

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

**ESTRESSE OXIDATIVO EM EQUINOS PARTICIPANTES DE  
PROVA DE ENDURO DE 80 KM**

**André Desjardins Antunes  
Médico Veterinário**

**2013**

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

**ESTRESSE OXIDATIVO EM EQUINOS PARTICIPANTES DE  
PROVA DE ENDURO DE 80 KM**

**André Desjardins Antunes**

**Orientador: Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto**

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

**2013**

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

ANDRÉ DESJARDINS ANTUNES, natural de Piracicaba – SP obteve o título de Médico Veterinário pela Universidade Estadual Paulista em janeiro de 2010. Graduado em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Jaboticabal em janeiro de 2010. Atualmente cursando Mestrado em Clínica Médica Veterinária na mesma instituição, onde atua nas áreas de Fisiologia do Exercício e Medicina Esportiva Equina. Participa de diversos projetos nas áreas de Clínica Médica e Cirurgia Veterinária, focados principalmente na compreensão da fisiopatogenia da Síndrome Cólica e da Laminite. Na área de Fisiologia do Exercício, o foco dos estudos são os exercícios de longa duração. O pesquisador foi responsável pelos exames vídeo - endoscópicos e ocupou função de anestesiólogista no serviço de Gastroenterologia Equina, do Hospital Veterinário – Governador Laudo Natel nos anos de 2011 e 2012. Trabalhou durante o ano de 2010 na iniciativa privada e também realizou diversos estágios nas áreas de clínica e cirurgia veterinária de equinos.

*Não se satisfaça apenas em cumprir sua obrigação.*

*Faça mais que sua obrigação.*

*É o cavalo que termina com uma cabeça à frente que vence a corrida.*

*(Andrew Carnegie)*

Ao meu avô Alípio Laert Desjardins,  
pela lição de vida e amor incondicional,  
meu eterno professor!

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por permitir que cumprisse mais essa etapa em minha vida, por me dar sempre ótimas oportunidades de crescimento, saúde para executá-las e por colocar pessoas maravilhosas em meu caminho.

Aos meus pais Ivete e Humberto, por mais uma vez, propiciarem esse momento maravilhoso em minha vida, além de me apoiarem em todas as situações, a realização desse trabalho seria impossível sem a ajuda deles, além de que são meus maiores exemplos de vida e serei grato a eles por todos os meus dias.

Ao meu irmão Ricardo e minha cunhada Anelise por me apoiarem tanto nessa caminhada, por nunca me deixarem desistir de enfrentar os obstáculos e pela presença constante em minha vida.

À minha namorada Aline, por todo o apoio e paciência durante a execução desse trabalho, suportando minhas ausências e alterações de humor, te amo muito.

Aos meus tios Alceu, Ademir e Patrícia e meu primo Gustavo, por fazerem com que nossa família seja cada vez mais unida e por me apoiarem em todos os caminhos que planejo seguir.

Aos meus sogros Cristina e João pelo apoio e palavras de conforto nos momentos de desespero, pelos conselhos e paciência com minha ansiedade.

À FCAV – UNESP – Jaboticabal e a todos os professores pela minha formação profissional e crescimento humano.

Ao meu orientador Professor Doutor José Corrêa de Lacerda Neto, por todas as oportunidades que me deu no decorrer da pós graduação, pelas portas que me abriu e por todos os conselhos e conhecimento compartilhados.

À Professora Doutora Kênia Cardoso Bicego, pelos ensinamentos desde a graduação e participação efetiva na conclusão desse trabalho.

Ao Professor Doutor Alceu Afonso Jordão Júnior, pela abertura do seu laboratório à execução de todas as análises e aconselhamento no planejamento e execução do trabalho.

À Paula Payão, por todas as análises realizadas e dedicação na aferição dos resultados.

À Professora Doutora Roberta Brandi, pela oportunidade nos concedida de realizar o enduro, além de delinear toda a dieta dos animais, permitindo a conclusão do trabalho.

Ao Francisco, Toni e Fernando, além de todos os funcionários da Fazenda Serra da Prata, por nos cederem seus cavalos, além de participarem ativamente da execução do nosso experimento.

À Deborah, Nara, Cristina, Kamila, Lina, Ana Maria, Daniela, por construírem uma equipe muito sólida e trabalhadora, permitindo que cumpríssemos todo o proposto inicialmente, além da amizade e companheirismo nos momentos de dificuldade.

Ao Matheus, Samuel, Álvaro, Vinícius e Murilo, pelo companheirismo de república, risadas, conversas e todas as experiências trocadas, dificilmente uma pessoa sobreviveria se não fossem os amigos.

A todos os funcionários do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, UNESP – Jaboticabal, pela ajuda durante o experimento e amizade que levarei por toda vida.

Ao Deco, pela ajuda em todos os experimentos propostos, dedicação ao trabalho e amizade, serei sempre grato por toda sua ajuda.

Aos nobres cavalos, participantes desse experimento, pelo cumprimento de todas as tarefas de forma exemplar, além de nos demonstrarem afeto em todas as situações.

Ao meu cão Black, por todo companheirismo e amor incondicional, todos os passeios e refrescos nas águas da faculdade, pela paciência e presença constante em todos os momentos desse trabalho.

## SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
1 – INTRODUÇÃO.....	1
2 – REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3 – OBJETIVOS.....	14
3.1. Objetivos Gerais.....	14
3.2. Objetivos Específicos.....	14
4 – MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1. Animais.....	15
4.2. Treinamento.....	15
4.3. Enduro.....	16
4.4. Colheita de sangue e exames laboratoriais.....	17
4.5. Análise estatística.....	18
5 – RESULTADOS.....	19
5.1. Enduro.....	19
5.2. Proteína Total (PT).....	19
5.3. Indicadores oxidativos.....	20
5.4. Substâncias antioxidantes.....	21
5.5. Marcadores de lesão muscular.....	23
6 – DISCUSSÃO.....	26
7 – CONCLUSÃO.....	31
8 – REFERÊNCIAS.....	32

## ESTRESSE OXIDATIVO EM EQUINOS PARTICIPANTES DE PROVA DE ENDURO DE 80 KM

**RESUMO** – O presente estudo avaliou o perfil de indicadores oxidativos e substâncias antioxidantes, além de marcadores de lesão muscular em equinos submetidos à prova de enduro. Nove equinos da raça Puro Sangue Árabe participaram de uma competição de enduro, após realização de programa de treinamento com duração de três meses. Foram colhidas amostras de sangue antes, durante a competição e no período de recuperação dos animais, para análise de indicadores da ocorrência de estresse oxidativo como malondialdeído (MDA) e produtos proteicos de oxidação avançada (AOPP), além, das concentrações de substâncias antioxidantes como glutathiona (GSH), Vitamina A e Vitamina E. Valores de enzimas musculares, aspartato aminotransferase (AST) e creatina quinase (CK) foram obtidos, para monitoramento de possíveis lesões durante o exercício. As variáveis estudadas foram submetidas à Análise de Variância, sendo as médias comparadas pelo teste *Tukey* ( $P < 0,05$ ). Os indicadores oxidativos não se elevaram com o exercício, porém a concentração média de GSH diminuiu após o início da prova. Observou-se elevação dos níveis médios de AST no intervalo de 12 e 24 horas pós enduro e aumento da concentração média de CK após 4 horas da realização do exercício. O estresse oxidativo foi de baixa intensidade, devido ao bom preparo dos animais para o exercício proposto.

**Palavras chave:** enduro, enzimas musculares, equino, estresse oxidativo

## ***OXIDATIVE STRESS IN HORSES DURING 80 KM ENDURANCE RACE***

**ABSTRACT** - The present study evaluated the oxidant, antioxidant profile, by indicative substances, and muscle injury markers in horses undergoing endurance race. Nine Arabian horses participated in a competition of endurance, after a three months training program. Blood samples were taken before, during competition and in the animals recovery period, for analyse the occurrence of oxidative stress by some indicators, like malondialdeyde (MDA) and advanced oxidation protein products (AOPP), beyond concentrations of antioxidants as glutathione (GSH), Vitamin A and Vitamin E. Values of muscle enzymes, aspartate aminotransferase (AST) and creatine kinase (CK), were obtained to monitoring possible injuries during exercise. The variables were subjected to analysis of variance and the means were compared by Tukey test ( $P < 0,05$ ). Oxidative indicators did not increase with exercise, but the average concentration of GSH decreased after the start of the race. It was observed an increase in mean values of AST within 12 and 24 hours post endurance exercise. In the same way, CK mean values increased after 4 hours of the exercise. Oxidative stress was low intensity, due to the good traning of animals for the proposed exercise.

**Keywords:** oxidative stress, endurance, horse, muscle enzymes

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de MDA ( $\mu\text{mol/gPT}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....21
- Figura 2.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de AOPP ( $\mu\text{mol/L}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....21
- Figura 3.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de GSH ( $\mu\text{mol/gPT}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. Médias seguidas por letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ) FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....22
- Figura 4.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de Vitamina A ( $\mu\text{mol/L}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....23
- Figura 5.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de Vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....23
- Figura 6.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de AST (UI/L) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80

km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste Tukey (P<0,05). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....24

**Figura 7.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de CK (UI/L) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. Médias seguidas de letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste Tukey (P<0,05). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013 .....25

## ÍNDICE DE TABELAS

**Tabela 1.** Valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de PT (g/dL) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....20

**Tabela 2.** Valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de AOPP ( $\mu\text{mol/L}$ ) e MDA ( $\mu\text{mol/gPT}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....20

**Tabela 3.** Valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de GSH ( $\mu\text{mol/gPT}$ ), Vitamina E e Vitamina A ( $\mu\text{mol/L}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013 .....22

**Tabela 4.** Valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de AST (UI/L) e CK (UI/L) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.....24

## 1. INTRODUÇÃO

Independentemente da atividade realizada, há de se convir que os equinos são dotados de características morfofisiológicas privilegiadas, no que tange a capacidade de adaptação a esforços extremos (YOUNG, 2003). A performance de um cavalo, durante o exercício, está diretamente ligada à sua capacidade de manter a homeostase diante de uma variada onda de distúrbios metabólicos ocorrentes (TEIXEIRA – NETO et al., 2004).

A realização da atividade física, de forma geral, resulta em aumento da taxa metabólica, o que culmina em maior demanda energética. Esta, que pode ser suprida, brevemente, pelo predomínio do metabolismo anaeróbio. No entanto, a manutenção do animal em constante esforço é sustentada pela oxidação de substratos, intimamente ligada ao aporte de oxigênio (GARCIA et al., 1999).

Durante o exercício, com o aumento da taxa metabólica e consumo de oxigênio pela mitocôndria, de 2 a 5% deste não são inteiramente convertidos em água, resultando em espécies reativas de oxigênio (ERO) (SJODIN; WESTING; APPLE, 1990). Em consequência do aumento da produção de ERO pelo exercício, o músculo esquelético se torna alvo de injúrias, principalmente, pelo rompimento de fibras musculares (CHIARADIA et al., 1998). Por essa razão, tem-se dado especial atenção aos mecanismos de lipoperoxidação e defesas antioxidantes durante o exercício, buscando adequar protocolos de treinamento eficientes no aumento de performance e prevenção de lesões (NIESS et al., 1996; SOARES et al., 2011).

O enduro equestre é um esporte internacionalmente reconhecido e data de meados dos anos 50. As competições consistem na realização de trajetos, previamente determinados, podendo variar de 40 a 160 km, em eventos de dia único. Classifica-se Enduro de Regularidade, quando há a determinação de velocidade média a ser cumprida e Enduro de Velocidade Livre as provas em que se preconiza o menor tempo possível (FERNANDES; LARSSON, 2000; GOMIDE, 2006; FEI, 2013).

O esporte em questão, tem se tornado alvo de pesquisas devido ao grande investimento realizado na aquisição e treinamento dos animais. Além disso, é importante salientar a necessidade de conhecimento frente às possíveis injúrias, as

quais os equinos são submetidos durante competições de longa duração. Outrossim, se faz extremamente necessária a manutenção do bem estar animal, que deve ser resguardada pela figura do médico veterinário. A execução da atividade supracitada, se dá com a determinação do perfil metabólico e capacidade de preparação adequada dos animais, para que as respostas hostis decorrentes do exercício possam ser minimizadas, tornando os cavalos cada vez mais adaptados a situações de estresse.

Seguindo nesta direção, o estudo de agentes oxidantes e substâncias antioxidantes, por trabalhos realizados em situações reais de campo, se faz necessário na tentativa de elucidar mecanismos de defesa intrínsecos, buscando manejar adequadamente os animais em provas, com o foco na prevenção de lesões musculares.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O cavalo é considerado o maior atleta entre os mamíferos, devido ao máximo aproveitamento do oxigênio na transformação de energia e deslocamento de massa (YOUNG, 2003). Além disso, durante a atividade física, os equinos podem aumentar o consumo de oxigênio e a ventilação mais de 60 (EATON, 1994) e 30 (ART; LEKEUX, 1995) vezes, respectivamente. Adicionalmente, o baço constitui o reservatório de células sanguíneas a ser mobilizado no decorrer do exercício, fazendo com que o volume de eritrócitos alcance valores duas vezes maior que os basais, o que permite elevar a capacidade de transporte de oxigênio (EVANS, 1994).

O enduro é um dos esportes equestres que mais cresce no mundo (SCHOTT et al., 1997). Submetem-se os animais a esforço prolongado, necessitando que estes disponham de bom preparo físico para o cumprimento dos trajetos determinados. Avaliando a versatilidade dos equinos em cumprir os mais distintos objetivos em competições, cita-se as corridas disputadas por cavalos da raça Quarto de Milha, com extensões em torno de 400 metros e, ao extremo oposto, tem-se as provas de enduro de 160 km, nas quais, apresentam-se como vencedores os cavalos da raça Puro Sangue Árabe (LACERDA-NETO, 2004).

Durante a execução da atividade física de longa duração, torna-se necessário o aporte adequado de energia, fator este, limitante ao desempenho máximo dos equinos atletas (EATON, 1994; HARRIS; HARRIS, 1998). As principais fontes energéticas, os carboidratos e lipídeos são diretamente responsáveis pela produção da unidade utilizada na contração muscular, o ATP. De acordo com o exercício realizado, há o predomínio de uma das vias de produção energética, o que será definido pela intensidade e duração da atividade realizada, além das reservas orgânicas disponíveis (MARLIN; NANKERVIS, 2002; BERGERO et al., 2004).

Iniciada a atividade física, a produção de ATP se faz indispensável, podendo ter sua origem por vias independentes do oxigênio (anaeróbicas) ou vias que se utilizam do oxigênio (aeróbicas) (MARLIN; NANKERVIS, 2002). As últimas são capazes de oxidar carboidratos e lipídeos (MARLIN; NANKERVIS, 2002), sendo estes amplamente utilizados em exercícios de média e longa e duração (SNOW, 1985; HODGSON et al., 1985; ESSÉN-GUSTAVSSON et al., 1989; MARLIN;

NANKERVIS, 2002). Os ácidos graxos livres (AGL) são originados, primariamente, por meio da lipólise dos tecidos adiposos e, secundariamente, nos depósitos de triglicerídeos musculares (SNOW, 1985). À medida que há aumento na duração e intensidade do exercício, por consequência, ocorre elevação na taxa de oxidação dos lipídios (LINDHOLM et al., 1974), aspecto fundamental para a manutenção do suprimento energético aos músculos durante o enduro (SLOET et al., 1991).

Os processos de obtenção, transporte e utilização da energia pelo músculo em trabalho são as bases da resposta fisiológica ao exercício. Diversas alterações na constituição e distribuição sanguínea, com finalidade específica de aumento do aporte de oxigênio aos músculos esquelético e cardíaco, para sustentação do metabolismo elevado e facilitação na retirada e excreção dos metabólitos, ocorrem como consequências diretas do esforço físico (GARCIA et al., 1999).

O tecido muscular é um dos sistemas que mais recebe carga direta durante o esforço. O trabalho realizado por esse sistema, o torna vulnerável à ocorrência de danos constantes, os quais podem ser determinados por análises laboratoriais de alguns constituintes plasmáticos (OVERGAARD et al., 2004).

Com o aumento da oferta oxigênio, são produzidas substâncias eletricamente instáveis e potencialmente reativas, os radicais livres de oxigênio (RLO). Devido à reação de oxidação, os RLO podem causar dano irreversível à célula durante o metabolismo aeróbico. O organismo está normalmente em equilíbrio entre a produção e degradação de radicais livres, que existem em baixas concentrações em todos os tecidos biológicos (WULF, 2001). Quando ocorre desequilíbrio entre a capacidade antioxidante e as espécies reativas produzidas, em favor destas, cria-se um estado que se denomina estresse oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2001).

Os RLO são produzidos naturalmente no organismo através de processos metabólicos oxidativos e, muitas vezes, são de extrema utilidade, como nas situações em que há necessidade de ativação do sistema imunológico. Como exemplo, os macrófagos utilizam o peróxido de hidrogênio, molécula de alto poder oxidativo, eletricamente estável, não se tratando especificamente de um radical livre, para destruir bactérias e outros elementos estranhos (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004); na desintoxicação de drogas e na produção do fator relaxante derivado do

endotélio, o óxido nítrico, extremamente importante nos processos que desencadeiam o relaxamento dos vasos sanguíneos (MONCADA, 2001).

Os radicais livres podem ser produzidos pela perda de um elétron por um átomo não radical ou no caso do rompimento de uma ligação covalente, caso cada um dos átomos envolvidos fique com um elétron. Portanto, radical livre é qualquer espécie capaz de manter a existência independentemente de conter um ou mais elétrons não pareados (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990).

Em razão da sua configuração eletrônica, o oxigênio tem forte tendência a receber um elétron de cada vez. A conversão univalente do oxigênio à água processa-se da seguinte maneira: adição de um elétron a uma molécula de oxigênio no estado fundamental gera a formação do radical superóxido; este ao receber mais um elétron e dois íons hidrogênio, forma peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), através do processo chamado dismutação (PAL, 1994). Esta reação, catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD) é encontrada em quantidades elevadas nas células de mamíferos, na quais a enzima acelera a reação a  $10^4$  vezes a frequência para dismutação espontânea em pH fisiológico. Quando o  $H_2O_2$  recebe mais um elétron e um íon hidrogênio, forma-se o radical hidroxil, que é o mais reativo dos intermediários, pois pode reagir e alterar qualquer estrutura celular que esteja próxima, e assim, influenciar enzimas, membranas ou ácidos nucleicos (JENKINS, 1988).

Os radicais superóxido e hidroxil têm elétrons desemparelhados em sua órbita mais externa e são, portanto, chamados radicais livres. No entanto, o  $H_2O_2$  não é um radical livre, pois representa um metabólito de oxigênio parcialmente reduzido. Outras espécies reativas de interesse são os oxigênio singletes, que são formas de oxigênio spin-alteradas. Esses metabólitos derivados do oxigênio, considerados em conjunto, são denominados espécies reativas de oxigênio (ERO), em função da sua aumentada reatividade para biomoléculas (FISCHER, 1987), e em geral, alteram o tamanho e a forma dos compostos com os quais eles interagem. Neste sentido, cada ERO tem suas próprias características, mostrando diferentes reatividades e tempos de meia vida (DEL MAESTRO, 1980; PAL, 1994).

O estresse oxidativo é um desequilíbrio prejudicial ao sistema oxidante/antioxidante das células. Ele pode danificar o DNA e contribuir para o

envelhecimento ou dano às membranas celulares, especialmente em músculos, durante exercícios extenuantes (HARGREAVES et al., 2002). O aumento da oxidação durante o exercício pode implicar em injúria oxidativa às células musculares, causada pela produção de radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio, resultantes das reações oxidativas (SJODIN et al., 1990; SEN, 1995). Se os sistemas antioxidantes se tornam deprimidos durante o exercício, aumenta a susceptibilidade de células e tecidos aos danos causados pelas ERO (CHIARADIA et al., 1998).

Na ocorrência de reações dos radicais livres com ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), dá-se origem ao processo de lipoperoxidação, definido como uma cascata de eventos bioquímicos geradores de radicais alquila (L), alcoila (LO) e peroxila (LOO), capazes de destruir a estrutura das membranas celulares, assim como, promover a falência dos mecanismos de troca de metabólitos, resultando, em uma condição extrema, na morte celular (BENZIE, 1996). A lipoperoxidação (LPO) talvez se constitua no evento citotóxico primário que desencadeia sequência de lesões na célula. As alterações nas membranas levam a transtornos na permeabilidade, alterando o fluxo iônico e o fluxo de outras substâncias, o que resulta na perda da seletividade para entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula, alterações do DNA e comprometimento dos componentes da matriz extracelular (proteoglicanos, colágeno e elastina) (VACA; WILHEM; HARMS-RINGDAHL, 1988; BARBER; HARRIS, 1994). Uma das técnicas mais utilizadas para avaliar a oxidação de lípidos é o teste do malondialdeído (MDA). O MDA é um dialdeído formado como produto secundário durante a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados por cisão *beta* dos AGPI peroxidados, principalmente o ácido araquidônico. É volátil, possui baixo peso molecular, tem cadeia curta e reage eficientemente com inúmeros agentes nucleofílicos. (JANERO, 1990; BENZIE, 1996).

A deformidade nas membranas celulares está relacionada com a integridade dos AGPI e a viabilidade da célula com a flexibilidade dessa membrana. As ERO, ao reagirem com os lipídios das membranas celulares, causam perda da fluidez da membrana e aumento da permeabilidade com liberação das proteínas e enzimas

lisossomais do citoplasma no espaço extracelular lesionando os tecidos (SJODIN et al., 1990).

Assim como nos lipídios, têm-se estudado a vulnerabilidade dos aminoácidos e proteínas a uma variedade de ataques pelos radicais livres e ERO. A oxidação, particularmente de aminoácidos sensíveis, leva a agregação, reação cruzada, fragmentação, bem como a perda das propriedades funcionais e enzimáticas das proteínas (SHACTER, 2003).

Pela primeira vez, em 1996, descreveu-se um produto proteico de oxidação avançada (AOPP), caracterizado pela ação do estresse oxidativo diante de proteínas e aminoácidos, que se dá pela ação de oxidantes clorados como ácido hipocloroso e cloraminas. Essas substâncias são formadas pela mieloperoxidase liberada dos neutrófilos ativados, decorrentes do desequilíbrio dos mecanismos antioxidantes como: ação inadequada de enzimas antioxidantes, auto-oxidação e acúmulo de metabólitos não eliminados pelos fagócitos. Como consequência, esses radicais livres e ERO agem sobre as proteínas, produzindo AOPP, sendo este considerado um marcador fidedigno de estimativa do dano proteico mediado por oxidação (WITKO SARSAT, 1996).

Perante o estresse oxidativo, o organismo pode reagir de duas formas: adaptando-se ou sofrendo injúria celular. No caso de estresse oxidativo brando, as células suportam e respondem a essa situação com aumento na produção de defesas antioxidantes, na tentativa de reestabelecer o equilíbrio pró-oxidante/antioxidante. Entretanto, no estresse oxidativo severo há injúria celular e, quando esta é muito intensa, os danos são irreversíveis, levando à morte celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2001).

Para evitar o dano celular pelo estresse oxidativo, os sistemas biológicos desenvolveram mecanismos de defesa antioxidante, convertendo as espécies reativas em derivados inativos (HALLIWELL, 1994). Esses mecanismos de defesa incluem a prevenção da formação de radicais livres (antioxidantes preventivos), sequestro de radicais livres e processos de reparo (TRAVACIO; LLEUSUY, 1996; MATÉS; PEREZ-GÓMEZ; CASTRO, 1999).

Desse modo, existe um sistema de defesa enzimático para proteger o organismo dos efeitos danosos dos radicais livres, compreendido principalmente por:

catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPX) (HALLIWELL, 1994; MATÉS; PEREZ-GÓMEZ; CASTRO, 1999). Cada uma dessas enzimas tem a capacidade de catalisar reações que conduzem à formação de espécies menos reativas ou à neutralização das ERO (POWERS, 1999). Além desse sistema enzimático, existem outras substâncias antioxidantes, não enzimáticas, endógenas e exógenas, tais como a glutathione (GSH), as vitaminas A, C, E, o ácido lipoico, entre outras, que participam de forma determinante na neutralização e atenuação dos efeitos induzidos pela produção adicional de ERO (JANERO, 1991; DHALLA et al., 2000; LEFER; GRANGER, 2000; PRYOR, 2000; SEN, 2001). A GPX apresenta como principal função, catalisar a decomposição do  $H_2O_2$  em água e  $O_2$ , apresentando-se em maiores concentrações nos peroxissomos quando comparada à sua concentração nas mitocôndrias, além disso, é mais abundante nos tecidos predominantemente oxidativos do ponto de vista metabólico (POWERS, 1999).

Efetivamente, a GPX é uma enzima dependente de selênio e utiliza a glutathione reduzida (GSH) como doadora de elétrons para catalisar as reações de redução de peróxidos e hidroperóxidos em aldeídos. Localizada, no citosol ou nas mitocôndrias, apresenta 45 e 55% de efetividade, respectivamente nos locais citados, apresentando-se como um dos principais neutralizadores de hidroperóxidos provenientes das diferentes fontes celulares. Devido ao fato da GSH ser oxidada pela GPX e formar glutathione oxidada (GSSH), as células necessitam de uma via de regeneração de GSH, sendo assim, esta reação é catalisada pela enzima glutathione redutase (GR), a qual utiliza o NADPH como cofator e agente redutor, transformando a GSSH novamente em GSH (JI, 1995).

As concentrações intracelulares de GSH dependem da interação das enzimas GPX e GR diante do equilíbrio redox celular GSH/GSSH, bem como dos mecanismos de ressíntese intracelular e de captação de GSH a partir do sangue (POWERS, 1999; SEN, 2000). Apesar desse composto ser igualmente sintetizado em outros tecidos, a maior parte da síntese de GSH ocorre no fígado. Deste modo, particularmente em situações de estresse oxidativo adicional, o fígado exporta quantidades superiores de GSH para o sangue, fazendo com que os tecidos apresentem a necessidade de importar GSH da circulação via ciclo g-glutamil, no

qual interagem alguns complexos enzimáticos determinantes neste processo (POWERS, 1999).

A vitamina E é um dos componentes do sistema antioxidante não enzimático, sendo constituída, principalmente, por quatro tocoferóis e, secundariamente, por quatro tocotrienóis, sendo o  $\alpha$ -tocoferol o mais ativo (THERIAULT et al., 1999). Estudos comprovam que a vitamina E é um eficiente inibidor da peroxidação de lipídios *in vivo*. Estas substâncias agem como doadores de H para o radical peroxila, interrompendo a reação radicalar em cadeia (BUETTNER, 1993; JACOB, 1995). O tocoferol é oxidado nos tecidos dos animais, produzindo o  $\alpha$ -tocoferilquinona, principal produto formado a partir da peroxidação lipídica. Este composto se transforma em  $\alpha$ -tocoferil-hidroquinona que pode acumular-se no fígado e ser excretado nas fezes e bÍlis, na forma conjugada, ou pode ainda, sofrer  $\beta$ -oxidação nos rins, formando o ácido  $\alpha$ -tocoferônico, que é convertido à  $\alpha$ -tocoferona-lactona e excretado pela urina (COSTA, 2000). A vitamina E se localiza, primariamente, nas partes lipofÍlicas das células, tais como as membranas celulares, que contêm vitamina E na concentração de aproximadamente 1,0 mg para cada cinco a dez gramas de membrana lipídica (CHEW, 1996). Baixas concentrações desta vitamina nas membranas estão relacionadas com a desestabilização de células do sistema imune, com a diminuição da hipersensibilidade retardada, diminuição da resposta imune celular, diminuição da produção de imunoglobulinas e de interleucina-2 (FERNÁNDEZ et al., 2002).

A vitamina A (VA) foi a primeira vitamina lipossolúvel a ser reconhecida, fato ocorrido em 1913 (IOM, 2001), desde então muitos estudos vêm sendo conduzidos, a fim de elucidar as funções desse nutriente. Inicialmente, o papel da VA era apenas reconhecido na fisiologia do sistema visual (SOMMER, 1995). Mais recentemente, a ação antioxidante da VA tem ganhado destaque, (BAYDAS et al., 2002; RAMALHO; ACCIOLY; SILVA, 2003) fato que impulsionou a investigação de seus precursores, particularmente os carotenoides, os quais anteriormente eram reconhecidos apenas por sua atividade pró-vitáminica (NAGEL et al., 1997). Vitamina A é a expressão genérica usada para descrever o retinol e todos os carotenoides dietéticos que apresentam atividade biológica de transretinol. A VA natural, usualmente, é encontrada na forma de ésteres de retinil de cadeia longa. As formas

metabolicamente ativas incluem os correspondentes aldeído (retinal) e ácido (ácido retinóico) (IOM, 2001).

Das diversas espécies de carotenoides, os cinco mais comumente encontrados no plasma são o  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, luteína e o licopeno (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002). Entre esses, o  $\beta$ -caroteno é o mais potente precursor de retinol 1 (RUSSEL, 1998; CHRISTIAN et al., 2000; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002) e durante muito tempo apenas essa função foi estudada (NAGEL et al., 1997). Independente de sua atividade de pró-vitamina A, os carotenoides são responsáveis por outros efeitos benéficos no organismo (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002). Os carotenoides são importantes sequestradores de radicais oxigênio singlete, tendo sido reconhecidos pela sua alta capacidade antioxidante (MASCIO; MURPHY; SIES, 1991; YEUM et al., 1998; RUSSEL, 1998; PAIVA; RUSSEL, 1999; BAYDAS et al., 2002; RAMALHO; ACCIOLY; SILVA, 2003), interrompendo a geração de carotenoides reativos ao oxigênio ainda nas etapas iniciais de sua formação (NAGEL et al., 1997). Tal efeito também vem sendo atribuído, mais recentemente, ao próprio retinol, do qual alguns carotenoides são precursores (BAYDAS et al., 2002; RAMALHO; ACCIOLY; SILVA, 2003). Uma única molécula de retinol ou  $\beta$ -caroteno é capaz de inativar vários radicais oxigênio singlete antes de ser destruída (BAST et al., 1998; RAMALHO; ACCIOLY; SILVA, 2003). O  $\beta$ -caroteno é ainda reconhecido como varredor de radicais peroxil, especialmente em condições de baixa tensão de oxigênio. Contudo, é possível que outros carotenoides também possuam essa atividade (PAIVA; RUSSEL, 1999).

Em um estudo realizado com dez equinos, disputando uma competição de enduro com três dias de duração e 210 km de extensão, na qual avaliou-se o estresse oxidativo, os biomarcadores antioxidantes e a performance. As análises mostraram que a atividade da glutathiona redutase (GR) aumentou progressivamente durante a competição e as substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBAR), formadas a partir do MDA, mostraram elevação significativa quando comparadas aos valores basais, mas permaneceram na mesma concentração durante os três dias da competição. A catalase e os derivados carbonil reativos, estes formados a partir da oxidação de proteínas, não mostraram qualquer alteração significativa em qualquer período de tempo. Relativamente ao desempenho, os melhores cavalos foram

aqueles demonstraram maior atividade de GR e/ou menor concentração de TBAR (GONDIM et al., 2009).

Estudo conduzido junto ao treinamento de cavalos de trote permitiu concluir que, existe aumento nas concentrações sanguíneas de MDA em animais submetidos a treinamento de, no mínimo, seis meses. No entanto, ao ser elevada a carga de trabalho, observou-se tendência de diminuição nas concentrações de MDA, fato justificado por ativações crônicas do sistema antioxidante (RADAK; CHUNG; GOTO, 2008; FERNANDES et al., 2012).

Alguns trabalhos demonstram que a intensidade do exercício (monitorada pelo consumo de oxigênio ou frequência cardíaca), duração e as condições climáticas (temperatura e umidade relativa do ar) são fatores determinantes na formação de substâncias pró-oxidantes durante a atividade física realizada por cavalos (MILLS et al., 1996; WILLIAMS et al., 2005).

Ainda pensando nos equinos atletas, as afecções musculoesqueléticas podem causar alteração de comportamento, redução de performance e claudicação (DYSON, 2003), sendo o principal problema no manejo desses animais (SMITH et al., 2000). Segundo Hodgson e Rose (1994), o maior desafio ao se destinar um cavalo para a vida atlética é mantê-lo livre de lesões. Dentre as principais estratégias para a detecção e acompanhamento clínico de lesões musculares e manutenção da homeostasia, destaca-se a avaliação da atividade de enzimas marcadoras de injúria muscular no soro ou plasma (HARRIS; MAYHEW, 1998), assim como outros constituintes sanguíneos, exemplificados pela proteína total (PT), a qual assume importante papel na regulação do pH sanguíneo, dada sua capacidade de ligação aos íons hidrogênio (PITTS, 1968). Além disso, os valores de PT são utilizados como estimativa do grau de desidratação dos animais e fator corretivo de outras variáveis sanguíneas.

Às vistas do cenário de injúrias musculares, mudanças na atividade das enzimas supracitadas podem ocorrer por várias razões, incluindo-se alterações na permeabilidade celular, necrose celular, bloqueio ou diminuição na excreção da enzima, aumento da síntese, assim como, diminuição na sua produção. Na maioria das vezes, ocorre maior influxo para o plasma devido à ocorrência de lesões na membrana das células, resultando em alterações detectáveis. A intensificação da

função celular, que pode ocorrer durante o exercício ou como resposta a lesões, pode elevar a permeabilidade da membrana celular. Sendo assim, em muitas situações, torna-se difícil o diagnóstico diferencial, entre aumento nas concentrações enzimáticas em função de lesões e aumento fisiológico das mesmas (HARRIS; MAYHEW, 1998).

As enzimas mais comumente utilizadas para indicação de dano muscular são: aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH), embora esta última seja menos específica para avaliação de alterações do tecido muscular (HODGSON; ROSE, 1994).

A creatinafosfoquinase (CPK), também conhecida como creatina quinase (CK), é a enzima mais sensível para indicação de lesão muscular (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997). Essa enzima catalisa a fosforilação da adenosina difosfato (ADP) do fosfato de creatina, tornando a adenosina trifosfato (ATP) disponível para a contração muscular (SILVA; DIAS; SOTO-BLANCO, 2007). As mudanças séricas da CK ocorrem mais rapidamente do que as da AST, cujo aumento pode perdurar por semanas, em caso de doença muscular ou exercício, enquanto os níveis de CK podem diminuir em cerca de seis a 48 horas (HODGSON; ROSE, 1994). No equino, a CK é encontrada, predominantemente, no músculo esquelético, no miocárdio e no cérebro. Em razão de não haver troca significativa dessa enzima entre o fluido cerebrospinal e o sangue, aumentos significativos na atividade sérica total da CK se devem à injúria muscular esquelética ou cardíaca (HARRIS; MAYHEW, 1998). A magnitude do aumento da CK sérica é considerada marcador quantitativo da lesão muscular, reversível ou irreversível, causada pelo exercício ou trauma muscular, uma vez que quanto maior elevação de CK sérica, mais intensa será a extensão da injúria celular (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997).

A AST, que catalisa a transaminação de L-aspartato e alfa-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato, é encontrada em quase todos os tecidos, logo, a atividade sérica de AST não é específica para nenhum tecido, mas o músculo e o fígado podem ser considerados as principais fontes dessa enzima (SILVA; DIAS; SOTO-BLANCO, 2007). A razão entre a AST citoplasmática e mitocondrial no soro de cavalos é significativamente maior que a encontrada em outras espécies, sendo que

no equino parece não haver especificidade de isoformas dessa enzima por diferentes tecidos (HARRIS; MAYHEW, 1998).

Embora a CK seja mais específica como indicativo de lesão muscular, quando comparada à AST, a determinação simultânea de AST e CK em equinos representa valioso potencial diagnóstico e prognóstico, em função das diferentes taxas de retorno aos valores basais de atividade sérica ou plasmática. Aumentos na atividade sérica de CK indicam se a lesão muscular é ativa ou se ocorreu recentemente. A persistência dos valores elevados de CK demonstram que a lesão muscular continua ativa. A meia vida dessa enzima apresenta valores menores que 24 horas, enquanto os valores para a AST podem ser de sete a oito dias (SILVA; DIAS; SOTO-BLANCO, 2007).

Valores elevados nas atividades de CK e AST indicam lesão muscular, já que têm sido observados em afecções como a rabdomiólise (HODGSON; ROSE, 1994). Além disso, outras miopatias estão associadas ao esforço físico, assim como, miosites causadas pelo decúbito prolongado, relacionadas ao processo de isquemia/reperfusão consequente à produção de ERO (LEAL et al., 2006). Apesar de serem encontrados valores elevados da atividade de CK após o exercício, esses podem ocorrer devido à mudança na permeabilidade da membrana celular, possivelmente em função de hipóxia e serem considerados fisiológicos (THOMASSIAN et al., 2007). A hipóxia pode ocorrer durante exercícios leves em animais mal condicionados, sendo então esperada elevação de maior magnitude na atividade dessa enzima em relação a um animal bem condicionado fisicamente. Com o estabelecimento de um programa de treinamento, é possível que o aumento da atividade das enzimas musculares alcance valores menores (HARRIS; MAYHEW, 1998).

Grosso modo, os estudos sobre estresse enfocam tanto alterações na composição do sangue relacionadas às liberações de potássio, ácido láctico, calor produzido pelas células musculares e estresse oxidativo, associado ao metabolismo de oxigênio, como alterações na ventilação causadas por estresse mecânico, na altura dos vasos pulmonares e vias aéreas (ART; LEKEUX, 2005).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivos Gerais**

Avaliar as concentrações de variáveis indicativas de oxidação, de substâncias antioxidantes e enzimas marcadores de lesão muscular de equinos, antes, durante e após a realização de prova de enduro de 80 km.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Avaliar o desempenho de equinos submetidos à prova de enduro de 80 km;
- Mensurar os níveis de lipoperoxidação e oxidação de proteínas, utilizando-se de indicadores séricos;
- Verificar as concentrações de substâncias antioxidantes;
- Determinar as concentrações séricas de enzimas marcadoras de lesão muscular;
- Avaliar a ocorrência de estresse oxidativo, dado pelo desequilíbrio entre indicadores oxidativos e substâncias antioxidantes.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Animais

O protocolo experimental realizado no presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ UNESP – Campus de Jaboticabal (PROTOCOLO #001624-11).

Foram utilizados nove equinos da raça Puro Sangue Árabe, pertencentes à Fazenda Serra da Prata, localizada no município de Águas da Prata, São Paulo, Brasil. O grupo de animais era composto por dois garanhões, cinco machos castrados e duas fêmeas, com média de idade de  $9\pm 1$  anos. Antes do início do treinamento, os animais foram submetidos à avaliação de hígidez por meio de exame físico geral e específico do sistema locomotor. Foram instituídos programas de desverminação<sup>1</sup>, vacinação<sup>2</sup> e controle de ectoparasitas<sup>3</sup>.

O manejo dos animais, durante o período experimental, foi caracterizado pela alocação dos mesmos em baias individuais e fornecimento de dieta dividida em 50% da energia oriunda de alimento volumoso (feno de Tifton – *Cynodon dactylon*), 10% via óleo de soja e 40% via concentrado comercial, dotado de 13% de proteína bruta e 2500 kcal/kg de energia digestível. A dieta estabelecida aos equinos foi desenvolvida, utilizando-se as recomendações contidas no *NRC 2007*. Além disso, foi adotado programa de ferrageamento de todos os membros, com execução a cada 45 dias.

### 4.2. Treinamento

Os animais foram submetidos a três meses de treinamento a campo, caracterizado por três sessões semanais de exercícios, realizados em dias alternados. Sendo assim, durante o primeiro mês os animais realizaram duas sessões semanais de 60 minutos de duração, predominantemente ao passo, cuja velocidade média variou de 5,5 a 6 km/h, dados estes, determinados por

---

<sup>1</sup> EQVALAN Pasta – Merial Saúde Animal Ltda., Paulínia – SP

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

<sup>3</sup> Butox® P CE 25 – Intervet Brasil, Akzo Nobel Ltda., São Paulo – SP

equipamento *GPS*<sup>4</sup>. O trajeto foi previamente determinado pelo cavaleiro e se estendeu pela região do entorno da fazenda, de relevo montanhoso, dotada de trilha contendo aclives e declives. Já a terceira sessão semanal de treinamento foi realizada em pista plana de areia, de formato retangular, a qual permitiu um percurso oval, realizado ao galope, com velocidade média variando de 15 a 18 km/h e duração de 30 minutos.

O mês subsequente foi dotado do mesmo protocolo de treinamento, quanto à frequência de realização e velocidade do andamento, porém, foram adicionados 30 minutos a cada sessão realizada. Incremento este, também adotado ao terceiro e último mês de treinamento, o qual foi caracterizado por três sessões semanais com duração de 120 minutos, realizadas ao passo (5,5 a 6 km/h) e uma de 90 minutos realizada ao galope (15 a 18 km/h).

### **4.3. Enduro**

Finalizado o programa de treinamento, os equinos realizaram uma prova de regularidade, aos moldes das competições oficiais de enduro equestre. Os animais percorreram um trajeto de 80 km de distância, dividido em quatro anéis, percorrendo 30 km durante o primeiro, 20 km durante o segundo e 15 km durante o terceiro e quarto anéis. Estabeleceu-se o valor de 16,0 km/h como velocidade média durante a competição e 50 minutos de intervalo entre o fim e início dos anéis.

À cada chegada, os animais foram imediatamente desencilhados e tiveram livre acesso à água e feno. Com intuito de diminuir a temperatura corpórea e restabelecer as condições cardiorrespiratórias; integrantes da equipe de apoio realizaram o resfriamento dos equinos, seguindo às normas das competições oficiais. Além disso, 20 minutos após a chegada de cada anel, os animais passaram por exame físico para determinação da condição clínica, avaliando-se frequência cardíaca (FC), tempo de preenchimento capilar (TPC), ingurgitamento jugular à oclusão caudal, coloração de mucosas, pregueamento cutâneo, sensibilidade muscular, qualidade do movimento e estado geral, sendo determinado como VET CHECK cada chegada dos anéis.

---

<sup>4</sup> <sup>4</sup>RCX5 – G5™ PolarEquine – Heart Rate Monitor – Polar Electro Ou – Kempele, Finland

#### 4.4. Colheita de sangue e exames laboratoriais

Foram colhidas amostras de sangue para a determinação dos valores de PT, CK, AST, MDA, AOPP, GSH, Vitamina A e Vitamina E. Sendo a primeira colheita realizada no início do exercício, considerando-se este o momento basal. Imediatamente à chegada de cada animal, colheram-se amostras de sangue e foram determinados os tempos VET1, VET2, VET3 e VET4. Além destas, também foram realizadas colheitas adicionais uma hora, quatro, seis, 12, 24, 48 e 72 horas após o término do enduro, com o objetivo de avaliar e monitorar a recuperação dos animais.

As amostras de sangue foram colhidas por meio de punção da veia jugular em tubos secos<sup>5</sup> (10 ml). Os tubos foram mantidos em recipiente contendo gelo para posterior encaminhamento ao laboratório e separação das alíquotas de soro. A obtenção do soro foi realizada por meio de centrifugação<sup>6</sup> a 3000 rpm durante cinco minutos, sendo as parcelas de soro armazenadas em criotubos de 2 ml e alocadas em freezer a -70 °C.

Para a correção das variáveis GSH e MDA foi necessário aferir os dados da proteína total (PT), já que a unidade utilizada é  $\mu\text{mol/gPT}$ . A PT foi determinada por meio de kit comercial<sup>7</sup> e leitura em espectrofotômetro<sup>10</sup>, método pelo qual também foram obtidos os valores das concentrações séricas de AST e CK.

A análise de MDA foi realizada de acordo com o método proposto por Gerard – Monnier et al. (1998) com algumas adaptações. Utilizou-se 200 $\mu\text{l}$  de soro que transferidos a um eppendorff, ao qual, adicionou-se 650 $\mu\text{l}$  de solução 10mM de 1-metil-fenilindol em acetonitrila e metanol (2:1, v/v) e 150 $\mu\text{l}$  de HCL puro (37%). Em seguida, os eppendorfs foram homogeneizados e deixados em banho Maria a 45°C por 40 minutos. As amostras foram resfriadas em gelo e centrifugadas a 4000 rpm

---

<sup>5</sup> BD Vacutainer™ No Additive – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Curitiba – PR

<sup>6</sup> Centrífuga FANEM mod. 211

<sup>7</sup> Proteínas Totais – Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa – MG

<sup>8</sup> CK – NAC Liquiform – Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa – MG

<sup>9</sup> AST/GOT Liquiform – Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa – MG

<sup>10</sup> Labquest 2000 – Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa – MG

por 10 minutos. Do sobrenadante, realizou-se a leitura da absorvância com comprimento de onda de 586nm, determinando-se a concentração de MDA em comparação a uma curva de 1,1,3,3 – tetrametonitropropano (TMP) hidrolisado.

Os valores de GSH foram obtidos por meio da técnica adaptada por Hu, 1994, na qual uma alíquota de soro (25 µL) foi diluída em 1 mL de Tris-EDTA *buffer* (0,25mmol/L Tris base, 20mmol/L EDTA, pH 8.2), executando-se a leitura a 412nm. Em seguida, uma alíquota de 25µL de 5, 5`-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico) (DTNB) (10mmol/L em metanol absoluto) foi adicionada à solução. Após 15 minutos em temperatura ambiente realizou-se a segunda leitura juntamente ao padrão DTNB. A concentração de grupos sulfidril (GSH) foi calculada usando a glutathiona reduzida como padrão, sendo os resultados expressos em µmol/L. Em seguida, para determinação final dos dados, realizou-se a correção dos valores, utilizando-se os dados obtidos da PT, sendo a unidade final de GSH expressa em µmol/gPT.

A AOPP foi determinada por meio da adição do soro à solução PBS, seguida de mistura de 200µL de cloramina padrão, iodeto de potássio e 20µL de ácido acético puro. A leitura da solução foi realizada a 340nm e expressa em µmol/L de equivalente em cloramina, sendo necessária a multiplicação deste valor por 5 para obtenção do valor final de AOPP.

Para determinação das concentrações de vitamina E e Vitamina A, utilizou-se protocolo proposto por Arnaud et al., (1991). Sendo a amostra de soro misturada a etanol absoluto, com posterior adição de n-hexano. Em seguida, realizou-se centrifugação por 10 minutos, retirada de 0,5 mL de sobrenadante e secagem sob nitrogênio. A leitura das amostras se deu em equipamento HPLC<sup>11</sup> (Cromatografia líquida de alta eficiência), na unidade µmol/L.

#### **4.5. Análise estatística**

Os resultados obtidos foram submetidos a teste de normalidade com 5% de significância (*Shapiro-Wilk* e *Komogorov-Smirnov*) e analisados por meio de Análise de Variância (ANOVA). As médias obtidas foram comparadas pelo teste *Tukey*, ao nível de 5% de probabilidade utilizando o *Software AgroEstat* (Sistema para Análises

---

<sup>11</sup> Shimadzu LC – 20 AT, Japão

Estatísticas de Ensaio Agrônomicos). Os dados obtidos estão apresentados como valores médios  $\pm$  erro padrão da média (EPM) na forma de tabelas e figuras.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Enduro**

As condições climáticas durante a realização do enduro foram desfavoráveis ao bom desempenho dos animais, com predomínio de elevada umidade relativa do ar, que atingiu valores da ordem de 90%. Além disso, a temperatura ambiente obteve valores entre 16,5 e 26,1°C, com índice pluviométrico de 14,1 mm (INMET – Instituto de Meteorologia). A soma dos índices supracitados determinou um terreno altamente instável, enlameado, com perfil escorregadio, dificultando a locomoção dos animais. Sendo assim, a velocidade média cumprida pelos equinos ao longo da prova foi de 12,5 km/h, valor inferior ao que se estabeleceu previamente. Devido às condições climáticas, os cavalos apresentaram grande dificuldade de manutenção de ritmo e equilíbrio durante a trilha. Por essa razão, quatro animais foram desclassificados em função de apresentarem claudicação ou problemas metabólicos. Dois animais foram eliminados no primeiro VET CHECK em função de apresentarem claudicação e sensibilidade à palpação de tendões dos membros torácicos, no segundo VET CHECK, dois animais foram eliminados, sendo um por claudicação, apresentando os mesmos sinais dos animais eliminados anteriormente e, outro animal foi eliminado por desordens metabólicas, como desidratação elevação da temperatura corpórea e sinais aparentes de fadiga. Dos nove equinos que largaram, apenas cinco animais concluíram todo o trajeto pré-estabelecido.

### **5.2. Proteína Total (PT)**

Os valores médios seguidos pelo erro padrão da média da proteína total, durante o enduro de 80 km, encontram-se descritos na tabela 1. Dados estes, utilizados como fator de correção para determinação das concentrações de MDA e GSH.

**Tabela 1.** Valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de PT (g/dL) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

	Basal	Vet 1	Vet 2	Vet 3	Vet 4	1 h	4 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
PT	5,35	6,60	6,71	6,54	6,99	6,98	7,45	6,40	6,60	5,98	5,59	5,65
(g/dL)	$\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	$\pm$ 0,07 <sup>abcde</sup>	$\pm$ 0,06 <sup>acde</sup>	$\pm$ 0,08 <sup>ae</sup>	$\pm$ 0,09 <sup>ae</sup>	$\pm$ 0,12 <sup>ae</sup>	$\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	$\pm$ 0,05 <sup>abcde</sup>	$\pm$ 0,04 <sup>abcde</sup>	$\pm$ 0,07 <sup>bcde</sup>	$\pm$ 0,02 <sup>bc</sup>	$\pm$ 0,07 <sup>bcd</sup>

Valores com letras diferentes na mesma linha divergem estatisticamente pelo teste Tukey a 5%

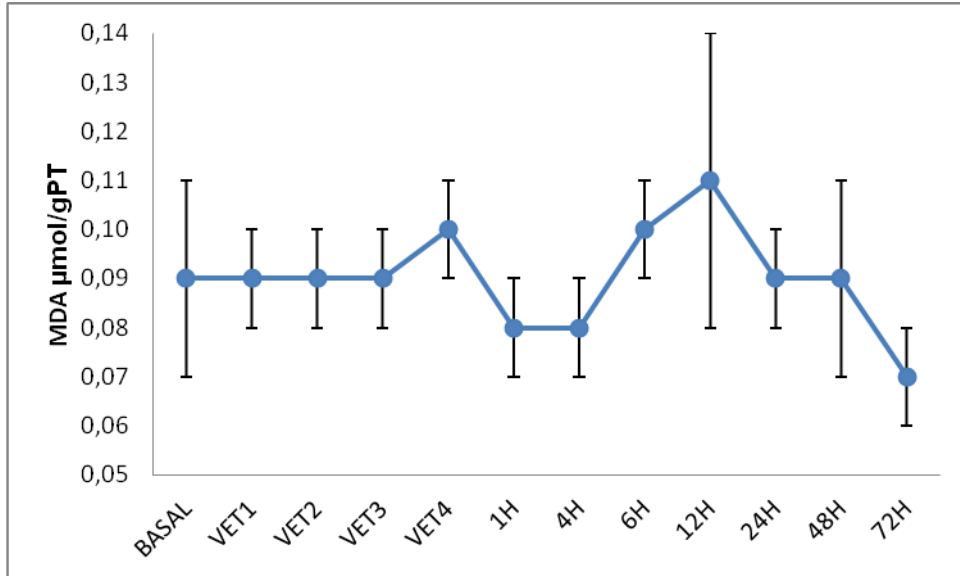
### 5.3. Indicadores oxidativos

Os valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de AOPP e MDA, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km, encontram-se descritos na tabela 2.

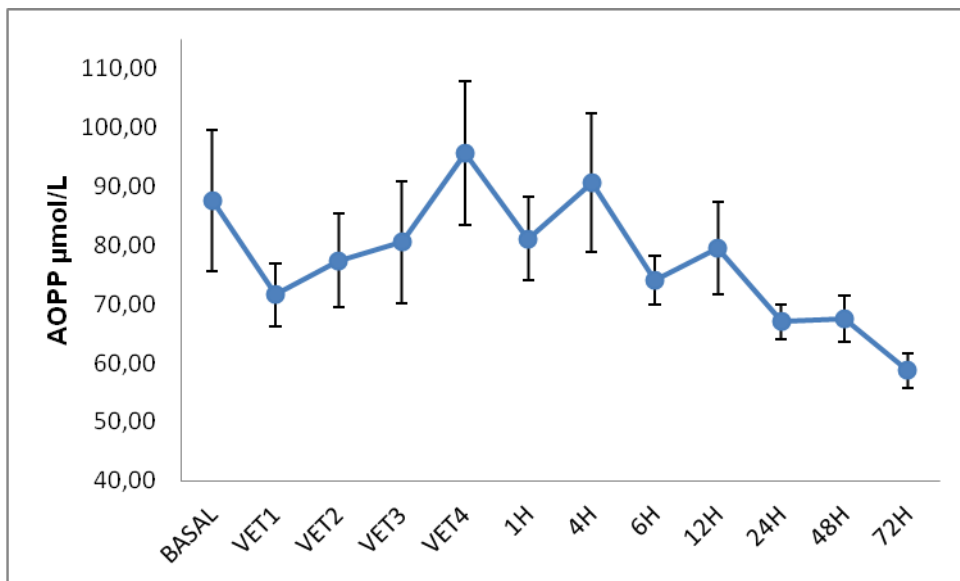
**Tabela 2.** Valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de AOPP ( $\mu$ mol/L) e MDA ( $\mu$ mol/gPT) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

	Basal	Vet 1	Vet 2	Vet 3	Vet 4	1 h	4 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
MDA	0,09	0,09	0,09	0,09	0,10	0,08	0,08	0,10	0,11	0,09	0,09	0,07
( $\mu$ mol/gPT)	$\pm$ 0,02	$\pm$ 0,01	$\pm$ 0,01	$\pm$ 0,01	$\pm$ 0,01	$\pm$ 0,01	$\pm$ 0,01	$\pm$ 0,01	$\pm$ 0,03	$\pm$ 0,01	$\pm$ 0,02	$\pm$ 0,01
AOPP	87,53	71,58	77,42	80,51	95,63	81,10	90,63	74,08	79,44	67,06	67,54	58,72
( $\mu$ mol/L)	$\pm$ 12,05	$\pm$ 5,34	$\pm$ 8,05	$\pm$ 10,38	$\pm$ 12,12	$\pm$ 7,06	$\pm$ 11,82	$\pm$ 4,16	$\pm$ 7,84	$\pm$ 2,96	$\pm$ 4,00	$\pm$ 2,96

Valores com letras diferentes na mesma linha divergem estatisticamente pelo teste Tukey a 5%.



**Figura 1.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de MDA ( $\mu\text{mol/gPT}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.



**Figura 2.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de AOPP ( $\mu\text{mol/L}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

#### 5.4. Substâncias antioxidantes

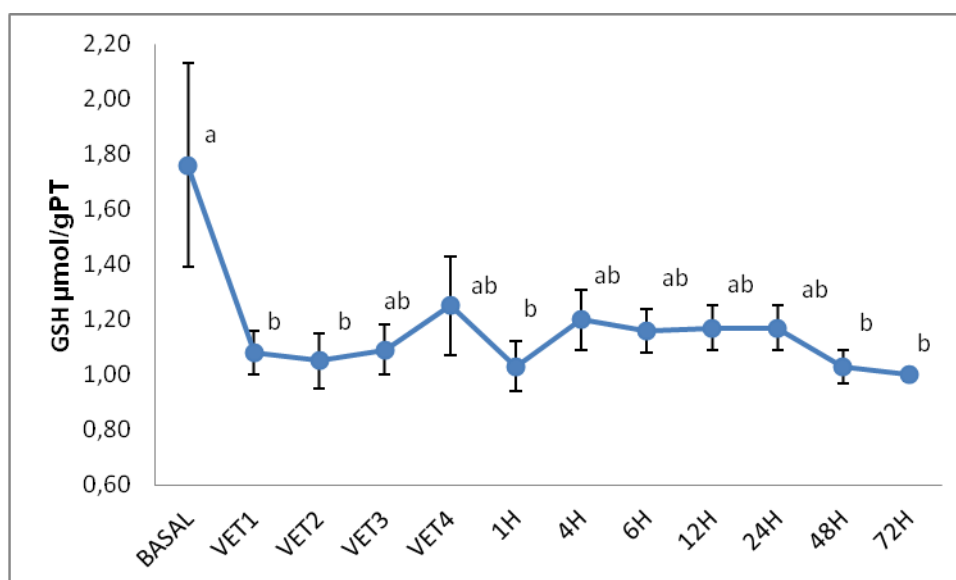
Os valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de GSH, Vitamina E e Vitamina A, durante o enduro de 80 km, encontram-se descritos na tabela 3.

**Tabela 3.** Valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de GSH ( $\mu\text{mol/gPT}$ ), Vitamina E e Vitamina A ( $\mu\text{mol/L}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

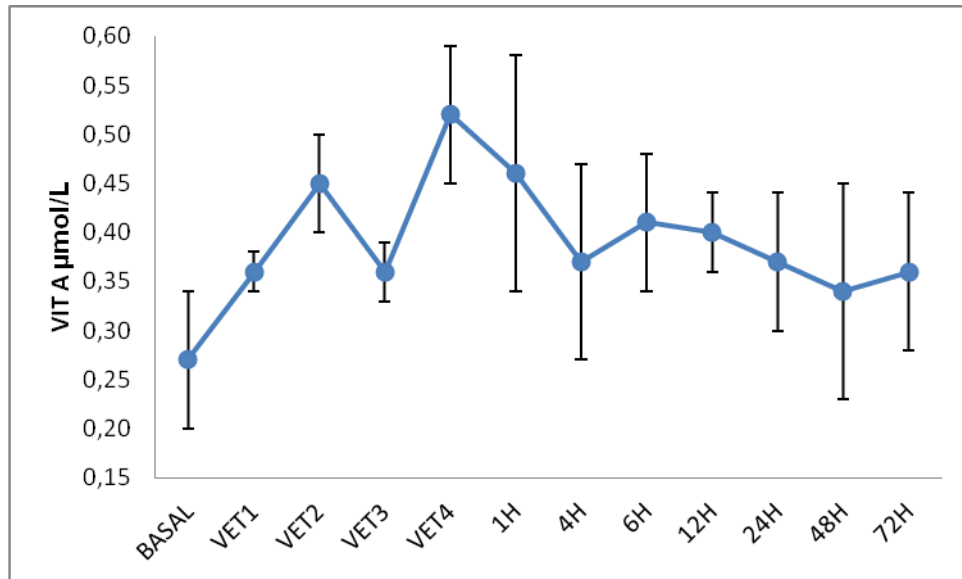
	Basal	Vet 1	Vet 2	Vet 3	Vet 4	1 h	4 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
GSH ( $\mu\text{mol/gPT}$ )	1,76 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	1,08 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	1,05 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	1,09 $\pm$ 0,09 <sup>ab</sup>	1,25 $\pm$ 0,18 <sup>ab</sup>	1,03 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	1,20 $\pm$ 0,11 <sup>ab</sup>	1,16 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	1,17 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	1,17 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	1,03 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	1,00 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>
Vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ )	7,74 $\pm$ 0,64	8,43 $\pm$ 0,69	8,97 $\pm$ 0,70	8,09 $\pm$ 0,39	10,28 $\pm$ 0,31	9,64 $\pm$ 0,72	10,11 $\pm$ 0,37	10,93 $\pm$ 0,87	9,70 $\pm$ 1,25	10,49 $\pm$ 0,60	10,90 $\pm$ 1,75	9,06 $\pm$ 0,84
Vitamina A ( $\mu\text{mol/L}$ )	0,27 $\pm$ 0,07	0,36 $\pm$ 0,02	0,45 $\pm$ 0,05	0,36 $\pm$ 0,03	0,52 $\pm$ 0,07	0,46 $\pm$ 0,12	0,37 $\pm$ 0,10	0,41 $\pm$ 0,07	0,40 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,07	0,34 $\pm$ 0,11	0,36 $\pm$ 0,08

Valores com letras diferentes na mesma linha divergem estatisticamente pelo teste Tukey a 5%.

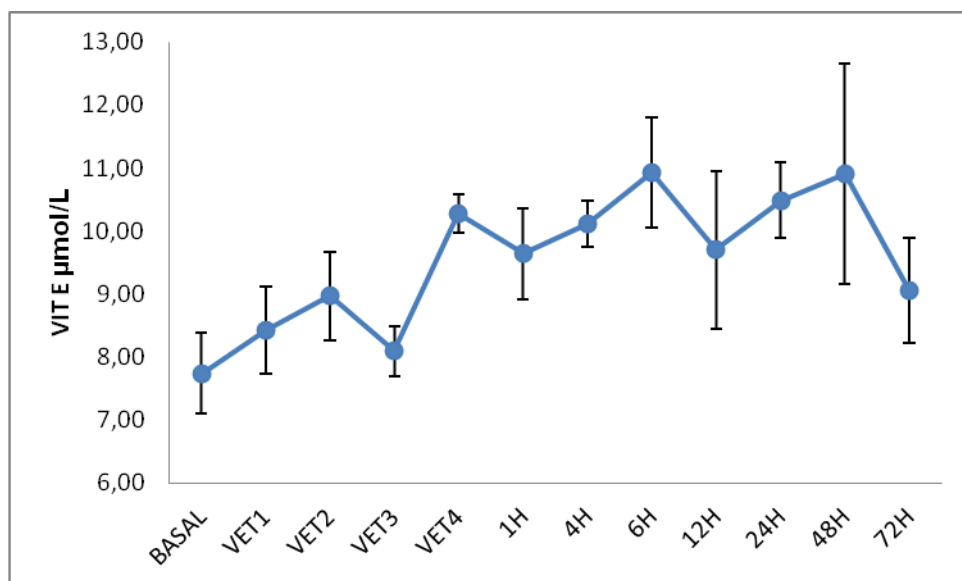
Os valores obtidos da concentração sérica das substâncias antioxidantes diminuiram apenas para GSH, quando comparados aos valores basais como demonstrados na figura 3, fato observado imediatamente após o início do enduro. As concentrações de Vitamina A e Vitamina E estão demonstradas nas figuras 4 e 5, respectivamente.



**Figura 3.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de GSH ( $\mu\text{mol/gPT}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. Médias seguidas por letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.



**Figura 4.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de Vitamina A ( $\mu\text{mol/L}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.



**Figura 5.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de Vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ ) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

### 5.5. Marcadores de lesão muscular

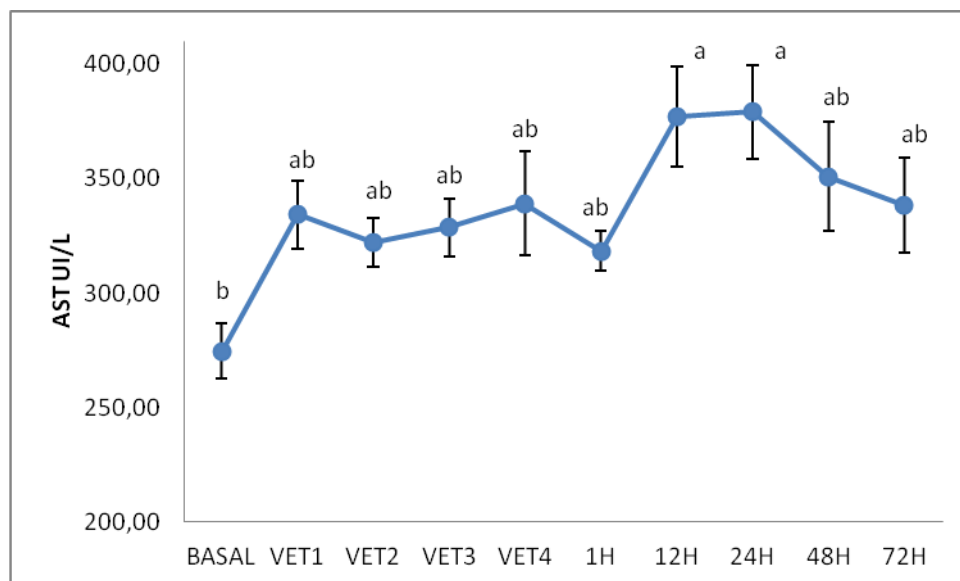
Os valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações de AST e CK, durante o enduro de 80 km, encontram-se descritos na tabela 4.

**Tabela 4.** Valores médios  $\pm$  erro padrão da média das concentrações séricas de AST (UI/L) e CK (UI/L) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

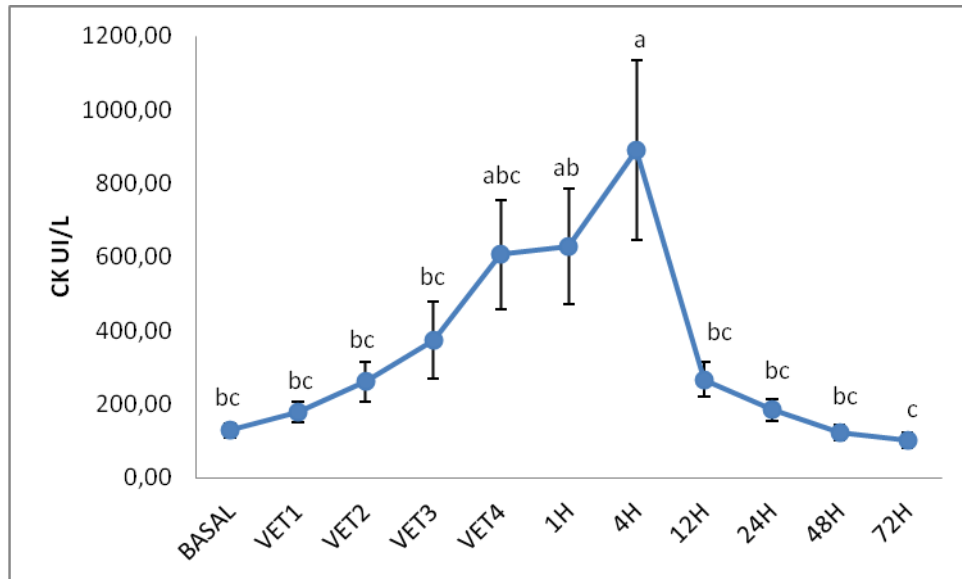
	Basal	Vet 1	Vet 2	Vet 3	Vet 4	1 h	4 h	12 h	24 h	48 h	72 h
AST	274,48	334,18	322,13	328,68	339,15	318,20		377,12	379,22	350,94	338,36
(UI/L)	$\pm$ 12,02 <sup>b</sup>	$\pm$ 14,47 <sup>ab</sup>	$\pm$ 10,53 <sup>ab</sup>	$\pm$ 12,66 <sup>ab</sup>	$\pm$ 22,90 <sup>ab</sup>	$\pm$ 8,66 <sup>ab</sup>		$\pm$ 21,97 <sup>a</sup>	$\pm$ 20,46 <sup>a</sup>	$\pm$ 23,60 <sup>ab</sup>	$\pm$ 20,79 <sup>ab</sup>
CK	128,12	178,96	261,42	374,33	606,53	627,99	890,78	267,02	184,58	122,89	102,08
(UI/L)	$\pm$ 18,52 <sup>bc</sup>	$\pm$ 26,72 <sup>bc</sup>	$\pm$ 54,46 <sup>bc</sup>	$\pm$ 103,37 <sup>bc</sup>	$\pm$ 148,63 <sup>abc</sup>	$\pm$ 156,43 <sup>ab</sup>	$\pm$ 244,99 <sup>a</sup>	$\pm$ 47,12 <sup>bc</sup>	$\pm$ 29,26 <sup>bc</sup>	$\pm$ 20,79 <sup>bc</sup>	$\pm$ 21,27 <sup>c</sup>

Valores com letras diferentes na mesma linha divergem estatisticamente pelo teste Tukey a 5%.

A variável AST se elevou após a realização da prova de enduro, obtendo os maiores valores nos momentos 12 e 24 horas, como demonstrado na figura 6. A variável CK também aumentou após a realização da prova, atingindo seu pico de elevação no momento 4 horas, como demonstrado na figura 7.



**Figura 6.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de AST (UI/L) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. Médias seguidas por letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013



**Figura 7.** Variação dos valores médios  $\pm$  erro padrão da média da concentração sérica de CK (UI/L) de equinos, antes, durante e após a realização do enduro de 80 km. Médias seguidas por letras diferentes divergem estatisticamente pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2013.

## 6. DISCUSSÃO

Se faz de real importância, além de constar como fatores determinantes para os resultados obtidos, as condições climáticas observadas durante a realização do enduro de 80 km. Temperatura e umidade mantiveram-se elevadas durante toda realização da prova, com períodos de precipitação em alguns trechos da trilha, criando um cenário extremamente desfavorável à locomoção dos animais. A união dos fatores climáticos afetou diretamente a qualidade do terreno, caracterizando-se este como piso enlameado, escorregadio e instável. À medida que se elevam as velocidades dos animais no percurso, somadas ao aumento de temperatura e umidade, com trajeto executado em terreno desfavorável, aumenta o esforço muscular, uma vez que, a necessidade de manutenção do equilíbrio associada ao ajuste do equilíbrio, requer ativação de grupos musculares extensos, os quais são menos utilizados em condições ambientais normais. Isto eleva a demanda energética, predispondo o animal a desequilíbrios metabólicos. (ECKER; LINDINGER, 1995; FLAMINIO, RUSH, 1998; ROBERT et al., 2010).

A diminuição da velocidade dos competidores já foi apontada como consequência direta da execução de provas em ambiente de elevadas temperaturas (ELY et al., 2007; VIHMA, 2010). Demonstrando, em ensaios experimentais e clínicos, as adaptações fisiológicas pelas quais passam os equinos em condições adversas (MARLIN et al., 1999).

O índice de eliminação dos animais, demonstrado no presente trabalho, assemelha-se muito ao encontrado em estudo realizado por Nagy, Murray e Dyson (2010), cujo experimento acompanhou provas de enduro em 9 países, concluindo que apenas 46% dos animais que iniciaram uma prova conseguiram completá-la. Determinando como principais causas de eliminação as claudicações, causa para 69,2% das eliminações. Já as desordens metabólicas contribuíram com 23,5% das eliminações dos animais. Além dos dados supracitados, o autor concluiu que o aumento do número de atletas eliminados por claudicação estava diretamente ligado às condições do piso e do ambiente, e não, à elevação na velocidade de execução da prova.

Não se observou elevação dos valores de MDA, indicativo de lipoperoxidação, oriundo da oxidação de ácidos graxos poliinsaturados. Esperava-se que à medida que os equinos transcorressem os anéis, a oxidação de lipídeos também se elevasse com intuito de garantir o aporte energético, ocasionando elevação dos níveis de MDA, fato observado em prova de enduro de 120 km, em que a média de MDA após a realização da prova superou em três vezes o valores basais (AL-QUDAH; AL-MAJALI, 2008). Além disso, cavalos árabes, os quais desenvolveram rabdomiólise exercicional apresentaram valores elevados de MDA quando comparados a equinos árabes sadios (EL-DEEB, EL-BAHR, 2010). Situação esta, não encontrada nos animais participantes do enduro proposto pelo presente trabalho. Já os equinos observados, durante três dias, junto à execução de enduro de 210 km, apresentaram elevações de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBAR), também em decorrência da oxidação de lipídeos, além disso, foi observada correlação inversa entre o desempenho dos animais e os valores de TBARS (GONDIM et al., 2009). Porém, cavalos de trote avaliados após seis meses de treinamento e 12 meses de treinamento não apresentaram diferença quanto aos níveis de MDA, demonstrando que o sistema antioxidante, frente a ativações crônicas promovidas pelo treinamento, desenvolveu mecanismo adaptativo frente à ação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (RADAK; CHUNG; GOTO, 2008). Equinos submetidos à realização de enduro de 120 km apresentaram valores menores dos índices de lipoperoxidação, previamente ao exercício, quando comparados aos cavalos eliminados em distâncias menores (AL-QUDAH, AL-MAJALI, 2006), demonstrando que animais destreinados, ou pouco treinados, quando submetidos ao exercício, tendem a apresentar elevação dos indicadores de lipoperoxidação (AVELLINI, SILVESTRELLI, GAITI, 1995) (DUTHIE et al., 1990) (WITT et al., 1992). O que vem ao encontro dos dados obtidos pelo presente trabalho, em que os animais passaram por período de treinamento prévio, havendo satisfatória preparação à realização do enduro proposto, evitando a elevação de indicadores de oxidação lipídica.

Os valores observados para a oxidação de proteínas (AOPP) não se alteraram durante a realização da prova de enduro, sua formação, segundo Witko Sarsat (1996) se dá pela mieloperoxidase liberada de neutrófilos ativados. Foram

observadas elevações nos valores de AOPP no soro de potros da raça puro sangue inglês, acometidos por injúrias do aparelho respiratório, evidenciando que aumentos da oxidação de proteína estão relacionados à ocorrência de processos inflamatórios (PO et al., 2013). Em estudo conduzido junto a mulheres atletas em diferentes modalidades, foram encontrados valores maiores para AOPP no grupo que realizava atividades de curta duração e alta intensidade, ao passo que o grupo de atletas maratonistas apresentou-se com valores menores para os níveis de AOPP, observação esta, que permite uma analogia aos equinos participantes do enduro proposto não apresentarem elevações de AOPP. Além disso, foi demonstrado que atletas humanos que realizaram exercício de explosão apresentaram valores maiores de AOPP, quando comparados aos atletas que realizaram exercício de longa duração (CHOI et al., 2010).

Houve diminuição dos valores de GSH, quando comparados aos valores basais, o que se dá, principalmente no início do exercício. Devido ao dinamismo das reações de oxidação e redução, pelas quais passam as moléculas de glutathione, esta representa uma das mais eficientes barreiras antioxidantes não enzimáticas existentes na célula (HANSCHMANN et al., 2013). É encontrada na forma oxidada (GSSH) ou reduzida (GSH), sendo essencial doadora de elétrons para a enzima glutathione peroxidase (GPx) (KANZOK et al., 2000). Ao iniciar o exercício, os animais passam a sofrer ação de EROs, o que promove a utilização das reservas antioxidantes endógenas, fato observado pela diminuição de GSH (AL-QUDAH, AL-MAJALI, 2006). Equinos submetidos a enduro de 80 km e 160 km apresentaram diminuições dos níveis de GSH após o exercício, demonstrando a utilização do sistema não enzimático na manutenção do equilíbrio redox celular, aponta-se a regeneração da vitamina C como principal causa da diminuição de GSH (HARGREAVES et al., 2002).

A vitamina E manteve-se constante durante a realização do enduro e recuperação dos animais, apesar de registrar tendência à elevação durante o exercício. Resultados semelhantes foram obtidos por Hargreaves et. al., (2002) em cavalos participantes de enduro de 80 e 160 km, cujos estudos não apontaram alterações dos níveis plasmáticos de Vitamina E. Do mesmo modo, equinos que realizaram competição de 140 km não apresentaram alterações de Vitamina E

durante o enduro, nem após 16 horas de recuperação (MARLIN et al., 2002). A manutenção do  $\alpha$ -tocopherol circulante pode ser explicada pela constante, e concomitante, mobilização de Vitamina E juntamente aos ácidos graxos, durante o exercício, por meio da lipólise das reservas de gordura, especialmente, pelo fato destas serem as principais reservas energéticas utilizadas durante as provas de enduro (ROKITSKI et al., 1994).

O comportamento da variável Vitamina A se assemelhou ao da Vitamina E, não havendo diferença entre os momentos observados, no entanto, pôde-se observar uma tendência de aumento durante a execução do exercício. Apesar de estudos demonstrarem que a Vitamina A apresenta função carreadora de elétrons na cadeia respiratória, sendo um importante sinalizador do status redox celular (HOYOS et al., 2012), não foram observadas mudanças consistentes em seus níveis séricos. Por outro lado, a suplementação com Vitamina A, desenvolvida em modelo experimental com ratos, apresentou como resultado expressivo o aumento de indicadores da lipoperoxidação, assim como, diminuição das defesas antioxidantes, sugerindo a existência de um nível ótimo circulante de Vitamina A (SCHNORR et al., 2011). Além disso, a combinação de Vitamina A, D e E, demonstrou-se efetiva na manutenção de baixos níveis de MDA em bovinos transportados por longos períodos, quando comparados aos que não receberam a suplementação (AKTAS et al., 2011), porém no presente trabalho a oxidação de lipídeos manteve-se estável, assim como os níveis de Vitamina A e E, demonstrando ter existido equilíbrio entre ações oxidantes e antioxidantes.

A variável CK apresentou padrão crescente após o início da atividade física, alcançando valor de maior magnitude quatro horas após o término do enduro. Já é sabido que exercícios de baixa intensidade, como a realização de trote, durante 15 minutos em esteira inclinada, não alteram os níveis de CK e AST, sendo estes avaliados uma hora após o exercício, ou durante acompanhamento de treinamento por sete dias. (ROSE; ALLEN; HODGSON, 1983). Também previamente demonstrado, estas enzimas se apresentaram com elevações, de caráter mediano, em equinos submetidos à realização de prova de enduro (KERR; SNOW, 1983). No entanto, o que torna os trabalhos anteriores aplicáveis à realidade das competições, é o fato da ocorrência de alterações enzimáticas, com média magnitude, estar

presente após a realização pelo presente trabalho. Ainda assim, elevações dos níveis enzimáticos podem proporcionar a identificação de animais dotados de lesões musculares após a realização do esforço (MC GOWAN, 2008). Ao realizar avaliação de animais, submetidos a treinamento prévio, classificado como de média intensidade, os equinos apresentaram valores de CK na média de 206 UI/L e AST de 290UI/L, imediatamente após a realização do exercício, no entanto a enzima AST alcançou maiores valores 48 horas após a realização do exercício (DA CÃS et al., 2000). Este comportamento enzimático também foi observado no trabalho em questão, sendo alcançado os maiores valores de AST 24 e 48 horas após o término do enduro, porém não havendo diferença entre os momentos. Em relato de caso de rabdomiólise exercicional aguda, os valores de CK atingiram 100.000 UI/L (SILVA; CAMPOS; BRAZIL, 2008), permitindo uma comparação ao caráter mediano de elevação desta enzima, encontrado nos cavalos submetidos ao enduro em questão. A CK é o indicador mais sensível das lesões musculares, altera-se rapidamente, possui vida média curta e relata lesões ativas. Seus valores retornam aos basais em torno de 24 horas, quando cessado o estímulo. (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997). Analisando os dados obtidos, foi possível observar o mesmo comportamento descrito previamente, os valores de CK se elevam ao início do exercício, atingem um pico quatro horas após o término do enduro, retornando aos valores basais 24 horas após o final da prova. Apesar dos valores de CK terem se elevado, os animais não apresentaram sensibilidade muscular, claudicação ou sinais de fadiga. Fato que pode ser explicado pela magnitude do aumento dos níveis da enzima quando da ocorrência de quadros de injúria muscular. Segundo Kaneko, Harvey e Bruss (1997), a AST caracteriza-se como uma enzima de resposta tardia, tem seu pico de elevação em torno de 24 horas após o exercício, retornando aos valores basais cerca de sete a 14 dias pós estímulo. Observando a curva de variação dos níveis séricos de AST dos animais, é possível observar um ligeiro aumento, concomitante à realização do exercício, com pico de elevação nos períodos de 12 e 24 horas pós exercício, coincidindo ao relatado pelo autor supracitado.

## 7- CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos no estudo proposto, pôde-se concluir que:

- as condições climáticas encontradas no dia da realização da prova enduro afetaram diretamente a velocidade executada pelos participantes, assim como, afetaram diretamente a qualidade do piso promovendo a eliminação de 4 participantes;
- O sistema antioxidante funcionou adequadamente, na medida que, os valores de GSH, importante agente antioxidante, diminuíram. No entanto, concluiu-se que a intensidade do estresse desempenhado pelo exercício foi de baixa magnitude, pois os indicadores de lipoperoxidação e oxidação proteica não se elevaram;
- as enzimas musculares se elevaram, caracterizando a existência de dano muscular, no entanto, este foi de baixa intensidade, devido aos valores alcançados e à higidez clínica em que se encontraram os animais após a realização da prova de enduro.

## 8. REFERÊNCIAS

- AKTAS, M. S.; OZKANLAR, S.; KARAKOC, A.; AKCAY, F.; OZKANLAR, Y. Efficacy of vitamin E + selenium and vitamin A + D + E combinations on oxidative stress induced by long-term transportation in Holstein dairy cows. **Livestock Science**, v. 141, p. 76-79, 2011.
- AL-QUDAH, K. M.; AL-MAJALI, A. M. Status of biochemical and antioxidant variables in horses before and after long distance race. **Revue. Méd. Vét.**, v. 157, p. 307-312, 2006.
- AL-QUDAH, K. M.; AL-MAJALI, A. M. Higher lipid peroxidation indices in horses eliminated from endurance race because of Synchronous Diaphragmatic Flutter (Thumps). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, p. 573-578, 2008.
- ARNAUD, J.; FORTIS, I.; BLACHIER, S.; KIA, D.; FLAVIER, A. Simultaneous determination of retinol,  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene in serum by isocratic high performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 572, p. 103-116, 1991.
- ART, T.; LEKEUX, P. Ventilatory and arterial blood gas tension adjustments to strenuous exercise in Standardbreds. **Am. J. Vet. Res.**, v.56, p.1332-1337, 1995.
- ART, T.; LEKEUX, P. Exercise-induced physiological adjustments to stressful conditions in sports horses. **Livestock Prod. Sci.**, v.92, p.101-11, 2005.
- AVELLINI, L.; SILVESTRELLI, M.; GAITI, A. Training-induced modification in some biochemical defenses against free radicals in equine erythrocytes. **Vet. Res. Comm.**, v. 19, p. 179-184, 1995.
- BARBER, A.D., HARRIS, S.R., Oxygen free radicals and oxidants: a review. **Amer. Pharm.**, v.34, n.9, p.26-35, 1994.
- BAST, A.; HAENEN, G. R. M. M.; VAN DER BERG, R.; VAN DER BERG, H. Antioxidants effects of carotenoids. **Int. J. Vit. Nutr. Res.**, v. 68, p. 399-403, 1998.
- BAYDAS, G.; KARATAS, F.; GURSU, F.; BOZKURT, H. A.; ILHAN, N.; YASAR, A.; CANATAN, H. Antioxidant vitamin levels in term and preterm infants and their relation to maternal vitamins status. **Arch. Med. Res.**, v. 33, p. 276-280, 2002.
- BENZIE, I.F.F. Lipid Peroxidation: a review of cases, consequences, measurements and dietary influences. **Int. J. Food Sci. Nut.**, v.47, p.233-261, 1996.
- BERGERO, D.; MIRAGLIA, N.; SCHIAVONE, A.; POLIDORI, M.; PROLA, L. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids and Vitamin E on serum oxidative status in horses performing very light exercise, **Journal of Animal Science**, v.3, p. 141-145, 2004.

BUETTNER, G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol and ascorbate. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 300, n. 2, p. 535-543, 1993.

CHEW, B. P. Importance of antioxidants vitamins in immunity and health in animals. **Animal Feed Science and Technology**, v.59, p. 103-114, 1996.

CHIARADIA, E.; AVELINI, L.; RUECA, F.; SPATEMA, A.; PORCIELLO, F.; ANTONIONI, M.T.; GAITI, A. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.B119, p.833-36, 1998.

CHOI, Y.; MAEDA, S.; OTSUKI, T.; MIYAKI, A.; SHIMOJO, N.; YOSHIZWA, M.; SHIRAKI, H.; AJISAKA, R. Oxidative stress and arterial stiffness in strength and endurance trained athletes. **Artery Research**, v. 4, p. 52-58, 2010.

CHRISTIAN, P.; WEST, J. R. K. P.; KHATRY, S. K.; KATZ, J.; LECLERQ, S. C.; KIMBROUGH-PRADHAN, E.; DALI, S. M.; SHRESTHA, S. R. Vitamin A or  $\beta$ -carotene supplementation reduces symptoms of illness in pregnant and lactating women. **J. Nutr.**, v. 130, p. 2675-2682, 2000.

COSTA, J. N. **Leucograma, metabolismo oxidativo de neutrófilos, proteinograma e imunoglobulinas de bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*): influência da idade e da suplementação com vitamina E (acetato de DL – alfa – tocoferol)**. 2000. 217 f. Tese – (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

DA CÃS, E. L.; ROSAURO, A. C.; SILVA, C. A. M.; BRASS, K. E. Concentração sérica das enzimas creatinoquinase, aspartato aminotransferase e dehidrogenase láctica em equinos da raça crioula. **Ciência Rural**, v. 30, 2000.

DEL MAESTRO, R. F. An approach to free radicals in medicine and biology. **Acta. Physiol. Scand.**, p. 153-168:492, 1980.

DHALLA, N. S.; ELMOSELHI, A. B.; HATA, T.; MAKINO, N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. **Cardiovasc. Res.**, v. 47, p. 446-456, 2000.

DUTHIE, G.; ROBERTSON, J.; MAUGHAN, R.; MORRICE, P. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 282, p. 78-83, 1990.

DYSON, S. Poor performance and lameness. In: ROSS, M. W.; DYSON, S. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. Missouri: Saunders, 2003 p. 828-832.

EATON, M.D. Energetics and performance. In: HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. Ed. **The Athletic Horse**. W.B. Saunders, Philadelphia, p.49-61, 1994.

ECKER, G.L.; LINDINGER, M.I. Effects of terrain, speed, temperature and distance on water and ion losses. **Equine Vet. J.**, v. 18, p. 298-305, 1995.

EL-DEEB, W. M.; EL-BAHR, S. M. Investigation of selected biochemical indicators of Equine Rhabdomyolysis in Arabian horses: pro-inflammatory cytokines and oxidative stress markers. **Vet. Res. Commun.**, v. 34, p. 677-689, 2010.

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

ESSEN-GUSTAVSSON, B.; MCMIKEN, D.; KARLSTROM, K.; LINDHOLM, A.; PERSSON, S.; THORNTON, J. Muscular adaptations to intensive training and detraining. **Equine Vet. J.**, London, v.21, p. 27-33, 1989.

EVANS, D.L. The cardiovascular system: anatomy, physiology and adaptations to exercise and training. HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. Ed. **The Athletic Horse**. W.B. Saunders, Philadelphia, p.129-144, 1994.

FEI ENDURANCE RULES, 8<sup>th</sup> Edition, effective 1 January 2013. Disponível em [http://www.fei.org/sites/default/files/file/DISCIPLINES/ENDURANCE/Rules/Endurance%20Rules%20-%202013\\_0.pdf](http://www.fei.org/sites/default/files/file/DISCIPLINES/ENDURANCE/Rules/Endurance%20Rules%20-%202013_0.pdf). Acesso em 12 março 2013.

FERNANDES, W. R.; LARSSON, M. H. M. A. Alterações nas concentrações séricas de glicose, sódio, potássio, ureia e creatinina, em equinos submetidos a provas de enduro de 30 Km com velocidade controlada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 393-398, 2000.

FERNANDES, W. R.; RODRIGUES, J. A.; MICHIMA, L. E. S.; SIQUEIRA, R. F. Avaliação do estresse oxidativo em cavalos de trote através da mensuração de malondialdeído (MDA) e glutathiona reduzida (GSH) eritrocitária. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 32, n. 7, p. 677-680, 2012.

FERNÁNDEZ, C. F.; FEBLES, C. S.; BERNABEU, A. S.; TRIANA, B. E. G. Funciones de La vitamina E. Actualización. **Revista Cubana de Estomatología**, v. 40, n. 1, p. 28-32, 2002.

FISCHER, A. B. Intracellular production of oxygen-derived free radicals. **Proceedings of a Brook Lodge Symposium**, Augusta, p. 27-29:99-104, 1987.

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

GARCIA, M.; GUZMAN, R.; CABEZAS, I.; MERINO, V.; PALMA, C.; PEREZ, R. Evaluación del entrenamiento tradicional Del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguíneas. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 2, n. 31, p. 212-228, 1999.

GERARD-MONNIER D., ERDELMEIER I., REGNARD K., MONZE-HENRY N., YADAN J. C., CHAUDIERE J. Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. **Chem. Res. Toxicol.**, p.1176-1183, 1998.

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

GONDIM, F.J.; ZOPPI, C.C.; SILVEIRA, L.R.; PEREIRA-DA-SILVA, L.; MACEDO, D.V. Possible relationship between performance and oxidative stress in endurance horses. **J. Equine Vet. Sci.**, v.29, n.4, p.206-12, 2009.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. **Methods in enzymology**, v. 186, p. 1-85, 1990.

HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause or consequence? The **Lancet** 344: p.721-724, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE J.M.C (Eds.), **Free Radicals in Biology and Medicine**, 3<sup>rd</sup> Edition, Oxford University Press, Oxford, 2001.

HANSCHMANN, E. M.; GODOY, J. R.; BERNDT, C.; HUDEMANN, C.; LILLING, C. H. Thioredoxins, Glutaredoxins, Peroxiredoxins molecular mechanisms and health significance: from cofactors to antioxidants to redox signaling. **Antioxid. Redox. Signal.**, 2013.

HARGREAVES, B.J.; KRONFELD, D.S.; WALDRON, J.N.; LOPES, M.A.; GAY, L.S.; SAKER, K.E.; COOPER, W.L.; SKLAN, D.J.; HARRIS, P.A. Antioxidant status of horses during two 80-km endurance races. **J. Nutr.**, v.132, p.1781S-1783S, 2002.

HARRIS, P. A.; HARRIS, R. C. Nutritional ergogenic aids in the horse – uses and abuses. In: CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE, Cordoba, Espanha. **Proceedings.** p. 203-218, 1998.

HARRIS, P. A.; MAYHEW, I. G. Musculoskeletal disease. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M. (eds) **Equine Internal Medicine**, Philadelphia: W. B. Saunders, p. 371-426, 1998.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J.; DIMAURO, J.; ALLEN, J. R. Effects of a submaximal treadmill training programme on histochemical properties, enzyme activities, and glycogen utilization of the horse. **Equine Vet. J.**, London, v.17, p. 300-305, 1985.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Hematology and Biochemistry. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. (eds.) **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**, Philadelphia: W. B. Saunders, 1994, p. 63-78.

HOYOS, B.; ACIN-PEREZ, R.; FISCHMAN, D. A.; MANFREDI, G.; HAMMERLING, U. Hiding in plain sight: Uncovering a new function of vitamin A in redox signaling. **Biochimica et Biophysica Acta – Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1821, p. 241-247, 2012.

HU, M.L. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. **Methods Enzymol.**, v. 233, p.380-385, 1994.

IOM (Institute of Medicine). Vitamin A. In: Food and Nutrition Board. Dietary references intake for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington (DC): **National Academy Press**, p. 82-161, 2001.

JACOB, R. A. The integrated antioxidant system. **Nutr. Res.**, v. 15, p. 755, 1995.

JANERO, D.R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. **Free Radical Biol. Med.**, v.9, p.515-540, 1990.

JANERO, D. R. Therapeutic potential of vitamin E against myocardial ischemic-reperfusion injury. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 10, p. 315-324, 1991.

JENKINS, R. R. Free radical chemistry relationship to exercise. **Sports Medicine**, v. 5, p. 156-170, 1988.

Jl, L. L. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. **Exerc. Sport Sci. Rev.**, v. 23, p. 135-166, 1995.

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

KANZOK, S. M.; SCHIRMER, R. H.; TURBACHOVA, I.; IOZEF, R.; BECKER, K. The thioredoxin system of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Glutathione reduction revisited. **The journal of Biological Chemistry**, v. 275, p. 40180-40186, 2000.

KERR, M. G.; SNOW, D. H. Plasma enzyme activities in endurance horses. **Equine Exercise Physiology**, Cambridge (MA), Granata Editions, 1983, p. 432-440.

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

LEAL, B. B.; ALVES, G. E. S.; ROSCOE, M. P.; PAGLIOSA, G. M.; FARIA, E. P.; LIMA, J. T. M.; FALEIROS, R. R.; MARVAL, C. A. D. Efeitos terapêuticos de um composto à base de vitamina E e selênio em equinos submetidos a orquiectomia em condições de campo. **A Hora Veterinária**, n. 153, p. 43-46, 2006.

LEFER, D. J.; GRANGER, D. N. Oxidative stress and cardiac disease. **Am. J. Med.**, v. 109, p. 315-323, 2000.

LEKEUX, P.; ART, T. The respiratory system: anatomy, physiology, and adaptation to exercise and training. In: HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. Ed. **The Athletic Horse**. Philadelphia: Saunders Company, 1994, p.79-127.

LINDHOLM, A.; SALTIN, B. The physiological and biochemical response of Standardbred horses to exercise of varying speed and duration. **Acta Vet. Scand.**, v. 15, p. 310-324, 1974.

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

MARLIN, D. J.; FENN, K.; SMITH, N.; DEATON, C. D.; ROBERTS, C. A.; HARRIS, P. A.; DUNSTER, C.; KELLY, F. J. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. **J. Nutr.**, (In Press), 2002.

MARLIN, D. J.; NANKERVIS, K. **Equine exercise physiology**. Oxford: Blackwell, p. 296, 2002.

MASCIO, P.; MURPHY, M. E.; SIES, H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols and thiols. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 53, p. 194-200, 1991.

MATÉS, J.M.; PEREZ-GÓMEZ, C.; CASTRO, I.N. Antioxidant enzymes and human diseases. **Clin. Biochem.**, v. 32, n. 8, p.595-603, 1999.

MCGOWAN, C. Clinical Pathology in the Racing Horse: The role of clinical pathology in assessing fitness and performance in the racehorse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 24, p. 405-421, 2008.

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

MONCADA, S.; HIGGS, A. Nitric oxide: role in human disease. **Encyclopedia of Life Sciences**. Disponível em [www.els.net](http://www.els.net), 2001.

NAGEL, E.; VILSENDOR, A. M.; BARTELS, M.; PICHLMAYR, R. Antioxidative vitamins in prevention of ischemia/reperfusion injury. **Int. J. Vit. Nutr. Res.**, v. 67, p. 298-306, 1997.

NAGY, A.; MURRAY, J.; DYSON, S. Elimination from elite endurance rides in nine countries – A preliminary study. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, p. 637-642, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of horses**. National Academy Press, Washington, D. C.; 6. ed., p. 341, 2007.

NIESS, A. M.; HARTMANN, A.; GRUNERT-FUCHS, M.; POCH, B.; SPEIT, G. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. **Int. Journal Sports Medicine**, v. 17, p. 397-403, 1996.

OVERGAARD, K.; FREDSTED, A.; HYLDAL, A.; INGEMANN-HANSEN, T; GISSEL, H.; CLAUSEN, T. Effects of running distance and training on Ca<sup>2+</sup> content and damage in human muscle. **Med. Sci. Sports & Exerc.**, Hagerstown, v. 36, n.5, p.821-829, 2004.

PAIVA, S. A. R.; RUSSEL, R. M.  $\beta$ -caroteno and others carotenoids as oxidants. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 18, p. 426-433, 1999.

PAL, Y. B. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol. Rev.**, v. 74, p. 139-162, 1994.

PITTS, R. E. Book Reviews: **Physiology of the Kidney and Body Fluid**. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1968. p. 354.

PO, E.; WILLIAMS, C.; MUSCATELLO, G.; CELI, P. Assessment of oxidative stress biomarkers in exhaled breath condensate and blood of Thoroughbred foals. **The Veterinary Journal**, v. 196, p. 269-271, 2013.

POWERS, S. K.; JI, L. L.; LEEUWENBURGH, C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 31, p. 987-997, 1999.

PRYOR, W. A. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 28, p. 141-164, 2000.

RADAK, Z.; CHUNG, H.; GOTO, S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 44, p. 153-159, 2008.

RAMALHO, R.A; ACCIOLY, E.; SILVA, L. M. Doenças cardiovasculares: efeito antioxidante das vitaminas A, C e E. **Rev. Metab. Nutr.**, v. 7, p. 6-9, 2003.

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

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Brazil: a bounty of carotenoid source. **Sight and Life Newsletter**, v. 4, p. 3-9, 2002.

ROKITSKI, L.; LONGEMANN, E.; SEGREDOS, N.; MURPHY, W.; WETZEL-ROTH, W.; KEUL, J. Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. **Acta. Physiol. Scand.**, v. 151, p. 149-158, 1994.

ROSE, R. J.; ALLEN, J. R.; HODGSON, D. R. 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. **Vet. Rec.**, p. 112-118, 1983.

RUSSEL, R. M. Physiological and clinical significance of carotenoids. **Int. J. Vit. Nutr. Res.**, v. 68, p. 349-353, 1998.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

SCHNORR, C. E.; MORRONE, M. S.; WEBER, M. H.; LORENZI, R.; BEHR, G. A.; MOREIRA, J. C. F. The effects of vitamin A supplementation to rats during gestation and lactation upon redox parameters: Increased oxidative stress and redox modulation in mothers and their offspring. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 2645-2654, 2011.

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

SEN, C. K. Oxidants and antioxidants in exercise. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v. 79, p. 675-686, 1995.

SEN, C. K.; PACKER, L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 72, p. 653-669, 2000.

SEN, C. K. Antioxidants in exercise nutrition. **Sports Medicine**, v. 31, p.891-908, 2001.

SHACTER, E. Protein Oxidation. Laboratory of Biochemistry Bethesda. Center of Biologics Evaluation and Research. Division of Therapeutics proteins, 2003.

SILVA, I. A. C.; DIAS, R. V. C.; SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em equinos de diferentes categorias de atividade. **Arq. Bras. de Med. Vet. e Zoo.**, v. 59, n. 1, p. 250-252, 2007.

SILVA, T. V.; CAMPOS, S. B. S.; BRAZIL, D. S. Injúria muscular aguda em cavalo atleta: relato de caso, **Anais 35° COMBRAVET**, 2008.

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

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

SMITH, R. K. W.; BIRCH, H. L.; PATTERSON-KANE, J.; GOODMAN, S.; CAUVIN, E. R.; GOODSHIP, A. E. A review of the etiopathogenesis, and current proposed strategies for prevention, of superficial digital flexor tendinitis in the horse. 46<sup>th</sup> Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, **Proceedings**, p. 54-58, 2000.

SNOW, D. H.; HARRIS, R. C.; GASH, S. Metabolic response of equine muscle to intermittent maximal exercise. **J. Appl. Physiol.**, v. 58, p. 1689-1693, 1975.

SOARES, J. C. M.; ZENELLA, R.; BONDAM, C.; ALVES, L. P.; LIMA, M. R.; MOTTA, A. C.; ZENELLA, E. L. Biochemical and antioxidant changes in plasma, serum and erythrocytes of horses before and after jumping competition. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 31, p. 357-360, 2011.

SOMMER, A. La carencia de vitamina A y sus consecuencias: guía práctica para la detección y el tratamiento. **Org. Mund. de la Salud**, Ginebra, v. 3, 1995.

TAYLOR, F.G.R.; HILLYER, M.H. **Diagnostic techniques in equine medicine**. London: WB Saunders, 1997, p.348.

TEIXEIRA – NETO, A. R.; FERRAZ, G. C.; MATAQUEIRO, M. I.; LACERDA – NETO, J. C.; QUEIROZ – NETO, A. Reposição eletrolítica sobre variáveis fisiológicas de cavalos em provas de enduro de 30 e 60 km. **Ciênc. Rural**, v. 34, n. 5, p. 1505-1511, 2004.

THERIAULT, A.; CHAO, J. T.; WANG, Q.; GAPOR, A.; ADELI, K. **Clin. Biochemistry**, v. 32, p. 309, 1999.

THOMASSIAN, A.; CARVALHO, F.; WATANABE, M. J.; SILVEIRA, V. F.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; NICOLETTI, J. L. M. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 44, n. 3, p. 183-190, 2007.

TRAVACIO, M.; LLEUSUY, S. Antioxidant enzymes and their modification under oxidative stress conditions. **Ciênc. Cult.**, v. 48, n. 1/2, p. 9-13, 1996.

VACA, C.E., WILHEM, J., HARMS-RINGDAHL, M. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. A review. **Mut. Res.**, v.195, p.137-149, 1988.

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

WILLIAMS, C. A.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. M.; SAKER, K. E.; WALDRON, J. E.; CRANDELL, K. M.; HARRIS, P. A. Comparison of oxidative stress and antioxidant status in endurance horses in three 80 km races. **Equine and Comp. Exerc. Physiol.**, v. 2, p. 153-157, 2005.

WITKO-SARSAT, V.; FRIEDLANDER, M.; CHAPEILLÈRE-BLANDIN, C. et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress uremia. **Kidney Intern.**, v.49, p. 1304-1313, 1996.

WITT, E.; REZNICK, A.; VIGNIE, C.; STARKE-REED, P.; PACKER, L. Exercise oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. **J. Nutr.**, v. 122, p. 766-773, 1992.

WULF, D. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol. Rev.**, 82, p. 47-95, 2001.

YEUM, K. J.; FERLAND, G.; PATRY, J.; RUSSEL, R. M. Relationship of plasma carotenoids, retinol and tocopherols in mothers and newborn infants. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 17, p. 442-447, 1998.

YOUNG, L. E. Equine athletes, the equine athletes`s heart and Racing success. Physiological Society Symposium – The Athletes`s Heart Newmarket. **Experimental Physiol.**, v. 88, n. 5, p. 659-663, 2003.