

PAULO RICARDO BENETTI TODESCHINI

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E DO METABOLISMO
OXIDATIVO EM EQUINOS DA RAÇA CRIOLA SUBMETIDOS À PROVA
SIMULADA DE LAÇO COMPRIDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação do Centro de Ciências Agroveterinárias,
como requisito parcial para a obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mere Erika Saito

**LAGES/SC
2017**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com
auxílio do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC

Ricardo Benetti Todeschini, Paulo
AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E DO
METABOLISMO OXIDATIVO EM EQUINOS DA RAÇA CRIOULA
SUBMETIDOS À PROVA SIMULADA DE LAÇO COMPRIDO / Paulo
Ricardo Benetti Todeschini. - Lages , 2017.
43 p.

Orientadora: Mere Erika Saito
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Lages, 2017.

1. MDA. 2. Fragilidade osmótica. 3. Cavalo
Crioulo. 4. GSH. I. Erika Saito, Mere. II.
Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa
de Pós-Graduação. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por me proporcionar a vida maravilhosa que tenho, com amigos e família que não poderiam ser melhores.

Agradeço aos meus pais Paulo Ricardo Silva Todeschini e Jussara Teresinha Benetti Todeschini que sempre me apoiaram, em todos os projetos que tive. Sem esse apoio não teria feito muitas coisas na minha vida dentre elas o mestrado. Agradecer também a minha irmã Luisa Benetti Todeschini que mesmo sem ela se dar conta foi muito importante durante as conversas na casa dos meus pais. Amo muito vocês.

Minha esposa Rafaella Daboit Castagna, melhor amiga e parceira a qual, desde o começo da elaboração do projeto para concorrer a vaga, teve toda a paciência do mundo comigo. Sei que não deve ter sido fácil, mas para mim, que pude contar com a sua ajuda, foi muito menos complicado. Escutou-me, ensinou-me e apoiou-me durante todo o processo. Ouviu muitas histórias engraçadas que só o Laboratório pode proporcionar e também muitas queixas que só a pós nos oferece.

Gostaria de agradecer à Professora Mere Erika Saito que mesmo sabendo a “bucha” que poderia ser o orientado, incentivou-me a concorrer à vaga. Desde o começo falou que estava um pouco afastada do Laboratório por motivos profissionais e pessoais mas quando surgia qualquer dúvida ou imprevisto sempre estava disposta à atender. Mostrou que não somos mais graduandos e temos que aprender a buscar o conhecimento.

Um dos motivos da Professora conseguir se afastar foi que, como ela mesmo diz, tem um braço direito, esquerdo, pernas dentro do laboratório chamada Julieta Volpato. Uma excelente gestora de pessoas e educadora. Aprendi muito sobre patologia clínica, pois tem uma ótima didática e também a gerenciar conflitos porque sabe como chamar a atenção e manter o bom relacionamento com os alunos e colegas.

Conheci muitos amigos durante o mestrado e também pude aprender muito com eles, mesmo muitos deles sendo muito mais novos do que eu. Gostaria de agradecer ao Eduardo, Mariana Casa, Jonatas Lovatel, Júlio, Deise, Fernanda, Elaine, entre outros que permitiram que eu acompanhasse e auxiliasse nos seus projetos além de compartilharem seus conhecimentos agregando muito no meu projeto.

Agradeço aos proprietários dos equinos por disponibilizarem os animais e seu tempo para ajudarem no projeto.

Após ser apoiado a iniciar o mestrado, ser aprovado para o mesmo, extrair conhecimento das pessoas que estiveram juntas durante o processo, não seria possível a realização do projeto sem o conhecimento e parceria de pessoas mais do que especiais. Quando entrei todos se

conheciam, por isso fiquei com receio de não conseguir me enturmar. Não sabia com quem estava lidando. Encontrei não só a melhor equipe para o meu projeto como também grandes amigas. Carla Cancelier, uma “figuraça” que quando tira o dia para dar risada não deixa ninguém sério. Extremamente organizada, alguns dizem que é TOC, mas se não fosse esse TOC não conseguiríamos otimizar o trabalho e nem ter tabelas tão bem feitas. Maysa que até hoje não sei onde cabe tanto conhecimento (Pode ser no cabelo!!). Parcerança para todas as horas. Sofremos, tomamos mate e rimos durante todo o processo. Mariângela Lovatel e Ana Cristina (ying yang) apesar de muito diferentes acho que se completam. Uma gaúcha tomadora de chimarrão, minha parceira, as vezes parece que é muito braba, mas quando a gente conhece tem certeza que ela pode ser braba. Amigos não podem estar presentes apenas nas horas de sorrisos, pois tornaria a amizade muito fácil de ser conquistada. Trabalhadora e parceira. A outra a calma em pessoa, não é capaz de demonstrar insatisfação com nada. Sempre do mesmo jeito meigo. Apesar de delicada, coleta sangue de equinos como ninguém. Ambas sempre estiveram dispostas para ajudar. Eu não tenho palavras para agradecer tudo que vocês me ajudaram durante o projeto, não apenas com a mão de obra e o conhecimento, mas também com a amizade.

Gostaria de agradecer também a outra pessoa fundamental no meu projeto, a Professora Luciana P. Machado que de longe tentava decifrar quais eram minhas dúvidas. Ajudou muito graças à sua capacidade de guardar e anotar tudo e à sensibilidade de um educador transmitindo seu conhecimento.

Agradeço muito a toda a minha família e amigos que mesmo de longe me apoiavam e incentivavam a continuar focado.

RESUMO

TODESCHINI, P.R.B. Avaliação hematológica, bioquímica e do metabolismo oxidativo em equinos da raça crioula submetidos à prova simulada de laço comprido. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área de concentração: Sanidade e Patologia Animal) - Universidade do estado de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Lages, 2017.

A criação de cavalos da raça Crioula se difundiu pelo estado de Santa Catarina, especialmente nos últimos anos. Estes animais são costumeiramente utilizados em provas de laço comprido. Para muitos proprietários, esta competição é apenas uma atividade recreativa, submetendo os animais ao exercício apenas em dias de provas. Sabe-se que a falta de preparo físico para a prática de esportes pode levar à lesões musculares graves, verificadas por alterações nos exames bioquímicos, hemograma e de marcadores do estresse oxidativo das fibras musculares. Este trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos, bem como os marcadores do metabolismo oxidativo de equinos da raça Crioula na prova simulada de laço comprido. Foram incluídos no estudo dez equinos da raça crioula, sendo três fêmeas e sete machos, com escore corporal médio de $7,25 \pm 0,55$, peso médio $466,20 \pm 39,67$ quilogramas e idade média $6,3 \pm 1,96$ anos. Os animais foram avaliados em cinco momentos: M0 (previamente à prova); M1 (após a quinta laçada); M2 (após a décima laçada); M3 (após a décima quinta laçada); M4 (24 hs após o término da prova). A velocidade foi mantida em 8,33m/s durante a laçada. Nos momentos, os animais foram avaliados quanto à frequência respiratória (FR) e cardíaca (FC), temperatura retal e inspeção das mucosas. Foram colhidos 4 mL de sangue, com anticoagulante EDTA para realização do hemograma, dosagem de proteína plasmática, fibrinogênio e fragilidade osmótica eritrocitária, 8 mL em dois tubos com heparina para a determinação da concentração de glutathiona reduzida e malondialdeído, 4 mL em tubo com fluoreto de sódio para dosagem de glicose e lactato e 4 mL em tubo sem anticoagulante para dosagem de ureia, creatinina, gama glutamiltransferase, fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase, proteína sérica total, albumina, colesterol, glicose, triglicérides, creatina quinase e lactato desidrogenase. Os dados paramétricos foram submetidos à análise estatística pelo método de análise de variância (ANOVA) e os dados não paramétricos ao teste de Kruskal-Wallis. Os dados com grau de significância de $p < 0,05$ foram analisados pelo teste de Tukey. Com relação a FR e a FC, ambas aumentaram em M1, M2 e M3 com relação aos momentos de repouso M0 e M4. Houve aumento significativo da temperatura no M3 quando comparado com M0, M1, M4. No hemograma a hemoglobina e volume globular apresentaram valores maiores em M1, M2 e M3 com relação aos momentos de repouso M0 e M4. A contagem de eritrócitos elevou em M1 e M3 quando comparado ao M0 e M4. No M2 também apresentou valores superiores em relação a M0. Na dosagem de PPT houve variação nos momentos M1, M2 e M3 com relação à M4. Os valores de lactato foram maiores durante o exercício em relação a M0 e houve também variação estatística entre M1 e M4. Na dosagem de albumina, globulina, CK, LDH e lactato os valores estiveram fora dos valores de referência. Houve aumento dos valores de MDA em M1 e M3 e aumento significativo do valor de GSH em M2. Conclui-se que a prova de laço comprido altera parâmetros hematológicos, bioquímicos e do metabolismo oxidativo.

Palavras-chave: MDA, Fragilidade osmótica, Cavalos crioulo

ABSTRACT

TODESCHINI, P.R.B. Hematological, biochemical and oxidative metabolism evaluations of criollo breed horses undergoing simulated breakaway roping competition. 2017. Dissertation (Masters in Animal Science – Focus in: Sanity and Animal Pathology) - Universidade do estado de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Lages, 2017.

Breeding of the criollo horse has been expanding in the state of Santa Catarina over the past years. These animals are often utilized in breakaway roping competition. For some owners, this competition is merely a recreational activity, and the animals are submitted to exercise only on competition days. It is known that lack of physical preparation for sports practice can lead to serious muscular injuries, which have been verified by changes in biochemistry, complete blood count (CBC) and markers of oxidative stress of the muscle fibers. The goal of this study was to evaluate hematological and biochemical parameters, as well as markers of oxidative metabolism of equines of the criollo breed that participate in simulated breakaway roping competition. Ten horses of the criollo breed were included in the study, three females and seven males, the mean body condition score was $7,25 \pm 0,55$, mean weight was $466,20 \pm 39,67$ kilograms and mean age was $6,3 \pm 1,96$ years-old. The animals were evaluated at five different time points: M0 (prior to competition); M1 (after the fifth roping round); M2 (after the tenth roping round); M3 (after the fifteenth roping round); M4 (24 hours after the end of competition). The speed was maintained at 8,33m/s during the roping round. At each time point, the animals were evaluated for respiratory rate (RR), heart rate (HR), rectal temperature and inspection of the mucosa. 4mL of blood were collected using EDTA tubes for complete blood count, total plasma protein (PPT), fibrinogen and erythrocyte osmotic fragility measurements; 8mL were collected in two heparinized tubes to check concentration of reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA); 4mL were collected in sodium fluoride tubes for glucose and lactate measurements; and 4mL were collected in tube without anticoagulant for urea, creatinine, gamma-glutamyl transferase, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, total serum protein, albumin, cholesterol, glucose, triglycerides, creatine phosphokinase (CPK) and lactate dehydrogenase (LDH). The parametric data were submitted for statistical analysis by the analysis of variance method (ANOVA) and the non-parametric data were submitted to the Kruskal-Wallis test. The statistically significant data ($p < 0,05$) were analyzed using the Tukey test. For RR and HR, both increased at M1, M2 and M3 in relationship to M0 and M4. There was a significant increase in temperature at M3 in relationship to M0, M1 and M4. In the CBC, the hemoglobina and the corpuscular volume presented higher values at M1, M2 and M3 when compared to M0 and M4. The erythrocyte count increased M1 and M3 when compared to M0 and M4. At M2, it also presented higher values than M0. When dosing PPT, there was variation at M1, M2 and M3 in relationship to M4. Lactate levels were higher during the exercise in relationship to M0 and there was also statistical variation between M1 and M4. The values of albumin, globulin, CPK, LDH and lactate were out of the reference range. There was increase in MDA values at M1 and M3 and significant increase in GSH at M2. Concludes that the breakaway roping competition alters hematological, biochemical and oxidative metabolism parameters.

Keywords: MDA, osmotic fragility, criollo horse

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Comparação entre valores de lactato (mg/dL), frequência respiratória (mpm) e frequência cardíaca (bpm) em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).....33
- Figura 2 – Fragilidade osmótica eritrocitária em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).....36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios \pm desvio padrão do exame físico em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).....	29
Tabela 2 – Valores médios \pm desvio padrão, mediana e percentis [P ₂₅ , P ₇₅] de eritrograma em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).....	30
Tabela 3 – Valores de proteína plasmática total e fibrinogênio em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).....	31
Tabela 4 - Valores médios \pm desvio padrão, mediana e percentis [P ₂₅ , P ₇₅] do leucograma em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).....	31
Tabela 5 – Valores médios \pm desvio padrão, mediana e percentis [P ₂₅ , P ₇₅] de bioquímica clínica em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).....	32
Tabela 6 – Mediana e percentis [P ₂₅ , P ₇₅] de malondialdeído ($\mu\text{mol/gHb}$) e glutatona reduzida ($\mu\text{mol/gHb}$) em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).....	35
Tabela 7– Mediana e percentis [P ₂₅ , P ₇₅] de hemólise em 50% dos eritrócitos em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCCC	Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Crioulo
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
Bpm	Batimentos por minuto
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CHGM	Concentração de Hemoglobina Globular Média
CK	Creatina quinase
dL	Decilitro
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
ERO	Espécies reativas ao oxigênio
FA	Fosfatase alcalina
FC	Frequência cardíaca
FOE	Fragilidade Osmótica Eritrocitária
FR	Frequência respiratória
G	Gramma
GGT	Gama glutamiltransferase
GSH	Glutationa reduzida
GPx	Glutationa peroxidase
Hb	Hemoglobina
HCV	Hospital de Clínicas Veterinárias
km	Quilômetros
L	Litros
LDH	Lactato desidrogenase
MDA	Malondialdeído
mpm	Movimento por minuto
NaCl	Cloreto de sódio
nm	Nanômetro

pH	potencial Hidrogeniônico
PPT	Proteína Plasmática Total
PST	Proteína sérica total
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
VG	Volume Globular
VGM	Volume Globular Médio
°C	Grau Celsius
μmol	Micromol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3 OBJETIVO	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 LOCAL.....	25
4.2 ANIMAIS	25
4.4 MOMENTOS	26
4.5 AMOSTRAS	26
4.6 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	26
4.6.1 Hemograma	26
4.6.2 Análise bioquímica	26
4.6.3 Marcadores de estresse oxidativo.....	27
4.6.4 Fragilidade osmótica eritrocitária	28
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6 CONCLUSÃO.....	37
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1 INTRODUÇÃO

Um das raças de equinos com maior importância no sul do Brasil é a raça Crioula (LIMA e CINTRA, 2015). A raça se destaca pela musculatura consistente e estrutura óssea compacta, além do pequeno porte quando comparado com cavalos de outras raças. Essas características fizeram com que os equinos crioulos ganhassem uma posição de destaque no sul do país (AFFONSO, 1992)

A prova de laço comprido consiste na corrida do cavalo em direção ao bovino com o objetivo do cavaleiro laçá-lo. Esta prova é realizada dentro de um recinto denominado de cancha, cuja a medida varia entre 100 e 120 metros de comprimento. De acordo com o êxito nas laçadas os cavaleiros seguem na competição (ABCCC, 2017)

O exercício físico resulta no aumento da temperatura corporal em razão do aumento do metabolismo, fazendo com que o organismo reaja com a finalidade de restabelecê-la, por meio do aumento da frequência cardíaca, da frequência respiratória, da vasodilatação periférica e da sudorese (ETCHICHURRI, 2008).

A análise das variações de parâmetros metabólicos, hematológicos, bioquímicos e fisiológicos auxiliam no direcionamento da intensidade e do tipo de esforço físico apropriados à capacidade atlética de cada animal (LACERDA, 2006; CÂMARA E SILVA, 2007). Sabe-se que o exercício leva à formação de espécies reativas ao oxigênio (ERO) que interagem com membranas celulares e compostos citoplasmáticos, desregulando algumas funções e estão envolvidos na etiologia de muitas condições patológicas dos cavalos atletas, como fadiga muscular, intolerância ao exercício, injúrias musculares e doenças respiratórias (JANIAK et al. 2009).

O teste de fragilidade osmótica eritrocitária (FOE) foi definido como sendo uma das formas de medir a variação da resistência dos eritrócitos à hemólise. Observa-se uma tendência da fragilidade osmótica eritrocitária (FOE) se elevar durante e logo após o exercício (MACHADO, 2006).

Não há dados na literatura avaliando o perfil hematológico, bioquímico e o metabolismo oxidativo de equinos da raça crioula submetidos a provas de laço comprido, dificultando a compreensão dos cuidados que devem ser tomados com animais participantes dessas provas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O rebanho brasileiro de equinos compreende cerca de 5.300.000 animais (IBGE, 2013). Na cadeia do agronegócio equestre, o esporte e o lazer são atividades de destaque, envolvendo mais de 20% do rebanho nacional e movimentando em torno de R\$5,84 bilhões. Uma das raças com maior importância neste cenário é a raça crioula (LIMA e CINTRA, 2015). Hoje são mais de 400 mil animais distribuídos em 100% do território nacional segundo a Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC).

A raça se destaca pela musculatura consistente e estrutura óssea compacta além do pequeno porte, quando comparado com cavalos de outras raças. As medidas de altura padrões da raça variam de 1,38 a 1,50 metros e o seu peso de 400 a 450 quilos em animais adultos (ABCCC, 2017). Estas características agregam agilidade e resistência aos animais da raça facilitando sua introdução no sul do país e conseqüentemente nas competições (AFFONSO e CORREA, 1992)

Uma das práticas esportivas mais tradicionais do sul do Brasil é a prova de laço comprido, em que o cavaleiro objetiva laçar um bovino em uma cancha de 100 a 120 metros de comprimento para se manter na competição. Os cavaleiros que não acertam a laçada são eliminados da prova. No campeonato nacional de 2016 mais de 1200 animais inscritos e os cavaleiros campeões alcançaram 57 laçadas (ABCCC, 2016). A prova se caracteriza por um exercício de explosão, ou seja, de alta intensidade e curta duração podendo levar a alterações em parâmetros fisiológicos e até mesmo lesões.

O uso de exames laboratoriais para verificação do estado de saúde de cavalos atletas já não é novidade. A análise das variações de parâmetros metabólicos, hematológicos, bioquímicos e fisiológicos frente a diferentes intensidades de exercício auxiliam no direcionamento da intensidade e do tipo de esforço físico apropriados à capacidade atlética de cada animal (LACERDA, 2006; CÂMARA E SILVA, 2007). No entanto, proprietários de cavalos de lazer, os quais são expostos ocasionalmente ao exercício, não têm o hábito de fazer essa análise.

O exercício físico promove o aumento do metabolismo e conseqüentemente da temperatura corporal, fazendo com que o organismo reaja com a finalidade de restabelecê-la, por meio do aumento da frequência cardíaca, da frequência respiratória, da vasodilatação periférica através da perda de calor e da sudorese. O estímulo em excesso leva à resposta exacerbada do organismo, desencadeando alterações nos parâmetros os quais são avaliados

através de exames, tais como hiperproteinemia (PALUDO, 2002), leucocitose e eritrocitose (LACERDA, et al. 2006).

O exercício, principalmente em animais sem treinamento adequado e obesos, leva a graus variados de lesões musculares e estas podem comprometer a vida útil do animal no esporte. As lesões podem ser avaliadas de forma direta ou indireta. Biópsia muscular para realização de exame histopatológico e eletromiografia são exemplos de formas diretas de avaliação (HARRIS, 1998). Na avaliação indireta, dispõe-se de exames como a dosagem da concentração de enzimas musculares na corrente sanguínea. As enzimas comumente dosadas são creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH) (DA CÁS et al., 2000; FRANCISCATO, 2005). A CK é uma enzima citoplasmática, liberada mesmo quando a lesão muscular é subclínica e a sua meia vida é de menos de 24 horas (FRAPE, 1998). É a principal enzima utilizada para a avaliação de lesões musculares devido a sua alta especificidade. A LDH é uma enzima que atua na glicólise e glicogenólise hepático-muscular, quando há necessidade de ATP durante exercícios moderados a intensos (GRAMKOW e FERRAZ, 2007). Essa enzima está presente principalmente no fígado, nos eritrócitos e nos músculos esquelético e cardíaco. Para que ocorra a liberação dessa enzima na corrente sanguínea, o estímulo desencadeado pelo esforço físico deve ser maior do que o necessário para a liberação da CK, além da sua meia vida ser um pouco maior (NUNES et al., 2012).

Diante de uma lesão muscular, a liberação da AST na corrente sanguínea ocorre de maneira mais tardia do que a CK. A meia vida desta enzima é de sete a oito dias (FRAPPE, 1998). A análise conjunta da atividade sérica destas enzimas possibilita identificar o tempo decorrido da lesão. Desta maneira, um valor de CK aumentado associado a um valor de AST normal indica uma lesão muscular recente. Por outro lado, níveis séricos elevados de ambas as enzimas são encontrados em casos de lesão persistente, assim como níveis baixos de CK e altos de AST indicam processo de recuperação (CARDINET, 1997). Além das enzimas musculares, outros parâmetros podem ser utilizados para avaliar a intensidade do exercício e a saúde geral do animal, tais como ureia, creatinina, albumina (PALUDO, 2002) e lactato (CÂMARA E SILVA, et al., 2007).

Com o aumento da intensidade do exercício, a demanda de energia passa a ser provida principalmente pelo metabolismo anaeróbio, com aumento marcante do lactato. Este ponto é denominado limiar anaeróbio e vem sendo extensivamente utilizado na medicina esportiva, na prescrição de intensidades de exercícios para o treinamento em equinos (AMARAL, 2013) e em pesquisas na área de fisiologia do exercício. Este ponto é comumente atingido quando a concentração de lactato está em 4 mmol/L (HODGSON e ROSE, 1994).

O oxigênio é vital para os seres vivos participando da oxidação de compostos orgânicos e da produção de energia, porém uma parte é reduzida dando origem às espécies reativas ao oxigênio (ERO) (SILVA e GONÇALVES, 2010). As ERO são os principais radicais livres gerados (VALKO et al., 2007). O exercício leva à formação de espécies reativas ao oxigênio que interagem com membranas celulares e compostos citoplasmáticos, desregulando algumas funções e estão envolvidos na etiologia de muitas condições patológicas dos cavalos atletas, como fadiga muscular, intolerância ao exercício, injúrias musculares e doenças respiratórias (JANIAK et al., 2009).

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade antioxidante do organismo (MACHADO et al., 2009; MEDEIROS, 2015). Para avaliar o grau de intensidade do exercício, outros marcadores podem ser empregados como a dosagem de glutatona reduzida (GSH) e de malondialdeído (MACHADO et al., 2009).

A síntese da glutatona reduzida ocorre nos eritrócitos por meio da ação das enzimas gama-glutamilcisteína-sintetase e glutatona sintetase, com consumo de ATP (SEN, 1997). A glutatona tem função antioxidante, que por definição é uma substância antioxidante capaz de inibir a oxidação. Diante da presença de radicais livres, a glutatona pode reagir de três maneiras. Primeiro, a GSH é usada como substrato pela glutatona peroxidase, na eliminação de peróxidos. Segundo, o GSH reduz a forma oxidada da vitamina C, que assim pode atuar, mantendo a vitamina E na sua forma reduzida e funcional. Finalmente, pode por meio da glutatona-S-transferase detoxificar aldeídos reativos (como o malondialdeído) que são gerados durante a peroxidação lipídica (JORDÃO, 1998). A GSH é oxidada antes da hemoglobina e outros constituintes eritrocitários, protegendo-os da degradação oxidativa (JACOB e JANDL, 1966).

Todos os componentes celulares estão expostos às ações das ERO, porém a membrana sofre mais esse efeito em função da lipoperoxidação (FERREIRA, 1997). A membrana dos eritrócitos sendo rica em ácidos graxos poli-insaturados, um alvo primário para reações envolvendo os radicais livres, pode permitir que os eritrócitos fiquem vulneráveis a danos oxidativos (MAY et al., 1998). O malondialdeído é o principal produto formado pela oxidação desses ácidos graxos, servindo como índice para determinar a intensidade da lipoperoxidação (PASKALEV, 2011). Quando há uma redução nos níveis de antioxidante e um aumento na lipoperoxidação há uma susceptibilidade maior à lise celular (MAY et al., 1998).

O teste de fragilidade osmótica eritrocitária (FOE) mensura a estabilidade dos eritrócitos em solução de cloreto de sódio em concentrações variáveis, que permite avaliar a resistência eritrocitária mínima (quando se inicia a hemólise), a resistência máxima (hemólise total) e a

fragilidade corpuscular média, que corresponde à concentração de cloreto de sódio (NaCl) em que se observa 50% de hemólise (ESTEVES et al., 2007).

A utilização dessa prova em hematologia clínica permitiu que fossem observadas variações dos resultados em enfermidades como algumas formas de anemia, alterações metabólicas ou carenciais (SANT'ANA et al., 2001). Observa-se uma tendência da fragilidade osmótica (FO) de se elevar durante e logo após o exercício (MACHADO, 2006).

3 OBJETIVO

3.1 OBEJTIVO GERAL

Avaliar marcadores de estresse oxidativo, hematológicos e de bioquímica sérica em equinos da raça Crioula submetidos à prova simulada de laço comprido.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar a influência do exercício da prova de laço comprido nos parâmetros hematológicos de equinos da raça Crioula.

Verificar a influência do exercício da prova de laço comprido nos parâmetros bioquímicos de equinos da raça Crioula.

Verificar a influência do exercício da prova de laço comprido no metabolismo oxidativo de equinos da raça Crioula.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina – CEUA – CAV/UEDESC, sob o protocolo nº 7994260417

4.1 LOCAL

As colheitas de amostras foram realizadas em três propriedades do município de Lages/SC, no mês de setembro e o processamento das amostras ocorreu no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, do Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV), do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), UEDESC, em Lages/SC. A média da temperatura mínima durante as colheitas foi de $16,17 \pm 2,53$ °C e a média da temperatura máxima foi de $20,66 \pm 1,84$ °C.

4.2 ANIMAIS

Foram utilizados dez equinos da raça Crioula, sendo três fêmeas e sete machos, com idade média de $6,3 \pm 1,96$ anos clinicamente saudáveis, avaliados por meio de exame físico (temperatura retal, frequência cardíaca, frequência respiratória, coloração de mucosas), mensuração do peso, escore corporal, hemograma completo e avaliação bioquímica. Os animais não realizaram exercício físico no dia anterior às colheitas. O valor do peso foi mensurado a partir da medida do perímetro torácico (a) e do comprimento do tronco (b), aplicados à fórmula: $a \times a \times b / 11880$ (CARROLL e HUNTINGTON, 1988). O peso médio dos animais foi de $431,54 \pm 36,19$ quilogramas.

A determinação do escore corporal foi realizada por meio da inspeção visual e palpação do depósito de gordura nas regiões de cernelha, lombo, ombro, pescoço e inserção da cauda e visualização da tuberosidade isquiática e costelas (HENNEKE, et al., 1983). Os equinos tiveram escore corporal médio de $7,25 \pm 0,55$, em uma escala em que zero seria um equino emaciado e 9 muito obeso, o peso médio dos cavaleiros foi de $85,3 (\pm 16,6)$ quilos.

4.3 EXERCÍCIO

Os equinos foram submetidos à uma prova simulada de laço comprido. A simulação foi realizada em três propriedades diferentes, cada uma em um dia, no período da manhã. A laçada consiste na corrida do cavalo em direção ao bovino mecânico com o objetivo do cavaleiro laçá-lo. O bovino mecânico era locomovido por uma moto a qual manteve a velocidade de 8,33 m/s. As três canchas variaram a medida entre 100 e 120 metros de comprimento. Foram realizadas

15 laçadas com cada animal, com parada entre os momentos para colheita de sangue. Após o término do exercício os animais ficaram em repouso por 24 horas.

4.4 MOMENTOS

As amostras foram obtidas nos seguintes momentos:

M0 - Antes do início da prova (8:00 a.m.).

M1 - Logo após a quinta laçada.

M2 - Logo após a décima laçada.

M3 - Logo após a décima quinta laçada.

M4 - 24 horas após o término da prova.

4.5 AMOSTRAS

As amostras de sangue foram colhidas com sistema a vácuo, utilizando agulhas descartáveis 21G. Colheu-se 4 mL de sangue em tubos a vácuo contendo EDTA para a realização de hemograma e fragilidade osmótica, 4 mL em tubos sem anticoagulante com ativador de coágulo para obtenção de soro para análises bioquímicas, 4 mL em tubos com fluoreto de sódio para dosagem de glicose e lactato e 8 mL em tubos com heparina para dosagem dos marcadores de estresse oxidativo GSH e MDA.

4.6 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

4.6.1 Hemograma

Após as colheitas foram confeccionadas as extensões sanguíneas e coradas com corante hematológico rápido. A contagem total de eritrócitos, contagem total de leucócitos e a dosagem de hemoglobina foram realizadas em contador automático (SDH-3 Vet, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brasil). A determinação do volume globular (VG) foi realizada pela técnica do microhematócrito e a partir deste o volume globular médio (VGM) e a concentração de hemoglobina globular média (CHGM) foram calculados (JAIN, 1993). A contagem diferencial de leucócitos foi realizada nas extensões sanguíneas em microscopia óptica de luz. Para a determinação das concentrações de proteína plasmática total (PPT) foram realizadas por refratometria (Digit, Biosystems®) e o fibrinogênio pela técnica de precipitação pelo calor (SCHALM, KANEKO & SMITH, 1970).

4.6.2 Análise bioquímica

Os tubos sem anticoagulante e com fluoreto de sódio foram submetidos à centrifugação a 2000g por 10 minutos. O soro e o plasma obtidos da centrifugação foram armazenados congelados a -20°C até a realização das dosagens. As dosagens bioquímicas foram realizadas por meio de kits comerciais específicos para cada análise em analisador automático (Labmax

Plenno, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brasil). Os testes bioquímicos realizados foram: ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), albumina, glicose, colesterol, creatina quinase (CK), triglicérides, proteína sérica total, fosfatase alcalina, gama glutamiltransferase (GGT), lactato desidrogenase (LDH) e lactato.

4.6.3 Marcadores de estresse oxidativo

A concentração de MDA eritrocitária foi avaliada indiretamente pela mensuração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), após estímulo oxidativo, segundo Machado et al. (2007). Amostras de 4 mL de sangue contendo heparina sódica foram centrifugadas a 1000 g por 10 min, descartou-se o plasma e a camada de leucócitos com a obtenção do concentrado de eritrócitos.

Realizaram-se três lavagens com solução isotônica tamponada com fosfato (PBS) gelada e pH 7,4. Para avaliar o MDA formado após a indução da lipoperoxidação foram utilizados 100 µL de eritrócitos, 800 µL de PBS e 100 µL de hidroperóxido de terc-butila (10 mM) e incubados em banho maria a 37°C por 60 min. Foi mensurada a concentração de hemoglobina utilizando 10 µL em 2,5 mL de reagente, antes da incubação para o MDA estimulado (JAIN, 1986). Em seguida, 1 mL de ácido tricloroacético a 28 % foi adicionado ao tubo, seguida de agitação e centrifugação a 1000 g por 15 min. Do sobrenadante obtido, retirou-se uma alíquota de 1 mL que foi acrescida de 100 µL de hidroxitolueno butilado (BHT), 500 µL de TBA a 1 % em solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,05 M e 500 µL de ácido clorídrico (HCl) a 25 % e incubados a 95°C por 15 min. O mesmo procedimento foi adotado para a obtenção do branco e do padrão, porém nestes, a amostra foi substituída por água deionizada e 1 µM de MDA, respectivamente. Após resfriamento em banho de gelo foram adicionados 2 mL de n-butanol, que foram agitados e centrifugados a 1000 g por 15 min. Procedeu-se a leitura das densidades ópticas dos sobrenadantes a 532 nm por espectrofotometria, sendo o resultado expresso em nM MDA/g Hb.

Para mensuração da GSH, 300 µL de sangue heparinizado foram hemolisados em 3 mL de água deionizada e 2 mL deste hemolisado foram utilizados para a dosagem da GSH. Do restante foi mensurada a hemoglobina utilizando 10 µL da amostra em 2,5 mL do reagente Drabkin (JAIN, 1986). Acrescentou-se 3 mL de solução precipitante contendo 1 g de EDTA, 8,35 g de ácido metafosfórico, 150 g de cloreto de sódio e 500 mL de água destilada. Homogeneizou-se e ficou em repouso por cinco minutos. Após o tubo foi centrifugado em 2000 g por 10 minutos. Foi utilizado 2 mL de água destilada e 3 mL de solução precipitante para obtenção do branco. Retirou-se 1 mL do sobrenadante e 1 mL do branco e acrescentado 4 mL da solução de Na₂HPO₄ 0,3M. Procedeu-se a leitura da absorbância a 412 nm para a obtenção

do primeiro valor (V1). Após foi acrescentado 500 μ L de DTNB e realizada a leitura novamente a 412 nm para obtenção do segundo valor (V2). Os valores foram submetidos à fórmula segundo método de Beutler (1984).

4.6.4 Fragilidade osmótica eritrocitária

Para o teste de fragilidade osmótica eritrocitária 20 μ L de sangue total com EDTA foram acrescentados a 5,0 mL de solução de cloreto de sódio (NaCl) tamponada, com pH 7,4, nas seguintes concentrações: 0,85%, 0,80%, 0,75%, 0,70%, 0,65%, 0,60%, 0,55%, 0,50%, 0,45%, 0,40%, 0,35%, 0,30%, 0,25%, 0,20%, 0,10% e 0,00%. Após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente e centrifugação a 350g por 10 minutos, o sobrenadante foi lido por espectrofotometria a 546 nm contra água deionizada, de acordo com a técnica proposta por Parpart et al. (1947). O resultado deste teste expressa a concentração de NaCl correspondente a 50% de hemólise (H50), calculado a partir da curva dos percentuais de hemólise nas concentrações, ajustada por um modelo linear generalizado para as proporções com função de ligação Probit (McCULLOCH e SEARLE, 2001).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados paramétricos foram submetidos à análise estatística pelo método de análise de variância (ANOVA) e os dados não paramétricos submetidos ao teste de Kruskal-Wallis. Posteriormente os dados com grau de significância de $p < 0,05$ foram submetidos ao teste de Tukey.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No exame físico foram obtidos dados de temperatura retal, frequência cardíaca e frequência respiratória em todos os momentos (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores médios \pm desvio padrão do exame físico em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).

Parâmetros	Momentos				
	M0	M1	M2	M3	M4
Temperatura retal	37,51 \pm 0,23 ^{ac}	38,04 \pm 0,43 ^a	38,45 \pm 0,68 ^{ab}	38,82 \pm 0,53 ^b	37,34 \pm 0,37 ^c
Frequência Cardíaca	43,20 \pm 9,58 ^b	82,80 \pm 21,42 ^a	85,00 \pm 19,98 ^a	84,40 \pm 18,13 ^a	39,80 \pm 11,72 ^b
Frequência Respiratória	23,60 \pm 3,50 ^b	72,00 \pm 30,58 ^a	93,20 \pm 30,42 ^a	100,40 \pm 31,80 ^a	24,50 \pm 7,99 ^b

^{ab} Diferenças entre momentos na mesma linha, $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Nos equinos a temperatura retal pode variar entre 37,2 e 38,2°C (Cunningham, 1999). Os valores maiores da temperatura retal durante o exercício se deve ao fato de o metabolismo aumentar. Paludo et al. (2002) também verificaram que equinos expostos ao exercício aumentaram sua temperatura corporal. Segundo Flamino (1998) a taxa metabólica no cavalo pode aumentar até 20 vezes de acordo com o exercício. Geor e McCutcheon (1998) verificaram que o aumento da temperatura corporal e a dificuldade em retornar aos valores basais pode prejudicar a eficiência do animal perante um exercício. Para retornar aos valores basais o organismo aumenta a FC, FR, vasodilatação e a sudorese.

Com relação a FC e a FR, ambas aumentaram significativamente ($P < 0,001$ e $P < 0,05$ respectivamente) nos momentos M1, M2 e M3 com relação aos momentos de repouso M0 e M4. Alterações nas frequências cardíaca e respiratória podem evidenciar tentativas orgânicas para retornar aos valores basais. Nos equinos, a frequência cardíaca normal em repouso pode variar entre 32 a 44 batimentos por minuto e a frequência respiratória normal em repouso varia de 8 a 16 respirações por minuto (Cunningham, 1999). Os resultados encontrados corroboram com os achados no estudo de Paludo et al. (2002). Etchichury (2008) verificou o aumento da FC e FR em equinos expostos ao exercício. O aumento da frequência respiratória nos mamíferos serve não apenas para a troca gasosa, mas também auxilia na manutenção da temperatura corporal (McCOUNAGHY et al., 1995). Art e Lekeux (1988) mostraram que há relação entre aumento da FR e aumento da FC em pôneis submetidos ao exercício.

Os valores do eritrograma estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores médios \pm desvio padrão, mediana e percentis [P₂₅ - P₇₅] do eritrograma em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).

Eritrograma	Momentos					Referência*
	M0	M1	M2	M3	M4	
Hemoglobina						
(g/dL)	10,18 \pm 1,07 ^b	12,90 \pm 0,99 ^a	12,85 \pm 1,23 ^a	13,09 \pm 0,74 ^a	10,48 \pm 1,50 ^b	8,0 - 19,0
VG (%)	33,00 \pm 3,28 ^b	41,80 \pm 3,99 ^a	40,60 \pm 3,223 ^a	41,40 \pm 2,85 ^a	33,50 \pm 4,40 ^b	24,0 - 52,0
VGM (fL)	43,62 \pm 2,05	44,45 \pm 2,47	44,05 \pm 3,40	43,54 \pm 2,54	43,66 \pm 2,79	34,0 - 58,0
Eritrócitos	7,41 ^b	9,38 ^a	9,07 ^{ac}	9,34 ^a	7,52 ^c	5,5 - 12,5
(x10 ⁶ /μL)	[6,85 - 8,21]	[8,65 - 9,87]	[8,44 - 9,88]	[8,79 - 10,16]	[6,88 - 8,13]	
CHGM (%)	30,92	31,18	31,66	31,63	31,21	31,0 - 37,0
	[30,19 - 31,77]	[29,78 - 31,77]	[30,58 - 32,04]	[31,16 - 31,77]	[30,95 - 31,78]	
Plaquetas	181,5	192,0	192,0	216,0	200,0	100,0 - 350,0
(x10 ³ /μL)	[169,5 - 276]	[163,5 - 225]	[137,5 - 225]	[160,5 - 291]	[159 - 226,5]	

^{ab} Diferenças entre momentos na mesma linha, p<0,05.

*Jain (1993)

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Houve aumento significativo nos valores de hemoglobina, VG e contagem total de eritrócitos. Hemoglobina e VG (P<0,001) aumentaram nos momentos M1, M2 e M3 com relação aos momentos de repouso M0 e M4. A contagem total de eritrócitos aumentou nos momentos M1 e M3 em relação aos momentos M0 e M4. No M2 elevou-se significativamente em relação a M0 (P<0,05). Esses resultados também foram encontrados por outros autores que demonstraram o aumento dos valores durante o exercício. Denadai et al. (2014) avaliaram equinos da raça Quarto de Milha frente a uma prova de laço de dupla e verificou aumento na contagem de eritrócitos e hemoglobina logo após o exercício. O corpo do animal tenta suprir a necessidade em aumentar o oxigênio nos tecidos aumentando a quantidade de eritrócitos na corrente sanguínea por meio da esplenocontração (ROSE e HODGSON, 1994). O incremento de eritrócitos na corrente sanguínea e o aumento da quantidade de hemoglobina, concomitante à manutenção dos valores de VGM corroboram com os achados de Lopes et al. (2009) em um estudo envolvendo equinos submetidos a provas de vaquejadas. Apesar da diferença estatística entre os momentos os valores mantiveram-se dentro dos valores de referência (JAIN, 1993).

Os valores de PPT e fibrinogênio estão expressos na tabela 3.

Tabela 3 – Valores de proteína plasmática total e fibrinogênio em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).

	Momentos					Referência*
	M0	M1	M2	M3	M4	
Fibrinogênio (mg/dL)	330,±205,75	290±99,44	330±105,93	340±96,60	290±110,05	100 - 400
PPT (g/dL)	7,06±0,43 ^{ab}	7,33±0,39 ^a	7,36±0,38 ^a	7,32±0,39 ^a	6,95±0,49 ^b	5,3 - 8,3

^{ab} Diferenças entre momentos na mesma linha, p<0,05.

*Kaneko (2008)

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

O aumento do VG e da PPT durante o exercício pode ser explicado pela redistribuição dos líquidos corporais e a perda do mesmo pela sudorese, com o intuito de manter a homeostase térmica, levando à hemoconcentração (IRJALA e GRONROOS, 1998).

Houve aumento nos valores de PPT nos momentos M1, M2 e M3 em relação ao momento M4 (P<0,05). Dias et al. (2011) avaliaram cavalos em provas de salto e constatou aumento da PPT após o estímulo do exercício e o retorno aos níveis basais dosando-a 24 horas após o término do exercício. Este achado é justificado pelo influxo de proteínas e alteração na distribuição do volume plasmático, pela saída de líquidos para o espaço extravascular, como resposta ao exercício, colaborando assim para a hemoconcentração. Tais parâmetros apesar de variarem estatisticamente não saíram dos valores de referência (KANEKO et al., 2008).

O leucograma está exposto nas tabelas 4.

Tabela 4 - Valores médios ± desvio padrão, mediana e percentis [P₂₅, P₇₅] do leucograma em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).

Leucograma	Momentos					Referência*
	M0	M1	M2	M3	M4	
Leucócitos totais (μL)	6205,00±1414,72	7446,00±910,22	7777,00±1753,26	7644,00±951,98	6757,00±1496,86	5500 - 12500
Segmentados (μL)	2875,13±1010,75	3547,41±918,80	3809,27±886,37	3764,97±1127,80	3564,98±907,82	2700 - 6700
Linfócitos (μL)	2892,35±1271,84	3369,02±1288,78	3489,16±1228,71	3438,99±943,28	2877,28±835,75	1500 - 5500
Eosinófilos (μL)	165,08±139,73	227,85±163,34	186,07±187,57	145,09±61,51	86,51±59,49	0 - 950
Basófilos (μL)	23,05 [0 - 94,28]	0 [0 - 72,83]	0 [0 - 29,3]	0 [0 - 95,95]	24,45 [0 - 70,53]	0 - 170
Monócitos (μL)	145,8 [81,18 - 213,23]	272,6 [123,43- 315,88]	203,1 [74,28 - 452,25]	166,2 [113,35- 322,85]	140,4 [156,95 - 370,5]	0 - 800

Não houveram diferenças entre momentos na mesma linha, p<0,05.

*Jain (1993)

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Não houve diferença estatística e os valores se mantiveram nos limites de referência (JAIN, 1993). O estresse promovido pelo exercício resulta no aumento do cortisol e consequentemente neutrofilia, monocitose e linfocitose (TIDBALL, 2005; GLEESON, 2007; SILVA e MACEDO, 2011). Houve um aumento discreto em leucócitos totais, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e linfócitos, porém os valores ficaram dentro da referência, resultado que foi semelhante ao encontrado por Lopes et al. (2009) em equinos submetidos à prova de vaquejada.

Os valores referentes as dosagens dos analitos estão descritos nas tabelas 5.

Tabela 5 – Valores médios \pm desvio padrão, mediana e percentis [P₂₅, P₇₅] de bioquímica clínica em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).

Analitos	Momentos					Referência*
	M0	M1	M2	M3	M4	
Ureia (mg/dL)	36,70 \pm 4,69	36,10 \pm 2,73	37,50 \pm 3,06	37,10 \pm 4,12	37,70 \pm 4,69	21,4 - 51,4
Creatinina (mg/dL)	1,42 \pm 0,32	1,53 \pm 0,27	1,61 \pm 0,21	1,58 \pm 0,34	1,51 \pm 0,28	1,2 - 1,9
Proteína sérica total (g/dL)	6,41 \pm 0,42	6,58 \pm 0,49	6,65 \pm 0,48	6,59 \pm 0,57	6,54 \pm 0,38	5,2 - 7,9
Triglicérides (mg/dL)	23,20 \pm 11,50	33,30 \pm 10,76	37,50 \pm 11,68	34,60 \pm 10,83	26,20 \pm 10,17	4,0 - 44,0
Colesterol (mg/dL)	85,00 \pm 14,77	87,80 \pm 15,18	87,50 \pm 14,92	87,60 \pm 15,76	88,40 \pm 14,14	75,0 - 150,0
FA (UI/L)	186,0 [151,75- 222,75]	188,5 [166,75 - 229,5]	181,0 [153,25 - 228,75]	189,0 [168,25 - 213,5]	191,5 [163,75 - 226]	143,0 - 395,0
GGT (U/L)	10,5 [7,5 - 14,5]	12,5 [9,5 - 14]	12,5[3,75 - 15,25]	11,5 [7,5 - 14]	11,5[3,75-14,25]	4,3 - 13,4
Albumina (g/dL)	2,31 [2,22 - 2,56]	2,45 [2,31 - 2,65]	2,48 [2,4 - 2,59]	2,55 [2,38 - 2,74]	2,4 [2,3 - 2,53]	2,6 - 3,9
AST(U/L)	211 [190,75 - 224]	216,5 [168 - 260,5]	242,5 [182,5 - 317,5]	238 [163,25 - 307]	219 [177,25 - 279,5]	226,0 - 366,0
Globulinas (g/dL)	3,965 [3,81 - 4,13]	4,11[3,69 - 4,36]	4,02 [3,76 - 4,59]	4,06 [3,54 - 4,39]	4,11[3,93 - 4,31]	2,6 - 4,0
Glicose (mg/dL)	81,5 [77 - 88,5]	82,0 [75,5 - 94,25]	88,0 [77,25 - 91,5]	87,5 [82,5 - 92,5]	84,0 [77,75 - 106,8]	75,0 - 115,0
CK (U/L)	278,0 [236 - 305,75]	268,0 [225,5 - 311,25]	261,5 [215,75 - 301,75]	290,0 [241,5 - 318,75]	237,5 [224,75 -298,25]	106,0 - 184,0
Lactato (mmol/L)	0,56 ^c [0,53 - 0,69]	2,78 ^a [1,22 - 10,13]	2,39 ^{abd} [1,03 - 7,69]	2,39 ^{abd} [1,05 - 7,71]	0,72 ^{bc} [0,64 - 1]	1,11 - 1,78
LDH (U/L)	877,0 [780,5 - 1010,5]	869,0 [780 - 957,5]	834,0 [740,25 - 913,5]	887,0 [704,25 - 950,25]	935,5 [837,5 - 997]	542,0 - 716,0

^{ab} Diferenças entre momentos na mesma linha, p<0,05

*Kaneko (2008); Da Cás et al (2000)

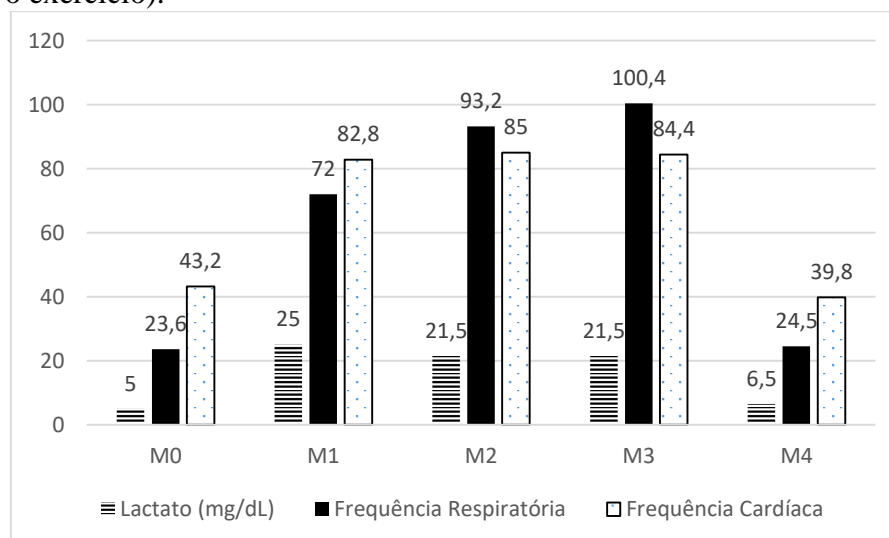
Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Os valores de lactato foram maiores nos M1, M2 e M3 com relação a M0 (P<0,05).

Houve também variação estatística entre M1 e M4 (P<0,05). O lactato auxilia na verificação do

condicionamento do animal e da intensidade do exercício (TRILK et al., 2002). Com o aumento da intensidade do exercício, a concentração sanguínea de lactato aumenta gradativamente. Isso acontece em função do consumo de oxigênio pela via aeróbica e à medida que o exercício se intensifica o organismo utiliza o lactato para gerar a energia necessária pela via anaeróbica (EVANS, 2007). A correlação entre intensidade do exercício e concentração de lactato é avaliada pelo limiar anaeróbico ou V4. AV4 é a velocidade atingida quando há um equilíbrio entre a produção e o consumo de lactato, estabelecida pela concentração de lactato de 4 mmol/L. Amaral (2012) avaliando equinos crioulos submetidos à prova do Freio de ouro verificou que a velocidade entre 6 e 8 m/s é capaz de induzir ao exercício anaeróbico. Apesar da velocidade durante o exercício atingir 8 m/s, não houve aumento da concentração de lactato acima do valor de 4 mmol/L. Contudo os valores de lactato durante o exercício ficaram acima dos valores de referência (KANEKO et al., 2008). Gomide et al. (2006) verificaram o aumento acima dos valores de referência em equinos submetidos a provas de equitação. O aumento do lactato durante o exercício reduz o pH sanguíneo limitando a capacidade de executar o exercício. Uma das maneiras de tentar manter o pH é o aumento da frequência respiratória levando a um aumento do pO₂ e alcalose respiratória compulsória (MACHADO,2006). A figura 1 mostra a comparação entre FR, FC e lactato os quais retornam aos valores basais 24 horas após o exercício (M4). Os valores de lactato não ultrapassaram o limiar anaeróbico mostrando que o exercício da prova de laço comprido não foi suficiente para induzir a anaerobiose lática nos equinos avaliados.

Figura 1 – Comparação entre valores de lactato (mg/dL), frequência respiratória (mpm) e frequência cardíaca (bpm) em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Apesar de não haver diferença estatística, alguns analitos apresentaram valores fora dos limites de referência (KANEKO et al., 2008). A albumina se apresentou abaixo dos valores em M0, M2, M3 e M4, porém nos mesmos momentos o valor de globulina estavam acima dos valores de referência. Este resultado corrobora com os valores encontrados por Cancelier (2017) em éguas da raça crioula. O aumento da produção de globulinas e a redução na concentração de albumina estão relacionados à fatores estressantes, entre eles o exercício (ECKERSAL,1995).

A creatina quinase (CK) é uma enzima intracelular que tem função catalisadora auxiliando na contração muscular (CAMARA E SILVA, 2007). A ruptura de miofibrilas, causada pelo exercício, resulta no extravasamento enzimático aumentando sua atividade sérica (CARDINET, 1997). Segundo Camara e Silva et al (2006) a interpretação dos valores de CK devem ser avaliados de acordo com a intensidade do exercício físico praticado. Não houve aumento da CK durante o exercício, resultado semelhante ao encontrado por Franciscato et al. (2006) em equinos Crioulos em treinamento. Da Cás et al. (2000) verificaram que animais submetidos a um treinamento adequado, condicionaram-se ao exercício sem aumento acentuado de atividade de CK sérica.

A enzima LDH apesar de não ser tão específica quanto a CK também desempenha um papel importante na fisiologia do exercício. A LDH é responsável pela transformação do piruvato em lactato durante o exercício anaeróbico. Amaral (2013) avaliou equinos da raça Crioula em competições de resistência e verificou que os valores basais de CK e LDH da raça foram superiores aos valores de referência contidos na literatura. Esse resultado concorda também com Da Cás et al. (2000) que avaliou equinos Crioulos em diferentes estágios fisiológicos e constatou valores acima dos encontrados na literatura para a espécie. A diferença entre os valores de referência para cada raça foi constatada por Lacerda et al. (2006) quando comparou a raça Crioula com a raça Brasileiro de Hipismo e Puro Sangue Inglês.

Não houve aumento da AST durante o exercício, concordando com os resultados obtidos por Gómez et al. (2004) quando avaliaram equinos de salto. Os valores obtidos no presente estudo mostram que os equinos participantes estavam aptos fisicamente à prática de prova de laço comprido. Os valores dos outros analitos não tiveram alteração uma vez que os animais eram hígidos.

Os valores de MDA e GSH estão representados nas tabelas 6.

Tabela 6 – Mediana e percentis [P₂₅, P₇₅] de malondialdeído (µmol/g Hb) e glutathiona reduzida (µmol/g Hb) em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).

	Momentos				
	M0	M1	M2	M3	M4
GSH	9,84 ^{ab} [3,92 - 11,77]	4,6 ^a [3,5 - 6,24]	9,24 ^b [5,04 - 13,21]	6,69 ^{ab} [4,62 - 7,92]	7,35 ^{ab} [4,95 - 10,85]
MDA	0,145 ^b [0,018 - 0,361]	0,745 ^a [0,229 - 1,69]	0,474 [0,293 - 1,129]	0,606 ^a [0,373 - 1,476]	0,151 ^b [0,050 - 0,255]

^{ab}Diferenças entre momentos na mesma linha, p<0,05.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

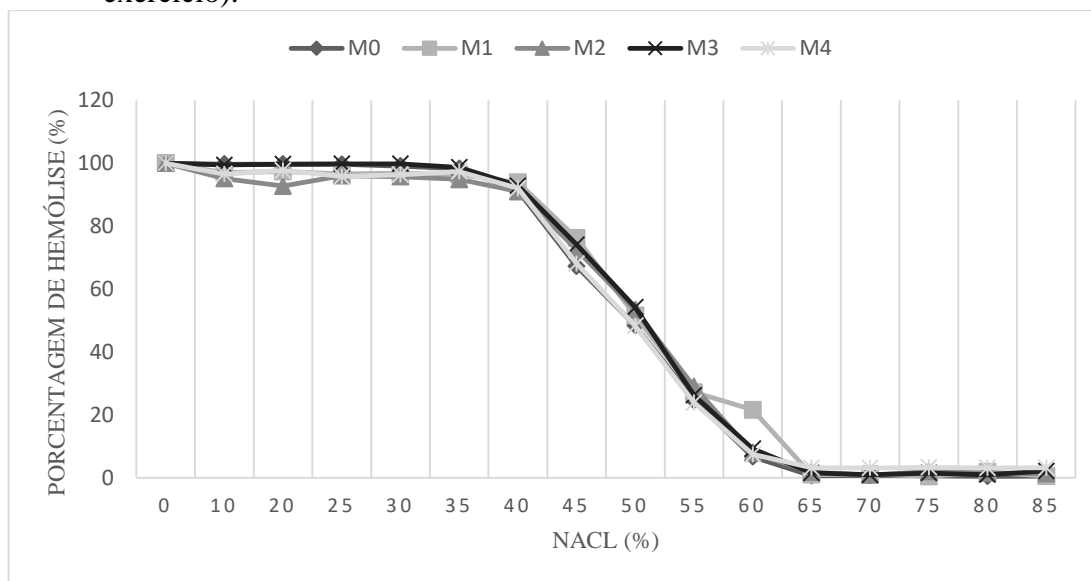
Fernandes et al. (2012) encontraram em cavalos de trote valores de GSH menores aos descritos nesse trabalho. Antunes (2013) analisando cavalos expostos ao exercício de enduro verificou valores basais superiores aos valores durante o exercício. Houve diferença estatística nos valores de GSH (P= 0,030) nos momentos M1 e M2. Nota-se uma tendência a aumentar os valores de GSH após o aumento do MDA (GRÁFICO 3). A GSH é um dos principais antioxidantes que age de forma preventiva, evitando que as ERO causem danos às células (HANSCHMANN et al., 2013). Uma das funções da GSH é neutralizar os produtos gerados durante o processo de peroxidação lipídica (JORDÃO et al., 1998). Na presença de ERO, a GSH é oxidada por ação da glutathiona peroxidase (GPx), diminuindo os níveis circulantes de GSH. Kinnunen et al. (2005) verificaram a correlação positiva entre GPx e a lipoperoxidação em cavalos de enduro. Devido a circulação dos eritrócitos por todo o organismo e estarem presentes em grande quantidade, a membrana dos eritrócitos sofre a ação de agentes oxidantes e dentre os produtos finais desta reação está o malondialdeído (MDA). Por esse motivo a dosagem do MDA eritrocitário vem sendo utilizada como índice do estresse oxidativo (MACHADO et al., 2009).

Houve diferença estatística nos valores de MDA em M1 e M3 com relação ao momentos de repouso M0 e M4 (P<0,05). Machado (2006) verificou aumento nos níveis de MDA em cavalos árabes expostos ao exercício em esteira. Rodrigues et al. (2016) verificaram que a prova de três tambores foi capaz de induzir a lipoperoxidação. Tanto a prova de três tambores quanto a prova de laço comprido são provas curtas e que exigem velocidade do equino, podendo justificar o aumento do MDA em M1 e M3. Conforme verificado neste trabalho, Dias et al. (2011) verificaram aumento nos valores de MDA em cavalos submetidos à prova de salto,

porém os valores retornaram ao basal após 24 horas. Corroborando com este trabalho, Marlin et al. (2002) verificaram que cavalos submetidos ao exercício não sofreram estresse oxidativo.

Os valores da fragilidade osmótica eritrocitária estão demonstrados na figura 2 e os valores da concentração de NaCl em que houve 50% de hemólise estão expostos na tabela 7.

Figura 2 – Fragilidade osmótica eritrocitária em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Tabela 7 – Mediana e percentis [P₂₅, P₇₅] de hemólise em 50% dos eritrócitos em equinos da raça crioula (n=10) submetidos à prova simulada de laço comprido (M0= antes do exercício; M1= após a quinta laçada; M2= após a décima laçada; M3= após a décima quinta laçada; M4= 24 horas após o exercício).

	Momentos				
	M0	M1	M2	M3	M4
Hemólise em 50%	0,526	0,512	0,54	0,54	0,518
	[0,444 - 0,55]	[0,45 - 0,555]	[0,444 - 0,561]	[0,486 - 0,558]	[0,5 - 0,558]

Não houve diferença entre momentos na mesma linha, p<0,05.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Os valores da fragilidade osmótica eritrocitária com 50% de hemólise dos eritrócitos não tiveram diferença estatística entre os momentos avaliados, corroborando com os achados de Santos et al (2014). Machado (2006) verificou resultados semelhantes em equinos da raça Árabe submetidos ao exercício em esteira. Apesar do exercício de prova de laço comprido induzir o aumento da susceptibilidade a lipoperoxidação representada pelo aumento do MDA eritrocitário, o organismo dos equinos foi capaz de evitar maiores danos produzidos pelas ERO nos eritrócitos.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente estudo e sob as condições do mesmo, pode se concluir que equinos da raça crioula quando submetidos à prova de laço comprido apresentam alterações hematológicas e bioquímicas previsíveis para uma prática de exercício físico demonstrados principalmente por hemoconcentração e elevação dos parâmetros fisiológicos de temperatura, frequência cardíaca e frequência respiratória, com retorno aos valores basais confirmado 24 horas após o exercício.

A prova também promoveu o consumo de antioxidantes com aumento da susceptibilidade a liporexidação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFONSO, A.; CORREA, S. **Cavalo crioulo: uma história de raça**. Porto Alegre, Sagra, 1992.

AMARAL, L.A. Avaliação metabólica de Cavalos Crioulos Submetidos a Provas Funcionais. 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

AMARAL, L.A. et al. Metabolic evaluation of Crioulo horses participating in competitions of 750 km. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, n.12, p.1471-1477. 2013.

AMARAL, L.A. et al. Limiar anaeróbico (V4) e frequência cardíaca de cavalos Crioulos condicionados para prova funcional. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, n.1, p.181-188, 2013.

ANTUNES, A.D. estresse oxidativo em equinos participantes de prova de enduro de 80 km. 2013. 54 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, 2013.

ART, T.; LEKEUX, P. Effect of environmental temperature and relative humidity on breathing pattern and heart rate in ponies during and after standardised exercise. **Vet Rec**. v.10, n.123, c.11, p.295-299. Sep/1988.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALOS CRIoulos. Regulamento do registro genealógico da raça crioula. Disponível em:< <http://www.cavalocrioulo.org.br/admin/assets/upload/regulamentos/7058986020.pdf> >. Acessado em 23 de julho de 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALOS CRIoulos. Disponível em:< <http://www.cavalocrioulo.org.br/noticias/detalhes/133011/final-nacional-do-crioulaco-encerra-mostrando-o-crescimento-e-evolucao-da-modalidade>. Acessado em 23 de outubro de 2017.

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

BRANDÃO, B. et al. Uso do teste de duplos esforços para avaliação da capacidade aeróbica de ratos obesos induzidos por dieta. **Rev Bras Med Esporte**, v.19, n.3, mai/jun, 2013.

CÂMARA E SILVA, et al. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em equinos de diferentes categorias de atividade. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.1, p.250-252, 2007.

CANCELIER, C. D. L. Hematologia, Bioquímica e Metabolismo Oxidativo em Éguas

Gestantes da Raça Crioula. 2017. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, 2017.

CARDINET, G.H. Skeletal muscle function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of domestic animals**. 5 th ed. London: Academic Press. p.407-440, 1997.

CARROLL, C.L.; HUNTINGTON, P.J. Body condition scoring and weight estimation of horses. **Equine Veterinary Journal**. n.20, p.41-5, 1988.

CYMBALUK, N.F.; CHRISTISON, G.I.. Environmental effects on thermoregulation and nutrition of horses. **Vet Clin North Am Equine Pract**. v.6, n.2, p.355-72, 1990.

COUROUCÉ, A.; CHATARD, J.C.; AUVINET, B. Estimation of performance potencial of Standarbred trotters from blood lactate concentrations measured in field conditions. **Equine Veterinary Journal**, New Market, v. 29, p. 365-369,1997.

CUNNINGHAM, J.G. Termorregulação. In: **Tratado de fisiologia veterinária**. São Paulo: Guanabara Koogan, 1999. p.507-514.

DA CÁ, E.L.; ROSAURO, A.C.; SILVA, C.A.M.; BRASS, K.E. Concentração sérica das enzimas creatinoquinase, aspartato aminotransferase e dehidrogenase láctica em eqüinos da raça Crioula. **Ciência Rural**, v.30, p.625-629, 2000.

DA SILVA, F.O.C; MACEDO, D.V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**. v.13, c.4, p.320-328, 2011

DIAS, D.C.R. et al. Influência do exercício sobre o hemograma, enzimas marcadoras de lesão muscular e índice de peroxidação de biomoléculas em eqüinos submetidos à atividade de salto. **R. bras. Ci. Vet.**, v.18, n.1, p.36-42, jan./abr. 2011.

ECKERSALL, P.D. Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions. *Comparative Heamatology International*, London, v.5, p.93-97, 1995.

ELLIOT, D. A. Distúrbios metabólicos e eletrolíticos. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de pequenos animais**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. cap. 7, p. 782-787.

ESTERBAUER H. & CHEESEMAN K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. - In: PACKER L. & GLAZER A. N. (eds.), **Methods in enzymology**. v.186, p.407-421, 1990.

EVANS, D.L. Physiology of equine performance and associated tests of function. **Equine Veterinary Journal**. v.39, p.373-383, 2007.

ETCHICHURY, M. Termorregulação em cavalos submetidos a diferentes métodos de resfriamento pós-exercício. 2008. 103 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2008.

FELDMAN, B. F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. Schalm's veterinary hematology. 5 ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2000.

FERNANDES, W.R. et al. Avaliação do estresse oxidativo em cavalos de trote através da mensuração de malondialdeído (MDA) e glutathiona reduzida (GSH) eritrocitária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.32, n.7, p.677-680, 2012.

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

FRAPE, D. **Equine nutrition & feeding**. 2. ed. Oxford: Blackwell Science, p.564, 1998.

FRANCISCATO, C. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT em cavalos Crioulos. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.41, n.10, p.1561-1565, out. 2006.

GARLINGHOUSE, S.E.; BURRILL, M.J. Relationship of body condition score to completion rate during 160 km endurance races. **Equine Vet J Suppl**. n.30, p.591-5, jul. 1999.

GEOR, R.J. et al. Thermal and cardiorespiratory responses of horses to submaximal exercise under hot and humid conditions. **Equine Vet J Suppl**. 1995 Nov;(20):125-32.

GILES, et al. Obesity prevalence and associated risk factors in outdoor living domestic horses and ponies. **PeerJ**, n.2, p.299, 2014.

GLEESON, M. Immune function in sport and exercise. **J Appl Physiol**. v.103, p.693-699, 2007.

GÓMEZ, C.; PETRÓN, P.; ANDAUR, M.; PÉREZ, R.; MATAMOROS, R. Medición post-ejercicio de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas em équinos de salto holsteiner. **Revista Científica**, v.14, n.3, p.244-253, 2004.

GOMIDE, L.M.W., et al. Concentrações sangüíneas de lactato em équinos durante a prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.2, p.509-513, mar/abr, 2006.

GRAMKOW, H.L.; FERRAZ, G.C. Fisiologia do exercício em equinos. **Vet. Polo Clínica Veterinária**, 2007.

HARRIS, P.A. Diseases musculoskeletal. in: REED, S.M., BAYLY, W.M. **Equine internal medicine**. Philadelphia : Saunders, cap.8, p.371-426, 1998.

HENNEKE, D.R., et al. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Vet. J.**, v.15, p.371-372, 1983.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Prod. Pec. munic., Rio de Janeiro, v. 41, p.1-108, 2013.

IRJALA, K. M.; GRONROOS, P. Preanalytical and analytical factors affecting laboratory results. **Annals of Medicine**. v. 30, n. 3, p. 267-272, 1998.

JACOB, H.S.; JANDL, J.H. Effect of sulfhydryl inhibition on red blood cells. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.241, p.4243-4250, 1966.

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

JOHNSON, P.J. Medical Implications of Obesity in Horses—Lessons for Human Obesity. **Journal of Diabetes Science and Technology**. v.3, n.1, jan. 2009.

JORDÃO Jr, A.A. et al. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Medicina**, Ribeirão Preto. v.31, p.434-449, jul./set. 1998.

KANEKO, J.J. et al. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. New York: Academic Press, 2008.

KEARNS, C.F. et al. Fat-free mass is related to one-mile race performance in elite standardbred horses. **Vet J.**, v.163, n.3, p.260-266, may, 2002.

KINNUNEN, S. et al. Effect of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horses. **J. Sports Sci. Med.** v.4, p.415-421. 2005.

LACERDA, L. et al. Hematologic and biochemical parameters in three high performance horse breeds from southern Brazil. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.2, p.40-44, 2006.

LAWRENCE, L.M., et al. Observations on body weight and condition of horses in a 150-mile endurance ride. **J. equine vet. Sci.** v.12, n.5, p.320-324, sep-oct. 1992.

LIMA, R.A; CINTRA, A.G. Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavallo. Brasília, 2015.

LOPES, K.R.F., et al. Influência das competições de vaquejada sobre os parâmetros indicadores de estresse em equinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 538-543, abr./jun. 2009

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

MACHADO, L.P et al. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse na Medicina Veterinária. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lages, v.8, n.1, p. 84-94, 2009.

MARLIN, D.J. et al. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. **J. Nutr.**, London, v.132, n.6, p.1622S-1627S, jun/2002.

McCONAGHY, F.F. et al., **Selective brain cooling in the horse during exercise and environmental heat stress**. *J Appl Physiol* (1985). 1995 Dec;79(6):1849-54

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

MEDEIROS, N.S, Effects of Concurrent Training on Oxidative Stress and Insulin Resistance in Obese Individuals Oxidative. **Medicine and Cellular Longevity Hindawi Publishing Corporation**. 2015.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. Medicina de laboratório veterinário: interpretação e diagnóstico. São Paulo: Roca, 1995. 308p

NUNES, L.A.S. et al. Applicability of the reference interval and reference change value of hematological and biochemical biomarkers to sport science. In. Kenneth R. Zaslav ed. **Sports Med Sports Injury**. Rijeka: InTech, p.77-98, 2012.

PALUDO, G.R. et al. Efeito do Estresse Térmico e do Exercício sobre Parâmetros Fisiológicos de Cavalos do Exército Brasileiro. **R. Bras. Zootec.**, v.31, n.3, p.1130-1142, 2002.

PASKALEV, M. Relationship between blood malondialdehyde and catalase concentrations and the time of occurrence of non-fixed long bone fractures in dogs. **Bulg. J. Vet. Med.**, v.14, n.4, p.231-237, 2011.

PAZ, C.F.R., et al. Relação entre obesidade, insulina plasmática e posicionamento da falange distal em equinos da raça Crioula. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, n.6, p.1699-1705, 2013.

PARPART, A.K.; LORENZ, P.B.; PARPART, E.R.; GREGG, J.R; CHASE, A.M. The osmotic resistance (fragility) of human red cells. **Journal of Clinical Investigation**. v. 26, n. 4, p. 636-640. 1947.

PICCIONE, G., et al. Comparison of daily rhythm of creatine and creatine kinase in the sedentary and athlete horses. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.29, p.575-580, 2009.

ROCK, C.L.; JACOB, R.A.; BOWEN, P.E. Update on the biological characteristics of the antioxidante micronutrientes: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v.96, p.693-702, 1996.

RODRIGUES, I.M.S.M.M.; SPINDOLA, B.F.; BOTTEON, P.T.L. Perfil bioquímico e oxidativo de cavalos usados em prova simulada de três tambores. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v.38(Supl.2), p.93-100, nov/2016.

ROSE, R.J.; HODGSON, D.R. Clinical exercise testing. In: HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. (Eds.). *The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine*. Philadelphia: Saunders, 1994. p. 231-243.

SANT'ANA, et al. Fragilidade osmótica dos eritrócitos de bovinos das raças holandesa, girolando e gir, criados no estado de são paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.4, p.609-614, 2001.

SANTOS, R.S. et al. Avaliação da fragilidade osmótica eritrocitária de equinos em provas de vaquejada. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife-PE. v.17, n.3, p.24, set/dez, 2014.

SEN, C.K. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v.8, p.660-672, 1997.

SILVA, A.A.; GONÇALVES, R.C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.4, p.994-1002, abr/2010.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5. ed. London: Academic Press, p.327-352, 1997.

TIDBALL, J.G. Inflammatory processes in muscle injury and repair. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. v.288, p. 345–R353, 2005.

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

VALKO M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**.v.39, p.44-84, 2007.

VEIGA, A. Obesidade e Diabetes Mellitus em pequenos animais. In: Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. 2., Porto Alegre, 2005. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005, p.82-91.

YONEZAWA, L.A. et al. Malondialdeído e troponina I cardíaca em equinos da raça Puro Sangue Árabe submetidos ao exercício e à suplementação com vitamina E. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.6, jun, 2010.