

## BIOQUÍMICA SÉRICA DE EQUINOS DA RAÇA PURO SANGUE LUSITANO ANTES E APÓS EXERCÍCIO

Gloriane Izabel Wojciechovski de Oliveira<sup>1</sup>, Kellen Cristina Kuhawara<sup>1</sup>, Cecília Braga Laposy<sup>2</sup>, Alessandra Melchert<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Discente do Programa de Mestrado em Ciência Animal da UNOESTE

<sup>2</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária e do Programa de Mestrado em Ciência Animal da UNOESTE

### RESUMO

O emprego de testes que avaliem o desempenho atlético pode ser uma valiosa ferramenta para maximização dos resultados obtidos nas competições de cavalos atletas. O exercício induz mudanças reversíveis na ultra-estrutura do músculo esquelético dos cavalos, como a elevação de enzimas musculares que são liberadas na circulação. Na literatura, há carência de estudos que avaliem o perfil bioquímico enzimático muscular em cavalos da raça Puro Sangue Lusitano. Portanto, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos do exercício físico sobre as enzimas musculares creatinoquinase (CK), creatinoquinase fração MB (CKMB), aspartato amino transferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH) em equinos atletas antes e imediatamente após o exercício físico. Foram estudados 30 cavalos hígidos, da raça Puro Sangue Lusitano, machos, adultos, submetidos a esforço físico de trote e galope, de rotina do animal. As enzimas CK, CK-MB e AST não apresentam diferenças significativas após o exercício físico mesmo quando foi verificada a proporção reduzida da concentração dessas enzimas antes e após o exercício físico. Em 83,33% dos animais avaliados, a LDH apresentou aumento de 24,55% em sua concentração sérica após o exercício. Os resultados obtidos permitem concluir que equinos da raça Puro Sangue Lusitano, em fase de treinamento não apresentam elevação dos valores séricos das enzimas CK, CK-MB e AST, provavelmente devido ao treinamento prévio a que foram submetidos.

**Palavras-chave:** avaliação clínica; enzimas musculares; equinos; esforço físico.

### SERUM BIOCHEMISTRY OF PURE BRED LUSITANO HORSE BEFORE AND AFTER EXERCISE

#### ABSTRACT

The use of tests to evaluate athletic performance can be a valuable tool for maximizing the results of competitions in athletic horses. Exercise induces reversible changes in ultra structure of the skeletal muscle of horses, as the elevation of muscle enzymes that are released into circulation. There are few studies assessing the biochemical muscle enzyme pure bred Lusitano horses. This study evaluated the effects of exercise on muscle enzymes aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK) and creatine kinase MB fraction (CK-MB) of equine athletes before and immediately after exercise. We studied 30 healthy Pure bred Lusitano horses, male adult, undergoing physical exertion of trot and gallop, the animal's routine. The CK, CK-MB and AST are not significantly different after exercise even if the proportion of low concentration of these enzymes before and after exercise. In 83.33% of the animals studied, the LDH increased by 24.55% in the blood concentrations after exercise. The results obtained showed that equine bred Lusitano in training do not have elevated serum levels of CK, CK-MB and AST.

**Keywords:** clinical evaluation; equine; muscle enzymes; physical effort.

## INTRODUÇÃO

O exame complementar mais utilizado em medicina equina é a bioquímica sérica para determinação das enzimas de função muscular. As principais enzimas avaliadas são a creatina fosfoquinase (CK), aspartato amino transferase (AST) e a lactato desidrogenase (LDH). Suas atividades séricas aumentam quando ocorre lesão muscular esquelética e cardíaca (CARDINET, 1997). A cinética da elevação no soro e a eliminação de cada uma dessas enzimas difere na interpretação dos resultados (ART; AMORY; LEKEUX, 2002).

A CK catalisa a fosforilação da adenosina difosfato (ADP) do fosfato de creatina, tornando-o adenosina trifosfato (ATP) disponível para a contração muscular. A LDH, que catalisa a reação reversível de L-lactato para piruvato em todos os tecidos, está presente em grandes quantidades na musculatura esquelética, mas o aumento da atividade sérica desta enzima não é específica para lesão muscular. A AST, que catalisa a transaminação de L-aspartato e alfa-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato, é encontrada em quase todos os tecidos, mas o músculo e o fígado podem ser considerados as maiores fontes. Assim, a melhor forma de avaliar bioquimicamente a função muscular esquelética é por meio da determinação da atividade destas três enzimas (CARDINET, 1997).

O emprego de testes para a avaliação do desempenho atlético, juntamente com as respostas fisiológicas obtidas pela ação do exercício e do treinamento, pode ser uma valiosa ferramenta para maximização dos resultados obtidos nas competições. Desta forma, o programa de treinamento deixa de ser realizado somente de maneira empírica, tornando-se um processo técnico com embasamento clínico e fisiológico (LINDNER et al., 2006; ERCK et al., 2007). Além disso, os testes a campo possuem utilidade clínica no monitoramento de

enfermidades cardíacas, respiratórias e músculo-esqueléticas (COUROUCÉ, 1999).

O cavalo Puro Sangue Lusitano é um dos cavalos mais desejados pelos especialistas e atletas. Adapta-se facilmente às diversas vertentes e modalidades desportivas. É fácil de ensinar, dócil e também o cavalo ideal para lazer (SOUZA, 2010).

Como atletas, a avaliação do desempenho destes animais é fundamental para o reconhecimento de suas habilidades (capacidade) e a intensidade de exercício mais adequada em diferentes fases de treinamento. A demanda pelo diagnóstico de diversos estudos que possam afetar o desempenho atlético torna-se imperativa para a avaliação destes animais (SANTOS, 2006). Segundo Muñoz et al. (2002), a variação na concentração das enzimas plasmáticas sofre influência da raça do animal e do tipo de treinamento físico.

Em muitos mamíferos o sistema muscular compõe cerca de 40% a 45% do peso corpóreo, porém, em cavalos pode compor até 55%. Somado ao volume muscular, o desempenho atlético dos cavalos é também obtido pelas adaptações musculares frente aos diferentes níveis de esforço, como: o espesso arranjo dos grupos musculares, a arquitetura das suas fibras, a enorme rede vascular e estrutura altamente especializada. O exercício induz mudanças reversíveis do músculo esquelético dos cavalos, como a elevação da permeabilidade do sarcolema e das proteínas musculares, tais como a mioglobina, creatinoquinase (CK) e a aspartato amino transferase (AST) que são liberadas na circulação (THOMASSIAN et al., 2007).

Discretos aumentos das enzimas CK e AST após o exercício não estão associados com a lesão da célula muscular, mas com o aumento da permeabilidade da membrana. Porém, caso haja lesão na musculatura durante o exercício, um aumento marcante na concentração dessas

enzimas será observado, de maneira que a avaliação da magnitude e do tempo de curso dessas alterações auxilia na identificação do tipo de lesão muscular (VALBERG, 1996).

Apesar de existirem diversos centros de treinamento de equinos no Oeste Paulista poucos estudos que avaliam a função bioquímica destes animais foram desenvolvidos na região.

O presente trabalho objetivou avaliar as concentrações das enzimas musculares creatinoquinase (CK), creatinoquinase fração MB (CK-MB), aspartato amino transferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH), de equinos da raça Puro Sangue Lusitano, antes e após treinamento físico de rotina.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em um haras situado no município de Martinópolis, Estado de São Paulo, numa região de clima subtropical úmido com temperatura ambiente média de 26 °C e umidade relativa do ar em torno de 86%. Foram avaliados 30 equinos machos, não castrados, entre 3 e 5 anos de idade, da raça Puro-sangue Lusitano, com peso aproximado de 450 Kg, clinicamente saudáveis. Os animais eram alimentados com feno de *coast cross*, ração peletizada TecHorse12 (Purina®), administrados duas vezes ao dia e suplemento mineral Omolenefós70 (Purina®) fornecido uma vez ao dia. Como critérios de inclusão foram selecionados os cavalos atletas hígidos mantidos sob uma rotina diária de exercícios físicos de trote e galope.

Para avaliar a influência do exercício de trote e galope sobre as concentrações séricas das enzimas, os animais foram submetidos a treinamento em pista de areia (30x50m) por em média 20 minutos ( $\pm 2,26$ ) cronometrados (Cronômetro manual Casio®), entre 8 e 11 horas da manhã, seguindo protocolo pré-estabelecido pelo haras. Os animais foram sempre montados

pelo mesmo cavaleiro, e o conjunto cavaleiro e equipamento utilizado para montaria totalizou 82,0 Kg.

Amostras de 10,0 mL de sangue foram colhidas antes e imediatamente após o exercício, por punção venojugular, com auxílio de tubos a vácuo (Vacuntainer®) e agulhas de 25,0x8,0mm. O sangue total foi centrifugado e o soro obtido foi utilizado para dosagens das enzimas AST, CK, CK-MB e LDH por meio de reações bioquímicas cinéticas utilizando kits bioquímicos em analisador semi-automático (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008).

Para a análise dos dados, inicialmente foi verificada a distribuição de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov observando-se que as variáveis analisadas foram consideradas como paramétricas ( $P > 0,10$ ). As dosagens enzimáticas antes e após os exercícios foram comparadas pelo teste *t*-pareado (PAGANO; GAUVREAU, 2004). Todas as análises foram realizadas por meio do pacote computacional Bioestat (AYRES et al., 2007) com nível de significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da bioquímica sérica dos cavalos Puro Sangue Lusitanos antes e após exercício estão descritos na tabela 1.

**Tabela 1.** Médias e desvios-padrão das enzimas CK, CK-MB, AST e LDH de cavalos Puro Sangue Lusitano antes e após atividade física.

Exames bioquímicos	Atividade Física	
	Antes	Depois
CK (U/L)	221,0 $\pm$ 64,5	210,7 $\pm$ 88,6
CK-MB (U/L)	279,6 $\pm$ 98,8	269,4 $\pm$ 149,4
AST (U/L)	259,2 $\pm$ 43,6	273,3 $\pm$ 49,4
LDH (U/L)	611,1 $\pm$ 152,9*	756,8 $\pm$ 186,0*

\* $p < 0,05$  tem ir para baixo da tabela

As enzimas CK e sua fração MB, AST e LDH são sinalizadoras auxiliares de lesão muscular em equinos, mas que devem estar associadas a um exame físico prévio, a fim de se

estabelecer de maneira mais precisa a causa e a intensidade da lesão. Apesar do conhecimento sobre a meia vida destas enzimas na circulação, ainda são duvidosas as informações a respeito da atividade das mesmas em diversas categorias de animais, submetidos a diferentes tipos e graus de exercícios (BAPTISTELLA, 2009).

A concentração média de CK nos animais antes do exercício físico foi de  $221,0 \pm 64,5$  U/L, enquanto após a atividade foi de  $210,7 \text{U/L} \pm 88,6$ . Estes dados estão de acordo com Rose e Hodgson (1994) que relataram valores entre 100 a 300 UI/L. No entanto, valores inferiores foram observados por Meyer et al. (1995) e Fernandes (1994), respectivamente 86 a 140UI/L e 84,29 UI/L em cavalos Árabes e Toledo et al. (2001) trabalhando com eqüinos da raça PSI ( $66,5$  a  $81,3$  UI/L).

Os resultados da concentração sérica da CK não foram significativos ( $P > 0,3877$ ) quando comparados antes e após o exercício físico. Quando foram avaliadas as concentrações de CK antes e após o exercício físico, verificou que 50% dos animais tiveram suas concentrações diminuídas. Em equinos, a meia vida plasmática desta enzima ocorre em torno de duas horas (THRALL, 2007). A CK tem aumento de sua atividade em períodos relativamente curtos e sob exercícios intensos, conforme foi demonstrado por Balarin et al. (2005), que ao trabalharem com cavalos PSI concluíram que a atividade desta enzima apresenta redução significativa com o passar do tempo, diminuindo consideravelmente após um período de treinamento de 12 meses.

Na avaliação da enzima CK-MB, a concentração média antes do exercício físico foi de  $279,6 \pm 98,8$  U/L, e após a atividade diminuiu para  $269,4 \pm 149,4$  U/L, não havendo diferença significativa ( $P = 0,5918$ ) entre os momentos. A concentração de CK-MB também diminuiu com o exercício para 39,0% em um total de 46,6% dos animais avaliados para enzimas de CK-MB.

Cardinet (1997) relata que estudos realizados sobre a composição da isoenzima CK no músculo cardíaco (CK-MB) de eqüinos, revelaram que menos de 1,5 a 3,9% da atividade da CK total é atribuída a CK-MB.

Nas dosagens da concentração da AST, os valores séricos médios foram de  $259,2 \pm 43,6$  U/L e  $273,2 \pm 49,4$  U/L para animais, antes e após o exercício físico, respectivamente ( $P > 0,1004$ ). Rose e Hodgson (1994) relataram valores entre 150 a 400 UI/L e Cardinet (1997) valores entre 226 a 366U/L. Toledo et al. (2001) observaram valores entre 178,9 a 215,2 UI/L de cavalos PSI em repouso. Valores inferiores foram referidos por Meyer e Harvey (2004) e Fernandes (1994), respectivamente entre 35 e 100UI/L e  $32,2 \pm 8,8$ UI/L em cavalos da raça Árabe antes de serem submetidos à prova de enduro.

A atividade da enzima AST também aumentou 14,73% na média da concentração sérica em 56,67% dos animais avaliados. Isso pode estar associado, segundo Thomassian et al. (2007) ao processo fisiológico de transferência de fluido do espaço intravascular para o espaço extravascular observado durante o exercício máximo e, conseqüentemente, resultando em maior concentração dessa enzima por diminuição do volume plasmático, característica essa representada pela diminuição dos valores, em animais logo após o exercício físico.

A média de LDH antes do exercício físico foi  $611,1 \pm 152,8$  U/L, e  $756,8 \pm 186,0$  U/L após a atividade de rotina. Os valores médios desta enzima foram inferiores aos encontrados por diversos autores como Thomassian et al. (2007), que observou valor médio em repouso de  $470,5 \pm 165,0$  UI/L. Já para Toledo et al. (2001), cavalos Puro Sangue Inglês (PSI) em repouso encontraram-se na faixa de 167 a 190,9 UI/L. Para Meyer et al. (1995), os números variaram de 162 a 412UI/L. Fernandes (1994) relatou valores entre  $321 \pm 31,8$  UI/L nos animais da raça Árabe,

enquanto Rose e Hodgson (1994) relataram valores de 250 UI/L.

Alterações nas concentrações séricas da enzima LDH encontradas nos momentos avaliados foram significativas ( $P < 0,0001$ ). Em 83,33% dos animais avaliados a enzima LDH apresentou aumento de 24,55% na concentração sérica após o exercício. Assim, as maiores concentrações de LDH observadas no presente estudo podem estar relacionadas à maior produção de lactato durante o teste, associada à diminuição do pH, levando a maior permeabilidade das membranas. Aumentos moderados na atividade plasmática das enzimas musculares durante exercício podem ser atribuídos à diminuição do volume plasmático e a hemólise intravascular, evidenciando a ausência de danos musculares (TOLEDO et al., 2001).

Assim, em virtude do potencial da raça para atividades físicas não houve alteração na concentração das enzimas musculares provavelmente devido ao treinamento previamente realizado com os animais em questão.

#### COMISSÃO DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O presente experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição de origem, protocolada sob o número 294/09.

#### REFERÊNCIAS

- ART, T.; AMORY, H.; LEKEUX, P. Affections Musculaires et Intolerance à l'Effort 1-Pathogénie et Approche Diagnostique. **Pratique Vétérinaire Equine**, v. 32, p. 59-64, 2002.
- AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M., AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. **Bioestat 5.0 – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Belém, PA: ONG Mamiraua, 2007.
- BALARIN, M. R. S.; LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; LAPOSY, C. B.; FONTEQUE, J. H. Avaliação da glicemia e da atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gamaglutamiltransferase e lactato desidrogenase em eqüinos puro sangue inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 211–218, 2005.
- BAPTISTELLA, M. F. **Atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase, creatinoquinase e lactato desidrogenase em eqüinos submetidos a diferentes intensidades de exercícios**. Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente. v. 12, n. 13, 2009.
- CARDINET, G. H. Skeletal Muscle Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1997. p. 426-429.
- COUROUCÉ, A. Field exercise testing for assessing fitness in French Standardbred Trotters. **The Veterinary Journal**, v. 157, p. 112-122, 1999.
- <http://dx.doi.org/10.1053/tvjl.1998.0302>.
- ERCK, E.; VOTION, D. M.; SERTEYN, D.; ART, T. Evaluation of oxygen consumption during field exercise tests in Standardbred trotters. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v.4, p. 43–49, 2007. <http://dx.doi.org/10.1017/S1478061507776466>.
- FERNANDES, W. R. **Alterações dos Parâmetros do Eletrocardiograma e da Crase Sanguínea em Eqüinos das Raças Árabe e Mangalarga, bem como Mestiços, submetidos à Prova de Enduro**. 1994. 73 f. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, 2008.

LINDNER, A.; SIGNORINI, R.; BRERO, L.; ARN, E. Effect of conditioning horses with short intervals at high speed on biochemical variables in blood. **Equine Veterinary Journal Supplement**, v. 36, p. 88-92, 2006.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-3306.2006.tb05519.x>.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. Medicina de laboratório veterinária. São Paulo: Roca, 1995.

MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Veterinary Laboratory Medicine-** Interpretation and Diagnosis. St. Louis: Saunders, 2004.

MUÑOZ, A.; RIBER, C.; SANTISTEBAN, R.; LUCAS, R. G.; CASTEJON, F. M. 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 Supplement**, v. 34, p. 245–251, 2002.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2004.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. An overview of performance and sport medicine. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The Athletic Horse**. Philadelphia: Saunders, 1994. p. 5-11.

SANTOS, V. P. **Variações hemato-bioquímica sem eqüinos de salto submetidos a diferentes protocolos de exercício físico**. 2006. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SOUZA, P. Cavalo Lusitano. **A pureza de uma raça Portuguesa de excelência reconhecida no mundo**. 2010. Disponível em: <

<http://www.cavalo-lusitano.com/wp-content/uploads/2010/04/img-414161100.pdf>>.

Acesso em: 10 nov. 2011.

THOMASSIAN, A.; CARVALHO, F.; WATANABE, M. J.; SILVEIRA, V. F.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; NICOLETTI, J. L. M. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de eqüinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 183-190, 2007.

THRALL, A. M. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007.

TOLEDO, P. S.; DOMINGUES JÚNIOR, M.; FERNANDES, W. R.; MANGONE, M. **Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatina quinase, gamaglutamiltransferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça P.S.I. submetidos a exercícios de diferentes intensidades**. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 8, n. 2, p. 73-77, 2001.

VALBERG, S. J. Muscular causes of exercise intolerance in horses. Veterinary Clinics of North America. **Equine Practice**, v. 12, p. 495-515, 1996.