

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

ISADORA ARAÚJO NAVES

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E
BIOQUÍMICOS DE EQUINOS DE *Team penning* SUPLEMENTADOS COM TONNUS
JCR (Vetnil®)**

UBERLÂNDIA

2017

ISADORA ARAÚJO NAVES

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E
BIOQUÍMICOS DE EQUINOS DE *Team penning* SUPLEMENTADOS COM TONNUS
JCR (Vetnil®)**

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado à Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito parcial à
obtenção do grau de Médica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Diego José Zanzarini Delfiol

UBERLÂNDIA

2017

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E CONCENTRAÇÃO DE
LACTATO, GLICOSE, CK, AST E LDH EM EQUINOS DE TEAM PENNING
SUPLEMENTADOS OU NÃO COM TONNUS JCR**

ISADORA ARAÚJO NAVES

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado à Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito parcial à
obtenção do grau de Médica Veterinária.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Diego José Zanzarini Delfiol

Med. Vet. Amanda Bizare

Med. Vet. Layane Queiroz Magalhães

UBERLÂNDIA – MG

2017

AGRADECIMENTOS

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO -----	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS -----	14
2.1. Animais -----	14
2.2. Critérios de seleção dos animais -----	14
2.3. Colheita das amostras -----	15
2.3.1. Etapa 1 -----	15
2.3.2. Etapa 2 -----	16
2.4. Exames laboratoriais -----	17
2.5. Análise estatística -----	18
3. RESULTADOS -----	19
4. DISCUSSÃO -----	26
5. CONCLUSÃO -----	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	30

RESUMO

A procura por cavalos para lazer e principalmente, para práticas esportivas cresceu muito nas últimas décadas. Ao longo de séculos os cavalos têm sido selecionados pelas suas características específicas em diversas modalidades de esporte, sendo eles expostos a uma grande variedade de desafios estressores como: intensidade e quantidade de treinos, competições, transporte, exames veterinários e introdução a novos grupos de animais. Dentre os esportes equestres o Team Penning vem crescendo no Brasil. É uma modalidade que exige muita técnica, velocidade e agilidade dos cavalos. Neste tipo de exercício que envolve velocidade máxima em curta duração, os depósitos de energia nas fibras musculares são consumidos rapidamente pela via anaeróbica, favorecendo a síntese de ácido láctico, que tem como produto o lactato, a presença de amoníaco e radicais livres que quando acumulados nos músculos, contribuem para a queda de pH e consequente lesão muscular. O lactato e a glicose dosados a partir de avaliação bioquímica juntamente com a aferição de parâmetros fisiológicos mostram possíveis alterações metabólicas que podem refletir na capacidade cardiovascular, metabólica e intensidade do exercício, e estas, interferem diretamente no potencial atlético dos equinos. A avaliação dos parâmetros fisiológicos, frequências cardíaca e respiratória, temperatura e mucosas, acompanhadas das dosagens plasmáticas de lactato, glicose e séricas das enzimas CK, AST e LDH refletem o estado metabólico e potencial atlético dos equinos. A suplementação na alimentação visa atender e complementar o requerimento energético e mineral auxiliando na redução de lesões musculares e melhor aproveitamento da energia nos animais. Neste trabalho avaliou-se os parâmetros fisiológicos e os teores de CK, AST, LDH, lactato e glicose em 10 equinos da raça quarto de milha condicionados para a modalidade esportiva Team penning, suplementados ou não com Tonnus JCR, com o objetivo de avaliar a influência desta suplementação sobre o potencial atlético destes animais.

Palavras chave: cavalos; esportes; lesão suplementação;

ABSTRACT

The search for horses for leisure and mainly, for sports practices has grown a lot in the past decades. Throughout centuries, horses were selected for their specific characteristics in several sport modalities, and exposed to the great variety of stressful challenges as: intensity and quantity of training, competitions, transportation, veterinary examinations and insertion into new groups of animals. Among equestrian sports, Team Peanning has been growing in Brazil. It is known to be a modality that requires a lot of technique, speed and agility from horses. In this type of exercise, which involves maximum velocity in a short period of time, the energy deposited in muscle fibers are rapidly consumed through anaerobic metabolization, favoring the synthesis of lactic acid and its products, which is the formation of lactate in the presence of ammonia and free radicals. These products, when accumulated in muscles, contribute to pH drop and consequent muscle injury. Lactate and glucose dosed with biochemical assessment, along with measurement of some standard physiological parameters, show possible metabolic alterations that may reflect cardiovascular capacity, metabolic and exercise intensity, and these directly interfere in the equine athletic potential. The evaluation of physiological parameters, cardiac and respiratory frequency, temperature and mucoses, followed by monitoring of serum lactate and serum levels of CK, AST and LDH enzymes reflect the metabolic status and athletic potential of horses. The feeding supplementation aims to complement the energetic and mineral food requirements, assisting on the reduction of muscular injuries and better utilization of the energy in the metabolism of the animals. This work evaluated CK, AST, LDH, lactate and glucose were evaluated in 10 horses, quarter-mile, conditioned to the sporting modality Team penning, supplemented or not with Tonnus JCR, with the objective of evaluating the influence of this supplementation on the athletic potential of these animals.

Keywords: horses; lesion; sports; supplementation;

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Momentos em que as colheitas de sangue para a dosagem de lactato, glicose, CK, AST e LDH foram realizadas. ----- 15.

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AST – Aspartato aminotransferase

CK – Creatina quinase

GLI - Glicose

LACT - Lactato

LDH – Lactato desidrogenase

LISTA DE FIGURAS

- Gráfico 1.** Valores das mensurações de frequência cardíaca nos diferentes momentos, provas e grupos ----- 19.
- Gráfico 2.** Valores das mensurações de frequência respiratória nos diferentes momentos, provas e grupos. ----- 20.
- Gráfico 3.** Valores das mensurações plasmáticas de glicose nos diferentes momentos, provas e grupos. ----- 21.
- Gráfico 4.** Valores das mensurações plasmáticas de lactato nos diferentes momentos, provas e grupos. ----- 22.
- Gráfico 5.** Valores das concentrações séricas da enzima creatina quinase (CK) nos diferentes momentos, provas e grupos. ----- 23.
- Gráfico 6.** Valores das concentrações séricas da enzima aspartato aminotransferase (AST) nos diferentes momentos, provas e grupos. ----- 24.
- Gráfico 7.** Valores das concentrações séricas da enzima lactato desidrogenase (LDH) nos diferentes momentos, provas e grupos. ----- 25.

1. INTRODUÇÃO

Ao longo de séculos os cavalos têm sido selecionados pelas suas características específicas em diversas modalidades esportivas, sendo expostos a uma grande variedade de desafios como: intensidade e quantidade de treinos, competições, transporte, exames veterinários e introdução a novos grupos de animais (BERGHOLD; MÖSTL; AURICH, 2007; FAZIO et al., 2008; SCHMIDT et al., 2010).

Uma das atividades que pode demonstrar com clareza a exposição a esses desafios é o Team Penning, esporte originado nos Estado Unidos (Texas) no final do século 19, que se desenvolveu baseado na rotina de manejo do campo. Esta modalidade exige esforço físico e técnica, onde três competidores devem trabalhar simultaneamente com um nível alto de sintonia (OMENA, 2016).

Ao chegar ao Brasil, o Team Penning se popularizou. Os treinos e competições desta modalidade ocorrem em uma arena, dividida ao meio por uma linha imaginária marcada por uma bandeira, e em uma das extremidades estão 30 garrotes, na outra uma equipe de três competidores e um pequeno curral. Destes garrotes, três apresentarão uma identificação, seja por números ou cores, onde o objetivo será separá-los do lote e acompanhá-los até o curral, com um prazo limite de 120 segundos e, apenas os garrotes marcados podem ultrapassar a linha demarcada no centro (ABQM, 2014).

A participação dos competidores na arena é denominada passada, cada passada tem início no momento em que o locutor anuncia a liberação da pista. Assim, quando o primeiro cavalo ultrapassa a linha de partida, o locutor informa o número dos animais e o cronômetro é acionado, parando somente quando os três garrotes estiverem no curral pequeno com pelo menos um cavaleiro com a mão levantada ou quando os cavaleiros desistirem da passada. (ABQM, 2014).

Neste tipo de exercício que envolve velocidade máxima em curta duração, os depósitos de energia nas fibras musculares são consumidos rapidamente pela via anaeróbica, favorecendo o acúmulo de ácido láctico e a presença de amoníaco que contribuem para a lesão muscular (RICHARDSON et al., 2016). A produção excessiva de lactato no metabolismo e consequente acúmulo de íons hidrogênio, leva a uma queda do pH das células musculares, predispondo estas células à lesões musculares por fadiga e também, interferindo na

capacidade de produção de energia celular e desempenho atlético dos equinos (SECANI; LÉGA, 2009).

Em todas as atividades esportivas, o fornecimento energético se dá a partir das reservas disponíveis no organismo, que são o glicogênio, presente principalmente no fígado e no músculo esquelético, e tecido adiposo, na forma de triglicerídeos. (MARLIN; NANKERVIS, 2002). A energia obtida pela via aeróbica é dependente da função cardiorrespiratória e da capacidade de transporte de oxigênio pelo organismo do animal. Já o metabolismo anaeróbico fornece energia mais rapidamente e de forma mais direta, principalmente em situações de exercício intenso (HINCHCLIFF et al., 2008).

O conhecimento das diferentes utilizações de energia nas diferentes modalidades equestres permite a realização de estratégias específicas para maximizar as adaptações em diferentes tipos de animais (HINCHCLIFF; KANEPS; GEOR, 2014). Fatores como aptidão racial, especificidade do treinamento de velocidade, resistência, idade e memória muscular, mudam a forma de utilização da energia. A utilização da glicose pela via aeróbica e anaeróbia agem simultaneamente para a obtenção de energia, porém, a produção de energia aeróbica predomina na maioria das atividades equestres, que exigem principalmente, resistência ao exercício prolongado, sendo de grande importância uma rotina de treinamento para a adaptação a atividade exigida (ASSENZA et al., 2014).

As fibras musculares do tipo I promovem principalmente o metabolismo aeróbico em situações de percursos de longa distância e de intensidade moderada, porém em algumas competições como no Team Penning, há a necessidade de realizar provas em tempos determinados ou em menor tempo, levando a um aumento no trabalho metabólico, musculoesquelético e cardiovascular. Sendo assim, as fibras musculares do tipo IIA e IIX, consideradas como fibras anaeróbicas, possuem uma alta capacidade glicolítica, necessária para o suprimento da demanda energética (FRAIPONT et al., 2012; NAGY; DYSON; MURRAY, 2012; VOTION et al., 2007).

Quando a capacidade de abastecimento do oxigênio para a célula muscular é adequado, a glicose é degradada até CO_2 e H_2O . Porém, quando o oxigênio é insuficiente, o piruvato e íons de hidrogênio se combinam para formar ácido láctico, que em situações de grande esforço por um período de 20-120 segundos, pode atingir o limiar anaeróbio e as concentrações de lactato no plasma tendem a aumentar (BERGERO; ASSENZA; CAOLA, 2005; MILLS et al., 1996)

A avaliação da composição bioquímica sanguínea reflete de forma precisa a situação metabólica dos diversos tecidos, permitindo avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais, fisiológicos e desequilíbrios metabólicos. Estas alterações metabólicas, mesmo que pequenas, podem refletir processos capazes de reduzir substancialmente o potencial atlético do animal (HINCHCLIFF; KANEPS; GEOR, 2014).

As variabilidades das análises bioquímicas de equinos em exercício podem sofrer influências que o clínico deve estar familiarizado, a fim de determinar quando a doença pode estar presente e afetando o desempenho dos animais. A avaliação da atividade de enzimas musculares deve ser rotineira, tanto para mensuração de lesão muscular, como na assistência de animais com queda de desempenho (HINCHCLIFF; KANEPS; GEOR, 2014; MAHMOOD ALAM et al., 2012; TATEO et al., 2008).

A concentração plasmática de lactato no sangue tem sido utilizada para quantificar a intensidade do exercício, sendo amplamente estudada na medicina equina para estabelecer os níveis de condicionamento físico, podendo ser um indicador da capacidade cardiovascular e metabólica dos cavalos atletas (HODGSON; MCGOWAN; MCKEEVER, 2014; LEHNHARD et al., 2010). Este parâmetro mensurado no esforço moderado ou em velocidade submáxima é útil para diferenciar os animais de baixo desempenho daqueles que apresentam um bom desempenho, e para monitorar as mudanças no condicionamento durante programas de treinamento (HINCHCLIFF, et al., 2008).

O exame físico, associado à produção de lactato, é relevante para se estimar os efeitos do exercício de alta intensidade sobre o animal. A aferição da frequência cardíaca é de grande importância em equinos atletas, visando quantificar a intensidade da atividade, monitorando condicionamento físico e seus efeitos sobre o sistema cardiovascular. Espera-se então um aumento da frequência cardíaca em relação à intensidade do exercício, em resposta a atividade simpática gerada pela liberação de catecolaminas, aumento do volume sistólico e consequentemente o débito cardíaco, aumentando a oxigenação tecidual (THOMASSIAN et al., 2007)

A avaliação da glicemia é necessária para analisar a capacidade do organismo em manter a quantidade de glicose sanguínea para produção de energia, demonstrando também desempenho do equino correlacionando com o lactato produzido. O limiar de lactato, ponto onde se perde o equilíbrio dinâmico entre produção, utilização e remoção do lactato pelo

excesso de sua produção, é inversamente proporcional à curva de glicose plasmática (CAMARGO FERRAZ et al., 2009).

Em momentos de exercício físico, há uma queda inicial da quantidade de glicose sanguínea, devido a mobilização para a musculatura esquelética (TRILK et al., 2010). Entretanto, os baixos níveis glicêmicos estimulam a liberação de hormônios como catecolaminas, cortisol e glucagon, e estes são responsáveis por mobilizar uma série de reações metabólicas que culminam na reversão do atual quadro glicêmico (HINCHCLIFF *et al.*, 2008). Quando ocorre um aumento da concentração plasmática de glicose pela intensidade do exercício é definido como limiar de glicose (SIMÕES HG et al., 2003) correspondendo ao limiar de lactato, determinado quando os níveis de lactato plasmático ultrapassam 4mmol/l, denominado de V4, (CAMARGO FERRAZ et al., 2009) confirmando a capacidade da glicose em ser utilizada como indicador da capacidade aeróbica equina.

A identificação precoce da doença muscular aumenta a probabilidade de sucesso no tratamento e pode levar a uma diminuição do dano tecidual (MENARIM, et al., 2012). As lesões musculoesqueléticas são alterações inflamatórias ou degenerativas que podem causar dor e prejudicar as atitudes normais do animal (COTE et al., 2013). Estas podem ser caracterizadas pelo aumento sérico dos níveis de algumas enzimas relacionadas (BASHANDY et al., 2014).

As variadas alterações musculares possuem sinais clínicos semelhantes e inespecíficos, e por isso, a observação somente destes não são suficientes para o diagnóstico, sendo necessária a utilização de exames complementares como a dosagem da atividade enzimática da Creatina quinase (CK), Aspartato aminotransferase (AST) e Lactato desidrogenase (LDH) (TRIGO et al., 2010, FRANKLIN; ALLEN, 2014).

A CK, em condições de anaerobiose muscular, catalisa a fosforilação da adenosina difosfato (ADP) do fosfato de creatina, tornando então, a adenosina trifosfato (ATP) disponível para a contração muscular (CHANEY et al., 2004). Esta reação é a única fonte de energia para o início do exercício muscular, e posteriormente, a energia é fornecida pela oxidação da glicose em ácidos graxos (REED et al., 2009).

O aumento da atividade de CK ocorre em períodos relativamente curtos e sob exercícios intensos (BALARIN et al., 2005). O pico de atividade enzimática ocorre duas a quatro horas após a lesão muscular, e a meia vida em torno de duas horas (MCKENZIE, 2013), níveis altos e contínuos indicam lesão muscular ativa (THRALL et al., 2015).

AST é uma enzima citoplasmática e mitocondrial (VALBERG, 2008; THRALL et al., 2015). Esta catalisa a transaminação de L-aspartato e alfa-cetogluturato em oxaloacetato e glutamato. Por ser encontrada em quase todos os tecidos, a AST não possui atividade sérica específica, porém, nos tecidos muscular e hepático pode-se encontrar maiores níveis de atividade enzimática (CÂMARO E SILVA et al., 2007).

Distintas isoenzimas se encontram no citoplasma e nas mitocôndrias das células dos tecidos musculares esqueléticos, cardíacos e hepáticos. Quando a lesão tecidual hepática é branda, predomina no soro as isoenzimas provenientes do citoplasma. Entretanto, quando a lesão é grave ocorre liberação de isoenzimas mitocondriais (MOSS E HANDERSON, 1998).

Em casos onde há aumento nos valores de AST e o nível de CK permanece sem alteração, provavelmente são decorrentes de disfunção hepatobiliar e não em consequência a danos musculares (STOCKHAM, 1995). Os valores da AST aumentam entre 12 e 24 horas após a lesão inicial e sua meia vida na circulação é relativamente longa. As elevações podem persistir por até uma semana a 10 dias (CARSOLN et al., 1993, DI FILIPPO et al., 2008).

A enzima lactato desidrogenase (LDH) tem atividade em diversos tecidos e encontra-se envolvida na conversão do piruvato em lactato durante a glicólise (KINGSTON, 2004). A sua concentração sanguínea máxima é atingida 12 horas depois do exercício (VALBERG, 2009), podendo apresentar valores muito elevados em situações de lesão hepática ou muscular, ou em situações de hemólise (KINGSTON, 2004).

O desenvolvimento de práticas nutricionais em suplementações visa atender e complementar o requerimento energético e mineral dos equinos atletas. Assim, uma maior densidade de energia fornecida na alimentação pode ser melhor aproveitada, reduzindo as lesões musculares. Uma maior quantidade de nutrientes facilitaria o metabolismo de lipídeos no fígado e no músculo, concomitantemente favoreceria uma menor produção de CO₂ e de radicais livres após o exercício, auxiliando positivamente o desempenho de equinos em práticas esportivas. (HINCHCLIFF; KANEPS; GEOR, 2014; MATTOS et al., 2006).

Os minerais como cromo e selênio, assim como a vitamina E, evitam lesões musculares oxidativas. Estes são responsáveis por prevenir a produção de radicais livres no exercício intenso, e assim, favorecer um bom desempenho fisiológico no cavalo atleta. Assim, a suplementação de minerais na dieta torna-se essencial (PRIMIANO, 2010).

Tendo em vista esta importância, diversos suplementos têm sido desenvolvidos para equinos com o intuito de melhorar o desempenho atlético, acelerar o processo de recuperação

entre um exercício e outro, além de diminuir os riscos de lesões musculares. Dentre estes suplementos encontramos o Tonnus JCR pó.

Tonnus JCR pó é recomendado para equinos submetidos a esforços físicos intensos e extenuantes. Contém 40 elementos essenciais para a melhora do rendimento físico e manutenção do desempenho durante a competição e o esforço. Contém, em sua formulação, aminoácidos, com destaque para os Aminoácidos de Cadeia Ramificada (BCAA's) (Branched Chain Aminoacids), além de Gama-Orizanol (Hidroxi-Metil-Butirato), Cromo Quelato, Ômega 3, Pré e Probióticos. O produto tem o intuito de proporcionar a melhora da condição atlética dos cavalos, atuando na energia, força, resistência, recuperação e manutenção do desempenho (Acesso em <http://www.vetnil.com.br/linhas/linha-jcr/>).

Afirmar a eficácia dos suplementos baseados apenas no desempenho esportivo é subjetivo, porém aferindo os parâmetros fisiológicos e dosando os níveis de lactato, glicose, AST, CK e LDH nos cavalos durante as provas, antes e após a suplementação, será possível avaliar se há influência da suplementação no desempenho físico desses animais e na recuperação pós exercício.

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1. Animais

Para a realização do experimento foram utilizados 10 equinos da raça Quarto de Milha. Destes, seis foram fêmeas e quatro machos, com idade entre cinco e 13 anos, hígidos e utilizados na modalidade equestre Team Penning. Todos foram vacinados para Encefalomielite Equina Leste e Oeste, Influenza Equina, Rinopneumonite, tétano, Herpes Vírus Equino tipo 1 e 4 e vermifugados com ivermectina e mebendazol.

1.2. Critérios de Seleção dos Animais

Foram utilizados como critério de inclusão para seleção dos animais no experimento: Animais hígidos, sem doenças aparentes e com hemograma dentro da normalidade, além de já utilizados e adaptados a treinamentos e competições de Team Penning há pelo menos um ano. Os treinos eram realizados duas vezes por semana (terças e quintas feiras), sendo que os cavalos aqueciam por 30 minutos, e realizavam dez passadas alternadas por animal, com

tempo médio de 20 segundos cada passada. As provas ocorriam aos sábados com intervalo de 60 dias entre uma e outra, onde não havia tempo médio para cada passada, devido a quantidade de animais participantes e por serem ordenados na prova aleatoriamente.

Foram adotados como critério de exclusão animais que apresentaram miopatias e/ou doenças sistêmicas que pudessem comprometer os resultados, também foram excluídos animais que recebiam qualquer tipo de suplementação além de feno e ração.

Durante todo o período experimental, cada equino foi mantido em baias de alvenaria medindo 4x4m, a ração foi fornecida em duas porções de 2kg em cada período do dia (manhã e tarde) e feno de coast-cross (*Cynodon dactylon*) e água *ad libitum*.

1.3. Colheita das amostras

O trabalho foi dividido em duas etapas. Etapa 1, onde os animais formaram um único grupo (n=10) sem suplementação e Etapa 2, onde os mesmos animais utilizados na etapa 1 foram divididos de forma aleatória em dois grupos de 5 animais cada [grupo 1 com suplementação (n=5) e grupo 2 sem suplementação (n=5)]. Em ambas as etapas, foi realizado o exame físico dos animais, e avaliação plasmática de lactato e glicose e das enzimas CK, AST e LDH. As etapas 1 e 2 foram executadas conforme descrito a seguir.

1.3.1. Etapa 1.

Nesta etapa, os 10 cavalos formaram um único grupo e foram submetidos ao exame físico e a dosagem plasmática de lactato e glicose e sérica de CK, AST e LDH em diferentes momentos.

O exame físico foi realizado com o animal em repouso (antes do início da prova), após cada uma das passadas e após trinta minutos do término do exercício, totalizando 12 avaliações por animal. No exame foram avaliados a frequência respiratória, frequência cardíaca, tempo de preenchimento capilar (TPC), coloração de mucosa e temperatura retal de acordo com FEITOSA (2014).

As amostras foram colhidas na prova em diferentes momentos (M): em repouso (M0), imediatamente após o animal realizar uma passada (M1), após duas passadas (M2), após três passadas (M3), após seis passadas (M4), após oito passadas (M5), após dez passadas (M6) e

30 minutos após o término da décima passada (M7), após 6 horas (M8), após 12 horas (M9), após 24 horas (M10) e após 48 horas (M11) do término do treino ou da competição.

Para a quantificação de lactato e glicose, as colheitas de sangue foram realizadas em oito diferentes momentos: M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6 e M7. As dosagens de CK, AST e LDH foram utilizadas as colheitas dos momentos M0, M8, M9, M10 e M11, (**Tabela 1**). As amostras foram colhidas por venopunção da jugular externa em sistema a vácuo com agulha 21G, utilizando tubos contendo fluoreto de sódio para obtenção de plasma.

Logo após a colheita, as amostras foram centrifugadas a 720g por cinco minutos para obtenção de soro para a dosagem de CK, AST e LDH e de plasma para determinação de glicose e lactato. As amostras de soro e plasma foram armazenadas em tubos plásticos de 1,5ml, refrigeradas e encaminhadas para o laboratório, onde as concentrações de CK, AST, LDH e glicose foram realizadas em até 12 horas após a colheita e uma alíquota de plasma de cada cavalo do M0 ao M7 foi imediatamente congelada a -20° C para posterior dosagem do lactato.

Tabela 1: Momentos em que as colheitas de sangue para a dosagem de lactato e glicose, CK, AST e LDH foram realizadas.

	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11
	GLI	GLI	GLI	GLI	GLI	GLI	GLI	GLI	-	-	-	-
COLHEITAS	LACT	LACT	LACT	LACT	LACT	LACT	LACT	LACT	-	-	-	-
	CK	-	-	-	-	-	-	-	CK	CK	CK	CK
	AST	-	-	-	-	-	-	-	AST	AST	AST	AST
	LDH	-	-	-	-	-	-	-	LDH	LDH	LDH	LDH

M0: repouso, M1:após uma passada, M2:após duas passadas, M3:após três passadas, M4: após seis passadas, M5:após oito passadas, M6: após 10 passadas, M7: 30 minutos após o término da décima passada, M8: após 6 horas, M9: após 12 horas, M10: após 24 horas, M11: após 48 horas, Lactato (LACT), Glicose (GLI), Aspartato aminotransferase (AST); Creatina quinase (CK); Lactato desidrogenase (LDH);

1.3.2. Etapa 2

Nesta etapa, os animais foram divididos de forma aleatória em dois grupos de cinco animais cada. Os cavalos do grupo 1 foram suplementados com 50 gramas do Tonnus JCR Pó duas vezes ao dia totalizando 100 gramas por animal, durante 60 dias. Enquanto os cavalos do grupo 2 não foram suplementados. Durante o período experimental os cavalos de ambos os grupos receberam a mesma alimentação e tiveram a mesma rotina de treinamento.

Após 60 dias consumindo o suplemento, foi realizada uma nova avaliação, em ambos os grupos. O exame físico geral e as colheitas de sangue para dosagem de CK, AST, LDH, lactato e glicose, foram realizadas seguindo o mesmo protocolo utilizado na Etapa 1.

1.4. Exames Laboratoriais

A determinação quantitativa de CK, AST, LDH, lactato e glicose foi realizada utilizando kit comercial Labtest[®], seguindo as recomendações do fabricante, com leitura no analisador automático de bioquímica ChemWell[®].

1.5. Análise Estatística

Os resultados obtidos geraram médias aritméticas e desvio padrão e foram submetidos a análise estatística utilizando o programa Graphpad Prism software v 6.03 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA). A frequência cardíaca, frequência respiratória e os resultados das análises bioquímicas sanguíneas nos diferentes momentos foram avaliados por análise de variância (Two-way RM ANOVA). Nas situações onde os resultados foram significativos, o pós-teste de Bonferroni foi aplicado. Para comparação entre o mesmo grupo em treinos diferentes utilizou-se o teste pareado e para comparação entre os grupos foi realizado o teste não pareado.

2. RESULTADOS

Os parâmetros fisiológicos dos animais, não apresentaram alterações nas avaliações. Em ambos os grupos os animais apresentavam-se com as mucosas róseas e TPC 2” em todas as avaliações.

Para o parâmetro FC não houve diferença significativa entre as provas no grupo 1 ($p=0,9019$) e no grupo 2 ($p=0,4650$), e entre os grupos na prova 1 ($p=0,6898$) e na prova 2 ($p=0,3448$). Os resultados estão representados no gráfico 1.

Nos resultados encontrados para FR houve diferença entre as provas no grupo 1 ($p<0,0001$), no qual na prova 2, pós suplementação, encontrou-se um valor inferior ao observado na prova 1 nos momentos M3 (após 3 passadas) e M4 (após 6 passadas). Não houve diferença estatística entre as provas no grupo 2 ($p=0,1496$) e também entre os grupos 1

e 2 na prova 1 ($p=0,8065$) e prova 2 ($p=0,1623$). Os valores para este parâmetro encontram-se no gráfico 2.

Os níveis de glicose estão apresentados no gráfico 3. Para os valores de glicose plasmática foi possível observar uma redução entre as provas no grupo 1 no M0 (repouso), entretanto não houve diferença entre as provas no grupo 2 ($p=0,4460$) e também entre os grupos 1 e 2 na prova antes da suplementação ($p=0,4090$) e após a suplementação ($p=0,2376$).

Os resultados obtidos pelas análises de lactato estão no gráfico 4. Foi possível observar uma diferença significativa ($p=0,0208$) entre as provas no grupo 1, em que o grupo suplementado apresentou um aumento nos níveis de lactato plasmático comparado ao grupo não suplementado. Para o grupo 2 ($p=0,4930$) não houve diferença significativa entre as provas e entre os grupos 1 e 2 antes ($p=0,8112$) e após ($p=0,6065$) a suplementação.

Na análise do soro sanguíneo, os teores de CK não tiveram diferença significativa entre as provas tanto para o grupo 1 ($p=0,2202$) quanto para o grupo 2 ($p=0,4985$) e entre os grupos nas provas 1 ($p=0,9845$) e 2 ($p=0,3254$), representados no gráfico 5. Para AST houve uma diferença significativa entre as provas no grupo 1, no qual no M11 os valores de AST foram inferiores na prova 2 para o grupo 1 ($p=0,0155$). Não houve diferença significativa entre os grupos 1 ($p=0,3201$) e 2 ($p=0,3460$) nas duas provas e também entre as provas para o grupo 2.

Para os valores de LDH, foi encontrada diferença estatística entre as provas no grupo 1 ($p=0,0032$) no M8 (após 6 horas), mas não houve diferença entre as provas tanto no grupo 2 ($p=0,0599$) quanto entre os grupos 1 ($p=0,9343$) e 2 ($p=0,5725$) nas duas provas.

Durante todo o período experimental os animais se mantiveram saudáveis, sem qualquer alteração comportamental ou efeito adverso da suplementação utilizada.

GRÁFICO 1: Valores das mensurações de frequência cardíaca (FC) nos diferentes momentos, provas e grupos.

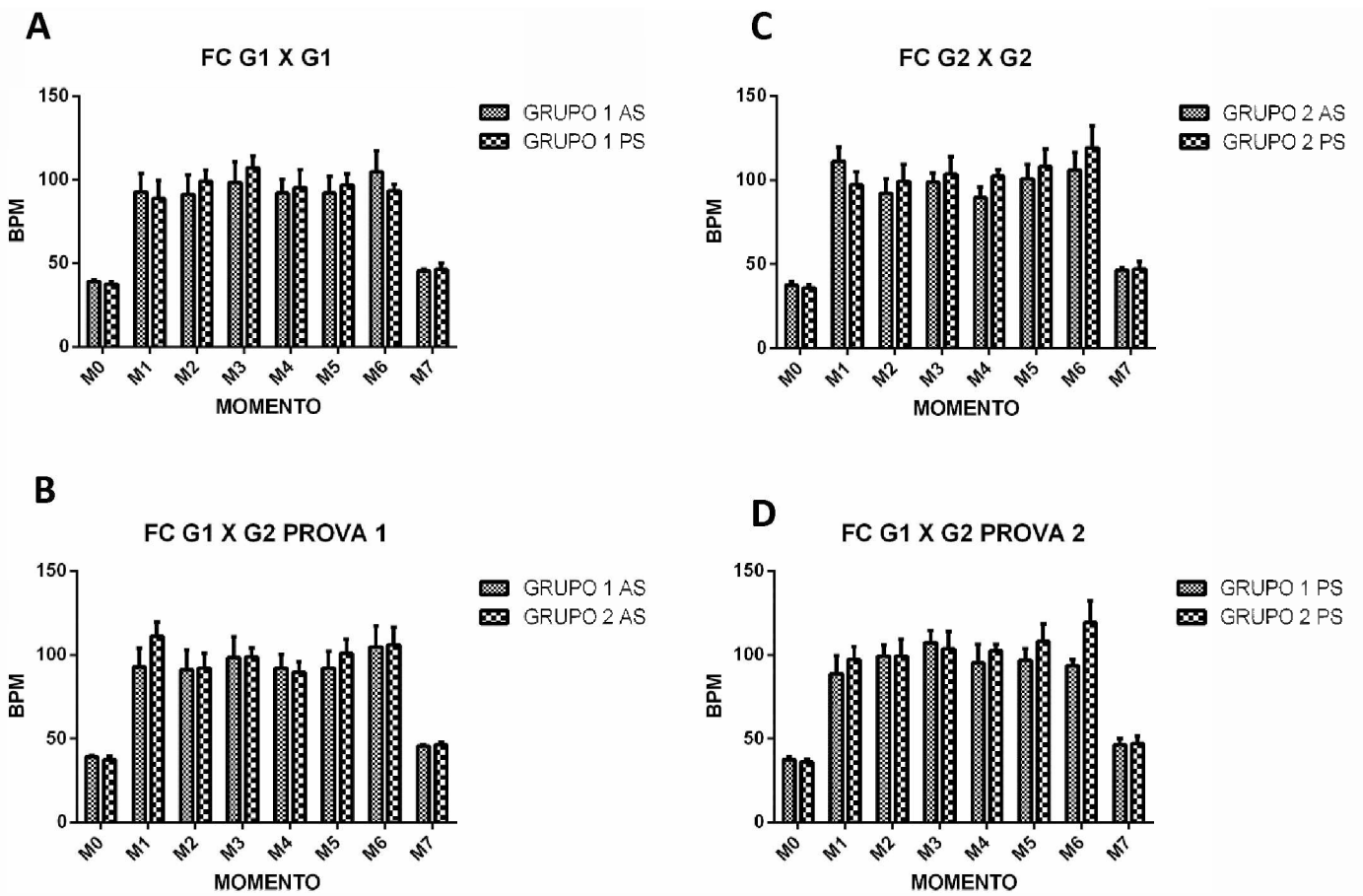


Gráfico 1: Gráfico A: Comparação do Grupo 1 na prova 1 e prova 2. Gráfico B: Comparação do Grupo 1 e Grupo 2 na prova 1. Gráfico C: Comparação entre o Grupo 2 na prova 1 e prova 2. Gráfico D: Comparação entre o Grupos 1 e 2 na prova 2. AS: Antes da suplementação. PS: Pós suplementação.

GRÁFICO 2: Valores das mensurações de frequência respiratória (FR) nos diferentes momentos, provas e grupos.

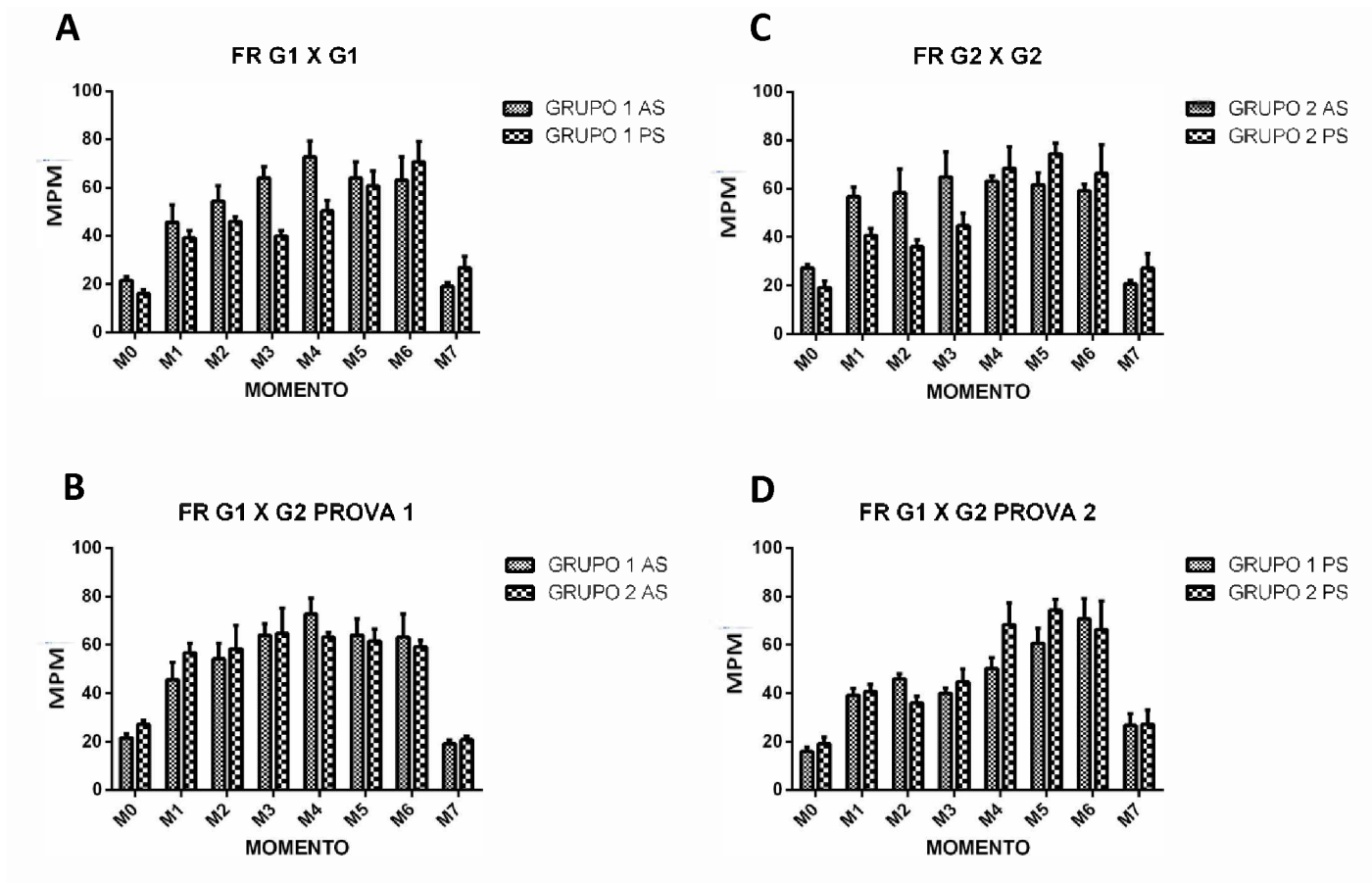


Gráfico 2: Gráfico A: Comparação do Grupo 1 na prova 1 e prova 2. Gráfico B: Comparação do Grupo 1 e Grupo 2 na prova 1. Gráfico C: Comparação entre o Grupo 2 na prova 1 e prova 2. Gráfico D: Comparação entre o Grupos 1 e 2 na prova 2. AS: Antes da suplementação. PS: Pós suplementação.

GRÁFICO 3: Valores das concentrações plasmáticas de glicose nos diferentes momentos, provas e grupos.

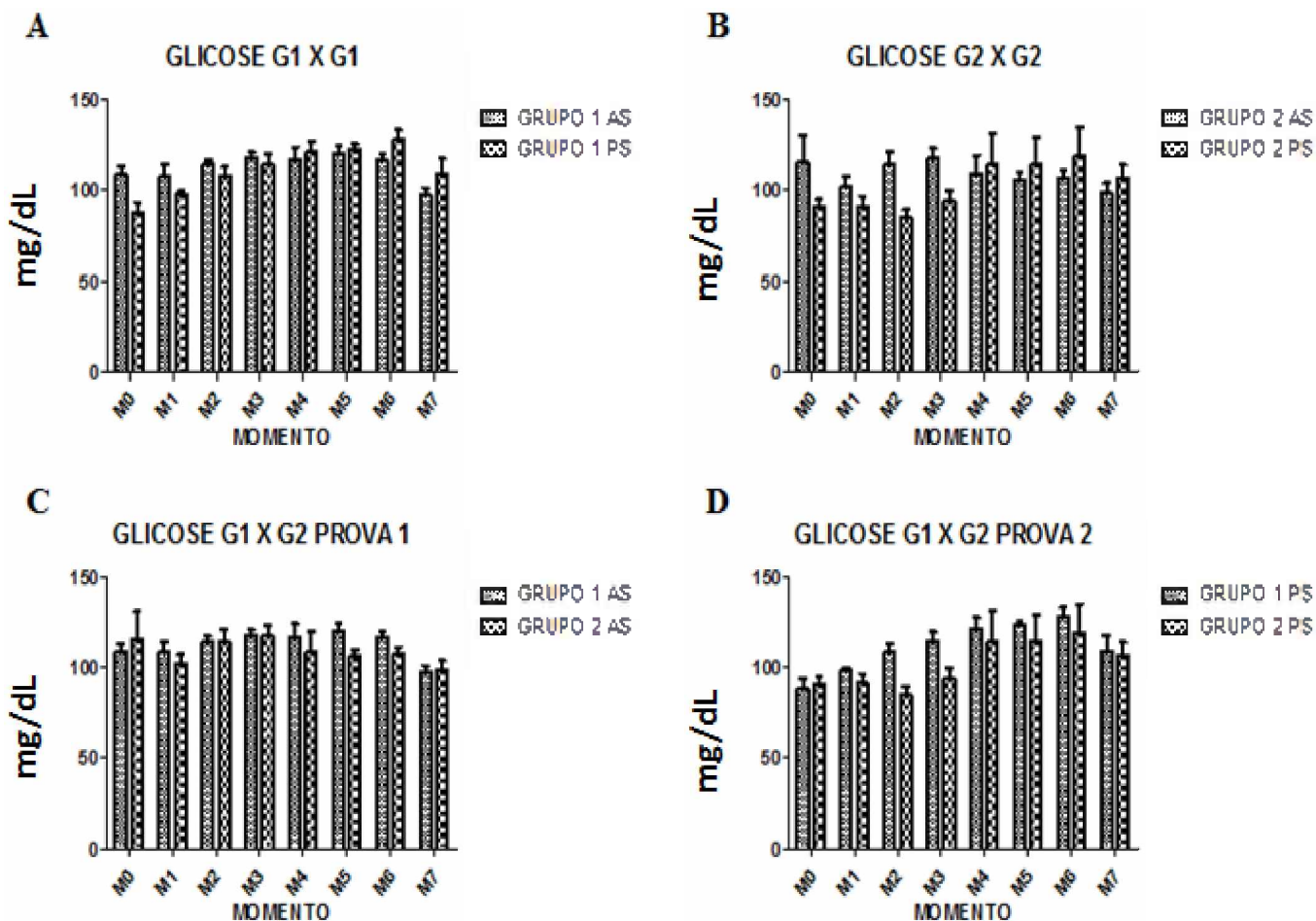


Gráfico 3: Gráfico A: Comparação do Grupo 1 na prova 1 e prova 2. Gráfico B: Comparação do Grupo 1 e Grupo 2 na prova 1. Gráfico C: Comparação entre o Grupo 2 na prova 1 e prova 2. Gráfico D: Comparação entre o Grupos 1 e 2 na prova 2. AS: Antes da suplementação. PS: Pós suplementação.

GRÁFICO 4: Valores das concentrações plasmáticas de lactato nos diferentes momentos, provas e grupos

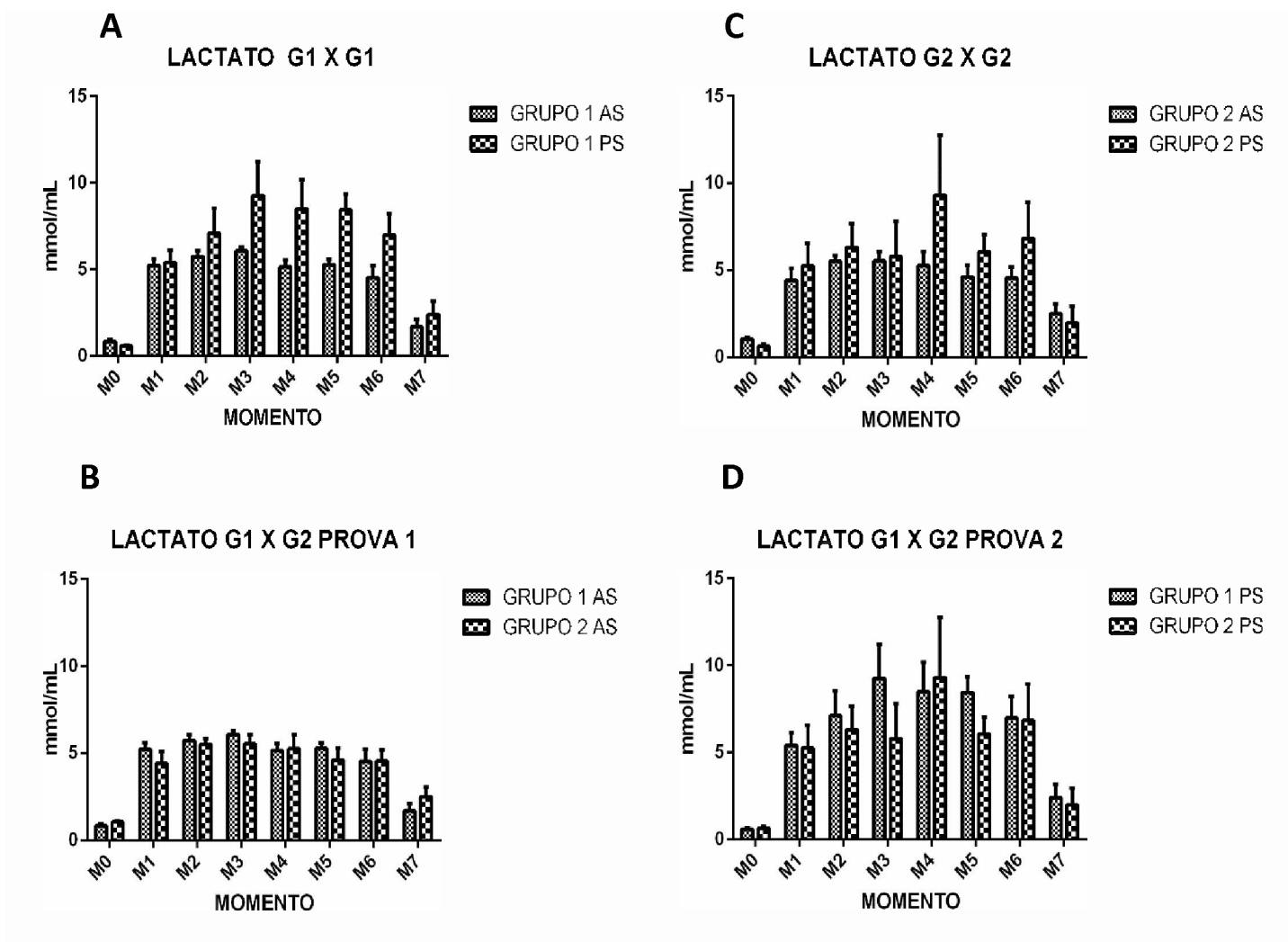


Gráfico 4: Gráfico A: Comparação do Grupo 1 na prova 1 e prova 2. Gráfico B: Comparação do Grupo 1 e Grupo 2 na prova 1. Gráfico C: Comparação entre o Grupo 2 na prova 1 e prova 2. Gráfico D: Comparação entre o Grupos 1 e 2 na prova 2. AS: Antes da suplementação. PS: Pós suplementação.

GRÁFICO 5: Valores das concentrações séricas da enzima creatina quinase (CK) nos diferentes momentos, provas e grupos

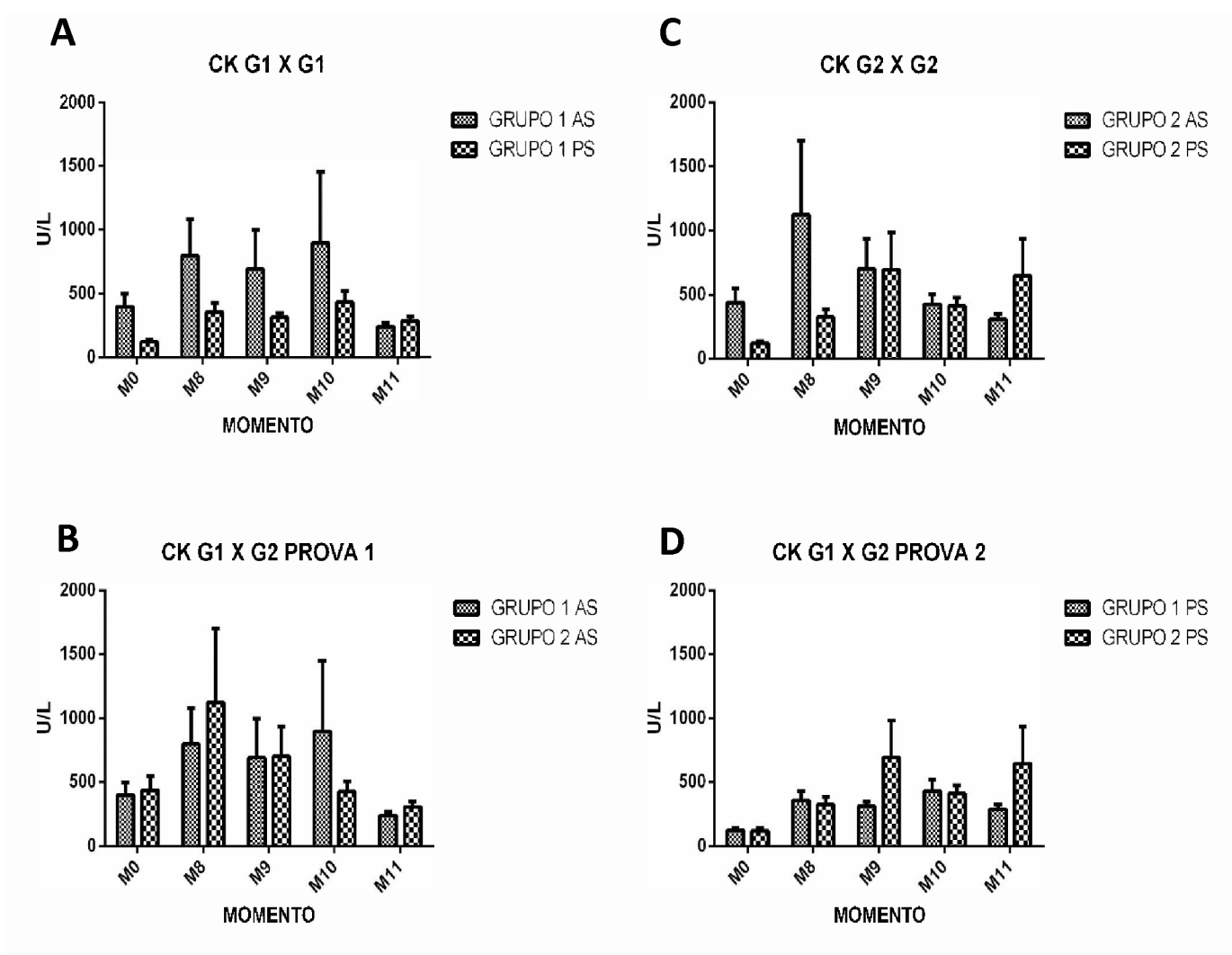


Gráfico 5: Gráfico A: Comparação do Grupo 1 na prova 1 e prova 2. Gráfico B: Comparação do Grupo 1 e Grupo 2 na prova 1. Gráfico C: Comparação entre o Grupo 2 na prova 1 e prova 2. Gráfico D: Comparação entre o Grupos 1 e 2 na prova 2. AS: Antes da suplementação. PS: Pós suplementação.

GRÁFICO 6: Valores das concentrações séricas da enzima aspartatoamino-transferase (AST) nos diferentes momentos, provas e grupos.

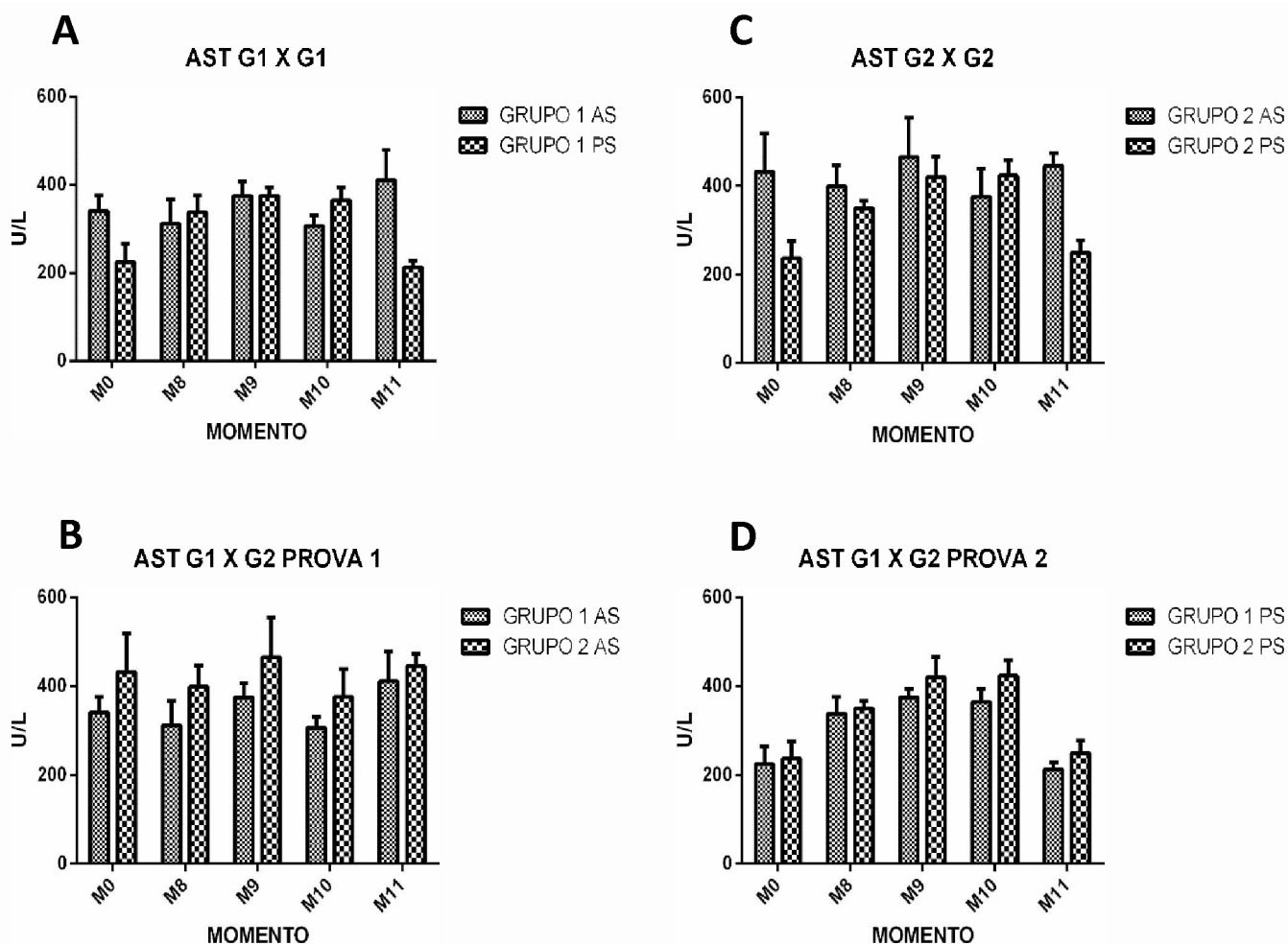


Gráfico 6: Gráfico A: Comparação do Grupo 1 na prova 1 e prova 2. Gráfico B: Comparação do Grupo 1 e Grupo 2 na prova 1. Gráfico C: Comparação entre o Grupo 2 na prova 1 e prova 2. Gráfico D: Comparação entre o Grupos 1 e 2 na prova 2. AS: Antes da suplementação. PS: Pós suplementação.

GRÁFICO 7: Valores das concentrações séricas da enzima lactato desidrogenase (LDH) nos diferentes momentos, treinos e grupos.

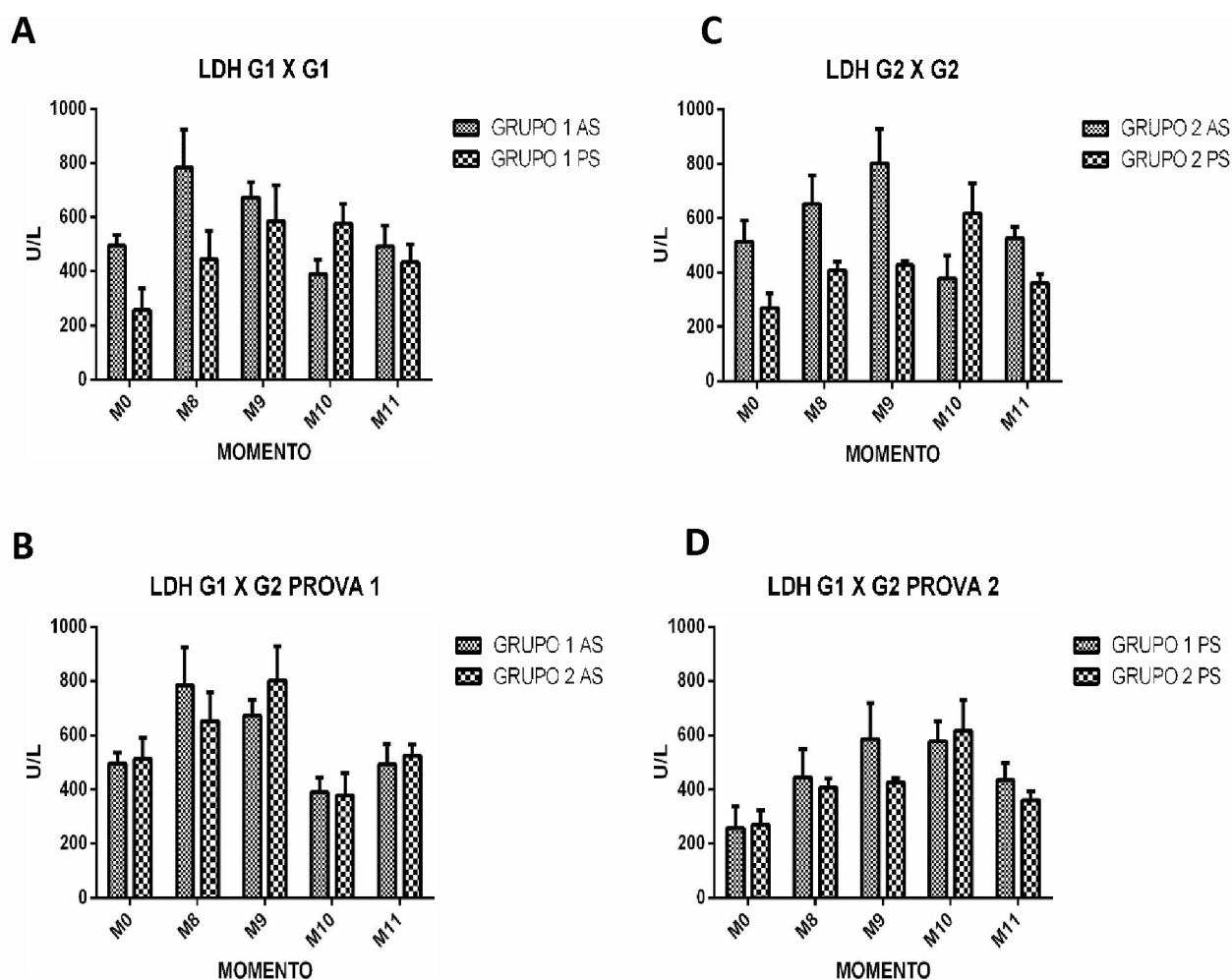


Gráfico 7: Gráfico A: Comparação do Grupo 1 na prova 1 e prova 2. Gráfico B: Comparação do Grupo 1 e Grupo 2 na prova 1. Gráfico C: Comparação entre o Grupo 2 na prova 1 e prova 2. Gráfico D: Comparação entre o Grupos 1 e 2 na prova 2. AS: Antes da suplementação. PS: Pós suplementação.

3. DISCUSSÃO

A avaliação dos parâmetros vitais frequência cardíaca (FC) e frequência respiratória (FR) são importantes para a avaliação do desempenho de um cavalo atleta, uma vez que refletem o aporte sanguíneo e de oxigênio para os tecidos com a finalidade de produção de energia nas fibras musculares. O aumento desses parâmetros é então proporcional e esperado durante um exercício físico extenuante (CAMARGO FERRAZ et al., 2009).

Pode-se observar no gráfico 1, que houve aumento da FC do M1 ao M6, este aumento pode ser justificado pela ação do sistema nervoso simpático, liberação de catecolaminas como adrenalina e de cortisol que levam a um aumento da força de contração e do débito cardíaco para compensar a demanda de oxigênio tecidual (FERRAZ, et., al, 2010).

O aumento da FR (gráfico 2), do M1 ao M6 é justificado pela necessidade de suprir as trocas gasosas nos tecidos e auxiliar na dissipação do calor produzido durante metabolismo energético (CHAVES, et., al. 2016).

No M7 (30 minutos após a última passada) foi possível observar que a FC e FR reduziram-se próximo aos seus valores normais, esta redução após o exercício reflete o bom condicionamento físico e adaptação frente ao exercício exigido o que pode ser confirmado pela rotina de treinos semanais dos animais estudados (BELLO, et. al., 2012).

O cromo é um componente presente no suplemento utilizado, e é responsável por aumentar a sensibilidade celular a insulina e conseqüentemente a captação de glicose reduzindo seus níveis plasmáticos (GONÇALVES, et., al, 2008) o que pode explicar o fato de os equinos suplementados apresentarem menores valores plasmáticos de glicose no repouso (M0). Esta redução também pode ser justificada pela utilização de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA's ou AACR) que são extensivamente oxidados para energia no músculo esquelético, estimulando a produção de insulina e aumentando sua utilização como energia (URSCHEL, et., al. 2013).

Após o M0 pode-se observar um pequeno aumento nas concentrações de glicose plasmática mantendo-se muito próximos durante os momentos subseqüentes (gráfico 3). Sua concentração sistêmica é regularizada por uma série de mecanismos homeostáticos, envolvendo o controle endócrino pela insulina e do glucagon e de glicocorticoides, principalmente cortisol. (FONSECA, et., al, 2008).

Com o exercício, ocorre à liberação de ACTH (adrecorticotropina) pela hipófise anterior, que vai atuar no córtex da adrenal para a secreção de cortisol, que, por sua vez, tem efeito

antagônico a insulina, reduzindo a captação de glicose para os músculos, estimula a gliconeogênese no fígado e facilita a ação do glucagon, aumentando os níveis de glicose plasmática, sendo portanto, hiperglicemiante (CANALI; KRUEL, et., al. 2001).

A mensuração da concentração do lactato no plasma esclarece sobre o condicionamento físico dos equinos atletas. Após o exercício ocorre um aumento de sua produção pela glicólise anaeróbica (CHAVES, et. al, 2016). O lactato avaliado neste estudo apresentou uma diferença entre os grupos, obtendo valores superiores para os animais suplementados no grupo 1.

De acordo com Lopes et. al., 2009, as condições ambientais em locais de competição como poluição sonora, contato com outros animais e temperaturas ambientes elevadas interferem nos parâmetros bioquímicos e fisiológicos dos equinos devido ao estresse relacionado ao exercício. Este mesmo autor também afirma que uma maior formação de lactato é proporcional a intensidade do exercício físico e estresse o que possivelmente justifica um aumento dos teores de lactato no grupo 1 na prova 2.

Devido a quantidade de animais na prova, a ordem das passadas era definida de forma aleatória, não havendo sincronia entre os animais estudados e tempo médio entre elas, como nos treinos, o que definia a mesma exigência para todos os animais. Como a formação de lactato é proporcional à intensidade do exercício, na prova, alguns animais eram mais exigidos que outros, com passadas muito próximas o que pode provocar maior formação de lactato.

No gráfico 4 referente aos teores de lactato pode-se observar um rápido aumento da concentração após o M1 (após a primeira passada), podendo ser explicado pelo metabolismo anaeróbico exigido nesta modalidade, onde o piruvato é reduzido a ácido láctico (SMITH; MARKS; LIEBERMAN, et., al, 2007), e posteriormente, é rapidamente convertido a lactato levando ao seu acúmulo (SECANI; LÉGA, et., al, 2009).

Outro fator, segundo a avaliação do gráfico 4, todos os animais no M7 apresentaram uma rápida queda nas concentrações plasmáticas de lactato 30 minutos após a última passada, o que reflete a um bom condicionamento físico e adaptação dos animais pela capacidade de metabolização e retirada deste acúmulo de lactato nas fibras musculares (MARQUEZE, et. al., 2001).

Em equinos, a enzima Creatina quinase (CK) esta presente principalmente no músculo esquelético, coração e tecido nervoso, e em casos de lesões que promovam o aumento de permeabilidade celular, esta enzima apresenta aumento sérico sanguíneo. Porém, ocorre pouca troca entre o tecido nervoso e o plasma, devido a isso, os aumentos plasmáticos dessa enzima

se devem a lesões no miocárdio e músculo esquelético principalmente, o que a define como um bom parâmetro para análise de lesão muscular (REED, et., al 2000).

No gráfico 5 pode-se observar que ocorre um aumento das concentrações de CK no M8, acompanhando o seu pico de concentração plasmática de duas a quatro horas após esforço físico, havendo uma redução no plasma após 48 horas da prova, porém, os cavalos do grupo 1 após a suplementação na prova 2 apresentaram menores concentrações de CK em todos os momentos em relação do grupo não suplementado durante todas as colheitas, indicando uma menor lesão muscular e uma melhor resistência nos cavalos que foram suplementados.

No M11 (48 horas após o término da prova 2) houve uma redução nos valores séricos da AST, no grupo 1 após a suplementação, acompanhado os menores valores de CK neste grupo, o que pode sugerir, que houve também menor lesão muscular e melhor resistência ao exercício. A AST é encontrada em vários tecidos do organismo, e, portanto, não é específica para sozinha detectar lesões musculares em equinos (MIRANDA, et, al. 2009). Sua avaliação em conjunto com CK é essencial para realização de um diagnóstico correto e acompanhamento da evolução dessas possíveis lesões musculares (MACHADO, et., al. 2011). Além da diferença na especificidade de tecidos, estas enzimas ainda, apresentam tempo de metabolização e consequente depuração e eliminação diferentes, o que realça que devem ser avaliadas em conjunto, podendo definir lesões musculares como recentes e ativas ou não ativas(REFERENCIA??). Avaliando CK e AST em conjunto também para o grupo suplementado, houve um aumento das concentrações de CK após o M8 e uma consequente queda destas concentrações após o M11 com valores mais baixos de AST, o que define uma lesão muscular não ativa.

Essa observação mostra que houve esforço muscular durante o exercício, porém não houve lesão em longo prazo o que concorda com C. Franciscato et., al. 2006, que avaliaram a atividade sérica das enzimas AST e CK em cavalos Crioulos, e diz que, aumentos séricos de CK indica uma necrose muscular ativa ou recente, porém, quando há um declínio desta enzima indica que a necrose não é mais ativa, visto que a meia vida da CK é de menos de 24 horas e de AST pode chegar até oito dias.

Segundo Abreu et., al. 2008, em um trabalho realizado com cavalos submetidos a policiamento, onde foi testado a suplementação com vitamina E e selênio e avaliou-se a sua influência sobre as enzimas séricas CK e AST e alguns parâmetros hormonais, notou-se que houve uma redução na concentração sérica dessas enzimas após suplementação, o que pode também justificar a redução de AST no M11 e as menores concentrações de CK no grupo

suplementado, visto que estes elementos fazem parte da composição do produto Tonnus JCR, atuando como antioxidantes, protegendo as células e os tecidos contra as lesões oxidativas provocadas por um exercício extenuante.

Neste trabalho as concentrações de LDH aumentaram após o M8, o que mostra a ocorrência do metabolismo anaeróbico muscular, porém, no grupo suplementado observou-se uma menor elevação da concentração desta enzima em relação ao não suplementado.

A LDH é uma enzima presente na maioria dos tecidos e que possui diversas isoenzimas, sendo pouco específica para avaliação de lesões teciduais musculares, devido a isso, sua avaliação deve ser acompanhada de AST e CK (RIBEIRO, et., al. 2004). É também um marcador da atividade anaeróbica muscular, pois, ela catalisa o piruvato a lactato na via glicolítica, conseqüentemente, apresenta um aumento nos níveis séricos em exercícios de alta intensidade (CHAVES, et., al. 2016).

Devido a sua reduzida especificidade para diagnosticar lesões musculares, sua avaliação juntamente com CK e AST pode ser utilizada para observar a progressão e gravidade das lesões musculares, em casos que, sua elevação acompanha também estas enzimas, mesmo após seus respectivos tempos de depuração e eliminação sanguínea (SOUZA, 2013). A avaliação dos teores de CK, AST acompanhada da de LDH para os animais suplementados demonstram então lesão muscular recente ou ativa após o exercício, porém com ausência de carácter progressivo ou presença de lesão grave, de acordo a redução após o M11 (48 horas após a última passada), com menores valores para o grupo suplementado.

O treinamento adequado e condicionamento físico também podem diminuir os valores séricos de LDH devido à adaptação ao exercício exigido, (SOUZA, 2013; RUDOLPH et., al. 1993) o que possivelmente pode ser considerado para os animais deste estudo devido também a rotina de treinos realizados.

4. CONCLUSÃO

A utilização da suplementação com Tonnus JCR Vetnil contribuiu possivelmente para a redução dos teores de CK, AST e LDH. A falta de tempo médio entre as passadas e o estresse na prova pode ter interferido nos resultados encontrados para as concentrações de lactato, uma vez que sua produção acompanha a intensidade do exercício, porém, avaliando todos os resultados encontrados, a partir da depuração das enzimas e das concentrações de lactato sanguíneo reduziram-se após o exercício, pode-se concluir que, a suplementação contribuiu

para uma melhor resistência muscular e menor lesão muscular nos animais suplementados neste estudo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABQM. Regulamento geral de concurso e competições Quarto de Milha. Setembro 2014. p. 1–182, 2014.

ABREU, L.F.; MÓDOLO, F.G.; LYRA, J.G.; PACHECO, J.L.; GONÇALVES, G.; CALDERON, R. Avaliação hematológica e de marcadores musculares (creatina quinase, aspartato aminotransferase e lactato desidrogenase) em equinos submetidos à atividade de policiamento, suplementados com vitamina E e selênio. Boucatu: [s.n.], 2008

ASSENZA, A. et al. Evaluation of serum electrolytes and blood lactate concentration during repeated maximal exercise in horse. **Journal of Equine Veterinary Science**, 2014.

BELLO, C.A.O.; DUMONT, C.B.S.; SOUZA, T.C.; PALMA, J.M.; LIMA, M. M.. Avaliação eletrocardiográfica de equinos após exercício de polo (baixo *handicap*). *Pesq. Vet. Bras.* 32(Supl..1):47-52, dezembro 2012.

BERGERO, D.; ASSENZA, A.; CAOLA, G. Contribution to our knowledge of the physiology and metabolism of endurance horses. **Livestock Production Science**, v. 92, n. 2, p. 167–176, 2005.

BERGHOLD, P.; MÖSTL, E.; AURICH, C. Effects of reproductive status and management on cortisol secretion and fertility of oestrous horse mares. **Animal reproduction science**, v. 102, n. 3–4, p. 276–85, dez. 2007.

CAMARGO FERRAZ, G. et al. Respostas ao exercício de intensidade crescente em equinos: Alterações na glicose, insulina e lactato.. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1332–1338, 2009.

CAPELLETO, E.C., ANGELI, A.L.; GRAFF, H. Respostas Fisiológicas em Quarto-de-milha após prova de tambor. Ver. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient., Curitiba, v.7, n.3, p.299-304, jul./set. 2009.

CHAVES, A.A. Avaliação dos parâmetros físicos vitais, hematológicos e bioquímicos de equinos quarto de milha submetidos à prova de três tambores com diferentes frequências de treinamento. Araçatuba: [s.n], 2016. 57 f. il.; CD-ROM. Serviço de Biblioteca e Documentação - FMVA/UNESP

EVANS, D.L., RAINGER, J.E., HODGSON, D.R., EATON, M.D., ROSE, R.J. The effects of intensity and duration of training on blood lactate concentrations during and after exercise. Equine Veterinary Journal, Equine vet.J., Suppl. 18(1995) 422-425.

FAZIO, E. et al. Effects of competition experience and transportation on the adrenocortical and thyroid responses of horses. **The Veterinary record**, v. 163, n. 24, p. 713–6, dez. 2008.

FEITOSA, F. L. **Semiologia Veterinária - A Arte do Diagnóstico**. 3ed. ed. São Paulo: ROCA, 2014.

FERRAZ, G.C.; TEIXEIRA NETO, A.R., PEREIRA, M.C.; LINARDI, R.L.; LACERDA NETO, J.C.; QUEIROZ NETO, A. Influência do treinamento aeróbico sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos. Arq. Bras. Med.Vet. Zootec., v.62, n.1, p.23-29, 2010.

FONSECA, L.A. Avaliação hematológica, bioquímica e hormonal em equinos submetidos à atividade de policiamento sob influência da suplementação de vitamina E, selênio e cromo - Botucatu: [s.n.], 2008.

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. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.41, n.10, p.1516-1565, out, 2006.

FRAIPONT, A. et al. Assessing fitness in endurance horses. **The Canadian veterinary journal = La revue vétérinaire**, v. 53, n. 3, p. 311–4, mar. 2012.

FRANKLIN, S.; ALLEN, K. Laboratory exercise testing. In: **Equine Sports Medicine and Surgery**. Second Edi ed. New York: Elsevier/Saunders, 2014. v. Second Edip. 11–24.

HINCHCLIFF, K. W. (KENNETH W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine exercise physiology : the science of exercise in the athletic horse**. [s.l.] Saunders/Elsevier, 2008.

HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Second Edi ed. New York: Elsevier/Saunders, 2014. v. Second Edi

HODGSON, D. R.; MCGOWAN, C. M.; MCKEEVER, K. H. **The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine**. [s.l.] Elsevier/Saunders, 2014.

LEHNHARD, R. A. et al. Variations in lactate during a graded exercise test due to sampling location and method. **Comparative Exercise Physiology**, v. 7, n. 2, p. 81–87, maio 2010.

LOPES, K.R.F.; BATISTA, J.S.; DIAS, R.V.C.; BLANCO, B.S.; Influência das competições de vaquejada sobre os parâmetros indicadores de estresse em equinos. *Ciência Animal Brasileira*, v.10, n.2, p.538-543, abr./jun. 2009.

MACHADO, J.P.R.G. Fisiologia do exercício em cavalos - Determinação do limiar anaeróbio e sua relação com a condição física e desempenho desportivo. Universidade técnica de lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2011.

MAHMOOD ALAM, J. et al. Alam MJ et al. Correlation of Creatine kinase and myoglobin
Correlation of Creatine Kinase and Myoglobin concentrations in patients suffering from debilitated conditions related to Myopathies. **Pakistan Journal of Rehabilitation**, v. 1, n. 1, 2012.

MARLIN, D.; NANKERVIS, K. J. **Equine exercise physiology**. [s.l.] Blackwell Science, 2002.

MARQUEZE, A.; KESSLER, A.M.; BERNARDI, M.L. Aumento do nível de óleo em dietas isoenergéticas para cavalos submetidos a exercício. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n.3, p.491-496, 2001.

MATTOS, F. et al. Uso de óleo na dieta de eqüinos submetidos ao exercício. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1373–1380, 2006.

MILLS, P. C. et al. Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. **Eur J Appl Physiol**, v. 74, p. 60–66, 1996.

NAGY, A.; DYSON, S. J.; MURRAY, J. K. A veterinary review of endurance riding as an international competitive sport. **V t r i ry j o u r n a l (L o o , E g l : 1997)**, v. 194, n. 3, p. 288–93, dez. 2012.

PRIMIANO, M. Manejo e nutrição do cavalo atleta. **Cães e Gt**, p. 16–18, 2010.

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 resistência de 76 km, no Pantanal do Mato Grosso, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.34, n.4, p.1081-1086, jul-ago, 2004.

RICHARDSON, K. et al. Accepted Manuscript Fibre for performance horses: A review Title page information for Manuscript Number: JEVS-D-15-00103R1 Title: Fibre for performance horses: A review. **Journal of Equine Veterinary Science**, 2016.

SECANI, A.; LÉGA., E. Fisiologia do exercício em equinos. *Nucleus Animalium*, v.1, n.2, nov. 2009

SCHMIDT, A. et al. Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport. **Domestic animal endocrinology**, v. 38, n. 3, p. 179–89, abr. 2010.

SIMÕES HG et al. Blood glucose threshold and the metabolic responses to incremental exercise tests with and without prior lactic acidosis induction. **Eur J Appl Physiol.**, v. 6, p. 603–11, 2003.

SOUZA. B.G. Efeitos do exercício físico em esteira ergométrica de alta velocidade e do período de treinamento de equinos de concurso completo de equitação. Tese (Doutorado em Clínica e Reprodução Animal) - Universidade Federal Fluminense. 149f. 2013.

TATEO, A. et al. Change in Some Physiologic Variables Induced by Italian Traditional Conditioning in Standardbred Yearling. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 12, p. 743–750, 2008.

THOMASSIAN, A. et al. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 3, p. 183–190, 2007.

TRIGO, P. et al. Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides. 43

Equine Veterinary Journal, v. 42, n. SUPPL. 38, p. 142–146, 2010.

TRILK, J. L. et al. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. S34, p. 122–125, jun. 2010.

VOTION, D.-M. et al. Muscle energetics in exercising horses. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v. 4, n. 3–4, nov. 2007.

WANATABE, M.J.; THOMASSIAN, A.; TEIXEIRA NETO, F.J.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J.L.M. Alterações do pH, da Po₂ e da Pco₂ arteriais e da concentração de lactato sanguíneo de cavalos da raça Árabe durante exercício em esteira de alta velocidade. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, n.3, p.320-326, 2006, Botucatu - SP