

No período de prenhez ocorre maior consumo de oxigênio e consequentes alterações no consumo de energia e maior exposição ao estresse oxidativo, podendo causar reabsorção embrionária e abortamentos. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar as principais alterações hematológicas e bioquímicas, do metabolismo oxidativo em éguas da raça Crioula no período da gestação. Foram colhidas amostras de sangue de 44 éguas dispostas em quatro diferentes grupos gestacionais. O MDA indicou a presença de estímulo ao estresse oxidativo, bem como o aumento discreto de GSH indicou uma resposta à produção de antioxidantes no período da gestação. Durante a gestação ocorreu maior fragilidade eritrocitária e redução no número de células circulantes, sendo o terço inicial da gestação o que requer maiores cuidados.

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

Lages, 2017

ANO
2017

CARLA DEZAN DE LORENZI CANCELIER | HEMATOLOGIA, BIOQUÍMICA E
METABOLISMO OXIDATIVO EM ÉGUAS GESTANTES DA RAÇA CRIOULA



UDESC

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

HEMATOLOGIA, BIOQUÍMICA E
METABOLISMO OXIDATIVO EM ÉGUAS
GESTANTES DA RAÇA CRIOULA

CARLA DEZAN DE LORENZI CANCELIER

LAGES, 2017

CARLA DEZAN DE LORENZI CANCELIER

**HEMATOLOGIA, BIOQUÍMICA E METABOLISMO OXIDATIVO EM
ÉGUAS GESTANTES DA RAÇA CRIOULA**

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: Profª. Drª. Mere Erika Saito

LAGES/SC

2017

Cancelier, Carla Dezan de Lorenzi
HEMATOLOGIA, BIOQUÍMICA E METABOLISMO OXIDATIVO EM ÉGUAS
GESTANTES DA RAÇA CRIOLA / Carla Dezan de Lorenzi Cancelier. - Lages , 2017.
60 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. Hematologia. 2. Metabolismo Oxidativo. 3. Fragilidade osmótica. 4.
Gestação. 5. Equino. I. Saito, Mere Erika. II. Universidade do Estado de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela autora.

CARLA DEZAN DE LORENZI CANCELIER

**HEMATOLOGIA, BIOQUÍMICA E METABOLISMO OXIDATIVO EM
ÉGUAS GESTANTES DA RAÇA CRIOULA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciência Animal, como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Banca Examinadora

Orientadora: _____

Prof^a. Dr^a. Mere Erika Saito

Universidade do Estado de Santa Catarina – Lages, SC

Membro _____

Prof^a. Dr^a. Luciana Pereira Machado

Universidade Federal da Fronteira Sul – Realeza, PR

Membro _____

Prof^a. Dr^a. Letícia Andreza Yonezawa

Universidade do Estado de Santa Catarina – Lages, SC

LAGES, 20/02/2017

Dedico:

Aos meus pais, José Carlos De Lorenzi
Cancelier e Meruciana De Fátima Dezan
Cancelier, pela vida, por todo carinho,
amor e ensinamento.

À Maria Mazuco Dezan (*in memorian*)
simplesmente por ter os melhores
conselhos. Jamais esquecerei de suas
palavras.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu forças para alcançar todos os meus sonhos e projetos de vida, e também pelas pessoas que colocou no meu caminho.

Aos meus pais, Meruciana e José Carlos, por serem o melhor exemplo de caráter a ser seguido, pela educação maravilhosa, por acreditarem em mim e também por me ensinarem que quando você dá o melhor de si não tem como as coisas darem errado.

À minha família que acima de tudo sempre compreendeu minha ausência nos almoços de domingo, feriados e datas comemorativas. Queridos primos, obrigada por ouvirem quando precisei compartilhar minhas angústias e alegrias do mestrado e também por se preocuparem comigo.

Agradeço a todos os meus amigos que souberam compreender meus momentos de ausência, que não foram poucos. Em especial a Tainara, Marcello, Marlize e Mariele.

À minha orientadora Mere Erika Saito muito obrigada por me aceitar quando caí de paraquedas no estágio final, por todo o conhecimento compartilhado e todas as conversas que de certa forma me acalmavam e me faziam ver que estávamos no caminho certo.

Não poderia deixar de agradecer aos mestrandos que fizeram parte dessa trajetória. Ao Ádson Costa por toda a paciência em me explicar as técnicas do laboratório e pelo conhecimento compartilhado. À Júlia Morais pelas conversas e pelo alto astral. Ao Paulo Todeschini (Paulinho) que chegou de mansinho e passou a dividir, além da rotina do laboratório, as cuias de chimarrão, tornando tudo mais leve.

Agradeço à Maysa Garlet por toda ajuda, principalmente nas colheitas do projeto. Obrigada por dividir a semana comigo, as angústias, incertezas e os medos, principalmente por me ouvir quando eu começava a falar sem parar. Obrigada pela sua amizade. Tenho certeza que construí uma família em Lages e você faz parte dela.

À Julieta Volpato, professora, doutoranda, amiga e solução pra quase tudo. Não consigo encontrar uma palavra para descrever o quanto você foi importante para mim e para esse trabalho. Obrigada por dividir o experimento, o conhecimento e por todas as dicas durante a docência orientada. Com certeza levarei você pra sempre no meu coração e serei sempre grata por tudo o que você fez por mim.

Aos estagiários, que tornaram tudo mais leve. Obrigada por permitirem que eu dividisse com vocês meus conhecimentos e obrigada por dividirem o de vocês comigo. Em especial aos bolsistas: Ana Cristina Dalmina, Eduardo Souza, Luiz Henrique Goulart, Millene Prado, Elaine Heberle e Mariah Gois Ceregatti.

Agradeço à Mariângela Lovatel, que foi bolsista desse trabalho. Mari sem você a trajetória teria sido um pouco mais difícil, obrigada por todas as caronas, pela amizade e pelos momentos de lazer.

À Minha amiga Camila, agradeço pelos finais de semana e pelas longas conversas.

Sair da casa dos pais é um passo muito importante, tive sorte de precisar fazer isso somente em 2015, e tive mais sorte ainda de encontrar a melhor pessoa do mundo para dividir um apartamento: Luara da Rosa, risada inconfundível, uma pena que não ri das minhas piadas. Passamos por muitas coisas juntas, você se tornou a irmã que nunca tive, muito obrigada por ouvir minhas lamentações, minhas histórias, por dividir o choro e também os programas de tv, por se preocupar e cuidar de mim. Obrigada por ser o pensamento positivo do nosso ap. Muito mais que dividir um ap, nós dividimos uma vida, e no que depender de mim você jamais sairá da minha.

Ao Roberto Nascimento que em pouco tempo soube conquistar minha confiança, amizade e amor. Chegou em minha vida em um período turbulento e soube fazer com que todos os momentos juntos fossem de tranquilidade e paz. Amo você (Truly, Madly, Deeply).

Aos estagiários Jônatas Lovatel e Julio Vettori por toda a ajuda no processamento das amostras. Obrigada pelas risadas, por acordarem cedo e sempre de bom humor. A ajuda de vocês foi fundamental para o trabalho.

Agradeço à professora Letícia Andreza Yonezawa, que sempre esteve disposta a tirar dúvidas, pelo contato com o veterinário da propriedade e por participar da primeira colheita.

Ao proprietário Marlus Arruda e seus funcionários que sempre estiveram dispostos a ajudar nas colheitas e sempre nos receberam muito bem na cabana Morro Chato.

Agradeço ao laboratório de bioquímica e o Cedima, sem os quais não teria conseguido realizar parte da pesquisa.

À UDESC pela oportunidade e a Capes e Promop pela bolsa fornecida durante o mestrado.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente me fizeram crescer não só profissionalmente, mas também como ser humano.

Amo todos vocês!

“Se tivermos pelo menos a premissa de que pelas atitudes que tomamos somos responsáveis pela sociedade que construímos, saberíamos realmente o que a palavra liberdade significa”.

(Alexandre Casimiro)

RESUMO

CANCELIER, C. D. L. **Hematologia, Bioquímica e Metabolismo Oxidativo em Éguas Gestantes da Raça Crioula.** 2017.60f. 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.

Os exames laboratoriais na medicina veterinária têm especial importância no que diz respeito à instituição de um diagnóstico eficiente. Na prática da clínica equina a patologia clínica veterinária facilita a interpretação de distúrbios que possam prejudicar o feto e a fêmea gestante. No período de prenhez ocorre maior consumo de oxigênio e consequentes alterações no consumo de energia e maior exposição ao estresse oxidativo, podendo causar reabsorção embrionária e abortamentos. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar as principais alterações hematológicas, bioquímicas e do metabolismo oxidativo em éguas da raça Crioula no período da gestação. Foram colhidas amostras de sangue de 44 éguas dispostas em quatro diferentes grupos gestacionais, sendo onze éguas em cada um dos grupos (G_0 = éguas vazias, G_3 = 3 meses de gestação, G_6 = 6 meses de gestação e G_{10} = 10 meses de gestação). A comprovação da gestação desses animais foi por meio de exames ultrassonográficos e palpação. As éguas foram avaliadas por meio de exame físico, hemograma e avaliação bioquímica. As éguas eram da mesma propriedade, submetidas ao mesmo manejo nutricional e sanitário. Foram avaliados o hemograma, a bioquímica clínica, no qual foram dosados ureia, creatinina, proteína sérica total (PST), albumina, globulinas, fosfatase alcalina (FA), gama glutamiltransferase (GGT), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), creatinaquinase (CK), cálcio, fósforo, magnésio, bilirrubina total, direta e indireta, lactato, colesterol, triglicérides, glicose, e a dosagem de ferro. Além da capacidade de ligação do ferro (CTLF) e calculado o índice de saturação de transferrina (IST). Para avaliação do metabolismo oxidativo foram utilizados dois parâmetros, as concentrações de malondialdeído plasmático (MDA) e glutatona reduzida eritrocitária (GSH). Para avaliação da fragilidade osmótica eritrocitária foram utilizadas concentrações de 0,85% a 0,00% de cloreto de sódio (NaCl) e foi calculado a hemólise em 50% das amostras. No hemograma foi observada diferença significativa ($P=0,001$) em eritrócitos, hemoglobina, volume globular (VG), concentração de hemoglobina globular média (CHGM), plaquetas e monócitos. A concentração de proteína plasmática total (PST) e fibrinogênio, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$). Na bioquímica clínica observou-se diferença significativa ($P=0,001$) na concentração de glicose, magnésio, ferro e IST. Nas concentrações dos marcadores de estresse oxidativo se observou diferença estatística na dosagem de MDA ($P=0,001$). Já a avaliação da FOE não apresentou diferenças estatísticas. O MDA indicou a presença de estímulo ao estresse oxidativo, bem como o aumento discreto de GSH indicou uma resposta à produção de antioxidantes no período da gestação. Ocorreu maior fragilidade eritrocitária e redução no número de células circulantes, sendo que o terço incial da gestação requer maiores cuidados.

PALAVRAS CHAVE: Hematologia. Metabolismo Oxidativo. Fragilidade osmótica eritrocitária. Gestação. Equino.

ABSTRACT

CANCELIER, C. D. L. Hematology, Biochemistry and Oxidative Metabolism in Pregnant Mares of the Crioula Race. 2017. 60f. Dissertation (Master in Animal Science - Area of concentration: Animal Health and Pathology) - State University of Santa Catarina. Graduate Program in Animal Science, Lages, 2017.

Laboratory tests in veterinary medicine are of particular importance with regard to the establishment of an efficient diagnosis. In the practice of the equine clinic a veterinary clinical pathology facilitates an interpretation of disturbances that damages the fetus and a pregnant female. In the pregnancy period, there is greater oxygen consumption and consequent changes in energy consumption and greater exposure to oxidative stress, which may cause embryonic reabsorption and abortions. The objective of this research was to evaluate the main hematological and biochemical alterations of the oxidative metabolism in Crioula mares in the gestation period. Blood samples were collected from 44 mares arranged in four different gestational groups, with eleven mares in each group (G0 = empty mares, G3 = 3 months gestation, G6 = 6 months gestation and G10 = 10 months gestation). The gestation of these animals was confirmed by means of sonographic examinations and palpation. The mares were evaluated by physical examination, blood count and biochemical evaluation. The samples were collected in mares from the same property, submitted to the same nutritional and sanitary management. The hemogram and clinical biochemistry were evaluated, in which was dosed urea, creatinine, total serum protein (PST), albumin, globulins, alkaline phosphatase (AF), gamma glutamyltransferase (GGT), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), Creatine kinase (CK), calcium, phosphorus, magnesium, total, direct and indirect bilirubin, lactate, cholesterol, triglycerides, glucose, and iron dosage. In addition, the iron binding capacity (CTLF) was measured and the transferrin saturation index (SIT) was calculated. For the evaluation of oxidative metabolism, two parameters were used: concentrations of plasma malondialdehyde (MDA) and erythrocyte reduced glutathione (GSH). For erythrocyte osmotic fragility evaluation, were used concentrations of 0.85% to 0.00% of sodium chloride (NaCl) and hemolysis was calculated in 50% of the samples. The hemogram showed a significant difference ($P = 0.001$) in erythrocytes, hemoglobin, globular volume (GV), mean globular hemoglobin concentration (MGHC), platelets and monocytes. The concentration of total plasma protein (PST) and fibrinogen did not show significant differences ($P > 0.05$). In the clinical biochemistry, a significant difference ($P = 0.001$) was observed in the concentration of glucose, magnesium, iron and SIT. In the concentrations of oxidative stress markers, a statistical difference was observed in the MDA dosage ($P = 0.001$). The EOS evaluation did not present statistical differences. The MDA indicated the presence of oxidative stress stimulus, as well as the discrete increase of GSH indicated a response to the production of antioxidants during the gestation period. During pregnancy, erythrocyte fragility and reduction in the number of circulating cells occurred, and the initial third of gestation requires a greater care.

KEYWORDS: Hematology. Oxidative Metabolism. Osmotic fragility. Gestation. Equine.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios ± desvios padrão de eritrograma de éguas da raça Crioula vazias (G0), aos três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.....	37
Tabela 2 - Valores médios ± desvios padrão do leucograma de éguas da raça Crioula vazias (G0), aos três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.....	39
Tabela 3 - Valores Médios ± desvios padrão de proteína plasmática total e fibrinogênio de éguas da raça Crioula vazias (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.	40
Tabela 4 - Valores Médios ± desvio padrão de bioquímica clínica sanguínea de éguas da raça Crioula vazias (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.	41
Tabela 5 - Mediana [Percentil 25; Percentil 75] da concentração de Ferro sérico (Fe), Capacidade total de ligação do ferro (CTLF) e índice de saturação de transferrina (IST) de éguas da raça Crioula vazias (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.	45
Tabela 6 - Valores Médios ± desvio padrão de glutationa reduzida eritrocitária (GSH) e malondialdeído plasmático (MDA) de éguas da raça Crioula vazias (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.....	46
Tabela 7 - Valores Médios ± desvio padrão expresso como H50 correspondente à concentração de NaCl com 50% de hemólise em éguas da raça Crioula vazia (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.	48

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Valores Médios de hemólise em diferentes concentrações de NaCl de éguas da raça Crioula vazia (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação..... 49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCCC	Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Crioulo
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
Capes	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAT	Catalase
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animal
CHGM	Concentração de Hemoglobina Globular Média
CK	Creatinaquinase
CTLF	Capacidade total de ligação do Ferro
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
Elisa	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FA	Fosfatase alcalina
Fe	Ferro Sérico
FOE	Fragilidade Osmótica Eritrocitária
GGT	Gama glutamiltransferase
GPx	Glutationa Peroxidase
GSH	Glutationa reduzida
IST	Índice de Saturação de Transferrina
MDA	Malondialdeído
PPT	Proteína Plasmática Total
Promop	Programa de Bolsas de Monitoria de Pós-Graduação
PST	Proteína sérica total
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
SOD	Superóxido Dismutase
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
VG	Volume Globular
VGM	Volume Globular Médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 RAÇA CRIOLA E GESTAÇÃO.....	25
2.2 ESTRESSE OXIDATIVO.....	26
2.3 FRAGILIDADE OSMÓTICA ERITROCITÁRIA (FOE)	29
3 OBJETIVOS	31
3.1 OBJETIVO GERAL.....	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 LOCAL.....	33
4.2 ANIMAIS	33
4.3 AMOSTRAS	34
4.4 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	34
4.4.1 Hemograma	34
4.4.2 Proteína plasmática total e fibrinogênio	34
4.4.3 Bioquímica Clínica.....	35
4.4.4 Determinação de marcadores de estresse oxidativo	35
4.4.5 Fragilidade osmótica eritrocitária.....	35
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 HEMOGRAMA	37
5.2 PROTEÍNA PLASMÁTICA TOTAL E FIBRINOGÊNIO.....	40
5.3 BIOQUÍMICA CLÍNICA.....	41
5.4 MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO	46
5.5 FRAGILIDADE OSMÓTICA ERITROCITÁRIA.....	48
6 CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

A raça de cavalos Crioula se originou a partir do cruzamentos dos cavalos que vieram para o Brasil no período da colonização, empregada tanto no trabalho rural como em competições (AFFONSO & CORREA, 1992). Sofreram seleção natural, são rústicos e bem resistentes, sendo considerada pelos produtores como uma das raças de maior fertilidade (MÖLLER, 2007). A criação de equinos da raça Crioula vem crescendo em todo o Brasil, principalmente nos últimos anos, porém, ainda são escassos os estudos relacionados a marcadores de estresse oxidativo e à fragilidade osmótica eritrocitária no período de gestação.

O estresse oxidativo pode ocasionar problemas irreparáveis durante a gestação. No período de gestação ocorrem alterações fisiológicas e metabólicas, resultando em maior consumo de oxigênio, consequente alterações no consumo de energia e maior exposição ao estresse oxidativo, podendo causar reabsorção e abortamentos (MARIELLA et al., 2014).

As mudanças hematológicas e bioquímicas que ocorrem durante o período gestacional, como a fragilidade osmótica eritrocitária, devem ser levadas em consideração e interpretadas cuidadosamente. Os médicos veterinários responsáveis pelo tratamento de éguas gestantes devem estar cientes das mudanças fisiológicas que ocorrem nesse período para evitar interpretações equivocadas dos resultados laboratoriais, que podem levar a diagnósticos errôneos, e, portanto, a tratamentos incorretos. Devido à facilidade na obtenção de amostras, o hemograma e os perfis bioquímicos séricos estabelecem dados básicos e de grande importância sobre cada paciente (RADIN, 2003).

Tanto em rebanhos quanto em indivíduos a interpretação do hemograma e do perfil bioquímico é complexa devido a fatores como raça, idade, estresse, dieta, manejo, clima e estado fisiológico, como lactação, gestação e estado reprodutivo (GONZÁLEZ & SCHEFFER, 2002). Cada analito tem um intervalo de referência diferente e as mudanças hematológicas e bioquímicas que acontecem ao longo da gravidez devem ser estudadas para facilitar a interpretação dos resultados (MARIELLA et al., 2014). Pouco se sabe sobre a proteção antioxidante e a capacidade de adaptação ao estresse oxidativo em éguas gestantes. Diante disso, este estudo teve como finalidade a avaliação hematológica e bioquímica, de marcadores de estresse oxidativo e fragilidade osmótica eritrocitária em éguas da raça Crioula no período da gestação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RAÇA CRIOULA E GESTAÇÃO

A raça de cavalos Crioula é uma raça de origem brasileira, que foi desenvolvida no século XVI a partir do cruzamento de animais trazidos durante o período de colonização. (MÖLLER, 2007). No início da colonização esses animais viviam livres e enfrentaram temperaturas extremas de frio e condições adversas de alimentação. Essas adversidades promoveram as características de rusticidade e resistência nestes animais (ABCCC, 2016), sendo empregada tanto no trabalho rural como em competições (AFFONSO & CORREA, 1992) e além disso, é considerada, pelos criadores, uma das raças de maior fertilidade (MÖLLER, 2007). Em meados do século XIX essa raça passou a ser preservada, ganhando notoriedade mundial a partir do século XX, quando a seleção técnica exaltou o seu valor e comprovou suas virtudes (ABCCC, 2016).

Em 1932 foi fundada a Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC), com a missão de preservar e difundir o cavalo crioulo no país. Para isso foi criada a Prova de Freio de Ouro, uma ferramenta de seleção da raça que movimenta anualmente cerca de R\$1,28 bilhões. Essa prova, tem como objetivo a avaliação morfológica e funcional de equinos da Raça Crioula, sendo promovida, organizada e regulamentada pela ABCCC. Atualmente são mais de 300 mil animais distribuídos em todo o território nacional (ABCCC, 2016).

Devido às suas características evolutivas a raça Crioula se adapta facilmente às adversidades de manejo, reproduzindo animais com bons índices reprodutivos, justificando sua popularidade bem como o valor que movimenta anualmente no mercado. Outro aspecto que deve ser observado na raça Crioula são as particularidades reprodutivas, principalmente as gestacionais, proporcionando um maior conhecimento da espécie, e, por consequência, um melhor manejo, reduzindo índices de mortalidade e otimizando o desempenho do animal.

Segundo Hafez e Hafez (2004) a atividade reprodutiva dos equinos pode ser classificada como sazonal, sendo que nas éguas a estação reprodutiva se estende do início da primavera até o final do verão. A ovulação é máxima no verão e no inverno é mínima ou ausente. Para ocorrer concepção e o desenvolvimento normal da gestação, é imprescindível que o animal esteja em boas condições corporais, com uma alimentação equilibrada, garantindo com isto o sucesso da criação (UNANIAN et al., 1999).

O período de gestação nas éguas é de 335 dias, podendo variar entre raças e também entre indivíduos da mesma raça (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Winter (2007) acompanhou a

gestação de 70 éguas da raça Crioula e constatou a média de 335,6 dias ($\pm 10,5$) de gestação. Com base na estrutura microscópica, a placenta nas éguas é classificada como sendo do tipo epiteliocorial difusa e em relação à perda do tecido placentário, é tida como sendo do tipo adecuado (ROA et al., 2012). A égua, entre todos os animais domésticos de grande porte, consegue ser a mais rápida em sua involução uterina e no retorno à ciclicidade ovariana. Toda essa adaptação permite o rápido estabelecimento de uma nova prenhez no período pós-parto, permitindo um parto por ano (BLANCHARD & VARNER, 1993). Os parâmetros avaliados por Winter (2007) na égua Crioula se assemelham com as demais raças em relação à duração da gestação, ocorrência de cio do potro, intervalo parto-ovulação e diâmetro médio do folículo dominante pré-ovulatório.

Durante o período de gestação ocorrem mudanças fisiológicas que geram uma demanda corporal maior para manutenção da fêmea gestante e do conceito, aumentando as exigências nutricionais e ocasionando alterações de suas variáveis fisiológicas, hematológicas e bioquímicas. O conhecimento dessas modificações pode ser de grande utilidade no acompanhamento e manejo dessas fêmeas (GRAVENA et al., 2010).

Uma pesquisa realizada por Lane et al. (2016) relacionada à fertilidade das éguas mostrou que a idade é um dos fatores de maior risco, podendo causar abortamentos e reabsorções. Um cuidado especial deve ser dado a éguas mais velhas, principalmente no que se diz respeito à formação do tampão mucoso, já que o mesmo serve como uma barreira estrutural e fisiológica, prevenindo a infecção placentária, que causa abortamentos e reabsorções, e prevenindo também o nascimento de potros prematuros (LOUX et al., 2016).

Sendo assim, o período gestacional e a própria gestação da espécie equina requer bastante cuidado e atenção do proprietário e do médico veterinário, pois o intervalo entre uma gestação e outra é longo, com nascimento geralmente de um único indivíduo, além de suas particularidades fisiológicas e o alto valor zootécnico que alguns animais possuem (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

2.2 ESTRESSE OXIDATIVO

Uma ferramenta complementar para avaliação do estado metabólico em animais é a detecção de danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) e as defesas do organismo contra os mesmos (CASTILLO, et al., 2005). Segundo Casanueva e Viteri (2003), ocorrem várias mudanças no organismo durante o período de gestação, resultando em um aumento na demanda de oxigênio.

O termo ERO abrange todas as formas reativas do oxigênio, incluindo os radicais livres e radicais não-livres e todos os componentes celulares são susceptíveis à ação das ERO (CERQUEIRA et al., 2007). Segundo Sordillo e Aitken (2009), o aumento considerável na demanda de oxigênio durante os períodos de maior demanda metabólica, como no caso da gestação, resulta em uma maior produção de ERO. A membrana celular é comprometida pela produção de ERO em decorrência da lipoperoxidação que compromete sua integridade. Porém há evidências de que um certo nível de ERO é imprescindível para muitas funções fisiológicas, como a transcrição de genes após oxidação transitória, além de baixas concentrações de oxidantes estimularem a proliferação celular (CERQUEIRA et al., 2007).

Para evitar os danos causados pelas ERO o organismo desenvolveu vários mecanismos de defesa, chamados de antioxidantes, que neutralizam as ações das ERO e dos radicais livres. Os antioxidantes estão sempre em atividade no organismo, necessitando estar presentes em quantidade suficiente para neutralizar os efeitos das ERO normalmente produzidos (GÓRECKA et al., 2002).

Os antioxidantes têm função de transformar os oxidantes em formas menos reativas, e até mesmo inativá-los. As enzimas antioxidantes mais importantes são a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a glutationa-peroxidase (GPx) (KIRSCHVINK, et al., 2008). Além disso, vitaminas como a vitamina E, betacaroteno, ácido ascórbico e vitamina A, e alguns minerais como zinco, magnésio e selênio, são essenciais para a ação das enzimas antioxidantes (MILLER et al., 1993). A defesa antioxidante ocorre por meio da inibição da peroxidação lipídica e oxidação de proteínas ou por neutralização dos seus efeitos tóxicos (EVANS & HALLIWELL, 2001). O mecanismo de ação dos antioxidantes é bem variado, desde a remoção de oxigênio do meio, varredura das ERO, sequestro dos metais catalizadores da formação de radicais livres, aumento da geração de antioxidantes endógenos ou mesmo a interação de mais de um desses mecanismos (GÓRECKA et al., 2002).

O dano oxidativo pode comprometer as funções dos eritrócitos. A membrana eritrocitária contém lipídios insaturados que são altamente susceptíveis a lesões oxidativas. Além disso, são células incapazes de sintetizar novos lipídios e proteínas para substituir as moléculas que foram oxidados. Sendo assim, a manutenção dos mecanismos antioxidantes é importante para evitar e reparar as lesões oxidativas (HOKAMA et al., 1997). Lee et al. (2004) afirmaram que a deficiência de antioxidantes e a sua reserva no corpo durante o período de prenhez pode ser uma causa de reabsorção embrionária ou abortamento. Por isso, a importância de mecanismos antioxidantes potentes durante a gestação.

Diferentes vias bioquímicas são ativadas durante o período gestacional e podem levar ao estresse oxidativo, que é quando ocorre um desequilíbrio entre a produção de ERO e a capacidade de defesa dos mecanismos antioxidantes (KRIEGER & LOCH-CARUSO, 2001). O excesso de oxidantes e a grande produção de ERO podem causar danos em proteínas e lipídeos do ácido desoxirribonucleico (DNA), e ainda atingir proporções maiores danificando as estruturas celulares do organismo, com consequente apoptose celular (CERQUEIRA et al., 2007). Dias et al. (2009) citaram a obstrução das vias aéreas, hemorragia pulmonar induzida por exercício, laminita, doença do neurônio motor, artrites, miopatias e problemas reprodutivos como enfermidades de cavalos atletas relacionadas ao estresse oxidativo.

O estresse oxidativo é um dos grandes causadores de problemas metabólicos e fisiológicos e na gestação pode ocasionar problemas irreparáveis (GÓRECKA et al., 2002). É considerado um dos maiores causadores de disfunção oocitária, além de ser um dos principais associados tanto à perda da qualidade e fertilidade de oócitos e embriões durante sua manipulação e armazenamento, quanto à diminuição do tempo de vida do espermatozoide na fêmea (PASA, 2011). Em humanos, estudos são desenvolvidos para compreender o papel do estresse oxidativo em problemas de fertilidade, ovulação, abortamentos, pré-eclâmpsia, embriopatias fetais, partos prematuros, diabetes gestacional e outras complicações da gravidez (AGARWAL et al., 2005).

Pouco se sabe sobre a proteção antioxidant e a capacidade de adaptação ao estresse oxidativo em éguas gestantes. Veiga et al. (2006) realizaram uma pesquisa sobre a raça crioula em relação aos valores hematológicos, proteína plasmática total, fibrinogênio e suas variações em relação ao sexo, idade e manejo, porém o estudo não se aprofundou em relação aos marcadores de estresse oxidativo. A gestação é um período com alta demanda de energia para manutenção das funções corporais, aumentando a utilização de oxigênio e, com isso, se espera um aumento do metabolismo oxidativo (GÓRECKA et al., 2002).

Muitos biomarcadores estão sendo utilizados para avaliar o estresse oxidativo, dentre eles está o malondialdeído (MDA) e a glutatona reduzida (GSH). Segundo Ferreira e Matsubara (1997), uma das consequências das ações das ERO é a formação de produtos citotóxicos capazes de destruir as células, dentre estes produtos está o MDA. E por ser um dos produtos mais estáveis da peroxidação lipídica o MDA é utilizado para avaliar o estresse oxidativo (ESTERBAUER et al., 1991).

A GSH é considerada um antioxidante multifuncional, presente no plasma e principalmente nos eritrócitos (SUN et al., 2010). Atua como transportadora e reservatório de cisteína, participa da detoxificação de agentes químicos e eliminação de produtos da

lipoperoxidação, sendo também requisitada na síntese de DNA, proteínas e algumas prostaglandinas (FERREIRA & MATSUBARA, 1997). Segundo Ferreira e Matsubara (1997), a concentração de GSH intracelular indica a capacidade das células em manter a homeostase, neutralizando os agentes oxidantes.

A suplementação vitamínica pode ser considerada uma fonte de antioxidantes endógena auxiliando na diminuição do metabolismo oxidativo, sendo a vitamina E e o selênio, juntamente com a GPx, antioxidantes capazes de impedir o dano oxidativo das células. A vitamina E reduz os efeitos da peroxidação lipídica sobre as células, capturando as ERO e diminuindo os peróxidos lipídicos (CERQUEIRA et al., 2007), juntamente com o selênio mantêm a integridade da membrana e por meio da inibição e destruição desses peróxidos endógenos reduz o dano causado pelo estresse oxidativo (DIMRI et al., 2010).

Yonezawa et al. (2015) realizaram um estudo com equinos da raça Puro Sangue Árabe e da raça Crioula, submetidos a exercício de alta intensidade e não encontraram diferenças significativas em relação as concentrações plasmáticas de MDA, porém, a suplementação foi benéfica para amenizar a produção de ERO, no qual foi observado que em todos os momentos houve diminuição nos valores de MDA após a suplementação, havendo diferença significativa somente no momento de 24 horas após o término do teste.

2.3 FRAGILIDADE OSMÓTICA ERITROCITÁRIA (FOE)

O teste de 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 NaCl em que se observa 50% de hemólise (ESTEVES et al.; 2007).

Os eritrócitos podem resistir à hipotonia aumentando o volume em até 70% antes de atingir o limite de distensão e ocorrer a lise. Os esferócitos apresentam capacidade menor de absorver água até o limite de resistência do que eritrócitos normais, o que os torna suscetíveis à lise osmótica, ou seja, o aumento da FOE é uma característica da forma esferoide. Já a diminuição indica presença de eritrócitos anormalmente achatados no qual há uma tolerância maior na absorção de água, e, portanto, maior resistência à lise osmótica (MONTEIRO, 2011).

A utilização do teste de fragilidade osmótica eritrocitária (FOE) em hematologia clínica permite observar variações dos resultados em enfermidades como em alguns casos de anemia, alterações metabólicas ou carenciais, na avaliação da ação de alguns fármacos sobre o sistema

hematopoiético (SANT'ANA et al., 2001) e danos causados pelo estresse oxidativo em gestantes (SUHAIL et al., 2010; KADAH et al., 2014).

A gestação é acompanhada de várias alterações, principalmente nos valores hematológicos e a resistência dos eritrócitos é de extrema importância para manter a troca de oxigênio entre a mãe e o feto. Um efeito hematológico comum, mas não apreciado da gestação é o aumento da fragilidade osmótica eritrocitária (ARORA et al., 2003). Além disso, as mudanças fisiológicas causadas na gravidez relacionadas à FOE podem causar um diagnóstico errôneo de esferocitose hereditária em mulheres, principalmente durante o último trimestre da gravidez.

Kadah et al. (2014) observaram que apesar de ocorrer FOE durante a gestação de vacas, durante a lactação os eritrócitos ficaram ainda mais frágeis, podendo ser maior com o avanço da idade. Além disso observaram peroxidação lipídica somente durante a lactação. Magid et al. (1982) observaram que além da hemodiluição, o aumento da FOE é outro efeito hematológico comum em mulheres grávidas. Suhai et al. (2010) observaram que em mulheres grávidas ocorre maior fragilidade dos eritrócitos quando comparado com mulheres não grávidas. Já o metabolismo oxidativo é menor em mulheres não grávidas ou que recebiam suplementação vitamínica, quando comparado com mulheres grávidas e/ou sem suplementação. Sendo assim, destaca-se a importância de relacionar a resistência dos eritrócitos com o metabolismo oxidativo durante a gestação, já que os eritrócitos fazem as trocas gasosas entre fêmea gestante e conceito.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar os marcadores de estresse oxidativo, fragilidade osmótica eritrocitária, valores hematológicos e bioquímicos em éguas da raça Crioula no período da gestação.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Contribuir com estabelecimento de valores hematológicos e bioquímicos de éguas Crioulas no período da gestação.
- Verificar o metabolismo oxidativo em éguas Crioulas no período da gestação.
- Verificar a influência do estresse oxidativo na fragilidade osmótica eritrocitária em éguas Crioulas no período da gestação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina – CEUA – CAV/UDESC, sob o protocolo de número 3419151215.

4.1 LOCAL

As colheitas de amostras foram realizadas na fazenda Morro Chato, de propriedade particular, no município de Painel/SC. Já o processamento das amostras ocorreu no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, do Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV), do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), em Lages/SC.

4.2 ANIMAIS

Foram colhidas amostras de sangue de 44 éguas com idade média de 10,0 ($\pm 5,0$) anos e peso médio de 442,56 ($\pm 56,18$) kg, dispostas em quatro diferentes momentos gestacionais, formando quatro grupos com 11 éguas em cada na seguinte configuração:

- G0: antes da inseminação (éguas vazias);
- G3: três meses de gestação;
- G6: seis meses de gestação;
- G10: dez meses de gestação.

As éguas foram avaliadas por meio de exame físico (temperatura retal, frequência cardíaca, frequência respiratória, coloração de mucosas), hemograma e avaliação bioquímica. Após a avaliação dos exames ficou constatado que todas as éguas estavam clinicamente saudáveis. As mesmas eram submetidas ao mesmo manejo nutricional e sanitário e às mesmas variações climáticas.

A comprovação da gestação foi realizada por meio de palpação e exames ultrassonográficos. Esses exames eram realizados sempre antes das colheitas, para confirmar que as éguas estavam nos momentos de gestação exigidos no experimento, além disso, durante o período vazio as éguas estavam em lactação.

4.3 AMOSTRAS

Todas as colheitas de amostras foram realizadas no período da manhã. Durante as colheitas os animais eram contidos por funcionários da propriedade, que tinham um contato diário com os animais e, portanto, familiarizados com os mesmos, diminuindo assim o estresse da colheita. As amostras de sangue foram obtidas por venopunção jugular, com agulhas descartáveis 21G em tubos com sistema a vácuo, sendo 4 mL em tubos contendo EDTA , 4 mL em tubos sem anticoagulante com ativador de coágulo para obtenção de soro e mais 4 mL de sangue em tubos com fluoreto de sódio para posterior dosagem de glicose e lactato.

Os tubos sem anticoagulantes e com fluoreto de sódio foram submetidos à centrifugação a 2000g por 10 minutos. O soro e o plasma com fluoreto de sódio foram acondicionados em microtubos de polipropileno, sendo armazenados em três alíquotas e mantidos a -20°C até a realização das dosagens. Para a dosagem das bilirrubinas um microtubo contendo soro foi protegido da luz para evitar a degradação da mesma.

4.4 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

4.4.1 Hemograma

Imediatamente após a colheita das amostras, foram confeccionadas as extensões sanguíneas e coradas com corante hematológico rápido (LB, Laborclin). A determinação do volume globular foi realizada pela técnica do microhematócrito (JAIN, 1993). A contagem total de eritrócitos, leucócitos e a dosagem de hemoglobina foram realizadas em contador automático (SDH-3 Vet, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brasil). O volume globular médio (VGM) e a concentração de hemoglobina globular média (CHGM) foram calculados. O diferencial de leucócitos e a estimativa de plaquetas foram realizados nas extensões sanguíneas em microscopia óptica de luz (1000x).

4.4.2 Proteína plasmática total e fibrinogênio

A determinação da concentração da proteína plasmática total (PPT) foi realizada por refratometria (Digit, Biosystems,Curitiba, Brasil) e o fibrinogênio pela técnica de precipitação pelo calor (SCHALM, et al., 1970).

4.4.3 Bioquímica Clínica

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 (Enzimático UV), creatinina (1010. Colorimétrico - Picrato alcalino - Jaffé), alanina aminotransferase (ALT) (Cinética UV-IFCC), aspartato aminotransferase (AST) (Cinético - UV-IFCC), fosfatase alcalina (FA) (Colorimétrico - Browers e Mc Comb modificado), proteína sérica total (PST) (Colorimétrico - Biureto), albumina (Colorimétrico - Verde de Bromocresol), globulinas (subtração do valor de albumina ao da PST), glicose (COD-Trinder), colesterol (Colorimétrico - Enzimático de Trinder), gama glutamiltransferase (GGT) (Szasz modificado), creatinaquinase (CK) (UV-IFCC), triglicérides (Colorimétrico - Reação de Trinder), bilirrubina total (Colorimétrico - Labtest DCA), bilirrubina direta (Colorimétrico - Labtest DCA), bilirrubina indireta (subtração do valor de bilirrubina indireta ao da bilirrubina total), cálcio (Colorimétrico - CPC - cresolftaleína), fósforo (UV - Daly e Ertlingshausen modificado), magnésio (Colorimétrico - Labtest-Magon sulfonado) e a dosagem de ferro (Colorimétrico - Goodwin modificado).

Além disso, foi dosada a capacidade de ligação do ferro (Colorimétrico - Goodwin modificado), que atendendo à recomendação do fabricante (Labtest Diagnóstica), foi dosada em analisador semi-automático (Mindray, modelo BA88-A), e foi calculado o índice de saturação de transferrina (Ferro/CTLF.100).

4.4.4 Determinação de marcadores de estresse oxidativo

As concentrações de malondialdeído sérico (MDA) e glutationa reduzida eritrocitária (GSH) foram determinadas por meio de ensaio colorimétrico com auxílio do kit comercial Lipid Peroxidation Assay Kit e Glutathione Assay Kit (Sigma-Aldrich, St Louis, EUA), respectivamente. A leitura foi realizada em leitor de Elisa (Biotek EILx-800, Vermont, EUA), com auxílio do programa computacional Gen 5 1.10. Após os testes os valores foram obtidos por meio de curvas padrão.

4.4.5 Fragilidade osmótica eritrocitária

Para o teste de fragilidade osmótica eritrocitária 25 µL 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 546nm 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 & SEARLE, 2001).

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram tabulados e analisados com auxílio do programa computacional Sigma Plot Versão 12.0 e comparados entre os grupos de animais. O teste de normalidade utilizado para avaliar os dados obtidos em cada grupo foi o Shapiro-Wilk. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística pelo método de análise de variância (ANOVA) e posteriormente ao teste de Tukey. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando P<0,05.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 HEMOGRAMA

O período de gestação promoveu alterações no eritrograma (tabela 1) em todos os seus parâmetros ($P<0,001$), exceto para o VGM. Segundo Souza et al. (2002), a gestação normal está associada a ajustes fisiológicos e anatômicos que acarretam acentuadas mudanças no organismo materno, incluindo a composição do sangue.

Tabela 1 – Valores médios ± desvios padrão de eritrograma de éguas da raça Crioula vazias (G0), aos três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.

Eritrograma	Grupos				Valor de Referência*
	G0	G3	G6	G10	
Eritróцитos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	$8,19 \pm 0,73^{\text{ab}}$	$7,56 \pm 1,01^{\text{a}}$	$8,87 \pm 0,95^{\text{b}}$	$9,17 \pm 0,72^{\text{b}}$	6,5 – 12,5
Hemoglobina (g/dL)	$11,72 \pm 1,23^{\text{a}}$	$10,42 \pm 1,02^{\text{b}}$	$13,15 \pm 1,30^{\text{c}}$	$13,26 \pm 0,89^{\text{c}}$	11 – 19
VG¹ (%)	$34,18 \pm 3,06^{\text{a}}$	$31,55 \pm 2,88^{\text{a}}$	$37,91 \pm 4,04^{\text{b}}$	$38,91 \pm 2,84^{\text{b}}$	32 – 52
VGM² (fL)	$41,93 \pm 4,14$	$42,08 \pm 3,66$	$42,84 \pm 3,33$	$42,64 \pm 4,15$	34 – 58
CHGM³ (%)	$34,28 \pm 1,68^{\text{ab}}$	$33,02 \pm 1,04^{\text{b}}$	$34,74 \pm 1,53^{\text{a}}$	$34,12 \pm 1,10^{\text{ab}}$	31 – 37
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	$206,18 \pm 47,49^{\text{a}}$	$165,45 \pm 34,13^{\text{b}}$	$260,00 \pm 89,30^{\text{a}}$	$222,64 \pm 85,75^{\text{a}}$	100 – 350

¹ Volume Globular. ² Volume Globular Médio. ³ Concentração de Hemoglobina Globular Média.

^{abc} Letras iguais representam médias iguais, letras diferentes indicam diferença estatística, $P<0,001$.

*Jain (1993).

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Na avaliação do eritrograma foi observada diminuição nos valores de eritrócitos, hemoglobina e volume globular em G3 seguido de aumento em G6 e G10. A diminuição no terceiro mês de gestação está relacionada à expansão do volume plasmático em resposta ao aumento da concentração plasmática da renina e consequente redução discreta dos níveis de peptídeo natriurético atrial. Isso sugere que na gestação, o aumento do volume plasmático é resultado de uma vasodilatação sistêmica e aumento da capacidade vascular.

A massa eritrocitária também aumenta consideravelmente, embora em proporções menores (em torno 30%) e um pouco mais tarde que o volume plasmático, ocasionando, então, uma hemodiluição que é uma adaptação do organismo às necessidades do transporte de oxigênio para o feto, uma vez que a diminuição do volume globular reduziria a viscosidade sanguínea e consequentemente a resistência vascular periférica (HALLBERG, 1992; CUNNINGHAM, 1993). Já os aumentos dos valores de eritrócitos, do volume globular e da

concentração de hemoglobina nos últimos períodos da gestação podem estar relacionados ao maior crescimento fetal neste período (Souza et al., 2002). Pois, com isso ocorre um aumento da taxa metabólica e maior demanda de oxigênio, estimulando a liberação de eritropoetina pelo tecido renal, com consequente aumento no número de eritrócitos circulantes. Concomitantemente ao aumento do metabolismo ocorre maior demanda de oxigênio, que estimula uma resposta adaptativa na qual ocorre aumento da concentração de hemoglobina, aumentando dessa forma, a quantidade de oxigênio transportado (GRAVENA et al., 2010).

Foram encontrados resultados semelhantes em um estudo realizado por Gravena et al. (2010), em que o número de eritrócitos e concentração de hemoglobina foram maiores apenas na fase final da gestação de jumentas (entre 211 dias a 340 dias), porém se mantiveram dentro dos valores de referência para espécie. Diferentemente de Azab e Abdel-Maksoud et al. (1999), que realizaram um estudo com cabras gestantes, e ocorreu uma diminuição nos eritrócitos nas três últimas semanas de gestação e durante o período pós-parto, atribuíram essa alteração a hemodiluição e ao aumento do volume plasmático. Assim como, Iriadam (2007), justificou a hemodiluição, em cabras gestantes, como resultado da diminuição de eritrócitos a partir da 4^a, 11^a, 18^a semana de gestação, no dia do parto e no período pós-parto, quando comparado com cabras vazias. Além disso a concentração de hemoglobina aumentou significativamente durante a 18^a semana de gestação, demonstrando que as alterações da gestação diferem entre as espécies.

Durante a gestação normal ocorrem alterações no endotélio vascular, fluxo sanguíneo, fatores de coagulação, anticoagulante e fibrinólise (SOUZA et al., 2002). Nesse estudo as plaquetas apresentaram menor valor no primeiro terço da gestação (G3), diferindo estatisticamente do terço médio (G6). Contudo, os valores de plaquetas se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie. Segundo Cunningham et al. (1993) e Rezende (1998), em humanos a diminuição ocorre devido ao consumo excessivo de plaquetas pois, há um certo grau de coagulação útero placentária, traduzindo assim uma resposta fisiológica.

Bazzano et al. (2014) avaliaram a concentração plaquetária em éguas durante a prenhez e constataram aumento significativo de plaquetas próximo ao parto, porém, sem diferenças estatísticas para os demais parâmetros avaliados durante o período de gestação. Aoki e Ishii (2012) realizaram um estudo com perfil hematológico e bioquímico antes e após o parto de éguas de tração e não observaram alterações significativas em relação à hematologia.

Os resultados encontrados na avaliação do leucograma estão representados na tabela 2.

Tabela 2 - Valores médios ± desvios padrão do leucograma de éguas da raça Crioula vazias (G0), aos três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.

Leucograma	Grupos				Valor de Referência*
	G0	G3	G6	G10	
Leucócitos totais (/µL)	10042,73 ± 2258,38	8752,73 ± 1348,38	10766,36 ± 2101,76	10754,55 ± 1958,87	5500 – 12500
Segmentados (/µL)	5049,12 ± 1542,25	4499,43 ± 895,62	5034,44 ± 1494,09	5779,41 ± 1423,75	2700 – 6700
Linfócitos (/µL)	3835,45 ± 1189,15	3698,91 ± 969,75	4895,29 ± 1847,98	4176,98 ± 791,98	1500 – 5500
Eosinófilos (/µL)	570,80 ± 435,28	268,19 ± 259,52	424,85 ± 199,30	410,35 ± 201,98	0 – 950
Basófilos (/µL)	138,56 ± 136,17	148,25 ± 143,25	111,35 ± 115,75	188,65 ± 254,72	0 – 170
Monócitos (/µL)	448,80 ± 339,26 ^a	137,95 ± 114,51 ^b	300,45 ± 237,20 ^a	199,15 ± 136,37 ^a	0 – 800

^{ab} Letras iguais representam médias iguais, letras diferentes indicam diferença estatística, P<0,05.

*Jain (1993).

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Não foi observada diferença estatística, exceto na contagem de monócitos, que foram menores em G3 quando comparados com os demais momentos da gestação. Sendo uma alteração sem significado clínico, pois se mantiveram dentro dos valores de referência (STOCKHAM, 2011).

O número de basófilos não apresentou diferença estatística, porém, em G10, seus valores foram um pouco acima dos valores de referência. Esse aumento pouco expressivo pode ser resultante do aumento da parede uterina, que é rica em mastócitos, ocasionando a liberação de histamina e mobilizando basófilos na circulação (WELLE, et al., 1997). Concordando com Veiga et al. (2006) que verificaram que em éguas gestantes da raça Crioula, a contagem leucocitária pode se apresentar aumentada devido à elevação na contagem de basófilos e neutrófilos. No presente estudo, embora não significativo, os maiores valores de neutrófilos foram em G10.

Iriadam (2007) relatou que o número de eosinófilos diminuiu a partir da 11^a e 18^a semana de gestação e o número de monócitos menor nas semanas 4, 11, 18 e 21 da gestação de cabras. Em um estudo realizado por Harvey et al. (1994) com éguas gestantes da raça Puro Sangue Inglês e Quarto de Milha; e Mariella et al. (2014), com éguas também gestantes da raça

American Standard, durante o parto e no pós-parto, observaram que a contagem de leucócitos durante a gestação se manteve dentro dos intervalos de referência. Resultados semelhantes foram observados por Bonelli et al. (2016) em mulas.

5.2 PROTEÍNA PLASMÁTICA TOTAL E FIBRINOGÊNIO

Os valores de proteína plasmática total (PPT) e fibrinogênio não apresentaram diferença estatística (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores Médios ± desvios padrão de proteína plasmática total e fibrinogênio de éguas da raça Crioula vazias (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.

	Grupos				Valor de Referência*
	G0	G3	G6	G10	
PPT¹ (g/dL)	7,50 ± 0,48	7,72 ± 0,75	7,58 ± 0,52	7,83 ± 0,56	5,3 – 8,3
Fibrinogênio (mg/dL)	436,36 ± 174,77	390,91 ± 53,94	354,55 ± 129,33	472,73 ± 134,84	100 – 400

¹PPT=proteína plasmática total.

*Kaneko et al. (2008).

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Em relação ao fibrinogênio, em G0 e G10 os valores foram um pouco maiores que os valores de referência. Campelo (2008) realizou uma pesquisa com éguas gestantes da raça Brasileiro de Hipismo e Bretão e os valores encontrados mostraram uma tendência a concentrações maiores de fibrinogênio no final da gestação para raça Bretão.

O aumento do fibrinogênio encontrado nesse no terço final da gestação, mesmo sem diferença estatística, pode estar relacionando com o consumo local na circulação uteroplacentária (GENTRY et al., 1999). Segundo Cray et al. (2009) o fibrinogênio também é uma proteína de fase aguda da inflamação e pode apresentar concentrações aumentadas pois durante a gestação, principalmente no parto, o animal passa por um grande esforço físico.e o organismo acaba desenvolvendo um estado de hipercoagulabilidade fisiológica em resposta ao estresse agudo.

5.3 BIOQUÍMICA CLÍNICA

Na avaliação bioquímica os valores de glicose e magnésio foram estatisticamente diferentes ($P<0,001$).

Tabela 4 - Valores Médios \pm desvio padrão de bioquímica clínica sanguínea de éguas da raça Crioula vazias (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.

Analitos	Grupos				Valores de Referência*
	G0	G3	G6	G10	
Ureia (mg/dL)	45,64 \pm 6,90	45,64 \pm 6,90	48,73 \pm 11,20	45,00 \pm 7,16	21,40 – 51,40
Creatimina (mg/dL)	1,26 \pm 0,25	1,23 \pm 0,10	1,42 \pm 0,28	1,42 \pm 0,39	1,20 – 1,90
PST¹ (g/dL)	8,06 \pm 0,65	8,21 \pm 0,72	8,14 \pm 0,54	8,17 \pm 0,69	5,20 – 7,90
Albumina (g/dL)	2,33 \pm 0,22	2,33 \pm 0,19	2,38 \pm 0,41	2,47 \pm 0,19	2,60 – 3,90
Globulinas (g/dL)	5,73 \pm 0,73	5,88 \pm 0,88	5,76 \pm 0,73	5,70 \pm 0,74	2,60 – 4,00
FA² (UI/L)	320,73 \pm 114,35	260,64 \pm 53,74	245,91 \pm 48,98	278,73 \pm 66,59	143 – 395
GGT³ (U/L)	22,82 \pm 19,08	15,36 \pm 5,24	12,64 \pm 4,13	14,73 \pm 7,13	4,30 – 13,40
ALT⁴ (U/L)	7,18 \pm 3,31	6,73 \pm 1,27	10,09 \pm 6,64	7,09 \pm 2,02	3 – 23
AST⁵ (U/L)	233 \pm 117,60	249 \pm 29,59	232,09 \pm 48,85	232,36 \pm 56,83	226 – 366
CK⁶ (U/L)	440,64 \pm 221,92	457,55 \pm 199,04	317,36 \pm 124,61	488,54 \pm 257,31	2,40 – 23,40
Cálcio (mg/dL)	11,29 \pm 3,05	11,45 \pm 0,50	11,91 \pm 1,49	11,04 \pm 2,99	11,20 – 13,60
Fósforo (mg/dL)	3,85 \pm 0,86	3,49 \pm 0,36	3,37 \pm 0,74	3,42 \pm 0,48	3,10 – 5,60
Magnésio (mg/dL)	2,03 \pm 0,49 ^a	2,88 \pm 0,47 ^b	2,14 \pm 0,65 ^a	2,39 \pm 0,37 ^b	2,20 – 2,80
Bilirrubina					
Direta (mg/dL)	0,19 \pm 0,14	0,22 \pm 0,11	0,24 \pm 0,15	0,23 \pm 0,14	0,00 – 0,40
Bilirrubina					
Indireta (mg/dL)	0,44 \pm 0,32	0,45 \pm 0,17	0,51 \pm 0,320	0,51 \pm 0,38	0,20 – 2,00
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,62 \pm 0,45	0,67 \pm 0,23	0,75 \pm 0,46	0,75 \pm 0,50	1,00 – 2,00
Colesterol (mg/dL)	82,64 \pm 6,65	78,36 \pm 12,44	86,45 \pm 12,48	85,91 \pm 12,30	75 – 150
Lactato (mg/dL)	10,64 \pm 3,35	8,36 \pm 3,17	11,64 \pm 12,92	20,82 \pm 22,00	10,00 – 16,00
Triglicérides (mg/dL)	29,00 \pm 18,89	20,45 \pm 8,81	29,00 \pm 13,25	44,00 \pm 26,43	4,00 – 44,00
Glicose (mg/dL)	88,00 \pm 17,56 ^a	70,73 \pm 8,42 ^b	84,55 \pm 6,53 ^a	82,73 \pm 6,57 ^a	75 – 115

¹Proteína Sérica Total. ²Fosfatase Alcalina. ³Gama Glutamiltransferase. ⁴Alanina Aminotransferase. ⁵Aspartato Animotransferase. ⁶Creatininaquinase.

^{ab}Letras iguais representam médias iguais, letras diferentes indicam diferença estatística, $P<0,001$.

*Kaneko et al. (2008).

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

A concentração de ureia e creatinina nos grupos avaliados neste estudo não apresentou diferença significativa, fato também constatado no estudo de Unanian et al. (1999) e Penteado et al. (1999) com éguas Puro Sangue Árabe durante todo o período de gestação. Outros resultados foram encontrados em outros estudos, como no de Andreazzi et al. (2015) em éguas mestiças, cuja concentração de ureia não apresentou diferença entre éguas vazias e gestantes, enquanto a creatinina apresentou um aumento significativo no grupo das éguas gestantes mestiças. Um estudo realizado por Campelo (2008) demonstrou um aumento na concentração de ureia no início da gestação, seguido de diminuição no terço médio e subsequente elevação no terço final de gestação. Além disso, houve uma diminuição de creatinina no terço intermediário de gestação nas éguas Brasileiro de Hipismo quando comparadas às éguas Bretão. Os autores justificam que esses valores evidenciam problemas de ordem nutricional.

Não houve diferença estatística entre as proteínas totais, albumina e globulinas comparadas nos diferentes grupos gestacionais. Em um estudo realizado por Andreazzi et al. (2015) a concentração de proteína sérica total teve um aumento significativo no grupo de éguas gestantes e a albumina não apresentou diferença estatística. No estudo de Campelo (2008) a concentração de proteína total apresentou diferença entre a raça Brasileiro de Hipismo e Bretão nos terços médio e final da gestação. As éguas Bretão apresentaram valores maiores para esta variável do que as éguas Brasileiro de Hipismo, enquanto os valores de albumina diferiram entre as éguas gestantes e não gestantes em todos os momentos, e os de globulinas diferiram somente durante a gestação, sendo que no terço médio e final, os valores foram maiores nas éguas Bretão que nas Brasileiro de Hipismo.

No presente estudo a concentração de albumina foi menor que os valores de referência, já as concentrações de proteínas totais foram maiores. O mesmo foi observado por Unanian et al. (1999) em éguas Puro Sangue Árabe. Segundo Robertson et al. (1972), durante a gestação ocorre a diminuição da pressão osmótica coloidal refletindo em uma diminuição acentuada da concentração de albumina e para manter a viscosidade do sangue, e permitir melhor troca entre a gestante e o feto, o organismo aumenta a concentração de globulinas.

As éguas Crioulas deste estudo não apresentaram diferença significativa entre os grupos em relação à atividade de FA, coincidindo com os achados de Meuten et al. (1980) em éguas Quarto de Milha. Contudo, no estudo de Campelo (2008) houve diferença no terço médio da gestação sendo que os valores foram menores em éguas Bretão. A atividade de GGT permaneceu sem diferença estatística durante os grupos de gestação aqui avaliados, assim como no estudo de Franciscato et al. (2006), que compararam os valores de GGT em éguas gestantes e não gestantes, e não observaram diferença significativa para essa enzima.

Não foi encontrada diferença para os valores de AST e ALT na raça Crioula, assim como Campelo (2008) não a encontrou para a raça Brasileiro de Hipismo e Bretão. Porém, Penteado et al. (1999) observaram uma diminuição ao longo da gestação. A diminuição ao longo da gestação ocorre devido ao maior crescimento fetal, em que as enzimas ficam voltadas para a constituição dos tecidos fetais. No estudo de Bonelli et al. (2016) a atividade de AST em jumentas aumentou próximo ao parto e na lactação, pois exerce função importante na composição do leite. Não houve diferença entre os valores de CK entre os diferentes grupos gestacionais do presente estudo. Porém, os valores se mantiveram acima da referência, sugerindo a necessidade de mais estudos sobre o intervalo de referência para essa espécie, visto que as éguas Crioulas em questão não apresentaram nenhuma sintomatologia clínica para o aumento de CK encontrado.

Os valores de cálcio não apresentaram diferença estatística, diferentemente do estudo de Campelo (2008), em que os valores em égua vazias da raça Brasileiro de Hipismo se mantiveram iguais aos das éguas prenhas no terço inicial da gestação, já para a raça Bretão, os valores obtidos para éguas vazias diferiram dos valores obtidos durante a prenhez, sendo que os maiores valores foram observados na fase inicial.

No presente estudo não houve diferença estatística quanto à concentração de fósforo, semelhante aos dados de Penteado et al. (1999). Já Campelo (2008) encontrou diferença significativa em relação às concentrações de fósforo durante a gestação, sendo que suas concentrações diminuíram no terço final, porém de forma mais significativa na raça Bretão. Na raça Brasileiro de Hipismo a diminuição foi mais acentuada no terço médio da gestação. Unanian et al. (1999) não observaram diferença estatística nas concentrações de cálcio e fósforo. Em Jumentas os valores de cálcio se mantiveram constantes durante a gestação, parto e lactação, mas os valores de fósforo foram maiores no final da gestação e parto (BONELLI et al., 2016).

Bem como os resultados do presente estudo, quanto a concentração de cálcio, fósforo e magnésio sugerem que essas éguas tinham um bom manejo nutricional. Apesar dos valores de magnésio apresentarem diferença estatística entre G0 e os demais grupos, se mantiveram dentro dos valores de referência. Esse aumento pouco expressivo durante a gestação pode ser devido à maior demanda para o crescimento fetal (SOUZA et al., 2002). Além disso os valores de magnésio, cálcio e fósforo são dependentes da dieta, sendo assim, essa pequena variação pode ser atribuída à alimentação dos animais durante o período vazio. Azab e Abdel-Maksoud (1999) constataram que em cabras os níveis plasmáticos de magnésio aumentaram na terceira

e quarta semanas antes do parto e diminuíram de uma a duas semanas antes do parto, devido ao crescimento fetal e o gasto com maior demanda de energia para o parto, respectivamente.

Os resultados obtidos no presente estudo em relação às concentrações de bilirrubinas não apresentaram diferença estatística, assim como Bonelli et al. (2016) em seu estudo sobre gestação de jumentas. Porém, os valores obtidos no presente estudo foram abaixo das referências. Campelo (2008) observou valores menores durante a gestação e atribuiu esse fato ao maior acúmulo de líquido que ocorre durante a gestação. Em relação à dosagem de lactato, colesterol e triglicérides não foi encontrada diferença estatística para os valores encontrados nos momentos da gestação.

A concentração de glicose apresentou menor valor em G3, que corresponde ao primeiro terço da gestação. No estudo de Andreazzi et al. (2015) não houve diferença estatística entre as éguas gestantes de seis meses e não gestantes quanto à glicose. Assim como para Unanian et al. (1999) e Bonelli et al. (2016), em que as concentrações de glicose foram constantes e sem diferenças estatísticas durante todo o período de gestação.

A diminuição da glicose no pico da lactação, verificada neste estudo, está relacionada com a captação deste metabólito pela glândula mamária para a síntese de lactose (SANTOS et al., 2005), pois a égua pode manter a amamentação do potro e ter seu pico de lactação ainda nos três primeiros meses de gestação pela característica da involução uterina rápida e dinâmica e retorno à ciclicidade ovariana, sendo possível iniciar uma nova gestação no primeiro cio pós-parto (BLANCHARD & VARNER, 1993). Esses eventos explicariam a diminuição da glicemia nas éguas nos primeiros meses de gestação. A produção de leite das éguas é crescente e atinge o pico antes do segundo mês de lactação, e decresce constantemente até o final do período de lactação, aproximadamente aos 180 dias (GIBBS et al., 1982, OFTEDAL et al., 1983; CABRERA et al., 1990; DOREAU et al., 1990).

No decorrer da pesquisa não foi observada diferença estatística na CTLF. A concentração de Fe apresentou diferença estatística ($P = 0,012$) assim com o IST ($P = 0,001$) para G3 e G6 em relação aos demais grupos (Tabela 5).

Tabela 5 - Mediana [Percentil 25; Percentil 75] da concentração de Ferro sérico (Fe), Capacidade total de ligação do ferro (CTLF) e índice de saturação de transferrina (IST) de éguas da raça Crioula vazias (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.

Analitos	Grupos			
	G0	G3	G6	G10
Fe (mg/dL)	130 [55 - 166] ^{ab}	99 [37 - 110] ^a	150 [65 - 196] ^b	132 [40 - 119] ^{ab}
CTLF (mg/dL)	328 [101 - 304]	344[114 - 342]	372 [131 - 394]	388 [112 - 335]
IST (%)	38,48[14 - 41] ^{ab}	26,9[14 - 41] ^a	40,37 [14 - 41] ^b	32,97 [11 - 34] ^{ab}

^{ab} Letras iguais representam médias iguais, letras diferentes indicam diferença estatística, $P=0,012$.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Em relação ao Fe e o IST, foram observados valores menores em G3 e maiores em G6, porém em G10 as concentrações se igualaram ao G0. Os resultados desse trabalho se assemelham aos achados de Azab & Abdel-Maksoud (1999), no qual a concentração de ferro diminuiu acentuadamente no final da gestação de cabras. Não foram observadas alterações no metabolismo do ferro durante os períodos de gestação, parto e pós-parto em fêmeas caprinas da raça Saanen (FONTEQUE et al., 2010).

A hipoferremia que ocorreu no terço inicial da gestação é atribuída à grande demanda metabólica de ferro, decorrente de uma hematopoese aumentada, pela exigência para o crescimento fetal e também pelo aumento dos hormônios adrenocorticais. Além da demanda para crescimento fetal ocorre uma necessidade de compensar eventuais perdas durante o precesso do parto. E no feto, além de responsável pela formação da hemoglobina, o ferro é essencial para síntese de enzimas responsáveis pelo metabolismo cerebral. Sendo assim, é possível que os animais apresentem um diminuição de ferro no terço inicial da gestação (SADDI & SHAPIRA, 1970).

Os valores encontrados no presente estudo não diferem dos encontrados por Abramovitz et al. (2014) em equinos da raça Puro Sangue Inglês submetidos a exercício físico. Os valores obtidos antes da corrida, tidos como basais, foram: Fe (177,31mg/dL), CTLF (389,85mg/dL) e IST (47,51%), o que indica que apesar das diferenças encontradas no presente estudo os valores ainda se mantiveram parecidos com os já encontrados para espécie equina.

5.4 MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

Em relação aos valores de MDA se observou diferença estatística ($P = 0,001$) entre os grupos de éguas vazias e éguas gestantes (tabela 6), o que indica que há maior estímulo à produção de ERO e consequentemente aos danos oxidativos nessas condições. Já os valores de GSH não apresentaram diferença estatística, mas foi observado aumento discreto durante a gestação em relação ao período vazio. O que indica que o organismo está respondendo, de certa forma, com maior produção para combater possíveis oxidantes produzidos durante a gestação.

Tabela 6 - Valores Médios \pm desvio padrão de glutatona reduzida eritrocitária (GSH) e malondialdeído plasmático (MDA) de éguas da raça Crioula vazias (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.

	Grupos			
	G0	G3	G6	G10
GSH (nmol/μL)	$4,96 \pm 2,38$	$5,50 \pm 2,35$	$5,87 \pm 3,07$	$5,42 \pm 2,71$
MDA (μmol/L)	$1,48 \pm 0,03^a$	$1,66 \pm 0,14^b$	$1,64 \pm 0,17^b$	$1,67 \pm 0,17^b$

^{a,b}Letras iguais representam médias iguais, letras diferentes indicam diferença estatística, $P=0,001$.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Arikan et al. (2001) verificaram que os níveis de MDA são significativamente mais elevados e os níveis de GSH mais baixos em mulheres grávidas no terceiro trimestre de gestação, comparado com mulheres não grávidas. Um estudo realizado em ovelhas gestantes mostrou que as concentrações de MDA no segundo e terceiro mês de gestação foram menores do que no primeiro, quarto e quinto meses de gestação, já as concentrações de GSH e as atividades de GSH-Px durante a gestação aumentaram, sendo que foram maiores no segundo e terceiro meses de gestação, quando comparados com ovelhas não gestantes (ERISIR et al., 2009). Os mesmos autores explicam que a diminuição plasmática de MDA no período de gestação ocorre devido ao aumento das concentrações de GSH e a atividade da GSH-Px, que desempenham importante papel de desintoxicação e eliminação das ERO.

Górecka et al. (2002) compararam os valores de antioxidantes medidos em seis meses de gestação, duas semanas antes do parto e um mês após o parto de mulheres, e observaram maiores mudanças na defesa antioxidante em torno do período perinatal. Shilina et al. (1999) realizaram um estudo em mulheres grávidas, no qual, mensuraram os níveis de MDA, transferrina e a atividade antioxidante total, e observaram que a atividade antioxidante aumentou em 24 semanas de gestação, porém, o nível de MDA não mudou significativamente durante o período de gravidez, diferentemente, do presente estudo, no qual o marcador que

apresentou alteração significativa foi o MDA. Nakai et al. (2000) sugerem que pode ocorrer peroxidação lipídica produzida pela reoxigenação tecidual durante o trabalho de parto em mulheres, causando o estresse oxidativo com danos permanentes ao organismo.

Não há valores de referência específicos para GSH e MDA para a raça equina. Uma pesquisa realizada por Fernandes et al. (2012) avaliou as concentrações de GSH e MDA em diferentes condições de treinamento físico em equinos, e no grupo sem treinamento (basal) obtiveram os seguintes valores: GSH (2,32 – 5,63 nmol/μl) e MDA (0,56 – 1,06 μmol/L). No G6 o GSH estava discretamente maior quando comparado aos outros grupos no presente estudo, porém, sem diferença estatística. Já em relação ao MDA foi observada diferença estatística entre éguas vazias e gestantes. Na gestação ocorre o aumento da taxa metabólica basal, caracterizando um estado de alto nível de estresse oxidativo (MALTA et al.,2008).

Castilho et al. (2005) realizaram um estudo durante a gestação e a lactação de vacas leiteiras e mensuraram o marcador MDA, os dados indicaram um aumento da peroxidação lipídica em torno do parto. Outros trabalhos realizados por Carone et al (1993), Nakai et al (2000), Suhail et al (2010) e Balal et al (2004) em mulheres, por Naziroglu et al (2004) em ratas e Castillo et al (2003) em vacas leiteiras indicaram um aumento dos níveis oxidantes na gestação e lactação com maior exposição ao estresse oxidativo. Com isso, nota-se que durante todo o período de gestação as éguas podem sofrer com o estresse oxidativo, bem como durante o período vazio, no qual as mesmas estão amamentando.

Castillo et al. (2001) salienta a importância de um sistema antioxidante potente durante esses períodos, sugerindo uma dieta com minerais e suplementação de vitaminas, para assim aumentar a concentração de antioxidantes e diminuir o aparecimento do estresse oxidativo nesses períodos. Behne e Wolters (1979) observaram que durante a gestação ocorre uma diminuição da atividade da GSH-Px e do teor de selênio no plasma de mulheres grávidas, ou seja, a defesa antioxidante fica prejudicada. Dimri et al. (2010) verificaram que durante a gestação de búfalas ocorre maior estresse oxidativo, além disso compararam animais que recebiam suplementação com animais sem suplementação, e concluíram que animais suplementados com vitamina E e selênio possuem uma resposta melhor ao estresse oxidativo do que aquelas que não receberam suplementação.

No G0 essas éguas estavam lactando, ou seja, também estavam passando por um desafio fisiológico com maior demanda de oxigênio para transporte de substratos para produção de leite. Portanto, não se descarta a possibilidade desses animais, nessas condições, sofrerem com o estresse oxidativo durante o período vazio. Ressalta-se, assim, a importância de uma dieta equilibrada para esses animais, visto que na propriedade escolhida para realização do estudo os

animais não recebiam nenhuma dieta com suplementação rica em antioxidantes, como vitamina E e selênio. Sendo assim, os dados obtidos nesse estudo indicam que durante a gestação ocorre maior exposição ao estresse oxidativo, porém não se descarta o aparecimento de desafios oxidativos associados ao período de lactação.

5.5 FRAGILIDADE OSMÓTICA ERITROCITÁRIA

Os dados avaliados no presente estudo não apresentaram diferença estatística (Tabela 7 e gráfico 1). Contudo, foram fundamentais para avaliar melhor a resistência dos eritrócitos, juntamente com os achados hematológicos.

Tabela 7 - Valores Médios ± desvio padrão expresso como H50 correspondente à concentração de NaCl com 50% de hemólise em éguas da raça Crioula vazia (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.

	Grupos			
	G0	G3	G6	G10
H50¹%	0,47 ± 0,06	0,58 ± 0,05	0,55 +0,05	0,52 ± 0,03

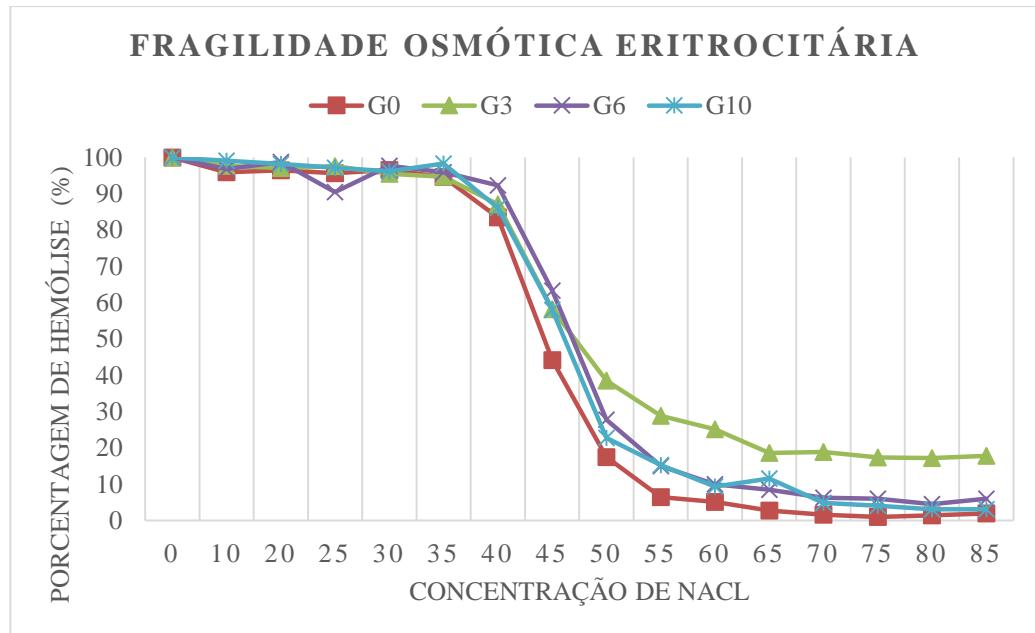
¹ Concentração de NaCl com 50% de hemólise.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Apesar de não apresentar diferença estatística, em relação à concentração de NaCl com 50% de hemólise fica evidente a tendência de maior fragilidade eritrocitária durante os meses de gestação, revelando maior resistência dos eritrócitos à hemólise no período de éguas vazias. Magid et al. (1982) encontraram uma fragilidade osmótica eritrocitária (FOE) aumentada em mulheres durante os primeiros meses de gestação voltando ao normal após o parto. Suhail et al. (2010) realizaram um estudo com mulheres gestantes e observaram maior fragilidade do que naquelas não gestantes. Kadah et al. (2014) também observaram uma tendência a FOE em vacas gestantes porém, constataram que em vacas no período lactação a FOE é ainda maior, e sugerem que durante a gestação e lactação ocorre maior produção de oxidantes capazes de danificar a membrana dos eritrócitos, tornando-os mais frágeis nesses períodos.

A avaliação da FOE nesse estudo contribui com os dados encontrados em relação ao metabolismo oxidativo. No qual foram observados maiores valores de MDA durante a gestação, ou seja, provavelmente os eritrócitos estavam um pouco mais frágeis nesse período.

Gráfico 1 – Valores Médios de hemólise em diferentes concentrações de NaCl de éguas da raça Crioula vazia (G0), três meses (G3), seis meses (G6) e dez meses (G10) de gestação.



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

A maior fragilidade em G3 coincide com a diminuição do número de eritrócitos, VG e hemoglobina, devido à hemodiluição, revendo que os eritrócitos ficam mais frágeis. Magid et al. (1982) encontraram resultados semelhantes, e acrescentam que devido aos eritrócitos serem mais frágeis no período da gestação há possibilidade de ocorrer hemólise ou complicações no transporte de oxigênio para o feto, com aumento da fragilidade osmótica eritrocitária.

6 CONCLUSÕES

Com base no resultados obtidos com a metodologia adotada pôde-se concluir que em relação ao período da gestação em éguas da raça Crioula:

- O marcador de estresse oxidativo MDA indicou a presença de um estímulo ao estresse oxidativo maior durante o período de gestação;
- O valor de GSH durante a gestação indicou a presença de uma possível resposta à produção de oxidantes durante o período de gestação;
- A FOE mostrou ser uma ferramenta útil para avaliação dos eritrócitos, contribuindo para melhor interpretação dos achados hematológicos, podendo ocorrer maior fragilidade eritrocitária e redução no número de células circulantes;
- O terço inicial da gestação requer maior atenção com possibilidade de hemodiluição, deficiência de ferro e redução na concentração de hemoglobina.

REFERÊNCIAS

ABCCC (Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Crioulo). 2016. Institucional (**História**). Disponível em :< <http://www.cavalocrioulo.org.br/institucional/historia>>. Acessado em: 23 de setembro de 2016.

ABRAMOVITC, G.; PARRA, A. C.; FERNANDES, W. R. Variação de níveis séricos de ferro, da capacidade total de ligação do ferro e da saturação da transferrina em equinos de corrida, antes e após exercício físico. **Revist. Brasileira de Medicina Veterinária.**, v. 36, n. 3, p.289-293, 2014

AFFONSO A. & CORREA S. **Cavalo Crioulo: Uma História de Raça**. Porto Alegre: Sagra, 1992. 210 p.

AGARWAL, A.; GUPTA, S.; SHARMA, R. K. Role of oxidative stress in female reproduction. **Reproductive biology and endocrinology**, v. 3, n. 1, p. 28, 2005.

ANDREAZZI, M. A.; CAVALIERI, F. B.; EMANUELLI, I. P. et al. AVALIAÇÃO DA BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EM ÉGUAS GESTANTES. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 2, 2015.

AOKI, T.; ISHII, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (heavy draft horse). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 3, p. 170-176, 2012.

ARIKAN, S.; KONUKUGLU, D.; ARIKAN, Ç. et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in maternal and cord blood. **Gynecologic and obstetric investigation**, v. 51, n. 3, p. 145-149, 2001.

ARORA, B.; PUNIA, R. S.; LAL, P. et al. The effect of pregnancy on erythrocyte osmotic fragility. **Journal of Nepal Medical Association**, v. 32, n. 112, p. 227-230, 2003

AZAB, M. E.; ABDEL-MAKSoud, H. A. Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. **Small Ruminant Research**, v. 34, n. 1, p. 77-85, 1999.

BALAL, M.; CANACANKATAN, N.; PAYDAS, S. et al. Oxidative – Antioxidative System in Peripartum Acute Renal Failure and Preeclampsia-Eclampsia. **Renal failure**, v. 26, n. 6, p. 625-632, 2004.

BAZZANO, M.; GIANNETTO, C.; FAZZIO, F. et al. Hemostatic profile during late pregnancy and early postpartum period in mares. **Theriogenology**, v. 81, n. 4, p. 639-643, 2014

BEHNE, D.; WOLTERS, W. Selenium content and glutathione peroxidase activity in the plasma and erythrocytes of non-pregnant and pregnant women. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 17, n. 3, p. 133-136, 1979.

BLANCHARD, T.V.; VARNER, D.D. Uterine involution and Postpartum Breeding. In: MCKINNON, A.O., VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 622-625, 1993.

BONELLI, F. ROTA, A.; CORAZZA, M. et al. Hematological and biochemical findings in pregnant, postfoaling, and lactating jennies. **Theriogenology**, v. 85, n. 7, p. 1233-1238, 2016.

CABRERA, L.; FERNANDES, L. C.; MORAES, C. M. Composição de leite de éguas de PSI e desenvolvimento ponderal de suas crias. **Hora vet**, v. 10, n. 55, p. 24-9, 1990.

CAMPELO, J. A. C. S. **Perfil bioquímico sérico de éguas gestantes e não gestantes das raças brasileiro de hipismo e bretão**. Tese. 2008. Faculdade de Ciências Agrárias de Jaboticabal, 75f, 2008.

CARONE, D.; LOVERRO, G.; GRECO, P. et al. Lipid peroxidation products and antioxidant enzymes in red blood cells during normal and diabetic pregnancy. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 51, n. 2, p. 103-109, 1993.

CASANUEVA, E.; VITERI, F. E. Iron and oxidative stress in pregnancy. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1700S-1708S, 2003.

CASTILLO, C. BENEDITO, J.L.; LÓPEZ-ALONSO, M. et al. Importancia del estrés oxidativo en ganado vacuno: en relación con el estado fisiológico (preñez y parto) y la nutrición. **Archivos de medicina veterinaria**, v. 33, n. 1, p. 5-20, 2001.

CASTILLO, C. HERNANDEZ, J. BRAVO, A. et al. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 169, n. 2, p. 286-292, 2005.

CASTILLO, C.; HERNANDEZ, J.; LÓPEZ-ALONSO, M. et al. Values of plasma lipid hydroperoxides and total antioxidant status in healthy dairy cows: preliminary observations. **Archiv fur Tierzucht**, v. 46, n. 3, p. 227-234, 2003.

CERQUEIRA, F. M.; DE MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441, 2007.

CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N. H. Acute phase response in animals: a review. **Comparative medicine**, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009

CUNNINGHAM F.G.; MACDONALD P.C.; GANT N. F.; LEVENO, K.J.; GILSTRAP L.C. Maternal Adaptations to Pregnancy. In: **Williams Obstetrics**, USA: Appleton & Lange. 19 ed. 1993.

DIAS, D. C. R.; ROCHA, J. S.; GUSMÃO, A. L. et al. Efeito da suplementação com vitamina E e selênio sobre o quadro hematológico, enzimas marcadoras de lesão muscular e índice de peroxidação de biomoléculas em equinos submetidos à atividade de salto. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 790-801, 2009.

DIMRI, U.; RANJAN, R.; SHARMA, M. C. et al. Effect of vitamin E and selenium supplementation on oxidative stress indices and cortisol level in blood in water buffaloes during pregnancy and early postpartum period. **Tropical animal health and production**, v. 42, n. 3, p. 405-410, 2010.

DOREAU, M.; BOULOT, S.; BARLET, J.P. et al. Yield and composition of milk from lactating mares: effect of lactation stage and individual differences. **Journal of Dairy Research**, v. 57, n. 04, p. 449-454, 1990.

ERISIR, M.; BENER, F.; KANDEMIR, F. M. Changes in the rate of lipid peroxidation in plasma and selected blood antioxidants before and during pregnancy in ewes. **Acta Veterinaria Brno**, v. 78, n. 2, p. 237-242, 2009.

ESTERBAUER, H.; SCHAUER, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free radical Biology and medicine**, v. 11, n. 1, p. 81-128, 1991.

ESTEVES, V. S.; LASTA, C. S.; LACERDA, L. A. et al. Diferenças na fragilidade osmótica de eritrócitos caninos utilizando tubos de coleta contendo fluoreto de sódio/EDTA (NAF/EDTANA2) e somente EDTA (EDTA K2). **Revista da FZVA**, v. 14, n. 2, 2007.

EVANS, P.; HALLIWELL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. **British Journal of Nutrition**, v. 85, n. S2, p. S67-S74, 2001.

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 glutatona reduzida (GSH) eritrocitária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. São Paulo, v.32, p.677-680. 2012.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FONTEQUE, J. H.; TAKAHIRA, R. K.; SAITO, M. R. et al. Eritrograma, metabolismo do ferro e concentração sérica de eritropoetina em fêmeas caprinas da raça Saanen nos períodos de gestação, parto e pós-parto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Colégio Brasileiro de Patologia Animal - CBPA, v. 30, n. 11, p. 991-995, 2010.

FRANCISCATO, C.; LOPES, S. T.; VEIGA, A. P. M. et al. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT em cavalos Crioulos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 10, p. 1561-1565, 2006.

GENTRY, P. A.; FELDMAN, B. F.; O'NEILL, S. L. et al. Evaluation of the haemostatic profile in the Dre-and post parturient mare, with particular focus on the perinatal period. **Equine veterinary journal**, v. 24, n. 1, p. 33-36, 1992.

GIBBS, P.; G.POTTER, G. D.; BLAKE, R. W. et al. Milk production of quarter horse mares during 150 days of lactation. **Journal of animal science**, v. 54, n. 3, p. 496-499, 1982.

GONZÁLEZ, F. HD; SCHEFFER, J. FS. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, FH D et al. **Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina)**. Arquivos do 29º Congresso Nacional de Medicina Veterinária, Gramado, RS. 2002. p. 5-17.

GORECKA, R. KLECZKOWSKI, M.; KLUCINSKI, W.; et al. Changes in antioxidant components in blood of mares during pregnancy and after foaling. **BULLETIN-VETERINARY INSTITUTE IN PULAWY**, v. 46, n. 2, p. 301-306, 2002.

GRAVENA, K; SAMPAIO, R.C.L.; MARTINS, C.B. et al. Parâmetros hematológicos de jumentas gestantes em diferentes períodos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.6, p.1514-1516, 2010.

HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7^a.ed. São Paulo: Manole, 2004.

HALLBERG L. **Iron Balance in Pregnancy and Lactation.** In: Nutritional Anemias, Nestlé Nutrition Workshop Series. Vol. 30. Editors: Samuel J. Forman & Stanley Zlotkin. 1992. New York: Raven Press.

HARVEY, J. W. ASQUITH, R. L.; PATE, M. G. et al. Haematological findings in pregnant, postparturient and nursing mares. **Comparative Haematology International**, v. 4, n. 1, p. 25-29, 1994.

HOKAMA, N.K.; MATSUBARA, L.S.; MACHADO, P.E.A. Fisiologia eritrocitária e hemólise. **Jornal Brasileiro de Medicina**, Rio de Janeiro, v.72, p.19-32, 1997.

IRIADAM, M. Variation in certain hematological and biochemical parameters during the peri-partum period in Kilis does. **Small Ruminant Research**, v. 73, n. 1, p. 54-57, 2007.

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

KADAH, A. Y.; AZAB, M. E.; RANDA, S. et al. Effect of age, pregnancy and lactation on erythrocyte osmotic fragility and membrane phospholipids of holstein friesian cows. **Benha Veterinary Medical Journal**, v. 27, n. 27, p104-115, 2014

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. Academic press, 2008.

KIRSCHVINK, N.; DE MOFFARTS, B.; LEKEUX, P. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. **The Veterinary Journal**, v. 177, n. 2, p. 178-191, 2008.

KRIEGER, T. R.; LOCH-CARUSO, R. Antioxidants Prevent γ -Hexachlorocyclohexane-Induced Inhibition of Rat Myometrial Gap Junctions and Contractions 1. **Biology of reproduction**, v. 64, n. 2, p. 537-547, 2001.

LANE, E. A., BIJNEN, M. L. J., OSBORNE, M. et al. Key Factors Affecting Reproductive Success of Thoroughbred Mares and Stallions on a Commercial Stud Farm. **Reproduction in Domestic Animals**, 2016.

LOUX, S. C.; SCOGGIN, K. E.; TROEDSSON,M. H.T. et al. Characterization of the cervical mucus plug in mares. **Reproduction**, v. 153, n. 2, p. 197-210, 2016.

MAGID, M. S.; PERLIN, M.; GOTTFRIED, E. L. Increased erythrocyte osmotic fragility in pregnancy. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 144, n. 8, p. 910-914, 1982.

MALTA, M. B.; CARVALHAES, M. A. B. L.; PARADA, C. M. G. L. et al. Utilização das recomendações de nutrientes para estimar prevalência de consumo insuficiente das vitaminas C e E em gestantes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, n. 4, p. 573-583, 2008.

MARIELLA, J.; PIRRONE, A.; GENTILINI, F. et al. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. **Theriogenology**, v. 81, n. 4, p. 526-534, 2014.

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

MEISTER, A. M. E. A.; ANDERSON, M. E. Glutathione. **Annual review of biochemistry**, v. 52, n. 1, p. 711-760, 1983.

MEUTEN, D. J.; KOCIBA, G.; THELFALL, W. R. et al. Serum alkaline phosphatase in pregnant mares. **Veterinary clinical pathology**, v. 9, n. 1, p. 27-30, 1980.

MILLER, J. K.; BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E.; MADSEN, F. C. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. **Journal of dairy science**, v. 76, n. 9, p. 2812-2823, 1993.

MÖLLER, G. Desempenho reprodutivo da égua Crioula, 2007. **Dissertação** (mestrado em Ciências veterinárias na área de Reprodução Animal). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007. 47f.

MONTEIRO, M. C. R. **A hidratação intravenosa com solução salina a 0,45% provoca hemólise intravascular em pacientes graves?** 2011. Tese (Programa de pós-graduação em Patologia Clínica). Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Uberaba, 2011. 68f.

NAKAI, A.; OYA, A.; KOBE, H. et al. Changes in maternal lipid peroxidation levels and antioxidant enzymatic activities before and after delivery. **Journal of Nippon Medical School**, v. 67, n. 6, p. 434-439, 2000.

NAZIROĞLU, M.; ŞİMSEK, M.; KUTLU, M.. Moderate exercise with a dietary vitamin C and E combination protects against streptozotocin-induced oxidative damage to the blood and improves fetal outcomes in pregnant rats. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 42, n. 5, p. 511-517, 2004.

OFTEDAL, O. T.; HINTZ, H. F.; SCHRYVER, H. F. Lactation in the horse: milk composition and intake by foals. **Journal of Nutrition**, v. 113, p. 2196-2206, 1983.

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**, 26(4): 636 - 640. 1947.

PASA, C. Relação reprodução animal e os minerais. **Biodiversidade**, v. 9, n. 1, 2011.

PENTEADO, C. et al. Perfil de alguns constituintes bioquímicos do sangue de éguas gestantes da raça árabe. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 5, n. 2, p. 83-88, 1999.

RADIN, M. J. **Interpretação de perfis bioquímicos**. In: FENNER, W. R. Consulta rápida em clínica veterinária. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap.13, p.120-128, 2003.

REZENDE J. COSLOVSKY S. **Repercussões da gestação sobre o organismo – modificações sistêmicas**. In: Obstetrícia – Jorge de Rezende. 8^a Edição – Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro. 1998. P.135.

ROA, I.; SMOK, C.; PRIETO, R. Placenta: Anatomía e Histología Comparada. **International Journal of Morphology**, v. 30, n. 4, p. 1490-1496, 2012.

ROBERTSON, E. G.; CHEYNE, G. A. Plasma biochemistry in relation to oedema of pregnancy. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 79, n. 9, p. 769-776, 1972.

SANT'ANA, V. A. C.; BIRGEL, E. H.; MOURÃO, G. B. et al. Fragilidade osmótica dos eritrócitos de bovinos das raças Holandesa, Girolando e Gir, criados no Estado de São Paulo. **Ciência rural**, v. 31, n. 4, p. 609-614, 2001.

SANTOS, E. M.; ALMEIDA, F. Q.; VIEIRA, A. A. et al. Lactação em éguas da raça Mangalarga Marchador: produção e composição do leite e ganho de peso dos potros lactentes. **Revista Brasileira de Zootecnologia**, v. 34, n. 2, p. 627-634, 2005.

Saddi R, Shapira G. **Iron requirements during growth**. In: Hallberg L, Harwerth HG, Vanotti A. Iron deficiency. London: Academic; 1970. p.183–98.

SCHALM, O. W.; SMITH, R; KANEKO, J. J. **Plasma protein: fibrinogen ratios in dogs, cattle and horses**. Part 1. Influence of age on normal values and explanation of use in disease. California Veterinarian, v. 24, p. 9-11, 1970.

SHILINA, N. M. KONOVALOVA, L. S.; KOTEROV, A. N.; et al. Dynamics of malonic dialdehyde, transferrin and serum blood antioxidant activity in pregnant women with normal pregnancy and preeclampsia: influence of eiconol. **Voprosy meditsinskoi khimii**, v. 45, n. 5, p. 398-406, 1999.

SORDILLO, L. M.;AITKEN, S. L. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 128, n. 1, p. 104-109, 2009.

SOUZA, A. I.; BATISTA FILHO, M.; FERREIRA, L. O. C. Alterações hematológicas e gravidez. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 24, n. 1, p. 29-36, 2002.

SUHAIL, M.; PATIL, S.; KHAN, S. et al. Antioxidant vitamins and lipoperoxidation in non-pregnant, pregnant, and gestational diabetic women: erythrocytes osmotic fragility profiles. **Journal of clinical medicine research**, v. 2, n. 6, p. 266-273, 2010.

SUN, L.; SHEN, W.; LIU, Z. et al. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. **Life sciences**, v. 86, n. 1, p. 39-44, 2010.

UNANIAN, M. M.; SILVA, A. E. D. F.; MANZANO, A. Estudo de parâmetros bioquímicos de éguas gestantes, Puro Sangue Árabe. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 42, n. 1, p. 0-10, 1999.

VEIGA, A. P. M.; LOPES, S. T. A.; FRANCISCATO, C. et al. Valores hematológicos, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio do cavalo crioulo – suas variações em relação ao sexo, idade e manejo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n.3. p. 275-279, 2006

YONEZAWA, L. A.; BARBOSA, T. S.; WATANABE, M. J. et al. Efeito da suplementação com vitamina E sobre os metabolismos oxidativo e cardíaco em equinos submetidos a exercício de alta intensidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n.1 p. 71-79, 2015.

WELLE, M. M.; AUDIGE, L.; BELZ, J.-P. The equine endometrial mast cell during the puerperal period: evaluation of mast cell numbers and types in comparison to other inflammatory changes. **Veterinary pathology**, v. 34, n. 1, p. 23-30, 1997.

WINTER, G. H. Z. **Características reprodutivas sazonais da égua Crioula em uma propriedade à latitude 29°38'S no Rio Grande do Sul**. 2007. 46f. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal de Santa.