30 A	7,05 \pm 0,25 A	7,26 \pm 0,31 A	21.79	17.14	<0.0001
Insulina (pmol/L)	76 \pm 16 A	57 \pm 10 ABC	43 \pm 7 ABC	38 \pm 5 BC	28 \pm 6 C	44 \pm 9 ABC	52 \pm 8 ABC	66 \pm 8 AB	64.28	8.01	<0.0001
Cortisol (nmol/L)	312 \pm 32 A	327 \pm 37 A	331 \pm 28 A	379 \pm 38 A	367 \pm 37 A	403 \pm 41 A	368 \pm 37 A	367 \pm 25 A	37.04	3.47	NS

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. R= Repouso. C.V. = Coeficiente de variação. F= Resultado do teste F de análise de variância. P= Probabilidade. E.P.M.= Erro padrão da média.

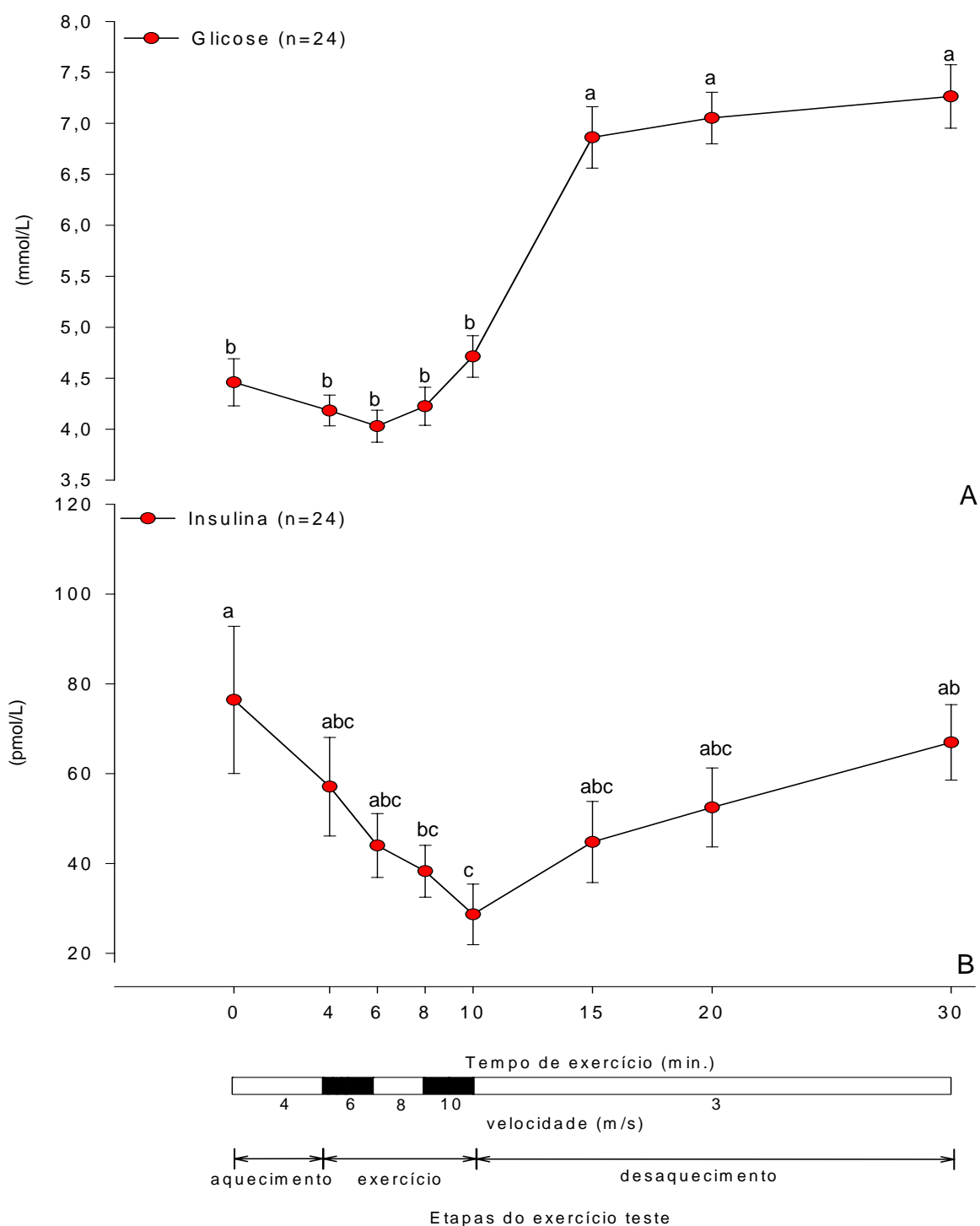


Figura 2. Glicemia (A) e insulínia (B) de equinos submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Frequência cardíaca e lactato

A FC mostrou evidente aumento em relação ao incremento da intensidade de esforço. Conforme demonstrado na Tabela 3 e Figura 3A, a FC máxima foi atingida na etapa 10 m.s⁻¹, sendo o valor médio obtido igual a 219 ± 2 bpm. Este foi significativamente diferente ($p \leq 0,05$) quando comparado ao das outras etapas de esforço, excetuando a etapa 9 m.s⁻¹ que apresentou-se, do ponto de vista estatístico, igual a etapa 10 m.s⁻¹. Na fase de desaquecimento ativo, houve redução significativa da FC a qual se igualou, estatisticamente, com a etapa de aquecimento, 4 m.s⁻¹.

Adicionalmente, a Tabela 3 e a Figura 3B revelam que a lactacidemia elevou-se estatisticamente ($p \leq 0,05$) conforme intensificou-se o esforço físico, fato que ocorreu a partir da etapa 8 m.s⁻¹. Na etapa de esforço máximo, 10 m.s⁻¹, o valor médio obtido foi de 9,23 ± 0,78 mmol/L, o qual foi maior ($p \leq 0,05$), quando comparado com as etapas anteriores da fase de exercício. Contudo, a concentração de lactato sangüínea máxima foi atingida na fase de desaquecimento ativo, sendo que a concentração média foi de 12,21 ± 1,14 mmol/L.

Tanto a Tabela 3 como a Figura 3 revelam que na fase de desaquecimento ativo houve tendência significativa ($p \leq 0,05$) de redução da lactacidemia, sendo que os valores encontrados, na última etapa de colheita, na foram de 7,50 ± 1,24 mmol/L.

Tabela 3. Frequência cardíaca e a concentração de lactato sanguíneo (Médias \pm EPM) de cavalos da raça Puro Sangue Árabe (PSA) submetidos a exercício físico de intensidade crescente em esteira rolante.

Variável Fisiológica (n=24)	Velocidade (m.s ⁻¹)										CV	F	P	
	Exercício (10 min.)					Desaquecimento ativo (20 min.)								
	R	4	5	6	7	8	9	10	3	3				
FC (bpm)	70 \pm 3 H	115 \pm 4 G	152 \pm 5 E	180 \pm 4 D	186 \pm 5 DC	201 \pm 3 BC	211 \pm 3 AB	219 \pm 2 A	127 \pm 3 FG	135 \pm 3 F	115 \pm 3 G	10,38	87,08	<0,0001
Lactato (mmol/L)	0,72 \pm 0,06 G	0,93 \pm 0,08 G	1,50 \pm 0,11 G	2,41 \pm 0,22 FG	3,40 \pm 0,35 EFG	4,36 \pm 0,47 FE	6,17 \pm 0,55 DE	9,23 \pm 0,78 BC	11,67 \pm 1,25 AB	12,21 \pm 1,14 A	7,50 \pm 1,24 DC	48,92	22,42	<0,0001

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. R= Repouso. C.V. = Coeficiente de variação. F= Resultado do teste F de análise de variância. P= Probabilidade. E.P.M.= Erro padrão da média.

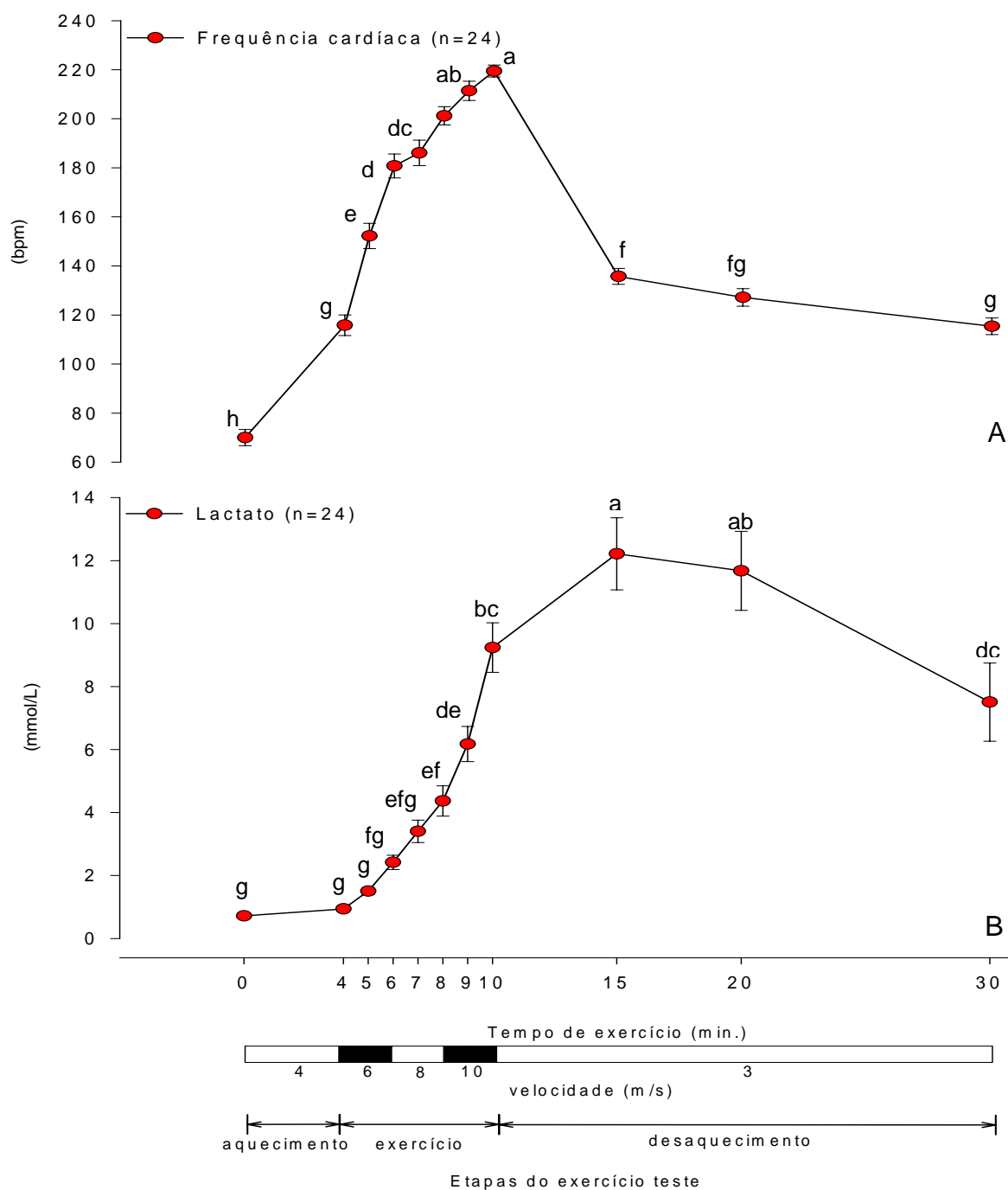


Figura 3. Mudanças na frequência cardíaca (A) e na lactacidemia (B) de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA) submetidos à exercício de intensidade crescente em esteira rolante. Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

DISCUSSÃO

As respostas das variáveis hematológicas ao esforço de intensidade crescente em esteira rolante foram similares às aquelas encontradas por ROSE et al. (1983) e TYLER-MCGOWAN et al. (1999), que estudaram cavalos da raça Puro Sangue Inglês (PSI) submetidos a testes físicos com incrementos de velocidade. Todas as variáveis hematológicas revelaram aumento nos seus valores médios (Figura 1), relacionado com o aumento gradual do esforço. Este fato é normalmente imputado à contração esplênica esforço-dependente que é proporcional ao exercício e especialmente importante nos eqüinos (ROSE et al., 1983). Segundo PERSSON (1967), nos eqüinos, a mobilização da reserva esplênica é ativada pelo estímulo simpático que sensibiliza receptores adrenérgicos α_1 , contraindo o baço e causando hemoconcentração pelo aumento de hemácias circulantes e da hemoglobínia (Figura 1). Este efeito é obviamente benéfico, pois eleva a capacidade aeróbica devido ao aumento do transporte de oxigênio para o músculo esquelético (McKEEVER e HINCHCLIFF, 1995).

Uma aplicação prática das variáveis hematológicas para avaliação do desempenho atlético, é o emprego do hematócrito máximo que pode ser utilizado para avaliação de super-treinamento sendo que GOLLAND et al. (2003) encontraram, durante o esforço, valores de hematócrito máximo menores para eqüinos submetidos a um programa excessivo de treinamento.

Outro aspecto hematológico que pode ser abordado é a leucometria global. Foram observadas elevações no número de leucócitos, durante o exercício teste, que podem ser consideradas fisiológicas, pois resultam da ação de hormônios como as catecolaminas e cortisol plasmático os quais são liberados em situações de medo, excitação ou durante o exercício vigoroso (PALUDO et. al, 2002), e que atuam principalmente na medula óssea e baço. Entretanto, este efeito é transitório com duração máxima de 30 minutos (LASSEN e SWARDSON, 1995).

Com relação à glicemia, segundo HYYPPA et al. (1997), nos eqüinos em repouso, os valores variam entre 4,5 e 6,0 mmol/L. Similarmente, neste estudo o valor médio desta variável no repouso (Tabela 2) foi de $4,45 \pm 0,23$ mmol/L. Nas primeiras

etapas do exercício teste, a concentração de glicose plasmática (Tabela 2 e Figura 2A), diminuiu devido à mobilização deste substrato energético pela musculatura esquelética (TRILK et al., 2002). Geralmente, tanto em indivíduos da espécie humana quanto da eqüina, durante esforço intenso de curta duração, verifica-se aumento da biodisponibilidade de glicose (SIMÕES et al., 1999; GORDON et al., 2006). Os resultados obtidos na Figura 2A confirmam este achado. Tal fato está relacionado ao aumento da atividade de hormônios que regulam o metabolismo energético como as catecolaminas e glucagon que ao serem liberados provocam glicogenólise e neoglicogênese hepática, elevando a concentração de glicose plasmática. Este é importante para a manutenção da glicemia, durante o exercício (MCKEEVER, 2002).

Além da hiperglicemia observada, principalmente na fase de desaquecimento, o efeito simpático neuronal suprime a produção pancreática de insulina. No exercício intenso, ocorre aumento das concentrações de adrenalina e noradrenalina (GEOR et al., 2000), que interagem com receptores α_2 pancreáticos, responsáveis pela diminuição da produção de insulina.

Observando a Figura 2B, nota-se redução da insulinemia em relação ao aumento da intensidade do esforço, que é concordante com os resultados obtidos por GEOR et al. (2002) e GORDON et al. (2006). Nos eqüinos, bem como na espécie humana, esta diminuição das concentrações de insulina parece ter um limiar, representado como um gatilho que dispara quando ocorre a prática de esforço físico acima de 50% da capacidade aeróbica máxima (MCKEEVER, 2002). Funcionalmente, ocorre gliconeogênese, permitindo que a glicemia permaneça constante durante todo o exercício, prevenindo o início da fadiga do sistema nervoso central (SNC) (WILMORE, 1994).

A homeostase cardiovascular durante o exercício é mantida por mecanismos neuroendócrinos que asseguram o aumento da demanda do fluxo sanguíneo para a musculatura esquelética (WILMORE, 1994). Segundo MCKEEVER e HINCHCLIFF, (1995), no repouso a FC média de eqüinos varia entre 30 a 40 bpm. Neste estudo, a FC no repouso foi elevada, como revelado na Tabela 3, sendo que os valores médios

da FC antes do esforço físico foram de 70 ± 3 bpm. Tanto para espécie humana como para os eqüinos, a expectativa do exercício inibe o controle cardiovascular pelo sistema nervoso parassimpático sobressaindo às fibras nervosas do simpático, resultando em aumentos da FC, força de contração, volume ejetado e débito cardíaco (MCKEEVER, 2002).

Como verificado na Figura 3A, a FC aumentou proporcionalmente ao incremento do esforço físico, atingindo a máxima de 219 ± 2 bpm. Este comportamento fisiológico é um evidente aumento da atividade simpática, com expressiva liberação de catecolaminas, que promove elevação do volume sistólico (0,7L para 2,0 L), a qual resulta em aumento do débito cardíaco de, em média 30L/min. em repouso, para quase 300L/min. (MCKEEVER e HINCHCLIFF, 1995).

A resposta da concentração sangüínea de lactato, frente ao exercício, é o indicador de escolha para avaliação do exercício e do treinamento (SIMÕES et al., 2003; LELEU et al., 2005). Os resultados obtidos na Figura 3 revelam que, no repouso, a lactacidemia foi de $0,72 \pm 0,06$ mmol /L. Este achado é semelhante àqueles relatados no estudo de LINDNER (2000), MARQUES et al. (2002) e GOMIDE et al. (2006) que observaram em eqüinos, na condição de repouso, valores iguais ou inferiores a 1,5 mmol/L.

Conforme mostrado na Figura 3B, com o aumento da intensidade de exercício houve evidente elevação da lactacidemia. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por SIMÕES et al. (2003), FERRAZ et al. (2006) e GOMIDE et al. (2006). Em resposta ao exercício intenso, a produção de lactato excede sua utilização e eliminação, ocorrendo difusão do excesso para o sangue (SIMÕES et al., 2003; LELEU et al., 2005). Especula-se que o aumento da concentração de lactato no músculo e, secundariamente, no sangue, durante o exercício, deve-se principalmente à insuficiência da taxa de oxigênio na mitocôndria, impedindo a combustão aeróbica de carboidratos (EVANS, 2000). Embora, por muitos anos, tenham sido encontradas evidências de que as células musculares normais e mitocôndrias sempre apresentam mais oxigênio do que o necessário, para o seu adequado funcionamento

independentemente da velocidade e duração do exercício (JOHNSON et al., 1996). Durante o exercício, o acúmulo de lactato no sangue depende do estado de equilíbrio dinâmico entre a sua produção muscular, capacidade de remoção hepática e por outros órgãos. A elevação nas concentrações de lactato no músculo e no sangue relacionadas ao aumento na demanda de energia deve-se, provavelmente, à curta ação de enzimas específicas do ciclo aeróbio como a isocitrato desidrogenase e a citocromo desidrogenase (WEICKER, 1994).

Outro aspecto que pode ser abordado sobre a dinâmica da lactacidemia, durante o exercício, é o seu comportamento após o esforço intenso. Neste estudo houve clara tendência de recuperação das concentrações de lactato sanguíneo na fase de desaquecimento ativo (Tabela 3 e Figura 3). Este fato é explicado pela gliconeogênese que ocorre, devido o aumento da remoção de lactato muscular e sanguíneo, pois o metabolismo hepático e a utilização do lactato, como substrato energético, se mantêm elevados (WASSERMAN, et al., 1991).

CONCLUSÕES

O desempenho atlético requer a transdução do potencial energético químico em energia cinética. O sistema hematológico, cardiovascular, endócrino e o metabolismo em geral, integram-se de maneira coordenada, produzindo e disponibilizando a energia necessária para a contração muscular. A necessidade para um rápido fornecimento de substratos energéticos para o esforço físico e a prevenção da fadiga do sistema nervoso central é facilitada, possivelmente, pela ação neural autonômica simpática resultando em elevação de variáveis hematológicas, frequência cardíaca, lactacidemia. Desta forma, o grau das alterações em variáveis fisiológicas está relacionado com a intensidade e duração do exercício teste.

REFERÊNCIAS (ABNT - NRB-6023, agosto de 2002)

COGGAN, A. R.; SPINA, R. J.; KOHRT, W. M.; BIER, D. M.; HOLLOSZY, J. O. Plasma glucose kinetics in a well-trained cyclist fed glucose throughout exercise. **International Journal of Sport Nutrition**, London, v. 1, n. 3, p. 279-288, 1991.

EATON, M. D.; ROSE R. J.; EVANS, D.L.; The assessment of anaerobic capacity of thoroughbred horses using maximal accumulated oxygen deficit. **Australian Equine Veterinarian**, Palmerston North, v. 10, n. 86, 1992.

EVANS, D. L. **Training and fitness in athletic horses**. Barton: RIRDC., 64 p., 2000.

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; D'ANGELIS, F. H. F.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Long-term creatine supplementation improves the aerobic capacity of horses. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 514-519, 2006.

FOSS, M. J.; KETEVAN, S. J. **Bases fisiológicas do exercício e do esporte**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 560p.

GEOR, R. J.; HINCHCLIFF, K. W.; SAMS R. A. β - Adrenergic blockade augments glucose utilization in horses during graded exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 89, p. 1086–1098, 2000.

GEOR, R. J.; MCCUTCHEON, L. J.; HINCHCLIFF, K. W.; SAMS, R. A. Training-induced alterations in glucose metabolism during moderate-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, Newmarket, v. 34, p. 22-28, 2002.

GOLLAND, L. C.; EVANS, D. L.; MCGOWAN, C. M.; HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. The effects of overtraining on blood volumes in Standardbred racehorses. **The Veterinary Journal**, London, v. 165, n. 3, p. 228-233, 2003.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL E.; BROSIOUS E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v. 56, p. 35-39, 1971.

GOMIDE, L. M. W.; MARTINS, C. B.; OROZCO, C. A. G. et al. Blood lactate concentrations of horses competing in the resistance phase of 3-day combined training event. **Ciência. Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 509-513, 2006.

GORDON, M. E.; MCKEEVER, K. H.; BETROS, C. L.; MANSO, F. H. C. Exercise-induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses. **The Veterinary Journal**, London, v. 84, n. 7, p. 1682-1690, 2006.

HARRIS, P.A.; HARRIS, R.C. Nutritional ergogenic aids in the horse- uses and abuses. In: CONFERENCE OF EQUINE SPORTS MEDICINE SCIENCE, 1998, Cordoba. **Proceedings...** 1998. p. 203-18.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The Athletic Horse**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994, p. 497.

HYYPPA, S.; RASANEN, L. A.; POSO, A. R. Resynthesis of glycogen in skeletal muscle from standardbred trotters after repeated bouts of exercise. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 58, n. 2, p. 162-166, 1997.

JOHNSON, P. C.; WAGNER, P. D.; WILSON, D. F. Regulation of oxidative metabolism and blood flow in skeletal muscle. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Indianápolis, v. 28, p. 305-14, 1996.

LASSEN, D. E.; SWARDSON, C. J. Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities. **The Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, Orlando, v. 11, n. 3, p. 351-389, 1995.

LELEU, C.; COTREL, C.; COUROUCE-MALBLANC, A. Relationships between physiological variables and race performance in French standardbred trotters **Veterinary Record**, London, v. 156, n. 11, p. 339-342, 2005.

LINDNER, .A. Biochemical variables of energy metabolism in blood or plasma. Overview. In: BARREY, E.; FAZIO, E.; FERLAZZO, A.; LINDNER, A.; RIVERO, J.L.L. **Performance diagnosis of horses**. Wageningen, 1997, p.96.

LINDNER, A. Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of sports horses in practice. **Revue Médecine Vétérinaire**, Capelles, v.151, n.7, p.611-618, 2000.

MALINOWSKI, K.; BETROS, C. L.; FLORA, L.; KEARNS, C. F.; MCKEEVER, K. H. Effect of training on age-related changes in plasma insulin and glucose. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, Newmarket, v. 34, p. 147-153, 2002.

MCKEEVER K. H.; HINCHCLIFF, K. W. Neuroendocrine control of blood volume, blood pressure, and cardiovascular function in horses. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, Newmarket, v. 14, n. 18, p. 77-81, 1995.

MCKEEVER, K. H. The endocrine system and the challenge of exercise. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, Orlando, v. 18, p. 321–353, 2002.

MCMILLAN, K.; HELGERUD, J.; GRANT, S.J.; NEWELL, J.; WILSON, J.; MACDONALD, R.; HOFF, J. Lactate threshold responses to a season of professional

British youth soccer. **British Journal of Sports Medicine**, London, v. 39, n. 7, p. 432-436, 2005.

PALUDO, G. R.; MCMANUS, C.; MELO, R. Q.; CARDOSO, A. G.; SILVA MELLO, F. P.; MOREIRA, M.; FUCK, B. H. Efeito do estresse térmico e do exercício sobre parâmetros fisiológicos de cavalos do exército brasileiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p.1130 -1142, 2002.

PERSSON S. On blood volume and working capacity in horses. Studies of methodology and physiological and pathological variations. **Acta Veterinaria Scandinavica**, London, v. 19, n. 9, p. 189, 1967.

POWERS, K. S. Metabolismo do Exercício. In: _____. **Fisiologia do Exercício – Teoria e aplicação ao condicionamento ao desempenho**. Flórida: University of Flórida, p.45 v.3, 2000.

ROSE, R. J.; ALLEN, J. R.; HODGSON, D. R.; STEWART, J. H.; CHAN, W. Responses to submaximal treadmill exercise and training in the horse: changes in haematology, arterial blood gas and acid base measurements, plasma biochemical values and heart rate. **Veterinary Record**, London, v. 113, n.26-27, p.612-618, 1983.

SEEHERMAN, H. J.; MORRIS, E. A. Methodology and repeatability of a standardized treadmill exercise test for clinical evaluation of fitness in horses. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, Newmarket, v. 9, p. 20-5, 1990.

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

SIMÕES, H. G.; CAMPBELL, C. S. G.; BALDISSERA, V.; DENADAI, B. S.; KOKUBUN, E. Determinação do limiar anaeróbio por meio de dosagens glicêmicas e lactacidêmicas em teste de pista para corredores. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v.12, n.1, p.17-30, 1998.

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

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

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

TYLER-MCGOWAN, C. M.; GOLLAND, L. C.; EVANS, D. L.; HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Haematological and biochemical responses to training and overtraining. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, Newmarket, v. 30, p. 621-625, 1999.

WASSERMAN, D. H.; CONNOLLY, C. C.; PAGLIASSOTTI, M. J. Regulation of hepatic lactate balance during exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Indianapolis, v. 23, p. 912-919, 1991.

WEICKER, H.; Interaktion zwischen aerober und anaerober energieproduktion, laktatproduktion, release und elimination. In: CLASING, D.; WEICKER, H.; BÖNING, D. **Stellenwert der laktatbestimmung in der leistungsdiagnostik**. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, v. 11, p. 25, 1994.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. Hormonal regulation of exercise. In: Wilmore, J. H.; Costill, D. L, eds. Champaign, IL: **Human Kinetics**, Illinois p. 122-143, 1994.

CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE CAFEÍNA SOBRE O DESEMPENHO ATLÉTICO DE EQUINOS.

RESUMO

A cafeína é a substância estimulante do sistema nervoso central (SNC) mais consumida no mundo. Estudaram-se os efeitos da administração aguda de cafeína sobre o desempenho atlético em 12 eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos a dois testes físicos com dez dias de intervalo entre eles. Esses eqüinos compuseram dois grupos: controle (C, n=12) e cafeína (CAF, n=12). Administrou-se, pela via intravenosa $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de peso corpóreo de cafeína ou solução salina 0,9%, 30 minutos antes do teste de esforço. Os animais foram aquecidos por 4 minutos a $4,0 \text{ m.s}^{-1}$. Na seqüência, a esteira foi inclinada (10%) e a velocidade foi gradativamente aumentada a intervalos de 1 minuto, para 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10 m.s^{-1} . A partir desta etapa de esforço máximo, procedeu-se a desaceleração, retomando a velocidade para $3,0 \text{ m.s}^{-1}$, por 20 minutos, que correspondeu ao período de desaquecimento ativo. Com as amostras de sangue foram avaliados, lactacidemia, hematócrito, hemácias, hemoglobina, leucócitos totais, glicemia, insulinemia e cortisolemia. Para frequência cardíaca (FC) utilizaram-se as mesmas etapas do exercício teste. Os valores da V_{180} e V_{200} , para o grupo CAF mostraram aumento significativo de 10% e 11,7% com os valores de P iguais a 0,0463 e 0,0383, respectivamente. No grupo CAF, tanto a V_4 como a V_2 sofreram redução significativa de 25,4% e 24,2%, sendo que os valores de P foram 0,0014 e 0,0092, respectivamente. A insulinemia foi maior ($P \leq 0,05$) no grupo C. Os eqüinos do grupo CAF tiveram aumento estatístico da glicemia ($P \leq 0,05$). A administração de cafeína diminuiu o cortisol plasmático quando comparado aos eqüinos do grupo controle. Concluiu-se que a cafeína promoveu melhora na adaptação de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA) durante o exercício intenso, pois, apesar de diminuir a capacidade aeróbica, aumentou favorecendo o metabolismo dependente da glicólise anaeróbica.

Palavras-Chave: Cafeína, exercício, eqüinos, desempenho atlético, lactato.

INTRODUÇÃO

A cafeína é uma substância do grupo das metilxantinas, substâncias que estimulam o sistema nervoso central (SNC), mundialmente utilizadas por indivíduos da espécie humana que consomem, em média, 125 mg diariamente (TOBIN et al., 1995; MAGKOS e KAVOURAS, 2005). Este princípio ativo é consumido por 80% da população mundial, através da ingestão do café, sendo extraída do fruto *Coffea arabica*. Outras formas de utilização, como o chá preto (*Thea sinensis*), o chocolate (*Theobroma cacao*) e as bebidas à base de cola, que contém cafeína nas suas formulações, contribuem para o aumento do seu consumo (GRAHAM, 1978). Atualmente, observa-se exacerbada elevação no consumo desta substância devido à adição da mesma em suplementos nutricionais, bebidas energéticas e cigarros aromatizados com chocolate (KAMBER et al., 2001).

As metilxantinas são bases fracas que se ionizam em pH ácido (DYKE, 1994) sendo derivadas da molécula de xantina acrescida de radicais metil. Desta forma, a cafeína é a 1,3,7-trimetilxantina, como revela a representação abaixo:

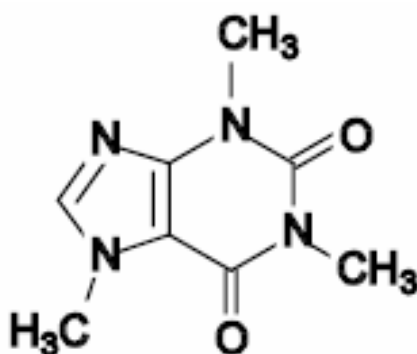


Figura 1. Representação esquemática da molécula de cafeína.

Fonte: <http://es.wikipedia.org/wiki/Imagem:Caffeine.png>

Acesso em 04 set. 2006.

Segundo SAVAGE et al. (2005), a Associação Internacional dos Comissários de Corrida (AICC) não aprova o uso terapêutico da cafeína em eqüinos e, quando encontrada na urina ou outra matriz orgânica é classificada como substância ilegal da classe 2, caracterizando doping (TOBIN et al., 1995). Entretanto, devido a presença

natural da cafeína em chás, cafés, chocolates e rações, profissionais que atuam no cotidiano dos esportes eqüestres argumentam que a detecção de baixas concentrações sanguíneas e urinárias de cafeína em cavalos atletas pode estar associada a contaminações ambientais, tendo interferência nula sobre os resultados de competições eqüestres (SAVAGE et al., 2005).

A farmacodinâmica da cafeína é intensamente estudada (FREDHOLM et. al, 1999; QUEIROZ-NETO et al., 2001; MAGKOS e KAVOURAS, 2005). Parece que esta substância não possui somente um mecanismo de ação, sendo que MAGKOS e KAVOURAS (2005) relataram, dependendo da dose, três vias de atuação. Em concentrações plasmáticas que variam de 10 a 100 μ M a via principal consiste no antagonismo aos receptores pós-sinápticos de adenosina, mais precisamente A_{2a} e A_{2b} que quando bloqueados causam efeitos excitatórios no SNC, cardiovascular, renal, gastrointestinal e respiratório (GARRET e GRIFFITHS, 1997). Elevando-se a concentração plasmática para faixa de 0,1 a 1 mM ocorre inibição da enzima fosfodiesterase, que promove aumento da concentração intracelular de 3,5-adenosina monofosfato cíclico (AMPC) com três efeitos básicos sobre hormônios e neurotransmissores das células alvos: i) aumento do sinal de transdução; ii) integração de ciclos celulares; iii) diminuição ou finalização de estímulos hormonais (TOBIN et al., 1995).

Recentemente, MAGKOS e KAVOURAS (2005) afirmaram que em concentrações plasmáticas acima de 5 mM, a cafeína interage com receptores de rianodina tipo 1 (RYR1), responsável pelo controle do fluxo de cálcio entre o retículo sarcoplasmático e o sarcoplasma, causando liberação de cálcio (Ca^{++}) intracelular, com efeito inotrópico positivo.

Na espécie humana, o efeito ergogênico da cafeína está bem documentado e há um consenso sobre seus efeitos benéficos em exercícios de resistência aeróbica (MAGKOS e KAVOURAS, 2005). Estes mesmos autores afirmaram que, nos exercícios intensos de curta duração existem controvérsias sobre a melhora do desempenho atlético após a administração de cafeína. SAVAGE et al. (2005) não encontraram

efeitos sobre variáveis cardio-respiratórias após a administração de 2,5 mg/kg/ peso corpóreo de cafeína, em eqüinos da raça Puro Sangue Inglês (PSI), submetidos a teste de esforço com incremento da velocidade. Sendo assim, o propósito desta pesquisa foi verificar os efeitos da administração aguda de cafeína sobre o desempenho atlético de eqüinos, durante exercício com intensidade crescente, em esteira rolante, através de variáveis metabólicas, endócrinas, hematológicas e cardiovasculares.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Utilizaram-se 12 eqüinos treinados (FERRAZ et al., 2006), machos ou fêmeas, Puro Sangue Árabe (PSA), todos provenientes do Setor de Eqüinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, com peso corpóreo médio (\pm E.P.M.) de $390 \pm 25,4$ kg e idade média de $8,6 \pm 3,3$ anos. Objetivando-se a exclusão de intercorrências os eqüinos foram submetidos a exame clínico completo e, estando aparentemente hígidos, foram selecionados para comporem os grupos experimentais.

Protocolo do exercício teste (ET)

Os eqüinos foram adaptados ao exercício em esteira rolante de alto desempenho¹ e submetidos ao exercício teste (ET) com duração de 30 minutos. Para tanto, empregou-se exercício de aquecimento durante 4 minutos a velocidade de $4,0 \text{ m.s}^{-1}$, a qual foi incrementada, a intervalos de 1 minuto, para 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10 m.s^{-1} . A partir desta etapa de esforço máximo, procedeu-se a desaceleração, retomando a velocidade para $3,0 \text{ m.s}^{-1}$, por 20 minutos, que correspondeu ao período de desaquecimento ativo. Toda a fase de esforço físico, com incremento da velocidade, foi realizada com a esteira a 10% de inclinação.

¹ Esteira Galloper®, Sahinco LTDA, Palmital, SP, Brasil.

Momentos de colheita

Para determinação da frequência cardíaca (FC) e lactacidemia utilizaram-se os momentos 0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10,0 minutos, na fase de exercício. Na fase de desaquecimento ativo empregaram-se os momentos 15; 20 e 30 minutos. As outras variáveis fisiológicas, hematócrito, glicose, insulina e cortisol foram determinadas nos momentos 0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 minutos na fase de exercício. Para a fase de desaquecimento aproveitaram-se os mesmos momentos descritos para a FC e lactacidemia.

Amostras de sangue

Para obtenção das amostras de sangue foi criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleceu procedimentos adequados para a colheita, processamento e armazenamento. As colheitas de sangue foram realizadas 15 segundos antes do término de cada etapa de velocidade do exercício teste. Previamente à realização do exercício, os animais foram tricotomizados e asépticamente preparados para venocateterização, utilizando-se a veia jugular esquerda como ponto de colheita. Acoplou-se ao cateter intravenoso², um tubo extensor³ para facilitar as colheitas com o animal em movimento. Após cada colheita, todo o conjunto foi lavado com solução de heparina a 2,5%. Pelo procedimento, desprezavam-se 2,0 mL de sangue, advindos do início de cada venopunção.

Grupos experimentais

Os eqüinos utilizados no presente estudo, compuseram-se em dois grupos experimentais, controle (C, n=12) e cafeína (CAF, n=12), sendo submetidos a dois testes físicos com dez dias de intervalo entre eles, sendo utilizado delineamento do tipo “cross-over”. No primeiro teste, foi administrado no grupo controle, pela via intravenosa, solução

² Cateter Insyte™ 14_{GA}X1.75_{IN} 2,1 x 45 mm –330mL/min., Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda, SP, Brasil.

³ Tubo extensor 10 Fr5 x 60 cm, Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda, SP, Brasil.

salina⁴ 0,9%. Já no segundo teste, foi administrado cafeína anidra⁵, 30 minutos antes do ET, intravenosamente, na dose de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de peso corpóreo.

Freqüência cardíaca

A FC (bpm) foi estabelecida com um freqüencímetro digital⁶ específico para eqüinos sendo realizadas três aferições a cada etapa de esforço. As médias obtidas em cada etapa de esforço foram compiladas e através da análise de regressão linear obteve-se a V_{180} e V_{200} (velocidades nas quais as freqüências cardíacas são de 180 e 200 bpm, respectivamente).

Lactato

Para dosagem da concentração de lactato, 0,5 mL de sangue foi separado e processado em tubos Eppendorf com 1,0 mL de solução fluoreto de sódio a 1%, que é hipotônica em relação às hemácias, provocando hemólise e inibição da glicólise, prevenindo assim a coagulação sangüínea e a produção de lactato pelas hemácias (SIMÕES et al., 1998). A lactacidemia foi determinada eletro-enzimaticamente utilizando-se o lactímetro⁷ sendo que as amostras foram analisadas em duplicatas. As colheitas de sangue foram realizadas 15 seg antes do término de cada etapa de exercício. Através da regressão exponencial dos valores obtidos, determinou-se, individualmente, a V_2 e a V_4 (velocidades que as concentrações sangüíneas de lactato são de 2 e 4 mmol/L, respectivamente). Para determinação da V_2 e V_4 dos grupos experimentais utilizaram-se os valores médios.

Hematologia

Para obtenção das variáveis hematológicas, hematócrito, hemoglobina, hemácias e leucócitos foram utilizadas as etapas de exercício 0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10 m.s^{-1} . Para

⁴ Solução Injetável de Cloreto de Sódio à 0,9% (Fisiológica)®, Beker, Embu, São Paulo, Brasil.

⁵ Sigma Chemical Co. (St. Luis, MO)

⁶ Freqüencímetro S610 Polar®, Port Washington, New York, EUA.

⁷ Yelow Springs Instrument Co., Yelow Springs, Ohio, EUA.

tanto, empregaram-se aparelhos diluidor⁸ e contador⁹. O hematócrito foi realizado pelo método do microhematócrito (GOLDENFARB et al., 1971) e a concentração de hemoglobina foi determinada pela metodologia colorimétrica do cianeto de hemoglobina (HiCN)¹⁰. Todas as amostras foram colhidas em tubos com pressão negativa¹¹ e as análises feitas em duplicatas.

Glicose

As amostras sanguíneas (3,0 mL) destinadas à dosagem de glicose foram obtidas nas mesmas etapas descritas no item hematimetria e processadas com anticoagulante¹² contendo inibidor da glicólise, fluoreto de potássio, e posteriormente analisadas por espectrofotometria¹³.

Cortisol e Insulina

Concomitantemente, 10,0mL de sangue foram obtidos nas mesmas etapas descritas no item hematimetria, acondicionados em tubos com pressão negativa¹⁴, contendo heparina sódica e imediatamente centrifugada sob refrigeração¹⁵ para posterior congelamento do plasma a -20°C. Para dosagem do cortisol e da insulina plasmáticos, empregou-se kit comercial de radioimunoensaio em fase sólida.¹⁶

⁸ CELM - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos - Alameda Amazonas, 764 - Alphaville - Barueri - SP.

⁹ D.C. 510, CELM® - Equipadora de Laboratórios Modernos - Alameda Amazonas, 764 - Alphaville - Barueri - SP.

¹⁰ Kit Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil.

¹¹ Tubos EDTA, 5,0 mL Vaccuteiner BD®, BD – Brasil - Rua Alexandre Dumas, 1976 Chácara Santo Antonio, São Paulo - SP.

¹² Glistab® (Labtest Cat 29),®, Lagoa Santa, MG, Brasil.

¹³ Analisador bioquímica semi automático Labquest (Bio 2000), Barueri, SP.

¹⁴ Tubos EDTA, 5,0 mL Vaccuteiner BD®, BD – Brasil - Rua Alexandre Dumas, 1976 Chácara Santo Antonio, São Paulo - SP.

¹⁵ ALC - Multispeed refrigerated centrifug PK121R, New Jersey, EUA.

¹⁶ DPC (Coat-a-count) -Diagnostic Products Corp., Los Angelis, California, EUA.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa computacional SAS System for Windows V8 e os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Para avaliar o efeito do exercício sobre as variáveis fisiológicas, foi realizada análise de variância para amostras repetidas, com o objetivo de verificar as diferenças significantes dentro de cada etapa de esforço, seguido pelo teste de Tukey, quando necessário. Também foi realizado o teste t de student para amostras pareadas, com a finalidade de comparar as diferenças entre os grupos. Estabeleceu-se 5% como nível de significância ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS

Avaliação do desempenho

Conforme revela a Tabela 1, os valores da frequência cardíaca em relação à velocidade de exercício, V_{180} e V_{200} , mostraram aumento significativo de 10% e 11,7%, para o grupo CAF, com os valores de P iguais a 0,0463 e 0,0383, respectivamente. A FC (Figura 2A) elevou-se durante a fase de exercício ($p \leq 0,05$) com evidente tendência à recuperação na fase de desaquecimento. No que se refere, ao lactato em relação à velocidade de exercício, com a administração de cafeína, tanto a V_4 como a V_2 sofreram redução significativa de 25,4% e 24,2%, sendo que os valores de P foram 0,0014 e 0,0092, respectivamente. Ainda para o grupo CAF, a partir da etapa $5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, os valores de lactacidemia foram sempre maiores, sendo $P < 0,05$ (Figura 2B). Fato marcante, os eqüinos que receberam cafeína apresentaram lactacidemia máxima superior àqueles do grupo C com $P = 0,0008$ (Tabela 1).

Hematologia

O hematócrito aumentou durante toda a fase de exercício com tendência de redução no período de desaquecimento ativo ($p < 0,05$). A Figura 3 demonstra que a administração de cafeína foi associada com aumento significativo no hematócrito, nas etapas 4,0; 6,0; 8,0; 15,0; 20,0 e 30,0 minutos sendo os valores de P iguais a 0,0088; 0,05; 0,0389; 0,0157; 0,0064 e 0,0098, respectivamente. Na etapa 10 min, o hematócrito máximo também foi maior para o grupo CAF, apesar de não demonstrar diferença estatística significativa ($p = 0,1324$). Não houve diferença significativa nas variáveis hemácias, hemoglobina e leucócitos, em todas etapas analisadas.

Insulina

Como demonstrado na Figura 4 e na Tabela 2, durante o exercício, a insulinemia diminuiu significativamente ($p \leq 0,05$) em todos os grupos experimentais, permanecendo mais elevada, em todas as etapas de colheita, no grupo C quando comparado aos eqüinos que receberam cafeína. Quando se compara as médias dos grupos C e CAF obtiveram-se valores de p iguais a 0,0114; 0,0193; 0,0057; 0,0025; 0,0331; 0,0361; 0,0003 e 0,0061 para as etapas 0; 4; 6; 8; 10; 15; 20 e 30 minutos, respectivamente. O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 10,3 %.

Tabela 1. Efeitos da administração intravenosa de cafeína sobre índices de desempenho atlético de equinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), associados com o exercício de intensidade crescente em esteira rolante.

	V_{180} ($m.s^{-1}$)	V_{200} ($m.s^{-1}$)	V_2 ($m.s^{-1}$)	V_4 ($m.s^{-1}$)	Concentração sangüínea de lactato máxima ($mmol/L$)	Hematócrito máximo (%)
C	6,20±0,20	7,26±0,25	5,69±0,33	8,36±0,41	8,10±0,76	52±0,6
CAF	6,82±0,32*	8,11±0,32*	4,31±0,27*	6,23±0,28*	17,73±1,73*	55±0,7

Valores= média ± erro padrão da média. V_{180} , V_{200} , velocidades que as freqüências cardíacas são iguais a 180 e 200 batimentos por minuto (b.p.m.), respectivamente. V_2 e V_4 , velocidades que as concentrações de lactato sangüíneo são de 2 e 4 $mmol/L$, respectivamente. C (n=12), controle, salina 0,9%. CAF (n=12), cafeína, 5 $mg.kg^{-1}$, IV. * Diferença estatística entre C e CAF pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).

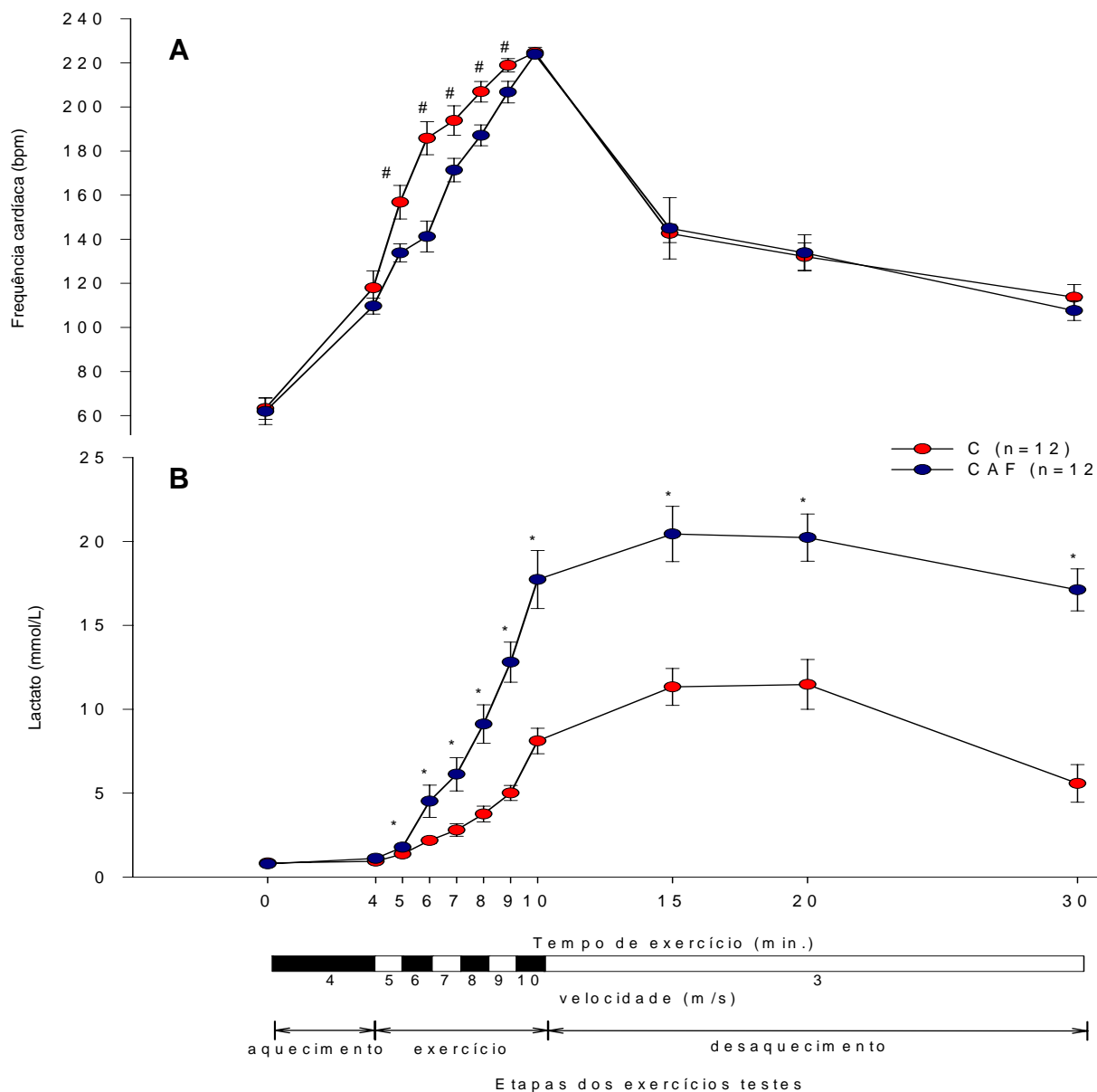


Figura 2. Representação gráfica das alterações na frequência cardíaca (A) e lactacidemia (B) de equinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. # Elevação significativa de C em relação a CAF, pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$); * Aumento estatístico de CAF (cafeína) em relação a C (controle).

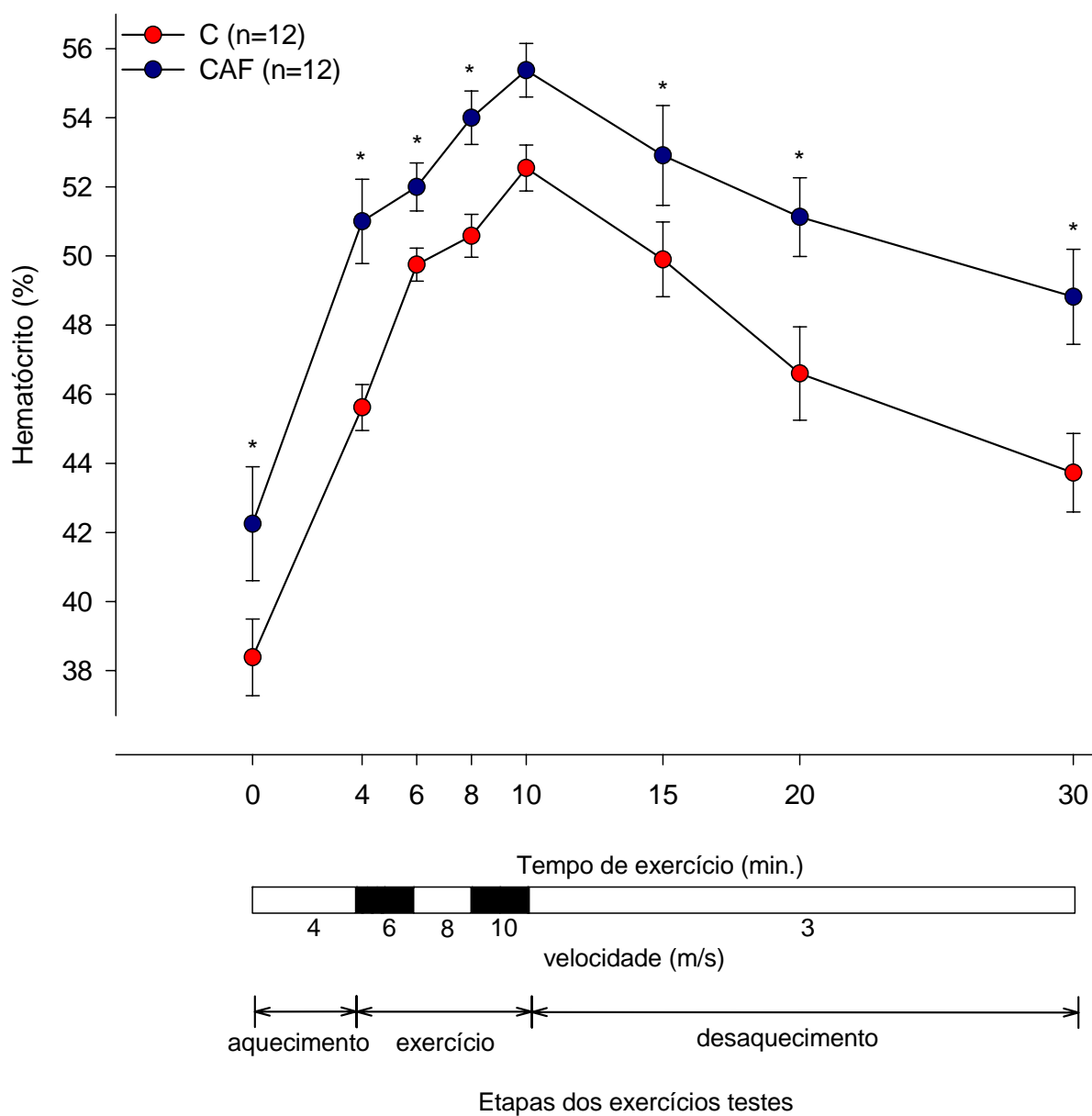


Figura 3. Resposta do hematócrito de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. * Aumento estatístico de CAF (cafeína) em relação a C (controle) pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).

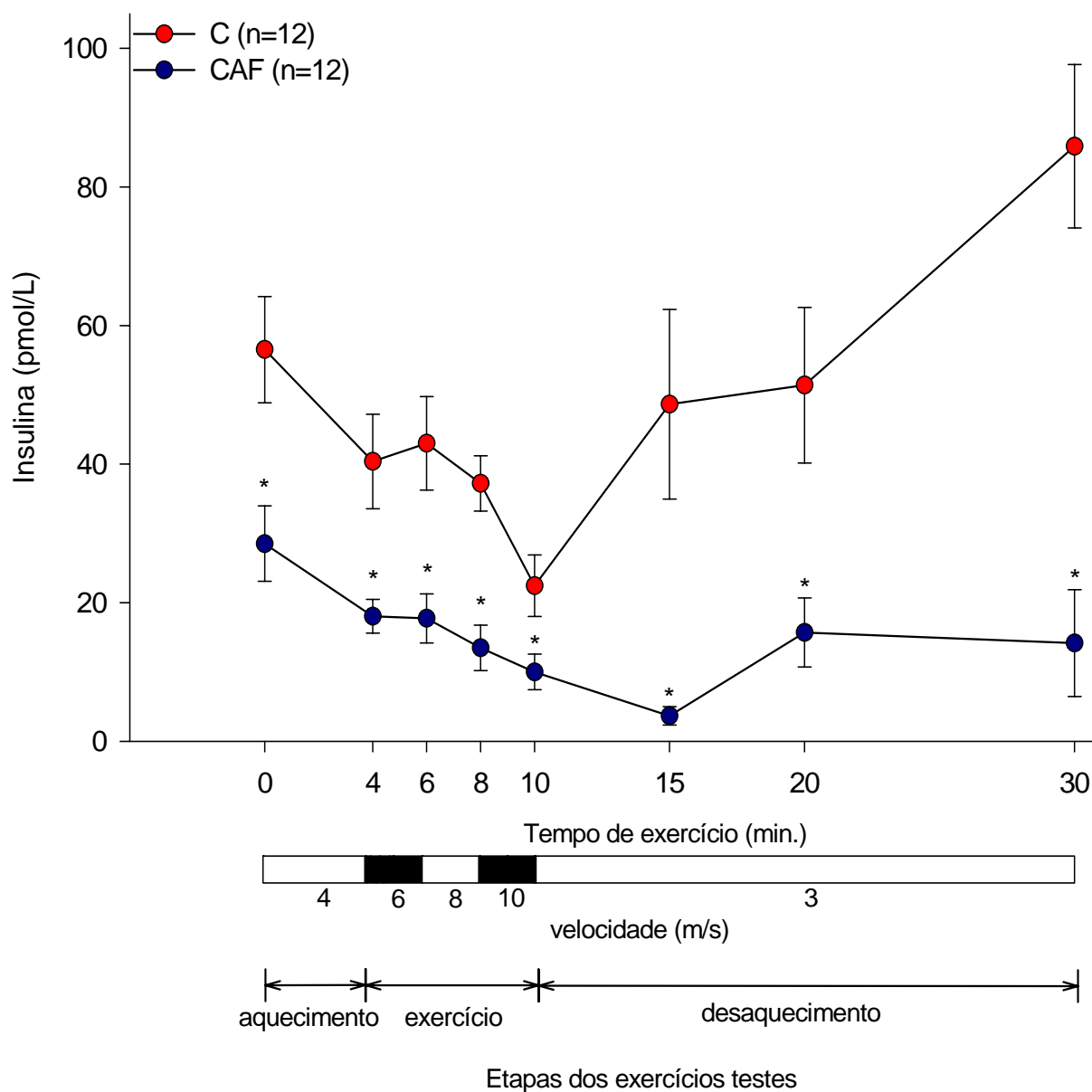


Figura 4. Resposta da insulinemia de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. * Redução estatística de CAF (cafeína) em relação a C (controle) pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).

Glicose

Houve alteração ($p \leq 0,05$) da glicemia conforme intensificou-se o esforço físico (Tabela 2). Como demonstrado na Figura 5, inicialmente, ocorreu uma evidente diminuição, sem diferença estatística, na concentração plasmática de glicose que, posteriormente, aumentou estatisticamente. Os eqüinos que receberam cafeína tiveram aumento estatístico da glicemia, quando comparado ao grupo controle, sendo que os valores de p foram de 0,0003; 0,0017; 0,0294; 0,0132; 0,0005; 0,0341 e 0,0207 para as etapas 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 30,0 minutos, respectivamente.

Cortisol

As concentrações plasmáticas de cortisol estão apresentadas na Tabela 2 e Figura 6. O exercício alterou as concentrações plasmáticas de cortisol ($p \leq 0,05$). A administração de cafeína diminuiu o cortisol plasmático quando comparado aos eqüinos do grupo controle. Quando se compara as médias dos grupos C e CAF, obtiveram-se valores de p iguais a 0,0156; 0,0367; 0,0262; 0,0038; 0,0349; 0,0289; 0,0368 e 0,0084 nas etapas 0; 4; 6; 8; 10; 15; 20 e 30 minutos, respectivamente. O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 11,6%.

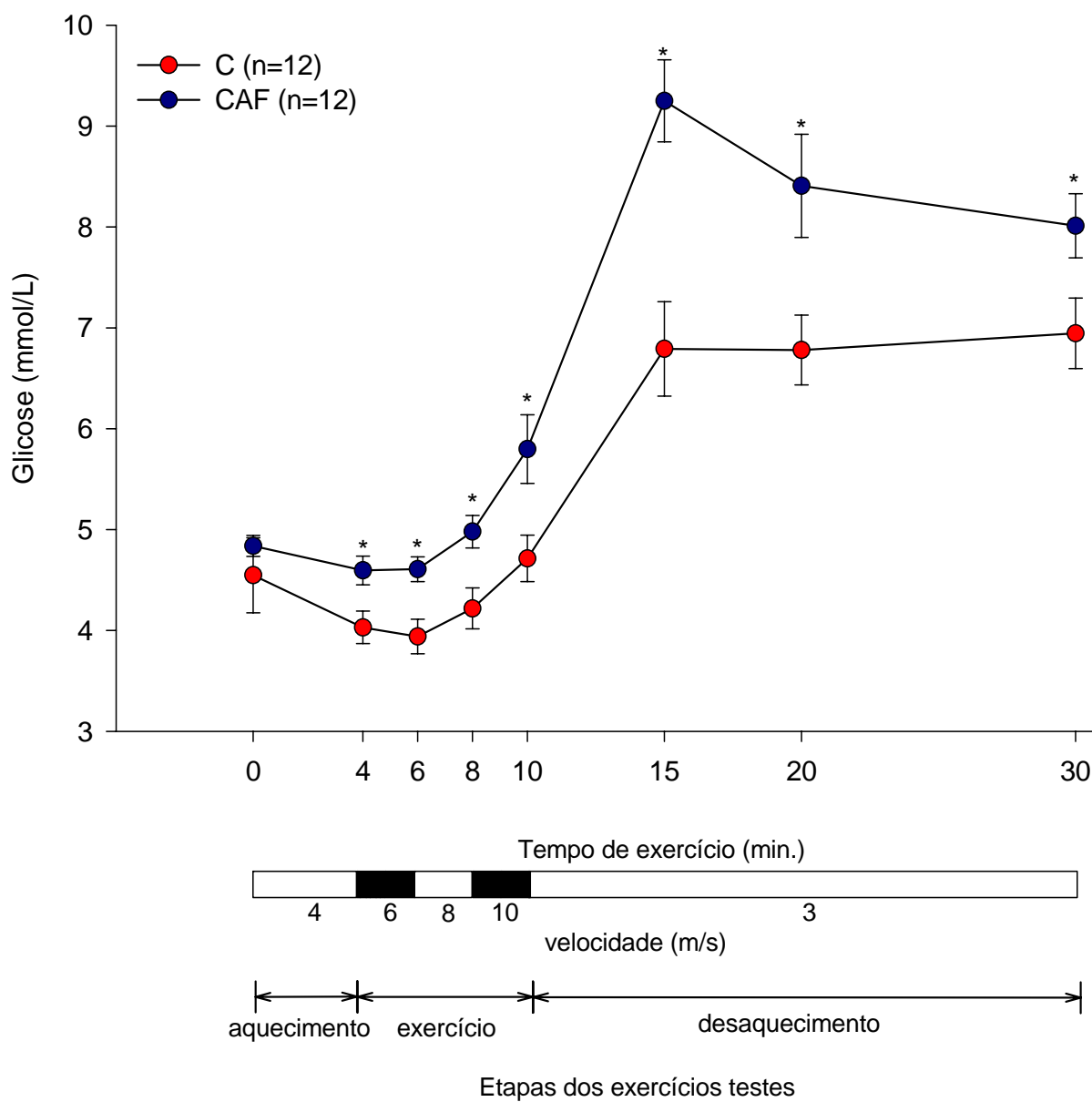


Figura 5. Resposta da glicemia de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. * Aumento estatístico de CAF (cafeína) em relação a C (controle) pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).

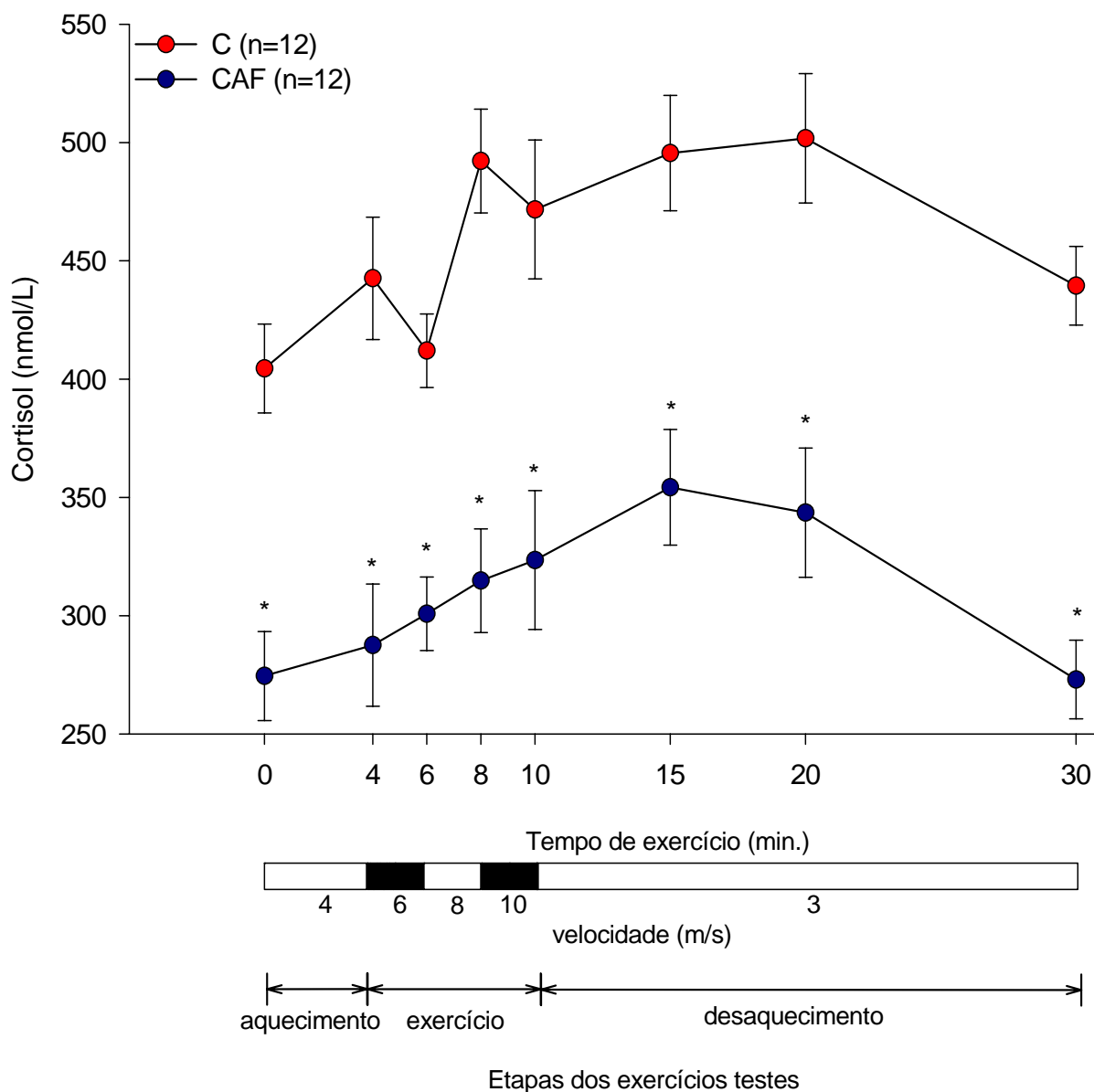


Figura 6. Resposta da concentração plasmática de cortisol de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), após a administração intravenosa de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de cafeína, submetidos a exercício de intensidade crescente em esteira rolante. * Redução estatística de CAF (cafeína) em relação a C (controle) pelo teste t de student para amostras pareadas ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Efeitos (Médias \pm EPM) causados pela administração intravenosa de cafeína sobre variáveis bioquímicas de cavalos submetidos a exercício físico de intensidade crescente.

Variável	Grupos	Etapas do exercício							
		velocidade (m.s ⁻¹)							
	R	4	6	8	10	5	10	20	
Glicose (mmol/L)	C	4,54 \pm 0,37	4,03 \pm 0,16	3,94 \pm 0,17	4,21 \pm 0,20	4,71 \pm 0,23	6,79 \pm 0,46	6,77 \pm 0,34	6,94 \pm 0,35
	CAF	4,83 \pm 0,10	4,59 \pm 0,14*	4,60 \pm 0,12*	4,97 \pm 0,16*	5,79 \pm 0,33*	9,25 \pm 0,40*	8,40 \pm 0,51*	8,01 \pm 0,31*
Insulina (pmol/L)	C	56 \pm 7	40 \pm 6	43 \pm 6	37 \pm 3	22 \pm 4	48 \pm 13	51 \pm 11	85 \pm 11
	CAF	28 \pm 5*	18 \pm 2*	17 \pm 3*	13 \pm 3*	10 \pm 2*	3 \pm 1*	15 \pm 4*	14 \pm 7*
Cortisol (nmol/L)	C	404 \pm 50	442 \pm 54	412 \pm 35	492 \pm 49	471 \pm 55	495 \pm 58	501 \pm 65	439 \pm 35
	CAF	274 \pm 18*	287 \pm 25*	300 \pm 15*	314 \pm 21*	323 \pm 29*	354 \pm 24*	343 \pm 27*	272 \pm 16*

R= repouso. C (n=12), controle, salina 0,9%. CAF (n=12), cafeína, 5,0 mg.kg⁻¹, IV. * Diferença estatística entre C e CAF pelo teste t de student para amostras pareadas (p \leq 0,05). EPM= erro padrão da média.

DISCUSSÃO

Concebeu-se estudar os efeitos da administração aguda de cafeína sobre algumas variáveis fisiológicas de eqüinos, durante o exercício intenso em esteira rolante.

Atualmente, tanto na espécie humana como na eqüina, é grande o interesse pela busca de protocolos que venham a contribuir para o aumento do desempenho atlético nas competições de elite. Basicamente, a forma esperada é o emprego do treinamento e a busca de técnicas que visem o seu aperfeiçoamento. Neste sentido, a fisiologia do exercício da espécie eqüina torna-se ferramenta imprescindível dos profissionais que atuam na atividade eqüestre esportiva. Prova cabal disto, é o emprego cada vez mais freqüente de profissionais com sólida formação científica no treinamento de atletas da espécie humana.

Infelizmente, o treinamento por vezes é um caminho trabalhoso e extenso que nem sempre contempla os desejos imediatistas das pessoas que sonham com a vitória. Neste sentido, atualmente a doutrina hedonista representada pelo hiperconsumismo, satisfação financeira e colocação social de destaque, levam algumas pessoas que militam no meio eqüestre ao emprego de práticas onde os cavalos são submetidos à dopagem.

Tobin, em 1981, no seu livro intitulado “Drogas e a Performance em Eqüinos”, disserta sobre os casos de doping, com o emprego de várias substâncias e seus efeitos nos cavalos de esporte. Juntamente com os antiinflamatórios, opióides e anestésicos locais, os estimulantes do sistema nervoso central (SNC) são intensamente utilizados. Incluem-se neste grupo as metilxantinas que são empregadas de maneira lícita ou ilícita.

Desta maneira, vários pesquisadores visaram estudar a farmacocinética (QUEIROZ-NETO et al., 2001) e a farmacodinâmica (SAVAGE et al., 2005) da cafeína e de seus metabólitos sobre a espécie eqüina.

A maioria dos estudos com cafeína na espécie humana utiliza doses abaixo de 10 mg.kg^{-1} (DODD, 1993). Já na espécie eqüina, QUEIROZ-NETO et al. (2001)

determinaram a dose máxima inefetiva de cafeína sendo de $2,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ intravenosamente. No presente estudo empregou-se a dose de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ i.v., 30 minutos antes do exercício. A escolha desta dose foi feita com base em pesquisas que avaliaram a atividade locomotora espontânea (ALE) em eqüinos. Sendo assim, na dose de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$, QUEIROZ-NETO et al. (2001) demonstraram que ocorre aumento da ALE 25 minutos após a administração intravenosa de cafeína.

Na espécie humana, os efeitos ergogênicos oriundos da ingestão de cafeína estão bem documentados (MAGKOS e KAVOURAS, 2005). Por outro lado, em eqüinos, os resultados são contraditórios sendo que KUROSAWA et al. (1998) sugeriram melhoria na capacidade cardiorespiratória, e SAVAGE et al. (2005) afirmaram não haver diferença nas mesmas variáveis fisiológicas analisadas pelo estudo anterior. No presente estudo, observa-se que o exercício, unicamente, é capaz de promover o aumento do hematócrito (Tabela 1 e Figura 3). Este fato está enfatizado na literatura estando relacionado à contração esplênica causada pela maior quantidade de catecolaminas circulantes, devido ao estresse inerente ao exercício (KUROSAWA et al., 1999). O fato do hematócrito ter sido superior nos eqüinos que receberam cafeína pode, da mesma forma, ser explicado por maior liberação de adrenalina/noradrenalina por esta substância. Neste contexto, segundo KUROSAWA et al., (1999), a cafeína estimula a medula da adrenal aumentando a liberação de adrenalina. Um outro mecanismo, que poderia ser aventado, decorreria da inibição da enzima fosfodiesterase que acarretaria em aumento da concentração intracelular de AMPc, proveniente da ativação de receptores β -adrenérgicos (TOBIN, et al., 1979). Desta forma pode-se sugerir, além do aumento de adrenalina circulante, devido ao estímulo adrenal, um aumento da liberação simpática neural de noradrenalina devido ao acúmulo do AMPc decorrente da sensibilização de receptores β_2 -adrenérgicos pré-sinápticos, acarretaria, segundo ADAMS (2001), ao contrário do estímulo α_2 -adrenérgicos pré-sinápticos, uma maior excitose de noradrenalina pelo terminal nervoso.

Com relação ao lactato, a Tabela 1 e Figura 2B revelam que seus valores máximos duplicaram nos eqüinos que receberam cafeína. Este fato sugere que a

produção de ácido láctico aumenta quando ocorre administração de cafeína antes do exercício o que também pode ser explicado pela elevação de catecolaminas, promovendo glicogenólise e glicólise anaeróbica na fibra muscular (GEOR et al., 2000a). Este aspecto está de acordo com KUROSAWA et al. (1998), que relataram que a cafeína pode incrementar o metabolismo anaeróbico melhorando a capacidade atlética, durante o exercício intenso.

A relação entre a lactacidemia e a velocidade com que é obtida é frequentemente utilizada para avaliar o condicionamento do cavalo atleta. O termo $V_{[LAC]}$ é utilizado para representar a velocidade que a concentração sanguínea de lactato [LAC] atinge determinado valor (LELEU et al., 2005). Sendo assim, V_2 e V_4 são as velocidades que produzem [LAC] de 2 e 4 mmol/L, respectivamente. Tanto a V_2 como a V_4 foram menores no grupo que recebeu cafeína (Tabela 1 e Figura 2B). Segundo TRILK et al. (2002), quanto maior for o valor de V_4 melhor a capacidade aeróbia de eqüinos. Desta maneira, a administração de cafeína associada ao exercício intenso reduz a resistência à fadiga muscular. Entretanto, como discutido anteriormente, a cafeína pode melhorar a potência anaeróbica para exercícios intensos e de curta duração.

De maneira similar, a relação entre a velocidade e a FC costuma ser utilizada na avaliação do potencial atlético. Respectivamente, a V_{180} e a V_{200} representam as velocidades que a FC atinge 180 e 200 batimentos/min (COUROUCÉ et al., 1998). Estudos mostram que a cafeína causa cronotropismo positivo no coração (KUROSAWA et al., 1998; SAVAGE et al. 2005), contudo, a Tabela 1 e a Figura 2A mostram que ambas V_{180} e a V_{200} foram maiores nos eqüinos que receberam cafeína, indicando redução na frequência cardíaca neste grupo. Este resultado pode ser explicado pela resposta reflexa vagal (WHITSETT et al., 1984) decorrente do inotropismo positivo provocado pela cafeína, já que a mesma aumenta a concentração intracelular de cálcio no miocárdio (YATANI et al., 2004) via receptor de rianodina (MAGKOS e KAVOURAS, 2005).

Os carboidratos, na forma de glicogênio muscular e glicose plasmática, são importantes substratos para a contração da musculatura esquelética. Neste estudo,

avaliou-se a dinâmica da glicemia frente ao exercício intenso e à administração de cafeína. A concentração de glicose plasmática (Tabela 2 e Figura 5) diminuiu no início do exercício, aumentando nas etapas de esforço subseqüentes. Elevações na glicemia durante o exercício intenso são freqüentemente observadas, sendo um achado consistente com a literatura (TRILK et al., 2002; SIMÕES et al., 2003). A glicose plasmática é mobilizada pela musculatura no início do exercício e uma pequena redução na glicemia é observada (TRILK et al., 2002). Com a continuidade do exercício, ocorre aumento da glicemia devido ao incremento da glicogenólise e neoglicogênese (SIMÕES et al., 2003) pela ação da atividade adrenérgica (GEOR et al., 2000a). Como verificado na Figura 5, a cafeína exacerbou a atividade das catecolaminas aumentando a glicemia. Adicionalmente, a insulinemia (Tabela 2 e Figura 4) foi significativamente menor para o grupo que recebeu cafeína. Este fato pode ser explicado pela ação adrenérgica, exacerbada pela cafeína, sobre receptores α_2 presentes nas células β pancreáticas que, quando estimulados, inibem a secreção de insulina (GEOR et al., 2000b).

Outro ponto a ser considerado a respeito do aumento da atividade neuronal simpática, induzida pela administração de cafeína durante o esforço físico intenso, é a relação existente entre a elevação da glicemia e da lactacidemia. Evidenciado tanto por estudos na espécie humana (SIMÕES et al., 1999) como eqüina (GEOR et al., 2000a), a ação das catecolaminas aumenta a disponibilidade de glicose, bem como a produção de ácido láctico. Neste estudo, este dado foi confirmado tendo em vista os resultados de lactacidemia máxima (Tabela 1 e Figura 2B) e hiperglicemia (Tabela 2 e Figura 5).

A resposta adrenocortical, relacionada ao exercício, tem sido exaustivamente estudada devido a sua interferência sobre o metabolismo no que tange a mobilização de substrato energético para a contração muscular (MCKEEVER, 2002). Durante o exercício intenso, elevações na concentração plasmática de cortisol sugerem que este hormônio promove neoglicogênese hepática e muscular, aumentando a biodisponibilidade de glicose, principalmente para o sistema nervoso central (SNC). Especula-se que este fato contribui com o desempenho atlético, postergando a fadiga

decorrente de hipoglicemia no SNC (WILMORE e COSTILL, 1994). Os resultados obtidos neste estudo (Tabela 2 e Figura 6) sugerem que a cafeína inibe o eixo da tríade cortisol-glicemia-prevenção da fadiga no SNC. Estudo realizado na espécie humana (LOVALLO et al., 2006) encontrou resultados diferentes daqueles obtidos neste estudo. Estes autores afirmaram que a cafeína induz elevações nas concentrações plasmáticas de cortisol. Tanto o bloqueio dos receptores de adenosina como a interferência na fosfodiesterase, eleva a disponibilidade intracelular de AMPc que estimula a expressão gênica para produção do hormônio liberador de corticotropina, que atua na adenohipófise estimulando a produção e liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH). Este, por sua vez, interage no córtex da adrenal aumentando a produção de cortisol (AL'ABSI et al., 1998). Uma possível interpretação para esta contradição seria uma resposta menor do eixo hipotálamo-adenohipófise-córtex da adrenal dos eqüinos que receberam cafeína, deslocando o controle da glicemia para outros sistemas hormonais (KUROSAWA et al., 1998). Este processo pode ser evidenciado, indiretamente, pela intensa resposta catecolaminérgica que ocorre durante o esforço máximo, tendo em vista as alterações observadas nas variáveis fisiológicas estudadas. Outra explicação para este fato seria que a cafeína, sendo uma substância psicoestimulante (MAGKOS e KAVOURAS, 2005), que melhora a função motora e cognitiva do sistema nervoso central em indivíduos da espécie humana (DIXIT et al., 2006), contribuiu para redução da resposta estressante induzida pelo exercício, diminuindo a produção de cortisol em eqüinos. Esta hipótese encontra respaldo no trabalho de MULLER et al (2006) que trabalhando com seres humanos observaram que a administração de levodopa, um fármaco que eleva a atividade dopaminérgica, também diminuiu a cortisolemia.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na lactacidemia, glicose e cortisol plasmáticos sugerem que a cafeína promova melhora na adaptação de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe

(PSA) durante o exercício intenso, pois, apesar de diminuir a capacidade oxidativa, aumentou a via da glicólise anaeróbica.

REFERÊNCIAS (ABNT - NRB-6023, agosto de 2002)

ADAMS, H. R. **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 8th ed. Iowa: Iowa State University Press, 2001, 1201 p.

AL'ABSI, M.; LOVALLO, W. R.; MCKEY, B.; SUNG, B. H.; WHITSETT, T.L.; WILSON M. F. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical responses to psychological stress and caffeine in men at high and low risk for hypertension. **Psychosomatic Medicine**, Hagerstown v. 60, n. 4, p. 521-527, 1998.

COUROUCÉ, A. Endurance and sprint training. In:CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE, 1998, Cordoba, Espanha. **Anais...** The Netherlands: Wageningen Pers, 1998. 272p. p.190-202.

DYKE, T. M. Post-exercise acidosis and other determinants of the urinary concentration of drugs. **Proceedings of the Testing for Therapeutics Medications, Environmental and Dietary Substances in Racing Horses**, Lexington, 1994, 175-183 p.

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; D'ANGELIS, F. H. F.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Long-term creatine supplementation improves the aerobic capacity of horses. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 514-519, 2006.

FREDHOLM, B. B.; BÄTTIG, K.; HOLMÉN, J.; NEHLIG, A.; ZVARTAU, E. E. Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors That Contribute to Its Widespread Use. **Pharmacological Reviews**, Bethesda, v. 51, n. 1, p. 83-133, 1999.

GARRET, B. E.; GRIFFITHS, R. R. The role of dopamine in the behavioral effects of caffeine in animals and humans. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, Brighton, v. 57, p. 533-541, 1997.

DODD, S. L.; HERB, R. A.; POWERS, S. K. Caffeine and exercise performance. An update. **Sports Medicine**, Auckland, v. 15, n. 1, p. 14-23, 1993.

GEOR, R. J.; HINCHCLIFF, K.W.; MCCUTCHEON, L.J.; SAMS, R. A. Epinephrine inhibits exogenous glucose utilization in exercising horses. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 88, n. 5, p. 1777–1790, 2000a.

GEOR, R. J.; HINCHCLIFF, K. W.; SAMS R. A. β -Adrenergic blockade augments glucose utilization in horses during graded exercise **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 89, p. 1086–1098, 2000b.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v. 56, p. 35-39, 1971.

GRAHAM, D. M. Caffeine – Its identity, dietary sources, intake and biological effects. **Nutrition Reviews**, Birmingham, v. 36, p. 97-102, 1978.

KAMBER, M.; BAUME, N.; SAUGY, M.; RIVIER, L. Nutritional supplements as a source for positive doping cases? **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, Tallahassee, v. 11, n. 2, p. 258-263, 2001.

KUROSAWA, M.; NAGATA, S.; TAKEDA, F.; MIMA, K.; HIRAGA, A.; KAI, M.; TAYA, K. Effects of caffeine and promazine hydrochloride on plasma catecholamines in thoroughbreds at rest and during treadmill exercise. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, Newmarket, v. 30, p. 596-600, 1999.

KUROSAWA, M.; NAGATA, S.; TAKEDA, F.; MIMA, K.; HIRAGA, A.; KAI, M.; TAYA, K. Effects of caffeine on performance, cardiorespiratory function and plasma hormonal responses during exhaustive treadmill exercise in the thoroughbred horse. **Journal Equine Science**, Tsubone, v. 9, n. 2, p. 33-43, 1998.

LELEU, C.; COTREL, C.; COUROUCE-MALBLANC, A. Relationships between physiological variables and race performance in French standardbred trotters **The Veterinary Record**, London, v. 156, n. 11, p. 339-342, 2005.

LOVALLO, W. R., FARAG, N. H., VICENT, A. S., THOMAS, T. L., WILSON, M. F. Cortisol responses to mental stress, exercise, and meals following caffeine intake in men and women. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, Brighton, v. 83, n. 3, p. 441-447, 2006.

MAGKOS, F.; KAVOURAS, S. A. Caffeine and ephedrine: physiological, metabolic and performance-enhancing effects. **Sports Medicine**, Auckland, v. 34, n. 13, p. 871-889, 2005.

MCKEEVER, K. H. The endocrine system and the challenge of exercise. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, Orlando v. 18, p. 321–353, 2002.

MULLER, T.; WELNIC, J.; MUHLACK, S. Acute levodopa administration reduces cortisol release in patients with Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission**, Vienna. p. 1435-1463, 2006.

QUEIROZ-NETO, A.; ZAMUR, G.; CARREGARO, A. B.; MATAQUEIRO, M. I.; SALVADORI, M. C.; AZEVEDO, C. P.; HARKINS, J. D.; TOBIN, T. Effects of caffeine on

locomotor activity of horses: determination of the no-effect threshold. **Journal of Applied Toxicology**, Hoboken v. 21, n. 3, p. 229-234, 2001.

SAVAGE, K. A.; COLAHAN, P. T.; TEBBETT, I. R.; RICE, B. L.; FRESHWATER L. L.; JACKSON, C. A. Effects of caffeine on exercise performance of physically fit Thoroughbreds. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 66, n. 4, p. 569-573, 2005.

SIMÕES, H. G.; CAMPBELL, C. S. G.; BALDISSERA, V.; DENADAI, B. S.; KOKUBUN, E. Determinação do limiar anaeróbio por meio de dosagens glicêmicas e lactacidêmicas em teste de pista para corredores. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v.12, n.1, p.17-30, 1998.

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

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

TOBIN, T.; COMBIE, B. S.; SHULTS, B. S. Pharmacology Review: Actions of Central Stimulant Drugs in the horse II. **Journal Equine Medicine and Surgery, Newmarket**, v. 3, p. 102-109, 1979.

TOBIN, T. **Drugs and the Performance Horse**, 1st ed. Springfield: Thomas Books Pub., 1981, 463 p.

TOBIN, T.; HARKINS, J. D.; WOODS, W. E.; QUEIROZ-NETO, A. STANLEY, S. D.; MUNDY, G. D. Overview of dietary, environmental, and endogenous substances of regulatory concern in racing horses. **AAEP PROCEEDINGS...** v. 41, 1995.

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

WHITSETT, T. L.; MANION, C. V.; CHRISTENSEN, H. D. Cardiovascular effects of coffee and caffeine. **The American Journal of Cardiology**, Dallas v. 53, n. 918-22, 1984.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. Hormonal regulation of exercise. In: Wilmore, J. H.; Costill, D. L, eds. Champaign, IL: **Human Kinetics**, Illinois p. 122-143, 1994.

YATANI, A.; KIM, S. J.; KUDEJ, R. K.; WANG, Q.; DEPRE, C.; IRIE, K.; KRANIAS, E. G.; VATNER, S. F.; VATNER, D. E. Insights into cardioprotection obtained from study of cellular Ca^{2+} handling in myocardium of true hibernating mammals **American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology**, Bethesda v. 286, n. 6, p. H2219-H2228, 2004.

CAPÍTULO 4 – AMINOFILINA PODE PREJUDICAR O CONTROLE DA GLICEMIA, MAS MELHORA A CAPACIDADE GLICOLÍTICA DE EQUINOS NO EXERCÍCIO INTENSO.

RESUMO

Estudaram-se os efeitos da administração aguda de aminofilina sobre o desempenho atlético de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA). Utilizaram-se 12 eqüinos, submetidos a dois testes físicos com dez dias de intervalo entre eles. Esses eqüinos compuseram 2 grupos: controle (C, n=12) e aminofilina (AM, n=12). Administrou-se, pela via intravenosa 10 mg.kg^{-1} de peso corpóreo de aminofilina ou salina, 30 minutos antes do teste de esforço. Os animais foram aquecidos por 4 minutos a $4,0 \text{ m.s}^{-1}$. Na seqüência, a esteira foi inclinada (10%) e a velocidade foi gradativamente aumentada, a intervalos de 1 minuto, para 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10 m.s^{-1} . A partir desta etapa de esforço máximo, procedeu-se a desaceleração, retomando a velocidade para $3,0 \text{ m.s}^{-1}$, por 20 minutos, que correspondeu ao período de desaquecimento ativo. Com as amostras de sangue foram dosados, lactacidemia, glicemia e insulinemia. A lactacidemia máxima foi maior ($P=0,0238$) para o grupo AM. Tanto a V_4 como a V_2 tiveram redução para o grupo AM de 17,76% ($P=0,0109$) e 15,85% ($P=0,0402$), respectivamente. Tanto no repouso como no momento 4 min, a insulinemia foi maior para o grupo AM sendo que os valores de P foram de 0,0417 e 0,0393, respectivamente. O grupo AM obteve redução estatística da glicemia nos momentos 8 e 10min, sendo que os valores de P foram de 0,0138 e 0,0432, respectivamente. A associação entre aminofilina e o exercício intenso pode ser prejudicial ao desempenho atlético, no que tange a tendência de hipoglicemia que este fármaco provoca apesar da melhora anaeróbica observada.

Palavras-Chave: Aminofilina, exercício, eqüinos, glicose, insulina.

INTRODUÇÃO

A aminofilina é um fármaco resultante da combinação da teofilina (84%) e da etilenodiamina (15%). A teofilina, juntamente com a cafeína e a teobromina, é um alcalóide do grupo das metilxantinas, estreitamente relacionadas e que ocorrem em diversas plantas sendo utilizadas no mundo inteiro. Todas apresentam baixa solubilidade, que melhora pela formação de complexos como o da aminofilina. A aminofilina, ou seja, o teofilinato de etilenodiamina, encontra-se amplamente indicada para o tratamento de enfermidades respiratórias (BUENO, 2003). Esse fármaco possui ação broncodilatadora mais efetiva se comparado à outras xantinas como a teobromina e a cafeína. Não obstante, são observados também efeitos farmacológicos de estimulação sobre o sistema nervoso central (SNC), cardiovascular, musculatura esquelética e urinária sendo, segundo BRUMBAUGH (1992), observadas manifestações clínicas tais como intranqüilidade, excitação, tremores musculares, taquicardia e taquipnéia.

Terapeuticamente, é utilizada como broncodilatador em eqüinos acometidos por enfermidades respiratórias broncoconstritoras (LAVOIE, 2003). Promove broncodilatação através da inibição competitiva da fosfodiesterase nucleotídeocíclica, enzima que catalisa a conversão de 3'5' adenosinamonofosfato cíclico (AMPC) a adenosinamonofosfato (5'AMP). Com o aumento da concentração intracelular de AMPC, ocorre ativação de uma proteína cinase que, por sua vez inibe uma enzima denominada cinase de cadeia leve da miosina, a qual promove a contração da musculatura lisa brônquica (GÓRNIAK, 2006). Este fármaco tem sido empregado como doping em eqüinos atletas (TOBIN, 1981).

Em atletas da espécie humana, outras xantinas, como a cafeína, aumentam o desempenho atlético tanto no exercício intenso (PALUSKA, 2003) como naqueles de intensidade sub-máxima (MAGKOS e KAVOURAS, 2005).

Com relação aos efeitos ergogênicos da aminofilina, existem poucos estudos sobre o tema. Pesquisa sobre a farmacocinética e os efeitos cardio-

respiratórios após a administração crônica e oral na dose de $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ de peso corpóreo de aminofilina apontou para a redução no desempenho atlético de eqüinos (INGVAST-LARSSON et al., 1989). Por outro lado foi descrito o incremento da capacidade atlética após a administração de $4,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ de aminofilina em indivíduos da espécie humana (GREER et al., 2000).

Outra abordagem é a ação das xantinas sobre variáveis metabólicas e endócrinas envolvidas na regulação do substrato energético para a contração muscular durante o exercício. Um estudo com ciclistas treinados mostrou elevações na glicemia e lactacidemia durante o exercício realizado a 75% do $\text{VO}_{2\text{máx}}$ (RAGUSO et al., 1996). Em eqüinos, INGVAST-LARSSON et al. (1989) revelaram que a aminofilina aumenta a dependência de energia produzida pela via anaeróbica durante o esforço físico com intensidade crescente. Como existe pouca informação sobre este tema, os propósitos deste estudo foram investigar o potencial ergogênico e as respostas endócrinas e metabólicas relacionadas com o controle da glicemia de eqüinos, submetidos à administração aguda de aminofilina e ao exercício de intensidade crescente em esteira rolante.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Utilizaram-se 12 eqüinos treinados (FERRAZ et al., 2006), machos ou fêmeas, Puro Sangue Árabe (PSA), todos provenientes do Setor de Eqüinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, com peso corpóreo médio (\pm E.P.M.) de $390 \pm 25,4$ kg e idade média de $8,6 \pm 3,3$ anos. Objetivando-se a exclusão de intercorrências os eqüinos foram submetidos a exame clínico completo e, estando aparentemente hígidos, foram selecionados para comporem os grupos experimentais.

Protocolo do exercício teste (ET)

Os eqüinos foram adaptados ao exercício em esteira rolante de alto desempenho¹ e submetidos ao exercício teste (ET) com duração de 30 minutos. Para tanto, empregou-se exercício de aquecimento durante 4 minutos a uma velocidade de $4,0 \text{ m.s}^{-1}$, a qual foi incrementada, a intervalos de 1 minuto, para 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10 m.s^{-1} . A partir desta etapa de esforço máximo, procedeu-se a desaceleração, retomando a velocidade para $3,0 \text{ m.s}^{-1}$, por 20 minutos, que correspondeu ao período de desaquecimento ativo. Toda a fase de esforço físico, com incremento da velocidade, foi realizada com a esteira a 10% de inclinação.

Momentos de colheita

Para determinação da frequência cardíaca (FC) e lactacidemia utilizou-se os momentos 0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10,0 minutos, na fase de exercício. Na fase de desaquecimento ativo empregaram-se os momentos 15; 20 e 30 minutos. As outras variáveis fisiológicas, hematócrito, glicose, insulina e cortisol foram determinadas nos momentos 0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 minutos na fase de

¹ Esteira Galloper®, Sahinco LTDA, Palmital, SP, Brasil.

exercício. Para a fase de desaquecimento aproveitaram-se os mesmos momentos descritos para a FC e lactacidemia.

Amostras de sangue

Para obtenção das amostras de sangue foi criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleceu procedimentos adequados para a colheita, processamento e armazenamento. As colheitas de sangue foram realizadas 15 segundos antes do término de cada etapa de velocidade do exercício teste. Previamente à realização do exercício, os animais foram tricotomizados e assepticamente preparados para venocateterização, utilizando-se a veia jugular esquerda como ponto de colheita. Acoplou-se ao cateter intravenoso², um tubo extensor³ para facilitar as colheitas com o animal em movimento. Após cada colheita, todo o conjunto era lavado com solução de heparina a 2,5%. Pelo procedimento, desprezavam-se 2,0 mL de sangue, advindos do início de cada venopunção.

Grupos experimentais

Os eqüinos utilizados no presente estudo compuseram-se em dois grupos experimentais, controle (C, n=12) e aminofilina (AM, n=12), sendo submetidos a dois testes físicos com dez dias de intervalo entre eles, sendo utilizado delineamento do tipo “cross-over”. No primeiro teste, aos componentes do grupo controle foi administrado, pela via intravenosa, solução salina⁴ 0,9%. Já no segundo teste, foi administrado aminofilina⁵, 30 minutos antes do exercício teste (ET), intravenosamente, na dose de 10 mg.kg⁻¹ de peso corpóreo.

² Cateter Insyte™ 14GAX1.75IN 2,1 x 45 mm –330mL/min., Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda, SP, Brasil.

³ Tubo extensor 10 Fr5 x 60 cm, Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda, SP, Brasil.

⁴ Solução Injetável de Cloreto de Sódio à 0,9% (Fisiológica)®, Beker, Embu, São Paulo, Brasil.

⁵ Minoton® Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brasil.

Freqüência cardíaca

A FC (bpm) foi estabelecida com um freqüencímetro digital⁶ específico para eqüinos sendo realizadas três aferições a cada etapa de esforço. As médias obtidas em cada etapa de esforço foram compiladas e através da análise de regressão linear obteve-se a V_{180} e V_{200} (velocidades nas quais as freqüências cardíacas são de 180 e 200 bpm, respectivamente).

Lactato

Para dosagem da concentração de lactato, 0,5 mL de sangue foi separado e processado em tubos Eppendorf com 1,0 mL de solução fluoreto de sódio a 1%, que é hipotônica em relação às hemácias, provocando hemólise e inibição da glicólise, prevenindo assim a coagulação sangüínea e a produção de lactato pelas hemácias (SIMÕES et al., 1998). A lactacidemia foi determinada eletroenzimaticamente utilizando-se o lactímetro⁷ sendo que as amostras foram analisadas em duplicatas. As colheitas de sangue foram realizadas 15 seg antes do término de cada etapa de exercício. Através da regressão exponencial dos valores obtidos, determinou-se, individualmente, a V_2 e a V_4 (velocidades que as concentrações sangüíneas de lactato são de 2 e 4 mmol/L, respectivamente). Para determinação da V_2 e V_4 dos grupos experimentais utilizaram-se os valores médios.

Hematologia

Para obtenção das variáveis hematológicas, hematócrito, hemoglobina, hemácias e leucócitos foram utilizadas as etapas de exercício 0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10 m.s⁻¹. Para tanto, empregaram-se aparelhos diluidor⁸ e contador⁹. O hematócrito foi realizado pelo método do microhematócrito (GOLDENFARB et

⁶ Freqüencímetro S610 Polar®, Port Washington, New York, EUA.

⁷ Yelow Springs Instrument Co., Yelow Springs, Ohio, EUA.

⁸ CELM - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos - Alameda Amazonas, 764 - Alphaville - Barueri - SP.

⁹ D.C. 510, CELM® - Equipadora de Laboratórios Modernos - Alameda Amazonas, 764 - Alphaville - Barueri - SP.

al., 1971) e a concentração de hemoglobina foi determinada pela metodologia colorimétrica do cianeto de hemoglobina (HiCN)¹⁰. Todas as amostras foram colhidas em tubos com pressão negativa¹¹ e as análises feitas em duplicatas.

Glicose

As amostras sanguíneas (3,0 mL) destinadas à dosagem de glicose foram obtidas nas mesmas etapas descritas no item hematimetria e processadas com anticoagulante¹² contendo inibidor da glicólise, fluoreto de potássio, e posteriormente analisadas por espectrofotometria¹³.

Insulina

Concomitantemente, 10,0mL de sangue foram obtidos nas mesmas etapas descritas no item hematimetria, acondicionados em tubos com pressão negativa¹⁴, contendo heparina sódica e imediatamente centrifugada sob refrigeração¹⁵ para posterior congelamento do plasma a -20°C. Para dosagem da insulina plasmática empregou-se kit comercial de radioimunoensaio em fase sólida¹⁶ e o coeficiente de variação intra-ensaio foi de 9,4%.

¹⁰ Kit Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil.

¹¹ Tubos EDTA, 5,0 mL Vacutainer BD®, BD – Brasil - Rua Alexandre Dumas, 1976 Chácara Santo Antonio, São Paulo - SP.

¹² Glistab® (Labtest Cat 29),®, Lagoa Santa, MG, Brasil.

¹³ Analisador bioquímica semi automático Labquest (Bio 2000), Barueri, SP.

¹⁴ Tubos EDTA, 5,0 mL Vacutainer BD®, BD – Brasil - Rua Alexandre Dumas, 1976 Chácara Santo Antonio, São Paulo - SP.

¹⁵ ALC - Multispeed refrigerated centrifug PK121R, New Jersey, EUA.

¹⁶ DPC (Coat-a-count) -.Diagnostic Products Corp., Los Angelis, California, EUA.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa computacional SAS System for Windows V8 e os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Para avaliar o efeito do exercício sobre as variáveis fisiológicas foi realizada análise de variância para amostras repetidas, com o objetivo de verificar as diferenças significantes dentro de cada etapa de esforço, seguido pelo teste de Tukey quando necessário. Também foi realizado o teste t de student para amostras pareadas com a finalidade de comparar as diferenças entre os grupos. A associação entre a glicemia e lactacidemia foi examinada pelo cálculo do coeficiente de correlação e pela análise de regressão linear dos quadrados mínimos. Estabeleceu-se 5% como nível de significância ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS

Avaliação do desempenho

A Tabela 1 revela que a lactacidemia elevou-se significativamente ($p \leq 0,05$) conforme intensificou-se o esforço para ambos os grupos. Ao término do exercício houve tendência para recuperação, sendo que as concentrações de lactato sangüíneo igualaram-se, estatisticamente, com as fases iniciais do exercício. Igualmente, a FC aumentou progressivamente ($p < 0,05$), sendo que os valores na fase de desaquecimento tenderam aos valores iniciais, nos dois grupos experimentais.

Com relação à concentração de lactato máximo, o grupo que recebeu aminofilina apresentou concentração média maior ($p = 0,0238$), quando comparado ao grupo controle.

A administração de aminofilina reduziu tanto a V_4 como a V_2 em 17,76 % ($P = 0,0109$) e 15,85% ($P = 0,0402$), respectivamente. Os valores da V_4 e V_2 , para os grupos C e AM estão representados na Figura 1 e foram de 9.23 ± 0.51 , $7.59 \pm 0.64 \text{ m.s}^{-1}$ e 5.99 ± 0.27 , $5.04 \pm 0.25 \text{ m.s}^{-1}$, respectivamente.

Com relação a V_{200} e V_{180} , não houve diferença significativa entre os grupos sendo que os valores para C e AM, foram de $7,71 \pm 0.20$, $7.72 \pm 0.31 \text{ m.s}^{-1}$ ($P = 0,9981$) e 6.57 ± 0.17 , $6.44 \pm 0.34 \text{ m.s}^{-1}$ ($P = 0,8083$).

Glicose e insulina

Os efeitos do exercício sobre a concentração plasmática de insulina estão evidenciados na Tabela 1 e Figura 2A. Houve uma evidente redução ($p < 0,05$) da insulinemia durante o exercício nos dois grupos experimentais que, ao término da fase de exercício, mostrou tendência à recuperação. Tanto no repouso como no momento 4 min, a insulinemia foi maior para o grupo que recebeu aminofilina, sendo que os valores de p foram de 0,0417 e 0,0393, respectivamente. Esta

tendência foi mantida nas outras etapas do exercício teste, entretanto, sem mostrar diferença estatística.

Houve alteração significativa ($p < 0,05$) da glicemia conforme intensificou-se o esforço físico (Tabela 1 e Figura 2B). Como demonstrado na figura 2A, nas etapas iniciais de exercício, ocorreu uma evidente diminuição, sem diferença estatística, na concentração plasmática de glicose que, posteriormente, aumentou estatisticamente. Os eqüinos que receberam aminofilina tiveram redução estatística da glicemia, quando comparado ao grupo controle nos momentos 8 e 10min, sendo que os valores de p foram de 0,0138 e 0,0432, respectivamente. Na fase de desaquecimento, este comportamento foi mantido, apesar de não apresentar diferença estatística.

Hematologia

Não houve diferença estatística entre as variáveis hematológicas entre os grupos experimentais, em todas etapas analisadas.

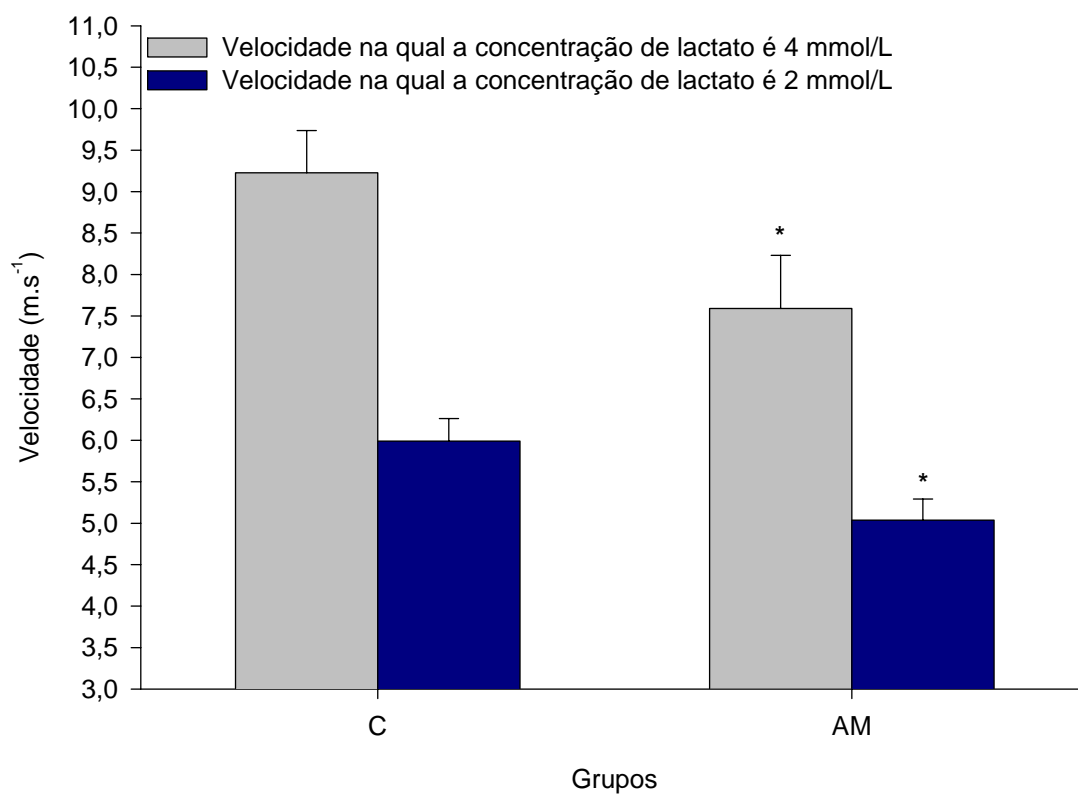


Figura 1. Representação gráfica referente as mudanças na V_4 e V_2 relacionadas com a administração aguda de 10 mg.kg^{-1} de aminofilina, pela via intravenosa, em eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante. $N=12$ para C (controle) e AM (aminofilina). * Indica redução estatística ($p \leq 0,05$) na V_4 e V_2 para o grupo AM.

Tabela 1. Efeitos (Médias \pm EPM) causados pela administração intravenosa de aminofilina sobre a glicemia, insulinemia, lactacidemia e frequência cardíaca de equinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos a exercício físico de intensidade crescente.

Variável	Grupos	Etapas do exercício							
		velocidade (m.s ⁻¹)							
		R	4	6	8	10	5	10	20
Glicose (mmol/L)	C	4,65 \pm 0,38 ^b	4,11 \pm 0,50 ^b	3,87 \pm 0,77 ^b	4,46 \pm 0,21 ^b	4,83 \pm 0,71 ^b	7,10 \pm 0,39 ^a	7,20 \pm 0,45 ^a	7,42 \pm 0,35 ^a
	AM	4,90 \pm 0,30 ^b	4,21 \pm 0,18 ^b	3,83 \pm 0,13 ^b	3,85 \pm 0,11 ^{b*}	4,04 \pm 0,64 ^{b*}	6,45 \pm 0,49 ^a	7,07 \pm 0,41 ^a	6,59 \pm 0,41 ^a
Insulina (pmol/L)	C	50 \pm 5 ^{ab}	35 \pm 5 ^{abc}	38 \pm 5 ^{abc}	32 \pm 2 ^{bc}	19 \pm 3 ^c	37 \pm 9 ^{bc}	49 \pm 9 ^{abc}	72 \pm 10 ^a
	AM	90 \pm 13 ^{a*}	58 \pm 8 ^{ab*}	51 \pm 8 ^{ab}	41 \pm 2 ^b	51 \pm 5 ^b	68 \pm 10 ^{ab}	72 \pm 8 ^{ab}	74 \pm 13 ^{ab}
Lactato (mmol/L)	C	0,70 \pm 0,04 ^c	0,90 \pm 0,07 ^c	2,22 \pm 0,29 ^{bc}	3,92 \pm 0,63 ^b	6,83 \pm 0,53 ^a	8,58 \pm 0,94 ^a	6,57 \pm 1,31 ^a	3,20 \pm 0,71 ^{bc}
	AM	0,80 \pm 0,06 ^e	1,02 \pm 0,16 ^e	2,45 \pm 0,30 ^{de}	5,46 \pm 0,92 ^{cd*}	9,71 \pm 1,25 ^{ab*}	10,74 \pm 1,23 ^{a*}	10,42 \pm 1,27 ^{a*}	6,56 \pm 1,07 ^{bc*}
FC (bpm)	C	63 \pm 4 ^e	118 \pm 7 ^d	185 \pm 10 ^b	206 \pm 4 ^{ab}	224 \pm 2 ^a	142 \pm 4 ^c	132 \pm 6 ^{cd}	113 \pm 5 ^d
	AM	76 \pm 10 ^d	123 \pm 7 ^c	181 \pm 7 ^b	198 \pm 6 ^{ab}	226 \pm 2 ^a	122 \pm 5 ^c	120 \pm 5 ^c	112 \pm 3 ^c

R= repouso. C (n=12), controle, salina 0,9%. AM (n=12), aminofilina, 10,0 mg.kg⁻¹, IV. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as etapas de exercício. * Indica diferença estatística entre C e AM (p \leq 0,05). EPM= erro padrão da média.

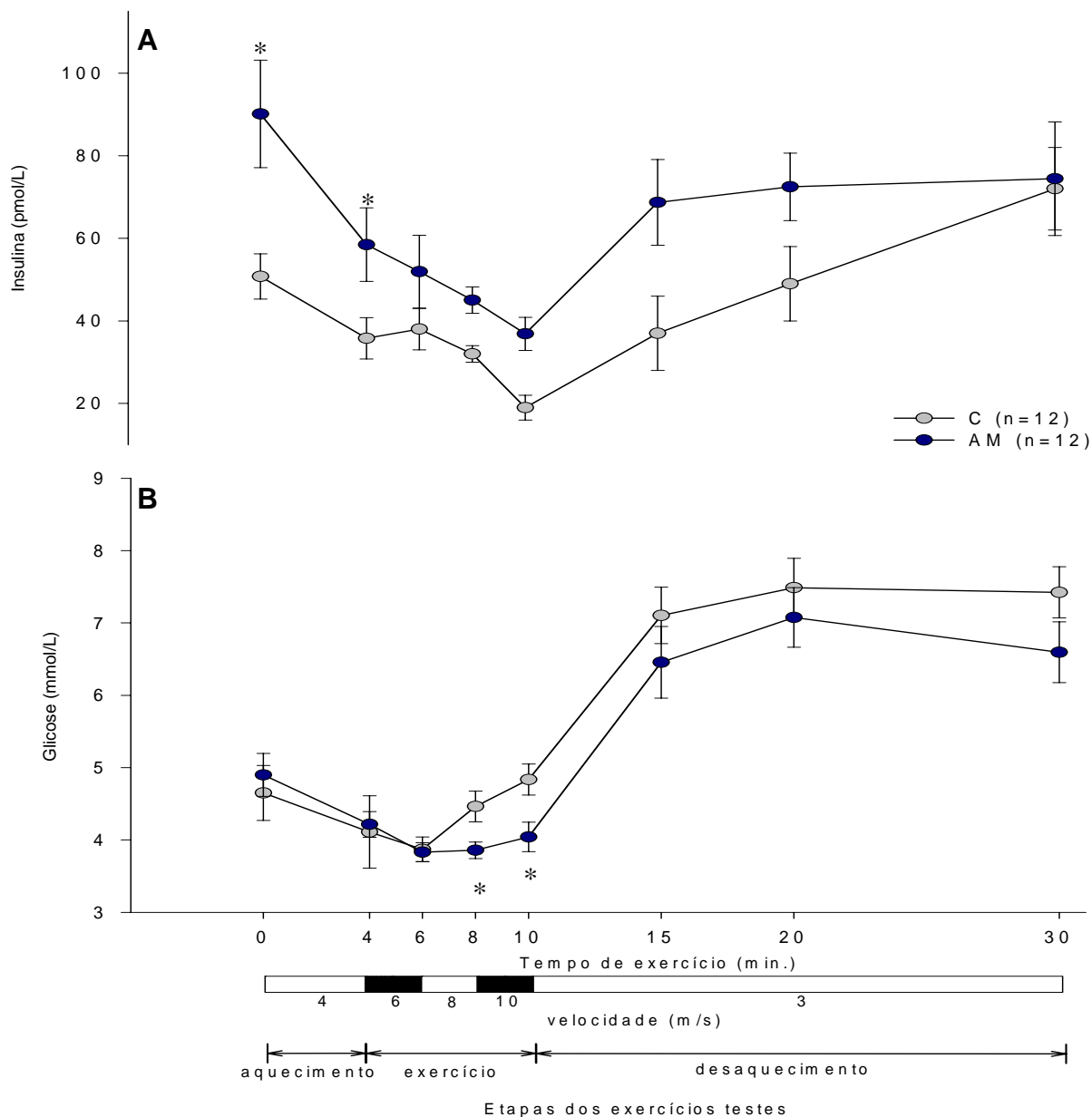


Figura 2. Representação gráfica referente aos valores de insulinemia (A) e glicemia (B) de eqüinos durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante e submetidos à administração intravenosa de $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de aminofilina (AM) ou solução fisiológica 0,9% (C). * Indica diferença estatística entre AM e C.

DISCUSSÃO

Este estudo examinou os efeitos da administração intravenosa de aminofilina associada com a prática de exercício intenso, sobre algumas variáveis fisiológicas que participam do controle da glicemia de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA).

A FC elevou-se conforme a intensificação do esforço físico (Tabela 1). Este achado está de acordo com a literatura que relata este comportamento fisiológico, decorrente de evidente aumento da atividade simpática com expressiva liberação de catecolaminas, que ao estimularem receptores β_1 -adrenérgicos cardíacos promovem efeito cronotrópico e inotrópico positivo (BETROS et al., 2002).

Com relação à lactacidemia os resultados estão de acordo com estudos realizados na espécie humana (SIMÕES et al., 2003) e eqüina (FERRAZ et al., 2006). Em resposta ao esforço físico, a produção de lactato excede sua utilização e eliminação, ocorrendo difusão do excesso para o sangue (SIMÕES et al., 2003; LELEU et al., 2005). Especula-se que um aumento da concentração de lactato no músculo e, secundariamente, no sangue, durante o exercício, deve-se principalmente à redução da taxa de oxigênio na mitocôndria, impedindo uma combustão aeróbica de carboidratos (EVANS, 2000).

Existe pouca informação científica a respeito dos efeitos da aminofilina sobre o desempenho atlético de eqüinos. Único estudo, INGVAST-LARSSON et al. (1989) determinaram que a aminofilina reduz a capacidade atlética, pois eleva a lactacidemia em eqüinos hígidos durante o exercício. Esta informação está de acordo com os dados de lactacidemia obtidos no presente estudo (Tabela 1). A explicação clássica para este fato, tanto na espécie humana (GREER et al., 2000) quanto na eqüina (INGVAST-LARSSON et al. 1989) seria o aumento das catecolaminas devido à ação estimulante das metilxantinas sobre a medula da adrenal favorecendo a glicogenólise com produção de lactato pela fibra muscular esquelética (KUROSAWA et al., 1999). Por outro lado, do ponto de vista

farmacodinâmico, os resultados do presente trabalho, relativos à frequência cardíaca, V_{180} e V_{200} (Tabela 1 e Figura 1) mostraram que não houve diferenças significativas nessas variáveis, quando se comparou as médias do grupo C com àquelas dos eqüinos que receberam aminofilina. Para se explicar tal discrepância pode-se especular se a aminofilina não teria menor capacidade de estimular a liberação de adrenalina pela medula da adrenal, do que a cafeína.

Recentemente um estudo apontou que a aminofilina pode atuar tanto como agonista de receptores de rianodina como ser antagonista de receptores de adenosina A_1 , localizados no terminal pré-sináptico da junção neuromuscular que, quando sensibilizados elevam a concentração intracelular de cálcio e AMPc, respectivamente. Ambas ações aumentam a liberação de acetilcolina na fenda sináptica (NICKELS et al., 2006), estimulando o processo de acoplamento excitação-contração da fibra-muscular. Esta maximização da transmissão colinérgica muscular esquelética, associada ao exercício intenso, estimula unidades motoras compostas por fibras glicolíticas de contração rápida tipo IIX (SILVERTHORN, 2003), que possui a via da glicólise e glicogenólise para a formação da ATP (D'ANGELIS et al., 2005) o que aumenta a produção e a concentração intracelular de lactato. Esta argumentação explica os resultados contidos na Figura 1. A aminofilina reduziu tanto a V_2 como a V_4 o que prejudica a capacidade aeróbica (LELEU, 2005). Entretanto, os valores de lactato máximo foram maior para o grupo AM, indicando uma melhora no metabolismo anaeróbico, o que favorece o desempenho atlético nos exercícios de curta duração e alta intensidade (KUROSAWA et al., 1998).

A redução da insulinemia e o aumento da glicemia em decorrência do exercício intenso foram marcantes para ambos os grupos experimentais (Figura 2A e 2B). O controle neuro-endócrino da secreção pancreática de insulina é mediado por receptores α -adrenérgicos e, no exercício intenso ocorre, como já explicado, aumento da liberação de adrenalina. Esta por sua vez, interage especificamente com receptores α_2 -adrenérgicos pós-sinápticos presentes nas

células β pancreáticas inibindo a secreção de insulina (MCKEEVER, 2002), enquanto que as alterações na glicemia ocorrem devido a glicogenólise muscular e hepática (SIMÕES et al., 2003).

A insulina é um hormônio protéico que precisa do processo de exocitose cálcio dependente para sua liberação. Conforme a Tabela 2 A, a insulinemia foi sempre maior para o grupo AM. Este achado pode ser explicado por NICKELS et al., (2006) que relataram aumento da liberação de cálcio intracelular através da interação das xantinas com receptores de rianodina presentes no retículo endoplasmático, o que aumentaria o processo de exocitose, semelhante à via do inositol 1-4-5-trifosfato (IP3), da insulina. Reforçando este achado, SHIGETO et al. (2006) afirmaram que a secreção de insulina estimulada pela glicose pode ser independente do cálcio extracelular via diacilglicerol. Estes achados possuem coerência quando a figura 2B é analisada. Houve, em quase todas as etapas de exercício, uma glicemia menor para os eqüinos do grupo AM, correspondendo à maior liberação de insulina.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos de insulinemia e glicemia permitem concluir que a associação entre aminofilina e o exercício intenso pode ser prejudicial ao desempenho atlético, no que tange a tendência de hipoglicemia que este fármaco provoca. Em contrapartida, os valores de lactacidemia elevados contribuem para o desempenho em exercícios intensos que precisam da via anaeróbica como fornecedora de energia para a contração muscular.

REFERÊNCIAS (ABNT - NRB-6023, agosto de 2002)

BETROS C.L.; MCKEEVER K.H.; KEARNS, C.F.; MALINOWSKI, K. Effects of ageing and training on maximal heart rate and VO_{2max} . **Equine Veterinary Journal, Supplement**, Newmarket, v. 34, p. 100-105, 2002.

BUENO, M. A. S. Papel atual das metilxantinas (aminofilina e teofilina) nas doenças respiratórias. **Einstein**, São Paulo, v.1, p.141-142, 2003.

BRUMBAUGH, W. G. Toxicity of Pharmacological Agents In: ROBISON, E. **Current Therapy in Equine Medicine 3**, Philadelphia: Saunders, 3 ° ed, 1992. p. 353-358.

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

EVANS, D. L. Training and fitness in athletic horses. Sydney: **RIRDC.**, p. 64, 2000.

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; D'ANGELIS, F. H. F.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Long-term creatine supplementation improves the aerobic capacity of horses. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 514-519, 2006.

GOLDENFARB P. B.; BOWYER F. P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v. 56, p. 35-39, 1971.

GÓRNIAK, S.L. **Medicamentos com ação no sistema respiratório**. In: SPINOSA, Helenice de Souza (ed.). *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 4º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p. 333-340.

GREER, F.; FRIARS, D.; GRAHAM, T. E. Comparison of caffeine and theophylline ingestion: exercise metabolism and endurance. **Journal Applied Physiology**, Bethesda, v. 89, p. 1837-1844, 2000.

INGVAST-LARSSON, C.; KALLINGS, P.; PERSSON, S.; APPELGREN, L.E. e WIESE, B. Pharmacokinetics and cardio-respiratory effects of oral theophylline in exercised horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, Raleigh, v. 12, p. 189-199, 1989.

KUROSAWA, M.; NAGATA, S.; TAKEDA, F.; MIMA, K.; HIRAGA, A.; KAI, M.; TAYA, K. Effects of caffeine and promazine hydrochloride on plasma catecholamines in thoroughbreds at rest and during treadmill exercise. **Equine Veterinary Journal, Supplement**, Newmarket, v. 30, p. 596-600, 1999.

KUROSAWA, M.; NAGATA, S.; TAKEDA, F.; MIMA, K.; HIRAGA, A.; KAI, M.; TAYA, K. Effects of caffeine on performance, cardiorespiratory function and plasma hormonal responses during exhaustive treadmill exercise in the thoroughbred horse. **Journal Equine Science**, Tsubone, v. 9, n. 2, p. 33-43, 1998.

LAVOIE, J.P. **Heaves (Recurrent Airway Obstruction): Pratical Management of acute episodes and prevention of exacerbations.** In: Robinson N.E. *Current Therapy in Equine Medicine 5*. Missouri: Saunders, 2003.

LELEU, C.; COTREL, C.; COUROUCE-MALBLANC, A. Relationships between physiological variables and race performance in French standardbred trotters **The Veterinary Record**, London, v. 156, n. 11, p. 339-342, 2005.

MAGKOS, F.; KAVOURAS, S. A. Caffeine and ephedrine: physiological, metabolic and performance-enhancing effects. **Sports Medicine**, Auckland, v. 34, n. 13, p. 871-889, 2005.

MCKEEVER, K. H. The endocrine system and the challenge of exercise. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, Orlando v. 18, p. 321–353, 2002.

NICKELS, T. J.; SCHWARTZ, A. D.; BLEVINS, D. E.; DRUMMOND, J. T.; REED, G. W.; WILSON, D. F. Effects of theophylline and aminophylline on transmitter release at the mammalian neuromuscular junction is not mediated by camp. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, Melbourne, v. 33, p. 465-470, 2006.

PALUSKA, S. A.; Caffeine and exercise. **Currents Sports Medicine Reports**, Philadelphia, v. 2, n. 4, p. 213-219, 2003.

RAGUSO, C. A.; COGGAN, A. R.; SIDOSSIS, L. S.; GASTALDELLI, A.; WOLFE, R. R. Effect of theophylline on substrate metabolism during exercise. **Metabolism: clinical and experimental**, Hampton, v. 45, n. 9, p. 1153-1160, 1996.

SHIGETO, M; KATSURA, M.; MATSUDA, M; OHKUMA, S.; KAKU, K. First Phase of Glucose-Stimulated Insulin Secretion From MIN 6 Cells Does Not

Always Require Extracellular Calcium Influx. **Journal of Pharmacological Sciences**, Kyoto, v. 101, n.4, p. 293-302, 2006.

SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 1º ed. Barueri: **Manole**, 2003. 816p.

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

SIMÕES, H. G.; CAMPBELL, C. S. G.; BALDISSERA, V.; DENADAI, B. S.; KOKUBUN, E. Determinação do limiar anaeróbio por meio de dosagens glicêmicas e lactacidêmicas em teste de pista para corredores. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v.12, n.1, p.17-30, 1998.

TOBIN, T.; *Drugs and the Performance Horse*. **Springfield**, Illinois: Thomas, p. 480, 1981.

CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE CLEMBUTEROL SOBRE O DESEMPENHO ATLÉTICO DE EQUINOS.

RESUMO

O clenbuterol, um fármaco broncodilatador por estímulo β_2 adrenérgico foi desenvolvido para o tratamento das afecções das vias aéreas e apresenta grande potencial para uso ilícito em provas eqüestres devido ao fato de, supostamente, estimular a capacidade respiratória. Objetivou-se avaliar a capacidade aeróbica de eqüinos, submetidos à administração de clenbuterol em testes de esforço físico progressivo, em esteira rolante, mediante a determinação das concentrações do lactato sangüíneo, freqüência cardíaca (FC), glicemia e insulinemia. Utilizaram-se 12 eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos a dois testes físicos com dez dias de intervalo entre eles. Esses eqüinos compuseram-se em dois grupos: controle (C, n=12) e Clenbuterol (CL, n=12). Administrou-se, pela via intravenosa $0,8 \text{ ug.kg}^{-1}$ de peso corpóreo de clenbuterol ou salina, 30 minutos antes do teste de esforço. Os animais foram aquecidos por 4 minutos a $4,0 \text{ m.s}^{-1}$. Na seqüência, a esteira foi inclinada (10%) e a velocidade foi gradativamente aumentada, a intervalos de 1 minuto, para 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10 m.s^{-1} . Tanto a V_2 como a V_4 não tiveram diferença estatística ($P>0,05$) entre os grupos experimentais. Para o grupo CL, as V_{200} , V_{180} , V_{160} e V_{140} diminuiram 12,68, 13,06, 16,08 e 25,35% sendo os valores de P iguais a 0,0340, 0,0498, 0,0395 e 0,0202, respectivamente. Tanto no repouso como nos momentos 4, 6 e 10 min, a insulinemia foi maior para o grupo que recebeu clenbuterol, sendo que os valores de p foram de 0,0142, 0,0168, 0,0434 e 0,0490, respectivamente. Ao contrário do que se esperava, não foi observada melhora no consumo de oxigênio dos animais quando submetidos à dose terapêutica do broncodilatador. Por outro lado, a elevação da freqüência cardíaca observada pode ser devida à estimulação de adrenoceptores β_1 cardíaco.

Palavras-Chave: clenbuterol, exercício, desempenho atlético, eqüinos, freqüência cardíaca.

INTRODUÇÃO

O cloridrato de clenbuterol é um fármaco simpatomimético β_2 seletivo, largamente utilizado como broncodilatador em eqüinos acometidos pela obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA). Está disponível comercialmente nas formas granular, gel ou injetável (KALLINGS et al., 1991). A “Association of Racing Commissioners International – ARCI por meio de seu guia para classificação das substâncias exógenas, classifica o clenbuterol como agente classe 3 e sua identificação em amostras biológicas, após as corridas, provoca desclassificação do competidor (ROBINSON, 2000).

Durante o reflexo de “fuga e luta”, fibras nervosas do sistema nervoso simpático e a medula adrenal liberam catecolaminas. Estas ativam adrenorreceptores (α_1 , α_2 , β_1 , β_2 e β_3) que produzem alguns efeitos tais como, aumento da força e frequência cardíaca (FC), elevação do fluxo sanguíneo para os músculos e redução para órgãos esplâncnicos, glicogenólise e lipólise.

Além do clenbuterol, outros fármacos que formam o grupo dos β_2 – agonistas seletivos são o salbutamol, pirbuterol e o fenoterol. A seletividade destas drogas para a atividade β_2 agonista é explicada pela razão β_2/β_1 . Isto posto, a razão β_2/β_1 para o clenbuterol é igual a 4 o que representa uma moderada seletividade. Por isso, em baixas doses este fármaco atua preferencialmente nos receptores β_2 . Em doses maiores ocorre interação com adrenorreceptores β_1 (ROBINSON, 2000).

Segundo TÜRNEKE et al. (1998), a farmacodinâmica do clenbuterol é representada pela interação com os receptores β_2 que ativam a enzima adenilil ciclase, a qual aumenta a concentração intracelular do nucleotídeo adenosina monofosfato cíclica (AMPc), ativando uma proteína cinase A. Deste modo, ocorre abertura de canais de potássio e dessensibilização (down-regulation) de uma miosina de cadeia leve sendo que o efeito observado é a inibição da contração da musculatura lisa .

Embora em eqüinos da raça Puro Sangue Inglês (PSI), tanto a administração oral (ROSE et al., 1987; KALLINGS et al., 1991) como intravenosa (SLOCOMBE et al., 1992) na dose de 0,8 µg/kg de peso corpóreo, não alterou variáveis cardio-respiratórias. Para melhorar a capacidade atlética, o clenbuterol vem sendo utilizado ilegalmente com a intenção de melhorar a capacidade atlética de eqüinos hígdos. Como só há na literatura informações a respeito do tema relacionadas com a raça PSI, o propósito deste estudo foi verificar os efeitos da administração intravenosa de clenbuterol sobre variáveis fisiológicas que avaliam o desempenho atlético, de eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos à exercício de intensidade crescente em esteira rolante.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Utilizaram-se 12 eqüinos treinados (FERRAZ et al., 2006), machos ou fêmeas, Puro Sangue Árabe (PSA), todos provenientes do Setor de Eqüinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, com peso corpóreo médio (\pm E.P.M.) de $390 \pm 25,4$ kg e idade média de $8,6 \pm 3,3$ anos. Objetivando-se a exclusão de intercorrências os eqüinos foram submetidos a exame clínico completo e, estando aparentemente hígdos, foram selecionados para comporem os grupos experimentais.

Protocolo do exercício teste (ET)

Os eqüinos foram adaptados ao exercício em esteira rolante de alto desempenho¹ e submetidos ao exercício teste (ET) com duração de 30 minutos. Para tanto, empregou-se exercício de aquecimento durante 4 minutos a uma velocidade de $4,0 \text{ m.s}^{-1}$, a qual foi incrementada, a intervalos de 1 minuto, para 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10 m.s^{-1} . A partir desta etapa de esforço máximo,

¹ Esteira Galloper®, Sahinco LTDA, Palmital, SP, Brasil.

procedeu-se a desaceleração, retomando a velocidade para $3,0 \text{ m.s}^{-1}$, por 20 minutos, que correspondeu ao período de desaquecimento ativo. Toda a fase de esforço físico, com incremento da velocidade, foi realizada com a esteira a 10% de inclinação.

Momentos de colheita e avaliação

Para determinação da frequência cardíaca (FC) e lactacidemia utilizou-se os momentos 0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0 minutos, na fase de exercício. Na fase de desaquecimento ativo empregaram-se os momentos 15; 20 e 30 minutos. As outras variáveis fisiológicas, hematócrito, glicose, insulina e cortisol foram determinadas nos momentos 0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 minutos na fase de exercício. Para a fase de desaquecimento aproveitaram-se os mesmos momentos descritos para a FC e lactacidemia.

Amostras de sangue

Para obtenção das amostras de sangue foi criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleceu procedimentos adequados para a colheita, processamento e armazenamento. As colheitas de sangue foram realizadas 15 segundos antes do término de cada etapa de velocidade do exercício teste. Previamente à realização do exercício, os animais foram tricotomizados e assepticamente preparados para venocateterização, utilizando-se a veia jugular esquerda como ponto de colheita. Acoplou-se ao cateter intravenoso², um tubo extensor³ para facilitar as colheitas com o animal em movimento. Após cada colheita, todo o conjunto era lavado com solução de heparina a 2,5%. Pelo procedimento, desprezavam-se 2,0 mL de sangue, advindos do início de cada venopunção.

² Cateter Insyte™ 14_{GAX}1.75_{IN} 2,1 x 45 mm –330mL/min., Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda, SP, Brasil.

³ Tubo extensor 10 Fr5 x 60 cm, Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda, SP, Brasil.

Grupos experimentais

Os eqüinos utilizados no presente estudo compuseram-se em dois grupos experimentais, controle (C, n=12) e clenbuterol (CL, n=12), sendo submetidos a dois testes físicos com dez dias de intervalo entre eles, sendo utilizado delineamento do tipo “cross-over”.

No primeiro teste, aos componentes do grupo controle foi administrado, pela via intravenosa, solução salina⁴ 0,9%. Já no segundo teste, foi administrado cloridrato de clenbuterol⁵, 30 minutos antes do exercício teste (ET), intravenosamente, na dose de 0,8 µg/kg de peso corpóreo.

Freqüência cardíaca

A FC (bpm) foi estabelecida com um freqüencímetro digital⁶ específico para eqüinos sendo realizadas três aferições a cada etapa de esforço. As médias obtidas em cada etapa de esforço foram compiladas e através da análise de regressão linear obteve-se a V_{140} , V_{160} , V_{180} e V_{200} (velocidades nas quais as freqüências cardíacas são de 140, 160, 180 e 200 bpm, respectivamente).

Lactato

Para dosagem da concentração de lactato, 0,5 mL de sangue foi separado e processado em tubos Eppendorf com 1,0 mL de solução fluoreto de sódio a 1%, que é hipotônica em relação às hemácias, provocando hemólise e inibição da glicólise, prevenindo assim a coagulação sangüínea e a produção de lactato pelas hemácias (SIMÕES et al., 1998). A lactacidemia foi determinada eletroenzimaticamente utilizando-se o lactímetro⁷ sendo que as amostras foram analisadas em duplicatas. As colheitas de sangue foram realizadas 15 seg antes

⁴ Solução Injetável de Cloreto de Sódio à 0,9% (Fisiológica)[®], Beker, Embu, São Paulo, Brasil.

⁵ Sigma Chemical Co. (St. Luis, MO)

⁶ Freqüencímetro S610 Polar[®], Port Washington, New York, EUA.

⁷ Yelow Springs Instrument Co., Yelow Springs, Ohio, EUA.

do término de cada etapa de exercício. Através da regressão exponencial dos valores obtidos, determinou-se, individualmente, a V_2 e a V_4 (velocidades em que as concentrações sanguíneas de lactato são de 2 e 4 mmol/L, respectivamente). Para determinação da V_2 e V_4 dos grupos experimentais utilizaram-se os valores médios.

Hematologia

Para obtenção das variáveis hematológicas, hematócrito, hemoglobina, hemácias e leucócitos foram utilizadas as etapas de exercício 0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10 m.s⁻¹. Para tanto, empregaram-se aparelhos diluidor⁸ e contador⁹. O hematócrito foi realizado pelo método do microhematócrito (GOLDENFARB et al., 1971) e a concentração de hemoglobina foi determinada pela metodologia colorimétrica do cianeto de hemoglobina (HiCN)¹⁰. Todas as amostras foram colhidas em tubos com pressão negativa¹¹ e as análises feitas em duplicatas.

Glicose

As amostras sanguíneas (3,0 mL) destinadas à dosagem de glicose foram obtidas nas mesmas etapas descritas no item hematimetria e processadas com anticoagulante¹² contendo inibidor da glicólise, fluoreto de potássio, e posteriormente analisadas por espectrofotometria¹³.

⁸ CELM - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos - Alameda Amazonas, 764 - Alphaville - Barueri - SP.

⁹ D.C. 510, CELM[®] - Equipadora de Laboratórios Modernos - Alameda Amazonas, 764 - Alphaville - Barueri - SP.

¹⁰ Kit Labtest[®], Lagoa Santa, MG, Brasil.

¹¹ Tubos EDTA, 5,0 mL Vacueteiner BD[®], BD - Brasil - Rua Alexandre Dumas, 1976 Chácara Santo Antonio, São Paulo - SP.

¹² Glistab[®] (Labtest Cat 29), [®], Lagoa Santa, MG, Brasil.

¹³ Analisador bioquímica semi automático Labquest (Bio 2000), Barueri, SP.

Insulina

Concomitantemente, 10,0mL de sangue foram obtidos nas mesmas etapas descritas no item hematimetria, acondicionados em tubos com pressão negativa¹⁴, contendo heparina sódica e imediatamente centrifugada sob refrigeração¹⁵ para posterior congelamento do plasma a -20°C. Para dosagem da insulina plasmática empregou-se kit comercial de radioimunoensaio em fase sólida¹⁶ e o coeficiente de variação intra-ensaio foi de 9,4%.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Para avaliar o efeito do exercício sobre as variáveis fisiológicas foi realizada análise de variância para amostras repetidas, com o objetivo de verificar as diferenças significantes dentro de cada etapa de esforço, seguido pelo teste de Tukey quando necessário. Também foi realizado o teste t de student para amostras pareadas com a finalidade de comparar as diferenças entre os grupos. Estabeleceu-se 5% como nível de significância ($p \leq 0,05$).

¹⁴ Tubos EDTA, 5,0 mL Vacuetteiner BD®, BD – Brasil - Rua Alexandre Dumas, 1976 Chácara Santo Antonio, São Paulo - SP.

¹⁵ ALC - Multispeed refrigerated centrifug PK121R, New Jersey, EUA.

¹⁶ DPC (Coat-a-count) -.Diagnostic Products Corp., Los Angelis, California, EUA.

RESULTADOS

Avaliação do desempenho

A administração de cloridrato de clenbuterol aumentou a V_2 e a V_4 3,21 e 3,34%, respectivamente. Contudo, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais e este achado está representado na Figura 1 sendo que os valores da V_2 e V_4 para os grupos C e CL, foram de $5,11 \pm 0,29$, $7,18 \pm 0,23$ m.s^{-1} e $5,28 \pm 0,38$, $7,42 \pm 0,27$ m.s^{-1} , respectivamente.

Como observado na Figura 2, a V_{200} , V_{180} , V_{160} e V_{140} diminuíram 12,68, 13,06, 16,08 e 25,35% sendo os valores de P iguais a 0,0340, 0,0498, 0,0395 e 0,0202, respectivamente, para o grupo CL, quando comparado ao grupo controle.

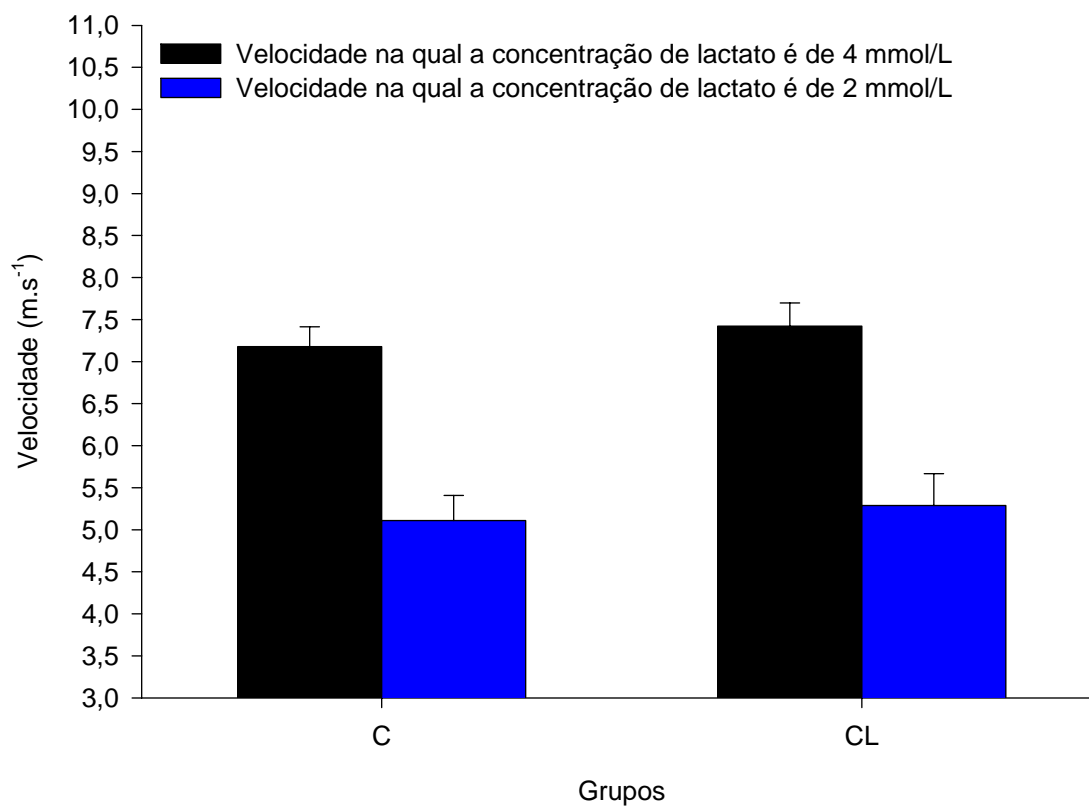


Figura 1. Representação gráfica referente às mudanças na V_4 e V_2 relacionadas com a administração aguda de $0,8\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cloridrato de clenbuterol, pela via intravenosa, em eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante. N=12 para C (controle) e CL (clenbuterol).

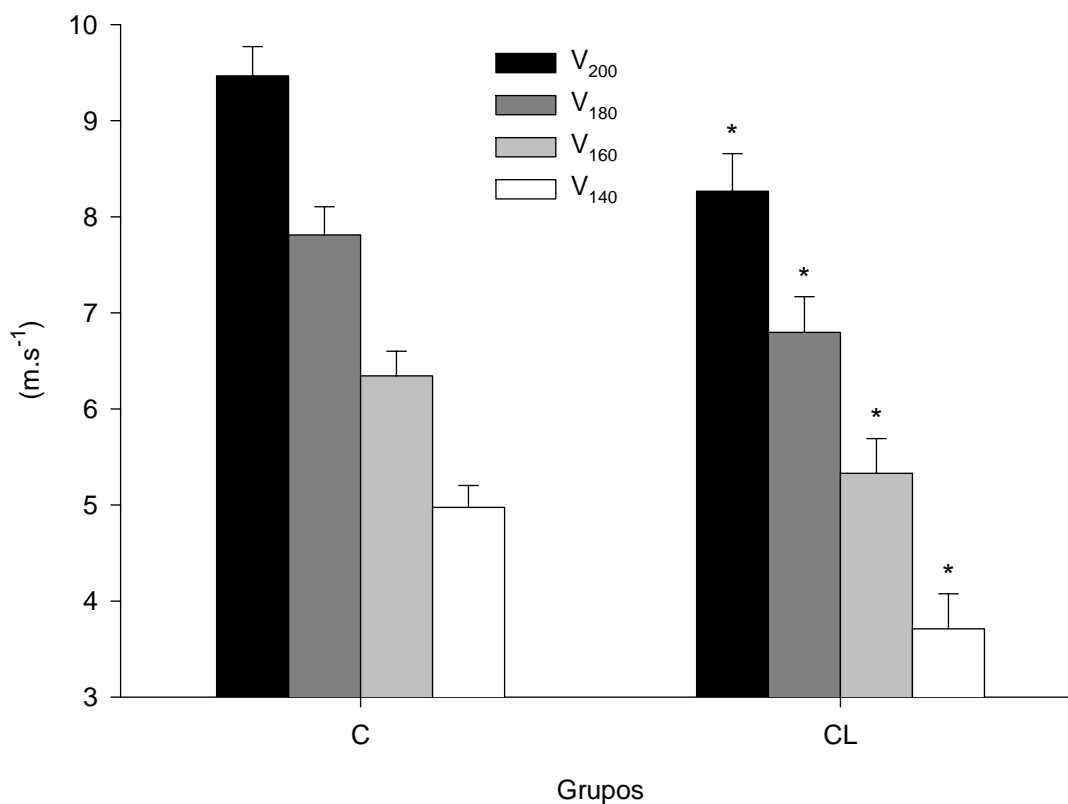


Figura 2. Representação gráfica referente as mudanças na V_{140} , V_{160} , V_{180} e V_{200} (velocidades nas quais as freqüências cardíacas são de 140, 160, 180 e 200 bpm, respectivamente) relacionadas com a administração aguda de $0,8\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cloridrato de clenbuterol, pela via intravenosa, em eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante. $N=12$ para C (controle) e CL (clenbuterol). * Indica redução estatística ($p\leq 0,05$) na V_{140} , V_{160} , V_{180} e V_{200} para o grupo CL.

Glicose e Insulina

A glicemia alterou-se com o exercício, como demonstrado na Figura 3A. Inicialmente houve uma redução na concentração plasmática de glicose que, a partir da etapa 6 m.s⁻¹, elevou-se ($p \leq 0,05$) mantendo esta tendência nas etapas subsequentes do exercício teste. Com relação à comparação da glicose, entre os grupos experimentais, não houve diferença estatística.

Os efeitos do exercício sobre a concentração plasmática de insulina estão representados na Figura 3B. Houve evidente redução ($p < 0,05$) da insulinemia durante o exercício nos dois grupos experimentais que, ao término da fase de exercício, mostrou tendência à recuperação. Tanto no repouso como nos momentos 4, 6 e 10 min, a insulinemia foi maior para o grupo que recebeu clenbuterol, sendo que os valores de P foram de 0,0142, 0,0168, 0,0434 e 0,0490, respectivamente. Esta tendência foi mantida nas outras etapas do exercício teste, entretanto, sem mostrar diferença estatística. O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 13,3%.

Hematologia

Para as variáveis hematológicas analisadas, não houve diferença estatística entre os grupos experimentais, em todas etapas de exercício.

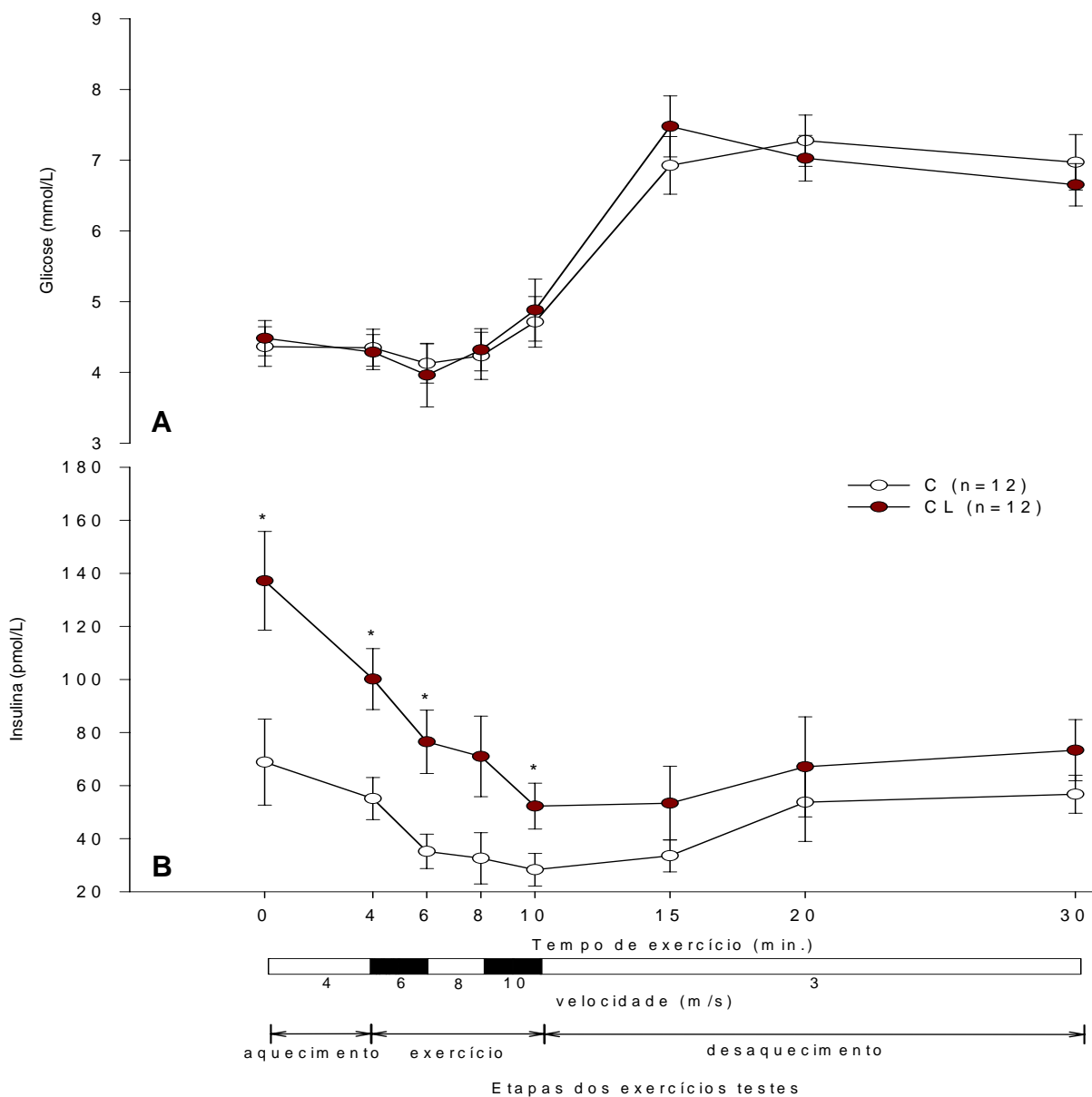


Figura 3. Representação gráfica referente aos valores de glicemia (A) e insulinemia (B) de equinos durante exercício de intensidade crescente em esteira rolante e submetidos à administração intravenosa de $0,8 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cloridrato de clenbuterol (CL) ou solução fisiológica 0,9% (C). * Indica diferença estatística entre CL e C.

DISCUSSÃO

Os estudos sobre a administração de clenbuterol e seus efeitos sobre o desempenho atlético de eqüinos utilizaram como modelo experimental a raça PSI. Tendo em vista que na literatura sobre o tema não há estudos com outras raças, o presente estudo examinou o comportamento de algumas variáveis fisiológicas da raça Puro Sangue Árabe (PSA) submetidos ao exercício de intensidade crescente.

Por ser um fármaco broncodilatador, o clenbuterol é utilizado em eqüinos hígidos, na tentativa de melhorar a capacidade aeróbica durante o exercício. Estudos com eqüinos da raça PSI, submetidos à administração intravenosa (ROSE e EVANS, 1983) ou oral (KALLINGS et al., 1991) de clenbuterol, não encontraram diferença significativa no ponto de início do acúmulo de lactato sangüíneo. Da mesma maneira, a Figura 1 revela não haver diferença significativa, na V_2 e na V_4 entre os grupos experimentais. Uma explicação para este fato é que tanto a PaCO_2 quanto o pH arterial não se alterarem após a administração de clenbuterol em eqüinos durante o exercício intenso em esteira rolante (KALLINGS et al., 1991).

Com relação às velocidades relacionadas com a frequência cardíaca V_{140} , V_{160} , V_{180} e V_{200} , que costumam ser empregadas para a avaliação do desempenho atlético, os resultados indicam que o grupo CL obteve velocidades menores quando comparado com o grupo C (Figura 2). Este achado pode ser explicado pela interação do clenbuterol com adrenoreceptores β_1 cardíacos, que quando estimulados ativam uma proteína de ligação Gs que induz modificações na fluidez da membrana celular, permitindo, assim, o seu deslocamento lateral, o que leva ao estímulo da ação catalítica da enzima adenililciclase. Esta, converte a ATP em AMPc, estimulando uma proteína cinase que aumenta a atividade catalítica de outra enzima, a fosforilase. Nesta seqüência de reações bioquímicas, ocorre aumento, tanto da concentração

intracelular de AMPc como a fosforilação de proteínas, troponina e na fosfolambano, que provocam efeito cronotrópico e inotrópico positivo (MERSMANN, 1998). Este efeito observado comprova que a utilização do clenbuterol, com finalidade ergogênica, é insensata, pois sobrecarrega o coração durante o esforço físico (SLEEPER et al., 2002). Alguns autores (HOCHHAUS e MÖLLMANN, 1992; PALERMO-NETO, 2006) citam, como efeito tóxico, necrose do miocárdio secundária a hipóxia, causada pela reduzida e prolongada perfusão deste músculo nos momentos de aumento da demanda do coração por oxigênio, durante a taquicardia.

Outra interessante abordagem, inédita para a espécie eqüina, que pode ser feita sobre a relação existente entre a administração aguda de clenbuterol e o exercício é o comportamento da insulinemia demonstrado na Figura 3B. Houve redução nas concentrações plasmáticas de insulina, em ambos os grupos experimentais, com o aumento da intensidade de esforço. Segundo GEOR et al. (2000) no exercício com intensidade crescente, ocorre aumento das concentrações catecolaminas que interagem com receptores α_2 pancreáticos que são responsáveis pela diminuição da produção de insulina. Entretanto, quando comparado ao grupo controle, a insulinemia no grupo que recebeu clenbuterol foi maior, indicando uma interação deste fármaco em receptores β_2 pancreáticos que, quando sensibilizados, aumentam a produção de insulina (PALERMO-NETO, 2006).

Ainda sobre a discussão envolvendo o aumento nas concentrações plasmáticas de insulina para o grupo CL, é importante observar que este fato não produziu alterações na glicemia, entre os grupos. Esta, somente variou com o aumento da intensidade de esforço (Figura 3A). Inicialmente, houve redução da glicose plasmática que é explicada pela mobilização, por parte de fibras musculares do tipo I, nas fases iniciais do esforço físico (TRILK et al., 2002). Sequencialmente, a partir da etapa $6\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, houve tendência de elevação da glicemia e, este acontecimento, pode ser explicado pelo efeito da liberação de

catecolaminas (GEOR et al., 2002), que ocorre durante o exercício intenso, provocando elevação na glicemia devido ao incremento da glicogenólise e neoglicogênese (SIMÕES et al., 2003). Nesse contexto, o efeito adrenérgico pode estar sobrepondo à resposta hiperinsulínica- β_2 induzida pelo clenbuterol, já que, como esperado, não produziu menores valores de glicemia.

CONCLUSÕES

Os agonistas β_2 -adrenérgicos são utilizados tradicionalmente, tanto na Medicina Humana quanto na Medicina Veterinária, como broncodilatadores. Recentemente, são empregados como agentes anabolizantes na produção animal e em atletas da espécie humana. Não obstante, também é notável sua utilização ilegal na espécie eqüina objetivando-se o aumento do desempenho atlético. Tomando como base os resultados obtidos por este estudo, a administração de clenbuterol não melhorou a capacidade aeróbica e, marcadamente, prejudicou a resposta cardíaca, bem como aumentou a insulinemia.

REFERÊNCIAS (ABNT - NRB-6023, agosto de 2002)

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; D'ANGELIS, F. H. F.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Long-term creatine supplementation improves the aerobic capacity of horses. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 514-519, 2006.

GEOR, R. J.; HINCHCLIFF, K. W.; SAMS R. A. β -Adrenergic blockade augments glucose utilization in horses during graded exercise **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 89, p. 1086–1098, 2000.

GEOR, R. J.; MCCUTCHEON, L. J.; HINCHCLIFF, K. W.; SAMS, R. A. Training-induced alterations in glucose metabolism during moderate-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, Newmarket, v. 34, p. 22-28, 2002.

GOLDENFARB P. B.; BOWYER F. P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v. 56, p. 35-39, 1971.

HOCHHAUS, G. e MÖLLMANN, H. Pharmacokinetic/pharmacodynamic characteristics of the β_2 -agents terbutaline, salbutamol and fenoterol. **International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy, and Toxicology**, München, v.30, p. 342-362, 1992.

KALLINGS, P.; INGVAST-LARSSON, C.; PERSSON, S.; APPELGREN, L. E.; FORSTER, H. J.; ROMINGER, K. L. Clenbuterol plasma concentrations after repeated oral administration and its effects on cardio-respiratory and blood lactate responses to exercise in healthy Standardbred horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, Raleigh, v. 21, p. 243-249, 1991.

MERSMANN, H.J. Overview of the effects of β -adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. **Journal Animal Science**, Savoy, v. 76 p. 160-172, 1998.

PALERMO-NETO, J. **Agonistas de receptores β -adrenérgicos e produção animal**. In: SPINOSA, Helenice de Souza (ed.). *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 4^o ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p.614-627.

ROBINSON, N. E. **Clenbuterol and the horse**. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS (AAEP), 2000, Lexington, Proceedings...2000. p. 229-233.

ROSE, R.J.; EVANS, D.L. Cardiorespiratory effects of clenbuterol in fit Thoroughbred horses during a maximal exercise test. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, Newmarket, 1983.

SIMÕES, H. G.; CAMPBELL, C. S. G.; BALDISSERA, V.; DENADAI, B. S.; KOKUBUN, E. Determinação do limiar anaeróbio por meio de dosagens glicêmicas e lactacidêmicas em teste de pista para corredores. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 17-30, 1998.

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

SLEEPER, M.M.; KEARNS, C.F.; MCKEEVER, K.H. Chronic clenbuterol administration negatively alters cardiac function. **Medicine & Science in Sports & Exercise.**, Natick, v. 34 n. 4 p. 643-650, 2002.

SLOCOMBE, R.F.; COVELLI, G.; BAYLY, W.M. Respiratory mechanics of horses during stepwise treadmill exercise tests, and the effect of clenbuterol pretreatment on them. **Australian Veterinary Journal**, St Leonards, v. 69, n. 9, p. 221-225, 1992.

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

TÜRNEKE, K.; INGVAST-LARSSON, C.; APPELGREN, L.E. A comparasion between clenbuterol, salbutamol, and terbutaline in relation to receptor binding and *in vitro* relaxation of equine tracheal muscle. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, Raleighk, v. 21, p. 388-392, 1998.