

ROZYANNE ROSA ANTUNES

**MARCADOR DE ESTRESSE OXIDATIVO,
ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM
EQUINOS DA RAÇA CRIOLA SUBMETIDOS A
EXERCÍCIO DE CAVALGADA**

Dissertação apresentada ao
Curso de Pós-Graduação em
Ciência Animal, da
Universidade do Estado de
Santa Catarina, como requisito
parcial para obtenção do título
de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof. Dra. Mere
Erika Saito

**LAGES/SC
Fev - 2015**

A636m Antunes, Rozyanne Rosa
Marcador de estresse oxidativo, alterações hematológicas e bioquímicas em equinos da raça crioula submetidos a exercício de cavalgada / Rozyanne Rosa Antunes - Lages, 2015.

68 p.: il.; 21 cm

Orientadora: Mere Erika Saito
Bibliografia: p. 53-68
Dissertação (mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2015.

1. Cavalo. 2. Estresse oxidativo. 3. Antioxidante. 4. Eritrócitos. 5. Radicais livres. I. Antunes, Rozyanne Rosa. II. Saito, Mere Erika. III. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título

CDD: 636.1 - 20.ed.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Setorial
do CAV/ UDESC

ROZYANNE ROSA ANTUNES

**MARCADOR DE ESTRESSE OXIDATIVO,
ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM
EQUINOS DA RAÇA CRIOLA SUBMETIDOS A
EXERCÍCIO DE CAVALGADA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Área de Concentração em Saúde Animal, do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV-UDESC), como requisito para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Banca Examinadora:

ORIENTADORA: _____

**PROFESSORA DRA. MERE ERIKA SAITO
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA-
UDESC-CAV**

MEMBRO: _____

**PROFESSORA DRA. LETÍCIA ANDREZA YONEZAWA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA-
UDESC-CAV**

MEMBRO: _____

**DRA. CRISTINA PERITO CARDOSO
CIDASC- CORREIA PINTO**

SUPLENTE: _____

**PROFESSOR DR. CLAÚDIO ROBERTO MATTOSO
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA-
UDESC-CAV**

LAGES, SC 25 DE FEVEREIRO DE 2015.

À minha mãe amada Rosemari Beckert Rosa (*in memorian*).
“Aqui, repartimos a dor em silêncio, porque a alma, quando está ferida, substitui as palavras pelo idioma do coração.” Eron Vaz Mattos

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter permitido forças para cruzar essa jornada e agradeço ainda pelos anjos que me colocaram no caminho para que as pedras e espinhos não fossem impedimento.

À minha família, pelo apoio e força de sempre. À minha mãe Rose pelo exemplo de luta e força, as lembranças de suas palavras sempre foram força para seguir. Ao meu pai Hallei pelo incondicional apoio, principalmente nessa etapa da minha vida. À minha avó Lica por ser o cerne da família e um exemplo de simplicidade e coragem. À minha irmã Lizyane, pelo amor e união. Ao meu cunhado Fábio pelo companheirismo e amizade. Ao meu sobrinho Felipe por dividir comigo a paixão pelos cavalos. Em especial ao meu irmão Gabriel, pelo apoio, parceria e auxílio, pois, sem você eu não conseguira realizar esse trabalho, sempre me ajudou quando tive medo e impossibilidades. À minha família, agradeço por tudo, graças a vocês realizei esse trabalho.

À minha orientadora Prof. Dra. Mere Erika Saito, agradeço os conselhos profissionais e aos ensinamentos, principalmente a compreensão e apoio, dedico a tí muita admiração e respeito.

À Prof. Dra. Letícia Andreza Yonezawa pelos ensinamentos, paciência e risadas. Muito obrigada pela orientação durante a Disciplina de Docência Orientada, sempre sigo seus conselhos. Ao Prof. Dr. Claudio Roberto Mattos agradeço pelos ensinamentos, conselhos e broncas, aprendi muito com nossas conversas. Muito obrigada!

Aos colegas do laboratório de Patologia Clínica pelo apoio na execução do trabalho e pelas horas do lanche. Agradeço à doutoranda Julieta Volpato, pelo apoio, às mestrandas Mirelly Coelho e Nádia pelo companheirismo. Ao mestrandos Ádson pelas conversas jogadas fora. Em especial a mestrandanda Júlia, pela força, coragem e amizade, pois algumas pessoas você só precisa conhecer para criar laços e chamá-los de amigos.

Agradeço aos estagiários e bolsistas do laboratório, Cristine, Renata, Josiane, Larissa, Aline, Daniel, Ned, Mayara, Mariah, Laís, Claudia e Anderson que auxiliaram muito durante todo o período de mestrado, vocês foram fundamentais, por serem peças chave para o funcionamento do laboratório. Em

especial a Dienifer, pois sem seu auxilio não seria possível à realização do projeto. Ao aluno, estagiário e amigo Ricardo, que sem pestanejar engajou-se nessa jornada, muito obrigada.

Aos bolsitas e amigos Michael, Max, Isabela e Maysa pelo apoio no laboratório, pela incondicional amizade e pelo tempo que passamos juntos, vocês são responsáveis por lembranças inesquecíveis.

As minhas amigas Marília e Madalena pelo carinho, amor, atenção, desabafo nas horas duras e pelas alegrias vividas, minhas irmãs de coração. Principalmente agradeço à você Madalena pela paciência e carinho ao auxiliar nesse trabalho. Muito obrigada por tudo! Ao amigo Alexsandro pelo apoio e carinho nos momentos difíceis e alegres.

À minha família formada durante a faculdade, Luana, Mariana, Deisy, Christiane, Ana Paula e Rosane, o Sincício, que mesmo a distância me apoiavam e em todos os momentos.

Às amigas do curso de mestrado em Ciência Animal – CAV/UDESC, Michelle, Juliana, Renata Arruda, Renata Casali e Andressa obrigada pela amizade, apoio e alegrias.

Ao grupo de cavaleiros, Recanto dos Tropeiros pela disponibilização de seus animais e por acreditar na importância da minha pesquisa, e à Beatriz, do Programa Ó de Casa, pela pronta disponibilidade e auxílio. Obrigado pelo apoio!

“São esses cavalos que a vida nos leva, heróis esquecidos nessa evolução, parceiros de campo que o tempo maleva reponta, em silêncio, além do rincão!”

Rodrigo Bauer e Joca Martins

RESUMO

ANTUNES, Rozyanne Rosa. **MARCADOR DE ESTRESSE OXIDATIVO, ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM EQUINOS DA RAÇA CRIOLA SUBMETIDOS A EXERCÍCIO DE CAVALGADA.** 2015. 68 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal - Universidade do Estado de Santa Catarina). Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Lages, 2015.

A criação de equinos da raça Crioula tem diversos apreciadores por todo o país, principalmente na região Sul do Brasil. Uma das atividades exercidas com esses animais são as cavalgadas, que consistem em passeios tanto no meio rural quanto urbano. O estresse oxidativo, resultante do desequilíbrio dos agentes pró-oxidantes e antioxidades, levam a alterações que ocasionam a diminuição do desempenho dos animais. As lesões musculares ocasionadas pelo exercício também contribuem para a queda do desempenho dos equinos. O presente trabalho teve como objetivo verificar as possíveis alterações hematológicas, bioquímicas e do antioxidante glutatona reduzida (GSH) após o exercício de cavalgada em equinos da raça Crioula. Para tanto, foram analisados 15 equinos Crioulos durante o exercício de cavalgada em Lages - Santa Catarina, município localizado na Serra Catarinense (altitude 930 metros), durante o período de inverno. O dia do evento era um dia típico de inverno, com temperatura baixa e chuvoso. O percurso correspondeu a 27 km, do qual o terreno consistia predominantemente em asfalto, com pequenas variações de declives, sendo, em sua maioria, reto e plano. Os animais seguiram ao passo totalizando o tempo de três horas e meia, com velocidade média de 7,15 km/h. Foram realizadas as colheitas sanguíneas em três momentos: o momento basal, ainda quando os animais se encontravam na propriedade; o momento início, antes do início da cavalgada; e momento chegada, imediatamente após o final da cavalgada. Em todos os momentos foi realizado exame físico dos animais, que incluiu verificação da frequência cardíaca, frequência respiratória, auscultação cardíaca, auscultação cecal, pulso, avaliação da coloração de mucosas,

palpação de linfonodos e tempo de preenchimento capilar. Para avaliação hematológica foi processado o hemograma completo e na análise bioquímica foram avaliados os valores de aspartato aminotransferase (AST), ureia, creatinina, lactato e glicose. Para análise do estresse oxidativo foi mensurado o valor do antioxidante glutatona reduzida eritrocitária (GSH). Não foram encontradas diferenças para os resultados obtidos entre os momentos verificados para os valores hematológicos e para os valores de AST, lactato, ureia e GSH. Houve diferença nos valores de creatinina, glicose, fibrinogênio e leucócitos totais, porém estes valores não ultrapassaram os valores de referência para a espécie. Concluiu-se que o exercício de cavalgada não altera os valores hematológicos, bioquímicos e do antioxidante glutatona nas condições em que o estudo foi realizado em equinos da raça Crioula.

Palavras-chave: Cavalo. Estresse oxidativo. Antioxidante. Eritrócitos. Radicais livres.

ABSTRACT

ANTUNES, Rozyanne Rosa. **MARKER OF OXIDATIVE STRESS , CHANGES hematological and biochemical IN HORSES OF CREOLE RACE HORSE RIDING SUBJECT TO EXERCISE .** 2015. 68 p. Dissertation (Master in Animal Science -. State University of Santa Catarina). Postgraduate Animal Science Program, Lages, 2015.

The Criollo horse is a highly appreciated breed across Brazil and is particularly popular in the southern region, where it is typically used in cavalcades (a traditional horseback ride through urban and rural areas). During this activity, the occurrence of oxidative stress and muscle damage can affect the animals' performance. The present study aimed to register and evaluate the physical, biochemical, hematological and antioxidant level alterations resulting from the cavalcade exercise in this specific breed. Thus, physical examinations and blood sample collections from 15 Criollo horses were carried out in Lages, located in highlands of Santa Catarina state, during the winter period, in 3 different moments: 1 day before the event (baseline), immediately before the event's start (pre-exercise) and soon after the event was over (post-exercise). The animals walked for 3h30min, corresponding to a circuit of 27 km of asphalt with minimal incline variations. The performed physical examinations included assessing heart rate, respiratory rate, cecal and cardiac auscultation, pulse, mucus membrane coloration, lymphnode palpation and capillary refill time. On the other hand, the evaluated hematologic parameters were: total RBC count, Hb concentration, hematocrit, total WBC count and differential WBC count. Total protein and fibrinogen concentrations were also determined to estimate dehydration levels. Finally, the following biochemical metabolites were analyzed: aspartate transaminase (AST), urea, creatinine, lactate and glucose; and oxidative stress was inferred through the quantification of reduced glutathione (GSH). No difference was observed between moments for AST, lactate, urea or GSH. However, despite finding statistical difference between moments for creatinine, glucose, fibrinogen and total WBC count, the values were still within

the reference level, suggesting no clinical significance to the alterations. Therefore, this study concludes that the cavalcade exercise does not significantly alter hematological, biochemical and antioxidant parameters of Criollo horses under the established conditions.

Key-words: Horse. Oxidative stress. Antioxidant Enzymes. Erythrocyte. Free Radicals.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal (média ± desvio padrão) obtidos de equinos da raça Crioula submetidos à cavalgada.....	44
Tabela 2 – Valores de eritrograma (média ± desvio padrão) obtidos de equinos da raça Crioula submetidos à cavalgada	45
Tabela 3 – Dados de leucograma (média ± desvio padrão) obtidos de equinos da raça Crioula submetidos à cavalgada.	46
Tabela 4 – Dados de proteína plasmática total e fibrinogênio (média ± desvio padrão) obtidos de equinos da raça Crioula submetidos à cavalgada	47
Tabela 5 – Valores séricos de atividade de aspartato amino transferase (AST), lactato, ureia, creatinina e glicose (média ± desvio padrão) de equinos submetidos a exercícios de cavalgada..	48
Tabela 6 – Valores de glutationa eritrocitária reduzida (GSH) (média ± desvio padrão) obtidos de equinos da raça Crioula submetidos à cavalgada	51

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise da variância
ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
AST	Aspartato aminotransferase
°C	Grau Celsius
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CHCM	Concentração de hemoglobina corporcular média
cm	Centímetro
dL	Decilitro
ERO	Espécie reativa de oxigênio
fL	Fentolitro
g	Gram
GPX	Glutationa peroxidase
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
Hb	Hemoglobina
kg	Quilograma
km	Quilômetro
mg	Miligrama
mm	Milímetro
mL	Mililitro
O2	Oxigênio molecular
pg	Picograma
PPT	Proteínas plasmáticas totais
PV	Peso vivo
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UI	Unidade internacional
UI/L	Unidade internacional por litro
VG	Volume globular
VGM	Volume globular médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	29
2 OBJETIVO	31
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	32
3.1 ESTRESSE OXIDATIVO.....	32
3.2 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA	33
3.3 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	35
3.3.1 Aspartato Aminotransferase (AST).....	35
3.3.2 Lactato.....	36
3.3.4 Ureia	37
3.3.5 Creatinina.....	38
3.3.6 Glicose	38
4 MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1 COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL	40
4.2 ANIMAIS	40
4.3 CAVALEIROS	41
4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	41
4.5 AMOSTRAS	42
4.5 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....	42
4.5.1 Hemograma	42
4.5.2 Fibrinogênio e Proteína Plasmática Total.....	42
4.5.3 Bioquímica Sanguínea.....	42
4.5.4 Glutationa Reduzida	43
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44

5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA	44
5.2 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA.....	45
5.2.1 Eritrograma.....	45
5.2.2 Leucograma.....	46
5.3 PROTEÍNA PLASMÁTICA TOTAL E FIBRINOGÊNIO.....	47
5.4 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	48
5.4.1 Aspartato Aminotransferase (AST)	48
5.4.2 Lactato.....	49
5.4.4 Ureia	49
5.4.5 Creatinina.....	50
5.4.6 Glicose	50
5.4.7 Glutationa Reduzida (GSH)	51
5 CONCLUSÃO.....	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1 INTRODUÇÃO

O mercado de cavalos no Brasil movimentou R\$ 7,3 bilhões no ano de 2011. O país detém o terceiro maior rebanho equino do mundo, com cerca de 5,9 milhões de cabeças. A equinocultura catarinense conta com um rebanho de aproximadamente 103 mil cabeças, sendo um mercado cada vez mais aquecido (CRMV-SC, 2012).

O estudo da medicina esportiva equina é importante, principalmente aqueles que visam à fisiologia do exercício e processos metabólicos que ocorrem nos animais durante o exercício. Os treinamentos são intensos e muitas vezes incorretos levando os equinos ao estresse e exaustão, que por vezes faz seu desempenho declinar e podem levar ao desenvolvimento de lesões, normalmente acometendo os sistemas cardiorrespiratório e locomotor (EVANS, 2000; DIAS et al., 2009).

O cavalo Crioulo sofreu seleção natural na região Sul do Brasil, tornando-se um animal adaptável às características de clima e relevo local. Essa raça apresenta muitos apreciadores, sendo utilizados nas mais diversas atividades, como por exemplo, provas de tiro de laço, provas de paletiadas, trabalhos a campo com o gado, entre outras (AMARAL et al., 2012).

Uma das atividades exercidas pelos criadores de Cavalos Crioulos é as cavalgadas. As cavalgadas consistem em passeios realizados por grupos de amigos podendo reunir grande número de pessoas e podem ser realizadas tanto no meio rural como no meio urbano (VEIGA et al., 2006).

Como as cavalgadas podem ser realizadas nos mais diversos terrenos e climas, buscar a classificação desse tipo de exercício se torna fundamental para a verificação do desgaste do organismo dos animais durante o percurso ao qual são submetidos (VEIGA et al., 2006). De acordo com Ribeiro et al. (2004), cavalgadas são provas de resistência que submetem os animais a exercícios de baixa intensidade e longa duração, assim o tipo de exercício aeróbico é predominante como via metabólica para obtenção de energia (ARAÚJO, 2013).

O exercício pode ser classificado por meio da participação ou não de oxigênio para a obtenção de energia. Deste modo, exercícios aeróbicos são aqueles em que a geração de energia ocorre com a participação de oxigênio. Já exercícios anaeróbicos são os que a obtenção de energia acontece sem a participação de oxigênio (ARAÚJO, 2013).

Durante o metabolismo celular aeróbico, o oxigênio sofre redução resultando na formação de água e formação de espécies reativas de oxigênio (ERO). A redução completa do oxigênio ocorre na mitocôndria onde há neutralização das ERO pelo sistema antioxidante celular, como a glutationa (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Ao executar um exercício físico, este pode promover estresse oxidativo no organismo induzido pelo desequilíbrio entre ERO e a capacidade antioxidante celular levando a danos nas membranas celulares e resultando em lesões teciduais (WILLIAMS; CARLUCCI, 2006).

A alteração hematológica auxilia na avaliação dos efeitos das ERO sobre o organismo do animal após o exercício. Quando a produção de ERO supera a ressíntese da glutationa podem ser percebidas diversas alterações eritrocitárias ocasionadas pela oxidação da hemoglobina, após lesão intracelular. Ocorre a oxidação da hemoglobina à meta-hemoglobina, que precipita e forma os corpúsculos de Heinz (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

O exercício promove também a contração esplênica aumentando a quantidade de eritrócitos e leucócitos circulantes. Além da contração esplênica, o número de leucócitos aumenta devido à migração do compartimento marginal para o circulante, com leucocitose sem desvio à esquerda, uma vez que a neutrofilia é ocasionada por populações de células maduras (THRALL et al., 2007).

Em relação às enzimas sarcoplasmáticas encontradas na circulação logo após o exercício, o aumento destas pode refletir uma lesão muscular. A lesão do músculo esquelético provocada pelo exercício físico pode variar desde uma lesão ultraestrutural de fibras musculares até traumas envolvendo a completa ruptura do músculo. Neste caso a avaliação da atividade enzimática muscular auxilia nos diagnósticos de lesão muscular (TEIXEIRA NETO, 2006).

Os animais utilizados em cavalgadas geralmente não são treinados para esse tipo de exercício, uma vez que são utilizados nas mais variadas atividades, o que induz respostas bioquímicas e hematológicas diferentes. Ao conhecer o comportamento destas é possível criar estratégias para diminuição dos efeitos da cavalgada sobre os animais. Estudos sobre os efeitos do exercício de cavalgada ainda são escassos.

2 OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o comportamento hematológico, bioquímico e do antioxidante glutationa reduzida (GSH) em equinos da raça Crioula submetidos a exercício de cavalgada realizado no período de inverno da serra catarinense.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ESTRESSE OXIDATIVO

O termo estresse oxidativo é utilizado em circunstâncias nas quais a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) resulta em dano tecidual ou em compostos tóxicos danosos aos tecidos. Considera-se que um organismo está sob estresse oxidativo quando ocorre um desequilíbrio entre os mecanismos pró-oxidantes e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes (SCHNEIDER et al., 2004).

O desequilíbrio entre a formação e a remoção das ERO, decorrente da diminuição dos antioxidantes endógenos ou do aumento da geração de espécies oxidantes, gera um estado pró-oxidante. Este processo favorece a ocorrência de ataques das ERO a componentes celulares, especialmente lipídeos, levando a dano tecidual (GROTTO et al., 2008). Segundo Dias et al. (2009) dentre as enfermidades de cavalos atletas relacionadas ao estresse oxidativo se destacam a obstrução recorrente das vias aéreas, hemorragia pulmonar induzida pelo exercício, laminitic, doença do neurônio motor, artrites, enfermidades reprodutivas e miopatias.

Estudos sobre estresse oxidativo realizados com animais experimentais e seres humanos comprovaram que o aumento na atividade metabólica favorece a ocorrência de lesões oxidativas em biomoléculas (SOUZA JUNIOR et al., 2005). A lesão do músculo esquelético provocada pelo exercício físico pode variar desde uma lesão ultraestrutural de fibras musculares até traumas envolvendo a ruptura completa do músculo (TEIXEIRA NETO, 2006).

O exercício é um potente estímulo para a produção de ERO. Evidências sugerem que esta produção pode contribuir para distúrbios induzidos pelo exercício na homeostase muscular, ocasionando fadiga e lesões musculares. O estresse oxidativo induzido pelo exercício colabora para a intolerância ao esforço e mau desempenho dos animais (TEIXEIRA NETO, 2006).

A célula possui um sistema de defesa que atua como detoxificadora da ERO antes que esta cause lesão. Esse sistema é constituído por glutatona reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutatona-peroxidase (GSH-Px) e vitamina E (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). A GSH é considerada um antioxidante multifuncional, presente no plasma e principalmente nos

eritrócitos, localizada tanto no citosol quanto na mitocôndria (SUN et al., 2010).

A função dos antioxidantes eritrocitários é formar um sistema de manutenção da integridade e funcionamento dos eritrócitos na circulação sanguínea quando estão expostos aos radicais livres no organismo do animal (MACHADO et al., 2009). Dentre as funções exercidas pela glutationa, a mais importante é a ação como agente antioxidant. Sua forma reduzida possui os grupos de tióis (-SH) das proteínas, responsáveis pela redução de dissulfetos induzidos pelo estresse oxidativo, neutralizando as ERO e detoxificando eletrófilos. A concentração de GSH intracelular funciona como indicador da capacidade da célula em manter sua homeostase, neutralizando os agentes pro-oxidantes (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

O sistema antioxidante não enzimático é encontrado, principalmente, no meio extracelular, sendo assim analisado em plasma e soro (BARREIROS et al., 2006). As ERO que saem dos eritrócitos podem ocasionar danos nas demais estruturas aos quais entram em contato. No entanto, a GSH presente nos eritrócitos é responsável pela homeostase contra o dano oxidativo da própria célula e dos demais componentes celulares (JOHNSON et al., 2005).

3.2 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA

A avaliação do efeito do exercício e do treinamento no organismo do animal pode ser realizada com base nas variáveis hematimétricas como o hematócrito, a contagem de eritrócitos e a concentração de hemoglobina, associando para melhora avaliação o perfil bioquímico muscular (PADALINO et al., 2007). A atividade física gera alterações dos valores hematológicos pelo aumento no número de eritrócitos presentes na circulação. Os equinos possuem estoque esplênico de aproximadamente 33% da massa eritrocitária total. No exercício, ocorre contração do baço, aumentando a concentração eritrocitária circulante (JABLONSKA, 1991).

A elevação do hematócrito também ocorre pela perda de água do compartimento extracelular, ou por trocas transitórias de fluidos entre o compartimento extra e intracelular. Essa perda de líquido acontece pelo suor e respiração, especialmente quando as temperaturas e os teores de umidades estão elevados. Durante o exercício o hematócrito pode aumentar até 40% devido à contração esplênica e redistribuição do volume de fluido circulante (SEEHERMAN et al., 1990).

Ao término do exercício capaz de induzir lesão muscular, percebem-se também alterações nas populações de células inflamatórias circulantes. Inicialmente, neutrófilos, seguidos por monócitos e linfócitos são recrutados para o local de inflamação. Ocorre produção de ERO e enzimas proteolíticas para reparar o tecido lesado, assim como retirar as células mortas. A infiltração de neutrófilos é estimulada por fatores quimiotáticos, incluindo prostaglandinas, fator de necrose tumoral (TNF)- α , interleucina (IL)-1 β e IL-6 (NIEMAN et al., 2003).

O processo de alteração nos valores de leucócitos circulantes está relacionado ao aumento da secreção de hormônios, como o cortisol e a epinefrina. Além disso, ocorre o aumento da densidade dos receptores β 2-adrenérgicos, em que as concentrações de epinefrina cessam rapidamente após o exercício. Já o cortisol que tem secreção tardia, porém se mantém elevado por um maior período de tempo (KRINSKI et al., 2010).

Os efeitos do exercício físico sobre o aumento no número de leucócitos totais contidos na circulação são mediados pelo sistema nervoso simpático, sendo que indivíduos menos treinados apresentam aumento nas concentrações plasmáticas de noradrenalina. O que ocorre é que animais não treinados apresentam uma maior ativação do sistema nervoso simpático aumentando a secreção de catecolaminas, induzindo leucocitose por linfocitose temporária. As catecolaminas aumentam o fluxo sanguíneo durante o exercício, levando a um direcionamento de linfócitos para musculatura esquelética (CAVAGLIERI et al., 2007). Os neutrófilos fagocitam a fibra muscular lesada por meio da ativação do sistema enzimático nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato-oxidase (NADPH) e da liberação de enzimas proteolíticas a partir dos seus grânulos intracelulares (STUPKA et al., 2000; NIEMAN et al., 2003).

O leucograma de equinos atletas em repouso auxilia na avaliação do condicionamento físico, principalmente referente à proporção de neutrófilos/linfócitos. Esta proporção é de 1,5/1 (60% de neutrófilos para 40% de linfócitos), sendo caracterizada como ideal. A relação neutrófilo/linfócito do hemograma de repouso pode ser utilizada como marcador hematológico de excesso de treinamento, uma vez que alterações nas proporções estão ligadas à liberação de cortisol (HODGSON; ROSE, 1994). Korhonen et al. (2000) consideram que em cavalos treinados, esta proporção pode ser um indicador sensível de estresse de curta duração, sendo que uma baixa relação entre os valores dessas células sanguíneas pode ser indicativa de adaptação ao exercício.

3.3 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

3.3.1 Aspartato aminotransferase (AST)

A concentração plasmática de enzimas musculares varia conforme a raça e o tipo de treinamento dos equinos (MUÑOZ et al., 2002). Para detecção e o acompanhamento de lesões musculares, pode-se avaliar a atividade de enzimas musculares contidas no soro ou no plasma. As mudanças nessas enzimas podem ocorrer devido à alteração na permeabilidade da membrana celular, necrose celular, bloqueio ou diminuição na excreção da enzima e aumento ou diminuição da síntese. A maioria das enzimas sarcoplasmáticas pode ser detectada em maiores concentrações no sangue quando ocorre dano muscular (HARRIS; MAYHEW, 1998).

O aumento na atividade das enzimas musculares em resposta ao exercício pode ser utilizado como índice da aptidão atlética dos animais. Aqueles fisicamente com menor condicionamento, ou inaptos atleticamente, apresentam maiores incrementos na atividade dessas enzimas em comparação aos que apresentam melhores condições físicas (GARCIA et al., 1999).

A aspartato aminotransferase (AST) é responsável pela catalisação da transaminação de L-aspartato e alfacetoglutarato em oxalacetato e glutamato. É encontrada em quase todos os tecidos. Entretanto, o músculo e fígado podem ser considerados as maiores fontes, sendo utilizada como marcador de lesão destes (KANEKO et al., 2008; SILVA et al., 2007).

O exercício determina acréscimo na atividade de AST devido ao mecanismo de aumento de permeabilidade do sarcolema em função do exercício, sendo consideradas momentâneas, sem ocorrer, necessariamente, lesões nas fibras musculares (SICILIANO et al., 1997). A permeabilidade da membrana celular dos equinos varia conforme a intensidade do exercício realizado pelos animais. O exercício estimula aumento na atividade da AST podendo ser até 30% maior em cavalos atletas quando comparados aos animais que não fazem exercício regulares (DIAS et al., 2009).

Conforme Hamlin et al. (2002) em animais de enduro há aumento da atividade de AST acima dos valores de referência para a espécie equina, sugerindo estado de sobrecarga de trabalho. Porém, como o aumento foi somente no início da atividade, logo retornando aos valores basais, concluíram que a enzima não é um indicador real de

sobrecarga de exercício de enduro. Garcia et al. (1999) não observaram aumento significativo na atividade enzimática da AST em cavalos da raça Crioulo Chileno submetidos a exercícios de cavalgada.

Em estudos de Silva et al. (2007), observou-se atividade de AST em cavalos atletas, de tração e reprodução, mantidos na região nordeste do Brasil. As diferenças dos resultados de AST encontradas foram atribuídas a adaptações bioquímicas na musculatura, promovidas pelos diferentes graus de condicionamento físico. Os animais atletas apresentaram um valor superior quando comparados com os animais de tração. Nos animais destinados à reprodução, foram verificados os menores valores.

3.3.2 Lactato

A energia celular é gerada na forma de compostos fosfatados de alta energia (ATP). Uma das fontes é a glicólise aeróbica que fornece grande quantidade de energia, sendo uma das vias mais utilizadas em prova de enduro. Já a glicólise anaeróbica, também conhecida como sistema lactato, é uma via de produção de ATP sem utilização de oxigênio, mas que pode ocorrer na presença de oxigênio. Ocorre uma formação rápida de ATP, com produção de lactato (VIERA et al., 2013).

O nível de lactato durante o exercício depende de diversos fatores, sendo a duração e intensidade do exercício as determinantes principais das concentrações de lactato sanguíneo. Dessa forma, os níveis de lactato auxiliam na classificação do tipo de exercício em aeróbico e anaeróbico (VIERA et al., 2013).

Durante o exercício, a concentração sanguínea de lactato é dependente da velocidade em que esse substrato é produzido pelo músculo esquelético e da velocidade com que ele é removido da corrente sanguínea. Um aumento da lactatemia não significa necessariamente que sua produção tenha aumentado, mas sim que sua remoção pode estar diminuída, aumentando dessa forma a concentração circulante (PEIXOTO, 1999). Como efeito do treinamento do cavalo atleta, tem-se o aumento da intensidade do exercício no qual o lactato começa a se acumular (limiar anaeróbico), além da ocorrência de melhora na capacidade respiratória do animal (EATON, 1999).

O lactato é avaliado por meio da determinação de uma curva, na qual é registrada as concentrações sanguíneas com velocidade crescente denominada curva velocidade-lactato. Em velocidades baixas, ocorre predomínio do metabolismo aeróbio e as concentrações de lactato se

mantêm quase que inalteradas. Porém, quando o animal é submetido ao aumento da intensidade do exercício, a energia é suprida principalmente pelo metabolismo anaeróbio com aumento do lactato, caracterizado um desvio crescente da curva denominado limiar anaeróbio (SILVA, 2008). A curva começa a apresentar aumento quando a concentração de lactato está entre 2 mmol/L e 4 mmol/L (HODGSON; ROSE, 1994).

Nos primeiros estudos para a avaliação da condição física e o estabelecimento da carga de trabalho desempenhada pelos equinos durante o treinamento, utilizaram como base a velocidade obtida em testes progressivos. A concentração de lactato alcançava 4,0 mmol/L, sendo o limiar aeróbio-anaeróbio. A essa velocidade se denominou de V4 (SILVA, 2008).

3.3.4 Ureia

A ureia é sintetizada no fígado e liberada no sangue. A depuração renal é o principal meio de excreção, cerca de 75 a 100%. A excreção extrarrenal inclui perdas no suor e pelo trato gastrointestinal. Com a função intestinal normal, a excreção intestinal é mínima devido à reabsorção de amônia a partir da degradação de ureia por ureases bacterianas e reformação de ureia no fígado (SCHOTT, 2000).

O jejum provoca aumento no catabolismo proteico para satisfazer as demandas de energia e aumenta a concentração de ureia em equinos. Com exercícios considerados de baixa intensidade os níveis de ureia não costumam se alterar. No entanto, em exercícios prolongados o índice aumenta em 50% ou mais em decorrência dos efeitos combinados de menor fluxo sanguíneo renal e catabolismo proteico (SNOW et al., 1982).

A ureia pode ter sua concentração plasmática aumentada em resposta à hemoconcentração (ROSE & HODGSON, 1994; MUNDIM et al., 2004). Devido ao exercício ocorre aumento do metabolismo proteico, resultando em valores séricos mais elevados de ureia (MIRANDA et al., 2009; PICCIONE, et al., 2008).

Em equinos submetidos a exercícios pode ocorrer aumento nos níveis plasmáticos de ureia pelo aumento da utilização de fosfocreatina devido ao esforço muscular. Estudo realizado com animais de enduro comprova que o aumento da ureia no plasma do animal ocorre mais pela produção do que pelo efeito da desidratação ou deficiência renal, isso se deve ao catabolismo proteico aumentado durante as provas de enduro (SNOW et al., 1982).

3.3.5 Creatinina

A creatinina plasmática é resultante quase totalmente do catabolismo da creatina presente no tecido muscular como forma de energia, a fosfocreatina. Sua presença na circulação é um fator fisiológico, já que é um catabólito do metabolismo proteico. A excreção da creatinina, assim como a da ureia é por via renal, por esse fator é que os níveis de creatinina e ureia plasmática refletem a taxa de filtração renal (SCHOTT, 2000; ORTOLANI et al., 2002).

Dentre os fatores não renais que podem influenciar a concentração de creatinina, estão inclusos os desgastes musculares produzidos pelo exercício. O aumento transitório de creatinina pode estar relacionado à combinação do aumento da liberação de creatina muscular e redução da excreção urinária da creatinina durante a atividade muscular (SCHOTT, 2000).

3.3.6 Glicose

O efeito do exercício sobre a glicemia é variável. A glicose não fornece muitas informações sobre o metabolismo dos carboidratos durante o exercício, uma vez que representa o balanço da glicose sanguínea e daquela proveniente da glicogenólise hepática. A produção adequada de energia resulta em desempenho adequado dos equinos atletas, considerando a glicose como fonte fundamental de energia para a atividade muscular. Se o exercício for intenso, a energia será gerada por meio da glicólise anaeróbica, resultando em produção de ácido lático (GOMIDE et al., 2006).

Ao testar animais de enduro, Teixeira Neto et al. (2006) notaram aumento significativo da glicemia nos 30 e 50 quilômetros iniciais e decréscimo significativo aos 70 quilômetros de distância, retornando aos valores basais no final das provas de enduro. Durante o período de recuperação, os valores de glicose permaneceram similares aos de pré-provas nas primeiras 24 horas, decrescendo significativamente 48 e 72 horas após.

O aumento na produção de ERO gerado pelo exercício estimula o transporte de glicose no músculo esquelético. As ERO beneficiam o transporte de glicose por via diferente daquela mediada pela contração muscular (HIGAKI et al., 2001). O aumento excessivo na produção de ERO, que leva ao estresse oxidativo das fibras musculares, pode gerar

consequências negativas, tais como a resistência à insulina e *Diabetes mellitus* (HOUSTIS et al. 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, considerado em seus aspectos éticos e metodológicos, para utilização de animais em pesquisa, de acordo com as diretrizes e normas nacionais e internacionais, especialmente a lei 11.794 de 08 de novembro de 2008 que disciplina a criação e utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa no Brasil, sob protocolo nº 01.09.14.

4.2 ANIMAIS:

Os equinos utilizados no experimento eram provenientes de diferentes propriedades do município de Lages- Santa Catarina. O município de Lages apresenta altitude de 930 m, sendo um município localizado na região Serrana.

Foram utilizados 15 equinos, oito fêmeas e sete machos, da raça Crioula, com idade média de $7,6 \pm 3,1$ anos. Os equinos foram pesados durante a seleção, por meio de balança nas dependências das propriedades. O peso médio dos animais foi de $469,2 \pm 52,9$ kg.

Os animais eram submetidos a diferentes tipos de manejo, sendo que alguns eram utilizados apenas em atividades esportivas, tais como cavalgadas e provas de laço, e outros, na sua maioria, eram utilizados também no trabalho a campo, como apartação de gado e tração de arado. Os equinos eram habituados ao contato com equinos diferentes ao manejo diário, pela utilização desses em cavalgadas e provas de laço.

A alimentação dos animais constituía-se em pastagem nativa e fornecimento de milho quebrado. O milho era fornecido fracionado duas vezes ao dia, sendo a primeira oferecida pela manhã e a segunda à noite.

Esses animais se apresentavam clinicamente saudáveis, comprovados por meio de exame físico e de hemograma. O exame físico dos animais incluiu avaliação da temperatura retal, frequência cardíaca e respiratória, auscultação cardíaca, auscultação cecal, pulso da artéria facial, avaliação da coloração de mucosas, palpação de linfonodos e tempo de preenchimento capilar. O manejo sanitário incluiu realização obrigatória do exame de anemia infecciosa equina para transporte e participação na cavalgada.

No dia do evento, os animais foram transportados de caminhão até o local de início do mesmo.

4.3 CAVALEIROS:

Os cavaleiros possuíam peso médio de $83,26 \pm 12,56$ kg. A montaria teve peso médio de $100 \pm 9,06$ kg.

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL:

A execução do projeto ocorreu junto à realização da Segunda Cavalgada do Pinhão, no município de Lages- Santa Catarina.

No dia da cavalgada não foi possível o registro das condições climáticas, porém o dia se caracterizava como um dia típico de inverno da região serrana, em que se registra temperatura média de $7,1^{\circ}\text{C}$ nos meses de junho e julho. Outra característica do inverno lageano é o tempo chuvoso, assim como ocorreu no dia da prova.

O percurso de cavalgada consistiu em um trajeto de 27 km predominantemente recoberto por asfalto, sem variações de declives acentuados. Os animais seguiram predominantemente ao passo, levando tempo aproximado de três horas e meia para a conclusão do mesmo. A velocidade média foi de 7,14 km/h.

Foram coletadas amostras de sangue em três momentos de cada um dos animais, sendo assim caracterizadas: basal, em repouso (dia anterior à cavalgada); início, no ponto de partida antes do início da prova; chegada, ao final da cavalgada ou imediatamente após o término do percurso. Em todos os momentos foram realizados o exame físico dos animais. No momento basal, as colheitas foram realizadas no período da manhã a fim de diminuir a possibilidade de interferência do ciclo circadiano natural dos animais. No dia do evento após a chegada dos animais no local foi realizada a colheita de sangue do momento Inicial que coincidiu com o horário da colheita do Basal. O horário de colheita foi entre às 7:00 h e 9:00 h, quando iniciou a cavalgada. No final do percurso, realizou-se a colheita do momento Chegada, por volta das 12:30 h. Os animais chegaram ao local em momentos diferentes e assim que chegavam era realizada a colheita sanguínea e o exame físico era realizado no tempo de até cinco minutos.

4.5 AMOSTRAS:

As amostras de sangue foram colhidas por punção da jugular, com agulhas de calibre 21G, sendo 10 mL em tubos a vácuo siliconados sem anticoagulante para obtenção de soro, 5 mL em tubos com anticoagulante EDTA para realização do hemograma, 5 mL em tubos com anticoagulante heparina para mensuração de GSH eritrocitário.

Os tubos foram mantidos sob refrigeração em isopor com gelo reciclável para transporte até o Laboratório de Patologia Clínica do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV-UDESC), que fica a uma distância de aproximadamente 3 km do local de coleta.

4.5 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS:

4.5.1 Hemograma

As análises hematimétricas foram realizadas após trinta minutos da colheita. Foram utilizadas as amostras dos tubos contendo anticoagulante EDTA para contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina, hematócrito, contagem de leucócitos totais e para a confecção de esfregaço sanguíneo para avaliação morfológica dos eritrócitos e diferencial de leucócitos. O hemograma foi realizado com aparelho diluidor e contador (CELM - Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos - Barueri – SP). O hematócrito foi obtido pelo método do microhematocrito.

4.5.2 Fibrinogênio e proteína plasmática total

Para as análises de fibrinogênio e de proteína plasmática total utilizou-se as amostras dos tubos contendo anticoagulante EDTA. O fibrinogênio foi obtido pelo método clássico de precipitação pelo calor (KANEKO; SMIYH, 1967). A determinação da concentração de proteína plasmática total foi realizada com o auxílio de refratômetro.

4.5.3 Bioquímica sérica

As análises bioquímicas foram realizadas com soro obtido em tubos sem anticoagulante. Após 30 minutos da colheita sanguínea foi realizada a centrifugação (1800 g durante 8 minutos) das amostras para

obtenção do soro. Depois de aliquotadas, as amostras de soro foram congeladas à temperatura de - 20° C até o momento do processamento.

As alíquotas contendo o soro foram descongeladas apenas uma vez em temperatura ambiente, não sofrendo recongelamento e após o uso foram descartadas.

Com a utilização de kits comerciais (Labtest Diagnóstica®) foram determinadas as concentrações de ureia, creatinina, atividade sérica de AST, concentração de lactato e glicose.

4.5.4 Glutationa reduzida eritrocitária (GSH)

As amostras contendo anticoagulante heparina foram utilizadas para avaliação de GSH. Para a análise da glutationa reduzida foi utilizada a técnica descrita por Beutler et al. (1963). O cálculo realizado para a determinação da concentração de GSH se baseia na equação de retas obtida pelo gráfico [GSH] da solução padrão, multiplicado pela absorbância observada e o valor é corrigido com base na concentração de hemoglobina.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística por meio da Análise de Variância (ANOVA). As médias entre os momentos foram avaliadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Os animais participantes do experimento apresentaram todos os parâmetros do exame físico dentro da normalidade nos três momentos aferidos, um dia antes (basal), no início da atividade e na chegada do percurso, exceto a frequência cardíaca. Não foram constatadas alterações clínicas nos animais participantes do estudo. Os valores de frequência cardíaca, respiratória e temperatura retal estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Valores de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal (média \pm desvio-padrão) obtidos de equinos da raça Crioula submetidos à cavalgada.

Parâmetros	Momentos			Valores de Referência*
	Basal	Início	Chegada	
Frequência cardíaca	42,1 \pm 6,0	42,6 \pm 6,0	42,1 \pm 6,0	28-40
Frequência respiratória	33,5 \pm 6,1	33,2 \pm 6,1	33,2 \pm 6,1	8-16
Temperatura retal	37,6 \pm 0,4	37,5 \pm 0,4	37,5 \pm 0,4	37,5-38,5

*Feitosa (2008).

Fonte: Pesquisa Própria Autora (2014).

Neste estudo a frequência cardíaca dos equinos superou os valores de referência, porém não foram observadas elevações muito expressivas. Possivelmente, o sistema cardiovascular dos equinos durante o exercício fornece aporte sanguíneo extra, realizando a manutenção da volemia (MURIEL, 2006). Assim como a homeostase cardiovascular durante o exercício é mantida por mecanismos neuroendócrinos que asseguram o aumento da demanda do fluxo sanguíneo para a musculatura esquelética (WILMORE; COSTILL, 1994). Os momentos basal e início a discreta elevação pode estar relacionada com a excitação dos animais referente a manipulação dos mesmos durante os procedimentos de colheita.

O esforço exercido pelos equinos neste estudo por ser de intensidade baixa, provavelmente, não foi capaz de provocar elevação da frequência cardíaca para manutenção da volemia, pois tanto para humanos como para os equinos, o exercício inibe o controle cardiovascular pelo sistema nervoso parassimpático, prevalecendo o

sistema nervoso simpático e resultando em aumentos da frequência cardíaca, força de contração, volume ejetado e débito cardíaco (NOLETO, 2012).

5.2 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA

5.2.1 Eritrograma

Os resultados de eritrograma obtidos neste estudo estão contidos na Tabela 2. Os valores constatados estão dentro do intervalo normal de referência para equinos da raça Crioula (VEIGA et al., 2006).

Tabela 2 Valores de eritrograma (média ±desvio-padrão) obtidos de equinos da raça Crioula submetidos à cavalgada

Parâmetros	Momentos			Valores de Referência*
	Basal	Início	Chegada	
Eritróцитos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7,6±0,9	7,5±1,1	7,93±1,6	5,3- 9,5
Hematócrito (%)	36,7±4,8	35,0±4,7	35,6±4,8	28- 49
Hemoglobina (g/dL)	13,1±1,8	12,5±1,7	12,6±1,9	9,3- 16,1
Volume Globular Médio (fL)	48,0±2,0	46,5±1,3	45,0±0,9	40,5-61,5
Concentração de Hemoglobina Globular Média (%)	35,7±0,8	35,9±0,5	35,2±0,4	30,2-35,6

*Veiga et al., 2006.

Fonte: Pesquisa Própria Autora (2014).

Verificou-se que não houve alterações significativas para número de eritrócitos, volume globular e hemoglobina, e dessa forma não houve diferença nos valores de concentração de hemoglobina globular média (CHGM) e volume globular médio (VGM), uma vez que estes são dependentes dos resultados de contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito (KRAMER, 2000). Conforme Piccione et al. (2001), os valores hematológicos são dependentes da intensidade do exercício exercido pelos animais. Como os valores desse estudo não tiveram elevação significativa, possivelmente este exercício de cavalgada não conseguiu induzir elevação acentuada nos valores hematológicos. Estes resultados corroboram com os valores encontrados por Melo (2013) em equinos

sob exercício em esteira com velocidade constante de 18 km/h durante 40 minutos.

Na avaliação do esfregaço sanguíneo para avaliação morfológica dos eritrócitos não foram verificadas alterações dignas de nota.

5.2.2 Leucograma

Os dados referentes à contagem total e diferencial de leucócitos estão apresentados na Tabela 3. Os valores não extrapolam os valores de referência estabelecidos por Veiga et al. (2006).

Tabela 3 Dados de leucograma (média ± desvio-padrão) obtidos de equinos da Raça Crioula submetidos à cavalgada.

Leucograma	Momentos			Valores de referência*
	Basal	Início	Chegada	
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	8,04±1,88 ^a	8,38±1,14 ^a	9,71±2,51 ^b	5,50 – 22,50
Neutrófilos Segmentados ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5,02±1,05	5,08±1,12	6,03±0,90	2,25 – 11,43
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	4,1±1,06	4,3±1,08	3,36±1,00	1,19 – 19,57
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,31±0,24	0,34±0,22	0,24±0,13	0 – 1,79
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,46±0,35	0,21±0,16	0,31±0,17	0 – 0,58
Basófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,01±0,11	0,006± 0,007	0,003± 0,005	0 – 0,27

Médias na mesma linha com letras diferentes são estatisticamente diferentes (a,b). * Veiga et al. (2006).

Fonte: Pesquisa Própria Autora (2014).

Verificou-se aumento de número de leucócitos após o exercício de modo significativo, resultado semelhante aos mencionados em outros estudos (HODGSON; ROSE, 1994; KRAMER, 2000). A provável causa do aumento de leucócitos após o exercício é pela demarginação dos leucócitos, liberando neutrófilos segmentados, sendo levados para a circulação do animal, juntamente com a esplenomegalia que liberam

principalmente linfócitos e monócitos para a corrente sanguínea (DIAS et al., 2009).

Nos estudos de Santos (2006) com cavalos Brasileiro de Hipismo em esteira com velocidade constante de 18 km/h, não foram verificadas alterações nos valores de leucócitos, diferindo desse estudo. A provável causa das diferenças entre esses dois estudos pode ser devido à variação racial entre os animais, uma vez que os valores de referência e resposta dos animais são características variáveis com a raça, em que o Brasileiro de Hipismo tem como principal característica a seleção genética para exercícios de explosão, enquanto que os cavalos Crioulos são animais com seleção para força e resistência.

5.3 PROTEÍNA PLASMÁTICA TOTAL E FIBRINOGÊNIO

Os valores de proteína plasmática total e fibrinogênio estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4 Dados de proteína plasmática total e fibrinogênio (média ± desvio-padrão) obtidos de equinos da Raça Crioula submetidos à cavalgada

Parâmetros	Momentos			Valores de Referência*
	Basal	Início	Chegada	
Proteína Plasmática Total (g/dL)	6,96±0,33	6,90±0,29	7,02±0,21	7,5 - 10,1
Fibrinogênio (mg/dL)	315,38 ± 0,08 ^a	241,67 ± 0,09 ^a	100 ± 0 ^b	100 - 900

Médias na mesma linha com letras diferentes são estatisticamente diferentes (a,b). * Veiga et al. (2006).

Fonte: Pesquisa Própria Autora (2014).

Os valores encontrados para as proteínas plasmáticas totais no momento de basal, início e chegada estão abaixo do intervalo considerado normal para a espécie (VEIGA et al., 2006), porém os valores obtidos não apresentam significado clínico considerável. Não houve alterações significativas durante esse experimento nos três momentos de aferição, possivelmente ocasionado pelo exercício de baixa intensidade no qual não levou à sudorese suficiente para ocasionar

elevação das concentrações de proteínas plasmáticas totais (NOLETO, 2012).

O fibrinogênio plasmático apresentou diferença dos valores em comparação com os valores de média do período basal. Neste estudo, percebeu-se decréscimo dos valores de fibrinogênio, porém com manutenção no intervalo considerado ideal para a espécie (VEIGA et al., 2006). Assim, o resultado obtido neste estudo, não apresenta significado clínico.

5.4 BIOQUÍMICA SÉRICA

Os resultados bioquímicos obtidos neste estudo estão apresentados na Tabela 5, separados pelos momentos de colheita: Basal, Início, Chegada.

Tabela 5 Valores séricos de atividade de aspartato amino transferase (AST), concentração de lactato, ureia, creatinina e glicose (média±desvio-padrão) de equinos submetidos a exercícios de cavalgada.

Parâmetros	Momentos			Valores de referência*
	Basal	Início	Chegada	
AST (U/L)	174,5 ± 53,9	177,2±48,8	185,4±55,8	120-309 ¹
Lactato (mmol/L)	1,5±3,9	1,5±3,8	1,7±3,5	1,0-1,7 ²
Ureia (mg/dL)	37,8±9,7	33,8±9,1	39,9±9,9	21,6-51,0 ²
Creatinina (mg/dL)	1,7±0,3 ^a	1,7±0,6 ^a	1,9±0,7 ^b	0,1-2,2 ²
Glicose (mg/dL)	87,3± 16,6 ^a	93,1± 6,6 ^b	109,0± 16,3 ^c	75-115 ²

Médias na mesma linha com letras diferentes são estatisticamente diferentes (a, b, c). * ¹Franciscato et al (2006); ²Kaneko et al. (2008)

Fonte: Pesquisa Própria Autora (2014).

5.4.1 Aspartato aminotransferase (AST)

Conforme observado na Tabela 5 não houve diferença estatística entre os dados obtidos para AST, que pode ser explicada pelo bom condicionamento físico dos animais pelo tipo de criação e manejo, assim apresentaram a mesma resposta frente ao exercício. Outra

possível causa seria que o exercício de intensidade baixa não foi capaz de promover alterações na atividade enzimática de AST. Os efeitos das concentrações de AST dependem do estado de saúde dos equinos, da intensidade e duração do exercício ao qual são submetidos, bem como do ambiente (FRANCISCATO et al., 2006).

Os valores de referência para AST segundo Franciscato et al (2006) variam entre 120 a 309 UI/L para equinos da raça Crioula. Dessa forma, a atividade desenvolvida pelos equinos não foi capaz de promover danos musculares significativamente detectáveis, ou seja, com valores acima dos valores de referência.

5.4.2 Lactato

No presente estudo não houve diferença da concentração de lactato entre os três momentos do estudo, como pôde ser observado na Tabela 5. Conforme Dias et al. (2009), a ausência de alterações nas concentrações de lactato pode significar uma possível adaptação dos animais ao exercício. Dessa forma, a não constatação de alterações nas concentrações de lactato provavelmente reflete adaptação dos animais ao exercício, ou ainda, que a cavalgada não exigiu dos animais esforço suficiente para ocasionar a elevação das concentrações de lactato sanguíneo nos momentos verificados.

A mensuração do lactato auxilia na classificação do tipo de exercício ao qual o animal é submetido. Desse modo, quando há aumento nas concentrações de lactato, é porque houve um predomínio de utilização anaeróbica para obtenção de energia (ARAÚJO, 2013). Nesse estudo não ocorreu detecção de aumento nas concentrações de lactato. Possivelmente o tipo de exercício que pode classificar a cavalgada é predominantemente exercício aeróbico, cuja energia é obtida na presença de oxigênio, sendo considerado de intensidade leve a moderada (ARAÚJO, 2013).

5.4.4 Ureia

Os valores de ureia obtidos neste estudo apresentados na Tabela 5 não apresentaram diferenças. Esse resultado corrobora com os valores encontrado por Fernandes et al. (2000), em equinos submetidos a exercícios de baixa intensidade.

A concentração plasmática de ureia tem seus valores influenciados pela taxa de excreção da mesma pelos rins, que durante o

exercício não diminui significativamente (FERNANDES; LARSSON, 2000). Nesse estudo, possivelmente a taxa de filtração glomerular renal não foi influenciada pelo exercício de cavalgada.

5.4.5 Creatinina

Neste trabalho houve diferença significativa entre os momentos, sendo que os momentos Basal e Início não apresentaram diferença entre eles. Os valores obtidos concordam com as informações contidas no trabalho de Dias et al. (2009) que perceberam o aumento nos valores de creatinina no decorrer da prova de enduro.

As concentrações de creatinina apresentaram influência da cavalgada neste estudo, corroborando com os estudos de Fernandes et al. (2000) que testaram essa variável em diferentes tipos de exercícios, concluindo que a concentração de creatinina depende da intensidade de esforço exercido pelos animais diante do exercício.

As possíveis causas para o aumento de creatinina podem ser pela maior utilização de fosfocreatina ocorrido pelo esforço muscular e pelo catabolismo proteico, resultante do aumento da liberação de creatina muscular (ORTOLANI et al., 2002).

5.4.6 Glicose

Houve diferença entre os valores de glicose nos três momentos avaliados, verificando-se aumento gradativo. Geor et al. (2002) avaliou equinos em diferentes intensidades de exercícios, observando nos animais submetidos a exercícios leves a moderados o mesmo comportamento. Exercícios físicos realizados por um tempo mais longo, como enduro e concurso completo de equitação, levam ao aumento na concentração de glicose sérica (FARRIS et al.; 1995, ROSE et al, 1983).

Os resultados obtidos nesse estudo corroboram com os resultados obtido por Ribeiro et al. (2004) trabalhando com equinos de diversas raças submetidos a cavalgada, constatando aumento da glicemia no final da prova, provavelmente pelo aumento da gliconeogênese frente ao maior requerimento energético para manutenção da atividade muscular.

5.4.7 Glutationa reduzida eritrocitária (GSH)

Os dados referentes ao antioxidante glutationa reduzida (GSH) estão demonstrados na Tabela 6 abaixo.

Tabela 6 Valores de glutationa reduzida (GSH) eritrocitária (média ± desvio-padrão) obtidos de equinos da raça crioula submetidos à cavalgada

Parâmetro	Momentos			Valor de referência*
	Basal	Início	Chegada	
GSH (mg/gHb)	2,71±0,40	2,84±0,33	3,25±0,36	2,35-5,63

*Fernandes et al. (2012). Fonte: Pesquisa Própria Autora (2014).

Não houve diferença estatística entre momentos observados neste estudo, sendo semelhante ao encontrado por Fernandes et al. (2012) que comparou animais em diferentes tipos de treinamentos, que sugere que o exercício físico não altera a atividade de antioxidantes como a glutationa no início do exercício.

A GSH é abundante e alterações em seus níveis, normalmente, refletem modificações teciduais recentes. Porém, como é parte importante do sistema antioxidante celular, responde prontamente ao exercício, aumentando seus níveis celulares e consequentemente manifestando poucas alterações após o exercício (WILLIAMS et al., 2004). Uma provável causa de não haver diferença neste estudo é pelo mecanismo de regeneração do antioxidante glutationa imediatamente após o consumo. A estabilidade dos valores de glutationa eritrocitária (GSH) se deve à integridade do sistema de oxidorredução, no qual a oxidação de GSH é seguida da recuperação imediata da mesma. Outra causa possível é a de que o exercício não foi intenso o suficiente para causar alterações.

Fernandes et al. (2012) citam correlação entre hematócrito, concentração de hemoglobina e número de eritrócitos com GSH. Dessa forma, o aumento significativo de um deles poderá ocasionar alteração de todos os demais. Como neste estudo não houve alterações nos valores de hematócrito, concentração de hemoglobina e número de eritrócitos não se esperam alterações nos valores de GSH, como o constatado nesse estudo.

5 CONCLUSÃO

Concluiu-se que não houve alterações significativas no comportamento hematológico, bioquímico e do anticoagulante glutationa reduzida (GSH) nos momentos aferidos em equinos da raça Crioula submetidos ao exercício de cavalgada durante o inverno da serra catarinense após o percurso de 27 km.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, L. A.; NOGUEIRA, C.E.W.; MARTINS, C.F.; CORRÊA, M.N. **Avaliação metabólica de cavalos crioulos submetidos a provas funcionais.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Faculdade de Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, p. 71.2012. Disponível em: <<http://www.guaica.ufpel.edu.br/>>. Acesso em 31/01/2015.

ARAÚJO, C.G.S de. Conceitos fundamentais em fisiologia do exercício. **Clinimex:** Clínica Médica do Exercício. Periódico eletrônico. 2013. Disponível em: <www.clinimex.com.br>. Acesso em: 26/12/2014.

ARAÚJO, A. de S.; MACHADO, L.P.; LISBOA NETO, A. F.; SANTOS, R. de S.; ALBANO, S.G.C. **Avaliação do estresse promovido pelo exercício das competições de vaquejada no metabolismo do ferro de equinos.** XX Seminário de Iniciação Científica, II seminário em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação. Universidade Federal do Piauí: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina: Piauí, 2012. Disponível em: <<http://www.ufpi.br/20sic/Documentos/Vida/6a2feef8ed6a9fe76d6b3f30f02150b4.pdf>>. Acesso em: 20/04/2013.

AVELLINI, L.; CHIARADIA, E.; GAITI, A. Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*). **Comparative Biochemistry and Physiology** Part B, v. 123, p. 147 – 154. 1999. Disponível em: <http://www.uff.br/rbcv/site/app/webroot/files/Artigo/231/arquivo_08.pdf>. Acesso em: 12/12/2014.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M, DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova.** v. 29, n. 1, p.113-123. 2006.

BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v.61, n.5, p.882-888, 1963.

CFMV. Informativo: Criação de equinos no Brasil. **CFMV:** Conselho Federal de Medicina Veterinária. Brasília, ano XVIII, setembro a dezembro de 2012.

DIAS, D.C.R.; ROCHA, J.S.; GUSMÃO, A.L.; EL-BACHÁ, R.S. e AYRES, M.C.C. 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.

EATON, M.D. Maximal accumulated oxygen déficit in Thoroughbred horses. **Journal of Applied Physiology**, v.78, n.4., p.1564-1568. 1999.
Disponível em:
<http://www.wageningenacademic.com/_clientfiles/CEP/S1755254009990080a.pdf>. Acesso em: 28/08/2013.

EVANS, D.L. **The cardiovascular system: anatomy, physiology, and adaptations to exercise and training.** In: ROSE, R.J.; HODGSON, D.R. (Eds). The Athletic horse. Philadelphia: Saunders, p.129-144. 2002. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352001000300013. Acesso em: 02/02/2014.

FARRIS, J.W. Glucose infusion increases maximal duration of prolonged treadmill exercise in Standardbred horses. **Equine Veterinary Journal**, v.18, p.357-361. 1995. Disponível em:
<https://www.researchgate.net/ html>. Acesso em: 27/08/2013.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária:** a arte do diagnóstico. 2. Ed. São Paulo: Roca, 2008.

FERNANDES, W.R., LARSSON M.H.M.A. Alterações nas concentrações séricas de glucose, sódio, potássio, ureia e creatinina, em equinos submetidos a provas de endure de 30 km com velocidade controlada. **Ciência Rural**, v. 30, p.393-398. 2000. Disponível em:
<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/veterinary/article/viewFile/34143/2523>. Acesso em: 26/08/2013.

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**. São Paulo, v.43, p. 61-68. 1997.
Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ramb/v43n1/2075.pdf>>. Acesso em: 13/03/2013.

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

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

GEOR, R.J . Training- induced alterations in glucose metabolism during moderate-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal**, v.34, p.22-28. 2002.

GOMIDE, L.M.W; MARTINS, C.B.; OROZCO, C.A.G.; SAMPAIO, R.C.L.; BELL, T.; BALDISSERA, V.; LACERDA NETO, J.C.. Concentrações sanguíneas de lactato em equinos durante a prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.2, p. 509-513. 2006. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000102&pid=S0100-736X201100050001400013&lng=pt>. Acesso em: 13/03/2013

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 198 p. 2003.

GROTTO, D.; VALENTINI, J.; BOEIRA, S.; PANIZ, C. SANTA MARIA, L.; VICENTINI, J.;MORO, A.;CHARÃO, M.; GARCIA, S.C. Avaliação da estabilidade do marcador plasmático do estresse oxidativo – Malondialdeído. **Química Nova**, v. 31, n. 2, 275-279. 2008.

HAMLIN, M.J.; SHEARMAN, J.P.; HOPKINS, W.G. Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v.34, n.4, p.383-388. 2002.

HARRIS, P.A.; MAYHEW, I.G. Musculoskeletal disease. In: REED, S.M.; BAYLY, W.M. **Equine Internal Medicine**, Philadelphia: W.B. Saunders, p. 371 – 426. 1998. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000072&pid=S0100-736X201300010001900006&lng=pt>. Acesso em: 29/07/2013.

HIGAKI, Y. et al. Nitric oxide increases glucose uptake through a mechanism that is distinct from the insulin and contraction pathways in rat skeletal muscle. **Diabetes**, Los Angeles, v. 50, p. 241-247. 2001. Disponível em:
<www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/RevEducFis/article/.../6774>. Acesso em: 13/03/2013

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

HOUSTIS, N. et al. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. **Nature**, London, v. 440, p. 944-948. 2006. Disponível em: <<http://www.impactaging.com/papers/v2/n8/full/100182.html>>. Acesso em: 13/03/2013.

JABLONSKA, E.M. Changes in some haematological and metabolic indices in young horses during the first year of jump-training. **Equine Veterinary Journal**, v. 23, n. 4, p. 309-311. 1991. Disponível em: <http://tru.uni-sz.bg/tsj/Vol9N1_2011/S.Sabev.pdf>. Acesso em: 13/03/2013.

JOHNSON, R. M.; GOYETTE JR., G.; RAVINDRANATH, Y.; HO, Y. Free Radical. **Biology Medice** , v. 39, p. 1407. 2005.
KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 Ed. San Diego: Academic Press, 932p. 2008.

KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 1 Ed. San Diego: Academic Press, 932p. 1967.

KORHONEN, P.A.S.; LILIU E.M.; HYPPÄ, S.; RÄSÄNEN L.A.; PÖSÖ, A.R. Production of reactive oxygen species in neutrophils after repeated bouts of exercise in Standardbred trotters. **Journal of Veterinary Medical Association**, v. 47, p. 565 – 573. 2000. Disponível em:
<http://www.utu.fi/fi/yksikot/sci/yksikot/biokemia/tutkimus/bk/immunochemistry/Sivut/home.aspx.> Acesso em: 19/07/2013.

KRAMER, J.W. Normal hematology of the horse. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Williams, p.1069-1074. 2002.

KRINSKI, K.; ELSANGEDY, H.M.; COLOMBO, H.; BUZZACHERH, C.F. SOARES, I.A., CAMPOS, W. de; SILVA, S.G da. Efeito do exercício físico no sistema imunológico. **Revista Brasileira de Medicina**. Curitiba: Grupo Editorial Moreira Junior, v.67, n.7. 2010.

LAGE, J.; REZENDE, A..S.C.; ABRANTES, R.G.P.; FONSECA, M.G.; SANTIAGO, J.M.; ANDRADE, J.M.; MELO.M.M., TRIGO, P. Enzimas musculares de equinos da raça mangalarga marchador submetidos a treinamento para concurso de marcha. Veterinária e Zootecnia em Minas. **VI Simpósio Internacional do Cavalo Atleta**. Suplemento Especial. 2013. Disponível em:< www.crmvmg.org.br>. Acesso em: 02/02/1015.

MACHADO, L.P; KOHAYAGAWA,A. SAITO, M.E.; SILVEIRA, V.F. da; YONEZAWA, L.A. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos

antioxidantes de interesse na Medicina Veterinária. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lages, v.8, n.1, p. 84-94. 2009.

McDERMONTT, J.C. Endurance training increases skeletal muscle lactate transport. **Acta Physiologic Scandinave**, n.147, p.323-327. 1993.

MELO, S. K.M . Índice hematimétricos e bioquímica sanguínea no cavalo de cavalgada em condições tropicais. **Ciência Animal Brasileira**, v.14, n.2, p.208-215. 2013. Disponível em:
[<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/16484/14536>](http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/16484/14536). Acesso em: 02/02/2015.

MIRANDA, R.L.; MUNDIM, A.V.; SAQUY, A.C.S.; COSTA, A.S.; GUIMARAES, E.C.; GONÇALVES, F.C.; SILVA, F.O.C. Biochemical serum profile of equines subjected to team penning. **Comparative Clinical Pathology**, London, v.18, n.3, p. 313-319. 2009. Disponível em:< www.penelope.dr.ufu.br> . Acesso em: 04/04/2014

MIRANDA, R. L.; MUNDIM, A. V.; SAQUY, A.C.S.; COSTA, A.S.; GUIMARÃES, E. C.; GONÇAVES, F.C.; SILVA, F. O. C. **Perfil hematológico de equinos submetidos à prova de Team Penning**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 31, p. 81-86. 2011. Disponivel em: [<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v31n1/13.pdf>](http://www.scielo.br/pdf/pvb/v31n1/13.pdf). Acesso em: 04/04/2014

MUNDIM, A.V.; TEIXEIRA, A.A.; GALO, J.A.; CARVALHO, F.S.R. Perfil bioquímico e osmolaridade sanguínea de equinos utilizados para trabalho em centros urbanos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 20, n. 1, p. 135-142. 2004. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/4795>>. Acesso em: 19/07/2013.

MUÑOZ, A. Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabian breeds. **Equine Veterinary Journal**, v.34, p. 245-251, 2002.

MURIEL, M.G. Transtornos hidroeletrolíticos. Patologías que afectan el rendimiento deportivo. In: BOFFI, F.M. (Ed). **Fisiología del ejercicio en equinos**. Buenos Aires: Inter-Médica, p.282-286. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352011000100004>. Acesso em: 24/4/2014.

NIEMAN DC, DAVIS JM, HENSON DA, WALBERG-RANKIN J, SHUTE M, DUMKE CL, et al. Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-h run. **Journal Applied Physiology**. v. 94, p.1917-1925. 2003.

NOLETO, P.G. Perfil bioquímico sérico de equinos submetidos à provas de esforço físico. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-

Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia: Minas Gerais, 49 f. 2012.

ORTOLANI, E.L.; GONZÁLEZ, F.H.D; BARROS, L.; CAMPOS, R. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais (sangue, leite e urina) In: CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29, Rio Grande do Sul. **Anais do curso realizado no 29 Congresso Nacional de Medicina Veterinária. Gramado- Rio Grande do Sul, Brasil.** Gramado: UFRGS, p.48, 2002. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/anais_2002_1.pdf>. Acesso em: 17/05/2013.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H. S., GÓRNIAK, S. L., BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 641-651. 2002.

PADALINO, B.; RUBINO, G.; CENTODUCATI, P. E.; PETAZZI, F. Training versus overtraining: evaluation of two protocols. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, n. 1, p. 28-31. 2007. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/viewFile/26793/28576>>. Acesso em: 13/12/2013.

PEIXOTO, F.J.G. Determinação do limiar metabólico individual de lactato, e estudo do estresse oxidativo em equinos de enduro. **Tese.** Campinas: São Paulo, 101 f. 1999. Disponível em:

<<http://www.uff.br/clinicaveterinaria/teses/D38.pdf>>. Acesso em:
09/09/2013.

PICCIONE, G.; VAZZANA, I.; GIANNETTO, C.; GIANESELLA, M.;
FERRANTELLI, V. Modification of some haematological and
haematochemical parameters in horses during long distance rides.
Journal Veterinary Science n.1, v.1, p. 37-63. 2008. Disponível em:
<<http://r1.ufrj.br/wp/ppgmv/files/2011/10/silvavieira.pdf>>. Acesso em:
09/09/2013.

RIBEIRO, C.R.; MARTINS, E.A.N.; RIBAS, J.A.S; GERMINARO, A.
Avaliação de constituintes séricos em equinos e muares submetidos à
prova de Resistencia de 76 km no Pantanal do Mato Grosso, Brasil.
Ciência Rural. Santa Maria: Rio Grande do Sul, v.34, n.4, p1081-1086.
2004.

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

ROSE, R.J.; HODGSON D.R. Haematology and biochemistry in:
Hodgson DR; Rose RJ. **The athletic horse**. Principles and practice of
equine sport medicine. Saunders, USA, p. 63-78. 1994.

SANTOS V.P. Variações hemato-bioquímicas em equinos de salto submetidos a diferentes protocolos de exercício físico. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 94p. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/lacvet/outras_publicacoes.php?id_publicacao69>. Acesso em: 25/03/2013

SCHNEIDER, C.D.; OLIVEIRA, A.R.de. SCHNEIDER, C.D; OLIVEIRA, A.R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 303 – 313. 2004. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/>>. Acesso em: 17/03/2013.

SCHOTT, H.C. O sistema urinário. In: REED, S.M.; BAYLY, W.M. **Medicina Interna Equina**. Philadelphia: Saunders, p.701-702. 2000.

SEEHERMAN, H.J.; MORRIS, E.; O'CALLAGHAN, M.W. The use sports medicine techniques in evaluating the problem equine athlete. **Veterinary Clinics of North America-Equine Practice**, v.6, n. 1, p. 239-275. 1990.

SHAN X, AW TY, JONES DP. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. **Pharmacol Ther**, v. 47, p. 61-71. 1990.

SICILIANO, P.D.; PARKER, A.L.; LAWRENCE, L.M. Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. **Journal Animals Sciencia**, n.75, v.6, p.1553-1560. 1997. Disponível em: <<https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/content/75/6/1553.full.pdf>>. Acesso em: 15/03/2013.

SILVA, I.A.C.; DIAS R.V.C.; SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em equinos de diferentes categorias de atividade. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.250-252. 2007. Disponível em: <www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/download/4793/5396>. Acesso em: 09/09/2013.

SILVA, M. A. G. da. **Concentração de lactato, eletrólitos e hemogasometria em equinos não treinados e treinados durante testes de esforço progressivo**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticaba, 94 f. 2008.

SNOW, D.H.; KERR, M.G, NIMMO, M. Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse. **Veterinary Rec.** v. 110 p, 377-384. 1982.

SOUZA JUNIOR, T.P. de; OLIVEIRA, P.R.; PEREIRA, B. Exercício físico e estresse oxidativo: Efeitos do exercício físico intenso sobre a

quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.11, n.1. 2005.

STUPKA N, LOWTHER S, CHORNEYKO K, BOURGEOIS JM, HOGBEN C, TARNOPOLSKY MA. Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise. **Journal Appl Physiology**. v. 89, p.2325-2332. 2000. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-86922007000500011&script=sci_arttext. Acesso em: 27/08/2013.

SUN L., SHEN W., ZHONGBO L., GUAN S., LIU J. & DING S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: Effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. **Life Sciences**. v.86, p.39-44. 2010. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000095&pid=S0100-736X201200070001700013&lng=pt. Acesso em: 09/09/2013.

TEIXEIRA NETO, A. R. **Variáveis fisiológicas e estresse oxidativo de equinos durante campeonato de enduro**. Tese (Doutorado em Clinica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista: Jaboticabal,São Paulo , p. 97. 2006. Disponível em:
http://base.repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/101252/teixeiranoeto_ar_dr_jabo.pdf?sequence=1. Acesso em: 19/03/2013.

THRALL, M.A; CAMPBELL, T.; DEBUCIKA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 582p. 2007.

TYLER-MCGOWAN, C. M.; GOLLAND, L. C.; EVANS, D. L.; HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Haematological and biochemical responses to training and overtraining. **Equine Veterinary Journal**. v. 30, p. 621-625. 1999. Disponível em: <www.uff.br/rbcv/ojs/index.php/rbcv/article/download/445/pdf>. Acesso em: 19/01/2014.

VEIGA A.P.M., LOPES S.T.A., FRANCISCATO C., OLIVEIRA L.S.S. & MERINI L.P. Valores hematológicos, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio do cavalo crioulo – suas variações em relação ao sexo, idade e manejo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, p. 275-279. 2006. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/actvet/34/artigo687.pdf>>. Acesso em: 02/02/2015.

VIERA, W.S.; SOUTTO, I.M; FRADE, N.P.L; BALDANI, C.D; BOTTEON, R.C.C.M, BOTTEON, P.T.L. Perfil bioquímico e capacidade antioxidante total em cavalos de polo suplementados com selênio e vitamina-E. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.12, p.2268-2273. 2013.

WILLIAM, C.A.; CARLUCCI, S.A. Oral vitamin E supplementation on oxidative stress, vitamin and antioxidant status in intensely exercised horses. **Equine Veterinary Journal**, v.36, suppl., p.617-621. 2006.

WILLIAMS C.A., KRONFELD D.S., HESS T.M., SAKER K.E., WALDRON J.N., CRANDEL K.M., HOFFMAN R.M., HARRIS P.A. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. **Journal Animals Sciencia**, v. 82, p

588-594. 2004. Disponível em:
<http://www.researchgate.net/publication/262648092_Oxidative_stress_evaluation_in_Standardbred_horses_through_malondialdehyde_%28MDA%29_and_erythrocytic_reduced_glutathione_%28GSH%29_mensuration>. Acesso em: 25/05/2014.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. Hormonal regulation of exercise.
In: WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. Physiology of sport and
exercise. Champaign: Human Kinetics, p. 122-143. 1994. Disponível
me:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000102&pid=S0102-0935201000010000300022&lng=es>. Acesso em: 12/03/2013.