

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DESEMPENHO DE EQUINOS SUPLEMENTADOS COM COENZIMA Q₁₀

(Biochemical parameters and performance of horses supplemented with coenzyme Q₁₀)

Paulo José Sanchez¹, Kátia Feltre¹, Iaçanã Valente Ferreira Gonzaga¹, Milena Domingues Lacerenza², Gabriela do Vale Pombo¹, Mayara Angela Faga Palagi¹, Regina de Lima Costa¹, Luiz Antonio Jorge de Moraes Filho¹, Yasmin de Sales Pereira¹, Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso¹.

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil, ²Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Brasil.

¹Autor para correspondência: katiafeltre@yahoo.com.br

RESUMO - O objetivo foi avaliar os padrões fisiológicos e metabólicos de equinos submetidos ao exercício aeróbio e suplementados com CoQ₁₀. Foram utilizados dez equinos machos, castrados, da raça Puro Sangue Árabe, distribuídos em grupo controle (GC, sem suplementação) e grupo suplementado (GS). Os cavalos foram submetidos ao programa de exercício aeróbio por 90 dias. O GS recebeu 10 mL de um produto comercial contendo 8% de CoQ₁₀. Todos os animais foram exercitados cinco dias por semana durante 60 minutos (30 minutos no sentido horário e 30 minutos no sentido anti-horário) nas velocidades 8, 12 e 15 km/h em exercitador circular mecânico. Foram avaliadas as frequências cardíacas (FC) basal, máxima, de repouso e média, e as atividades das enzimas séricas creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH). As concentrações sanguíneas de glicose e lactato foram avaliadas de 0 a 15 minutos após o término do exercício. As avaliações foram realizadas nos dias D0 (início da suplementação e treinamento), D30, D60 e D90. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, considerando P<0,05. Não foi observado efeito da suplementação nos parâmetros FC basal, máxima e de repouso. Houve menor FC média (P<0,05) em D30 e D60 para o GS em comparação ao GC. A suplementação com CoQ₁₀ não influenciou a atividade de AST e LDH, nem a concentração sanguínea de glicose e lactato após o exercício. Porém, o GS apresentou menor atividade da CK e, com o passar dos dias, foi observada maior atividade da enzima. Os resultados sugerem efeito positivo da suplementação com CoQ₁₀ na atividade da enzima CK e na FC média de equinos submetidos a exercício aeróbio, o qual pode tornar-se estratégia para melhorar o desempenho atlético de cavalos em provas de resistência.

Palavras-chave: creatina quinase; enzimas; equinos atletas; frequência cardíaca; ubiquinol.

ABSTRACT - The aim was to evaluate the physiological and metabolic patterns of horses submitted to aerobic exercise and supplemented with CoQ₁₀. Ten adult Arabian geldings were used, distributed in control group (CG, no supplementation) and a supplemented group (SG). The horses underwent a 90-day aerobic exercise program. The SG received 10 mL of a commercial product containing 8% CoQ₁₀. All animals exercised five days a week for 60 minutes (30 minutes clockwise and 30 minutes counterclockwise) at speeds 8, 12 and 15 km/h in a circular mechanical exerciser. We evaluated basal, maximal, resting and mean heart rate (HR), activity of serum enzymes creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST) and

lactate dehydrogenase (LDH). Blood glucose and lactate concentrations were evaluated post exercise from zero to 15 minutes. The evaluations were performed on day D0 (beginning of supplementation and training), D30, D60 and D90. A completely randomized design with $P < 0.05$. No effect of supplementation on basal, maximal and rest HR parameters was observed. There was lower mean HR ($P < 0.05$) in D30 and D60 for SG compared to CG. CoQ₁₀ supplementation did not influence AST and LDH activity nor did the blood glucose and lactate concentration after exercise. However, the SG presented lower CK activity and, over days, we observed higher CK activity. The results suggest a positive effect of CoQ₁₀ supplementation in horses CK activity and mean HR, which may become a strategy to improve the horse's athletic performance in endurance events.

Keywords - creatine kinase; enzymes; equine athletes; heart rate; ubiquinol.

INTRODUÇÃO

Coenzima Q₁₀ (CoQ₁₀), ou ubiquinona, refere-se a um grupo de compostos de ocorrência natural com propriedade similar ao das vitaminas. Tem ampla distribuição na natureza e é encontrada em todos os tecidos vitais dos animais. Apresenta importante função na condução dos elétrons, na cadeia de transporte mitocondrial, e recepção dos elétrons nos estágios finais da respiração aeróbia, com produção de energia química/biológica na forma de adenosina trifosfato (ATP). Por isso, essa coenzima se faz presente em altas concentrações nos órgãos de maior demanda energética, como coração, rins, fígado e músculos (Turunen *et al.*, 2004; Ferreiro-Barros *et al.*, 2012; Sinatra *et al.*, 2013).

Essa coenzima atua como antioxidante lipofílico capaz de reciclar e regenerar outros antioxidantes, como tocoferol e ascorbato. Modula o processo de apoptose por meio da regulação dos poros de transição da membrana e auxilia na manutenção da temperatura corporal decorrente de sua função em proteínas desacopladoras. Participa na biossíntese de pirimidinas, afetando o processo de replicação e reparo do DNA (Ferreiro-Barros *et al.*, 2012; Rahman *et al.*, 2012).

A síntese endógena da CoQ₁₀ ocorre na mitocôndria e, por ter caráter lipofílico, é transportada na circulação por partículas de lipoproteínas. Assim, sua concentração no plasma tem sido diretamente relacionada aos níveis totais de colesterol. Além disso, sua absorção e transporte parecem ser semelhantes à de outros compostos lipofílicos, tais como a vitamina E (Menke *et al.*, 2004; Bank *et al.*, 2011; Rahman *et al.*, 2012). Segundo Bank *et al.* (2011), quando é administrada via oral, é convertida para a forma reduzida (ubiquinol) pelos enterócitos, absorvida pelo intestino delgado e entra na circulação através do sistema linfático.

A suplementação com CoQ₁₀ tem se mostrado alternativa para melhorar o desempenho esportivo dos equinos, já que atua na produção de ATP (Sinatra *et al.*, 2013). Em humanos, a CoQ₁₀ protege contra a redução excessiva dos fosfolipídios da membrana mitocondrial durante o exercício prolongado (Barbiroli *et al.*, 1998), melhora o desempenho e recuperação muscular pós-exercício (Koyama *et al.*, 1992) bem como diminui ou inibe a fadiga (Mizuno *et al.*, 2008; Braun *et al.*, 1991; Nielsen *et al.*, 1999). A suplementação com CoQ₁₀ foi pesquisada em ruminantes (Bae *et al.*, 2018) e aves (Kikusato *et al.*, 2016). Porém, não tem sido bem estudada em equinos submetidos a provas de resistência, apesar de ser utilizada em outros países, como América do Norte e a Austrália (Leadon, 2015).

Estudos de fisiologia do exercício em equinos frequentemente envolvem medições da temperatura corporal, frequência cardíaca, concentração sanguínea de lactato e consumo de oxigênio. Esses parâmetros são fundamentais para o melhor entendimento e monitoramento do condicionamento físico do cavalo (Evans, 2000) e, a suplementação com CoQ₁₀ pode melhorar ou manter constantes esses parâmetros. Para tanto, o objetivo desse artigo foi avaliar a resposta da frequência cardíaca e dos parâmetros sanguíneos de equinos submetidos a treinamento aeróbio e suplementados, via oral, com CoQ₁₀.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em Pirassununga (São Paulo, Brasil; 21°57'27.9"S 47°27'10.0"W) em 2014. A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/FMVZ/USP), aprovou a execução desse trabalho (protocolo nº 7364290514).

Foram utilizados dez equinos, machos castrados, da raça Puro Sangue Árabe (idade: 60 ± 8,2 meses;

peso corporal (PC): 473 ± 34,8 kg), previamente imunizados contra o tétano, influenza e encefalomielite e medicados contra endo e ectoparasitas. Água e sal mineral foram fornecidos *ad libitum*. Concentrado comercial (1% do PC) e feno de *Cynodon dactylon* sp. (1% do PC) foram fornecidos duas vezes ao dia (7h00min e às 16h00min), seguindo as recomendações estabelecidas pelo *National Research Council* (NRC, 2007) para equinos em manutenção. A análise nutricional dos alimentos está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Análise nutricional dos ingredientes e composição da dieta total, corrigidos para matéria seca, utilizados durante 90 dias de experimento.

Nutrientes (%)	Concentrado ¹	Feno ²	Dieta Total ³
Matéria seca	89,48	92,62	91,05
Proteína bruta	20,03	9,16	14,60
Fibra em detergente neutro	25,65	76,14	50,90
Fibra em detergente ácido	11,15	41,29	26,22
Cinzas	9,16	6,26	7,71
Extrato etéreo	3,81	1,94	2,88
Cálcio	1,41	0,36	0,89
Fósforo	0,74	0,22	0,48
Amido	84,31	10,33	47,32

¹Corcel Mix - Presença/In Vivo; ²Feno de *Cynodon dactylon* sp; ³feno/concentrado 50/50.

Os animais foram distribuídos em dois grupos: controle (GC sem suplementação; n=5) e suplementado (GS; n=5). O tempo de avaliação foi de 90 dias. O GS recebeu 10 mL (5 mL junto com o concentrado às 7h00min e às 16h00min) de um produto comercial contendo 8% de CoQ₁₀, totalizando 800 mg/dia, como proposto por Sinatra et al. (2013). Todos os animais foram exercitados cinco dias na semana por 60 minutos (aceleração por 30 minutos no sentido horário a 8, 12 e 15 km/h por 10, 15 e 5 minutos, respectivamente; inversão do sentido; desaceleração por 30 minutos no sentido anti-horário a 15, 12 e 8 km/h por 5, 15 e 10 minutos, respectivamente), em exercitador circular mecânico para cavalos. Esse programa de treinamento foi mantido do início ao fim do experimento.

As avaliações foram realizadas nos dias 0 (D0, início da suplementação e treinamento físico), 30 (D30), 60 (D60) e 90 (D90). As amostras de sangue foram colhidas imediatamente antes do início do exercício de todos os animais, por punção venosa em tubos sem anticoagulantes para mensuração de creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e aspartato aminotransferase (AST) no soro. As amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi acondicionado em microtubo de polietileno (1,5 mL) e congelados a -20°C. Para as análises das atividades das enzimas, foram utilizados analisador bioquímico automático e kits comerciais Labtest (Brasil), como segue: CK (CK-NAC – Ref. 117-2/30; método: UV-IFCC), LDH (LDH Liquiform – Ref. 86-2/30; método Piruvato – Lactato) e AST (AST/GOT Liquiform – Ref. 109-4/30; método: cinética UV – IFCC). Os resultados foram expressos em UI/L.

Para as concentrações de glicose e lactato sanguíneos a pós exercício, as amostras de sangue foram colhidas em seringas de 3 mL com agulhas 25 mm x 0,7 mm, imediatamente ao término (T0) do programa de exercício e nos tempos 2 (T2), 4 (T4), 6 (T6), 9 (T9), 12 (T12) e 15 (T15) minutos após o término. Em cada momento de coleta, as amostras de glicose (mg/dL) foram imediatamente processadas em equipamento portátil de avaliação glicêmica Accu – Check® Active (Roche Diagnostics GmbH, Alemanha) seguindo as instruções do fabricante. Para a curva de lactato (mmol/L), as amostras foram imediatamente processadas em lactímetro portátil Accutrend® Plus (Fabricante: Roche Diagnostics GmbH, Alemanha).

Os cavalos foram equipados com frequencímetros digitais (Garmin Forerunner 305®) adaptados para uso em equinos. As avaliações foram realizadas nos dias 0 (D0, início da

suplementação e treinamento físico), 30 (D30), 60 (D60) e 90 (D90). Para a frequência cardíaca (FC) basal, os cavalos permaneceram 10 minutos em repouso na unidade de manejo nutricional, sem intervenção humana. Em seguida, foram conduzidos ao exercitador circular mecânico e iniciaram o programa de treinamento de 60 minutos, quando a FC foi analisada de acordo com cada velocidade (aceleração 8, 12 e 15 km/h, inversão de sentido, desaceleração 15, 12 e 8 km/h) e a FC máxima foi extraída. Após o término, os animais foram retirados do exercitador e permaneceram 20 minutos em repouso para a obtenção da FC de recuperação. Os dados foram extraídos dos frequencímetros, em bpm, por meio do software fornecido pelo fabricante.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições. Para verificação da normalidade dos resíduos, foi adotado a avaliação gráfica dos resíduos studentizados. Para a análise da atividade enzimática, FC basal, máxima e de recuperação, foi utilizada ANAVA de dois fatores (Tratamento e Dias de Coleta) com classificação cruzada e estrutura de medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais (animais). Para a análise de glicose e lactato, o modelo misto considerou os efeitos fixos de tratamento (GC e GS), dias de coleta (D0, D30, D60 e D90) e tempo após o exercício (T0, T2, T4, T6, T9, T12 e T15), interação tratamento x tempo, tratamento x dias de coleta e tempo x dias de coleta, além dos efeitos aleatórios de animal e resíduo. Para a FC durante o exercício, o modelo considerou os efeitos fixos de tratamento, dias de coleta, velocidade (8, 12, 15, inversão, 15, 12, 8 km/h) e interação tratamento x tempo, tratamento x velocidade e tempo x velocidade. Essas análises foram realizadas com auxílio do procedimento PROC MIXED do programa *Statistical*

Analysis System (SAS Institute Inc., versão 9.3). Em caso de resultados significativos na ANAVA ($P < 0,05$), foi adotado o Teste F para o efeito principal de Tratamentos ou Tratamentos dentro de cada Tempo, bem como, análises de regressão para o efeito principal de Tempos ou Tempos dentro de cada Tratamento. Foi realizado teste de Tukey, considerando $P < 0,05$ como teste post hoc.

RESULTADOS

A atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e creatina quinase (CK) aumentou ($P < 0,05$) no período de avaliação (Tabela 2). A atividade da enzima AST foi menor no início do programa de treinamento (252,6 UI/L) e aumentou nos dias 30, 60 e 90, porém sem diferenças estatísticas entre si. A atividade da enzima LDH foi menor no D0 (576,7 UI/L), maior em D30 (687,4 UI/L) e, para o D60 e D90 os valores foram intermediários. A atividade da enzima CK aumentou 30 dias após o início do treinamento físico (159,4 UI/L). O maior valor foi observado para o D60 (265,7 UI/L). A suplementação com CoQ10 imprimiu efeito ($P < 0,05$) positivo na atividade da enzima CK de cavalos em treinamento. O grupo suplementado (GS) apresentou menor valor em relação ao grupo controle (GC).

Tabela 2 – Atividade sérica (em UI/L; média [EP]) das enzimas creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH) de cavalos em exercício aeróbio, suplementados ou não com CoQ₁₀ durante 90 dias.

	Dias ¹				Tratamentos		Valor de P	
	D0	D30	D60	D90	GC	GS	Trat ²	Dia T ³ D
AST	252,6[4,8] ^a	267,4[4,7] ^a	277,1[8,5] ^a	284,4[12,1] ^a	275,6[6,1]	265,2[5,9]	0,47	<0,01 0,24
LDH	576,7[28,1] ^f	687,4[27,8] ^a	601,2[22,4] ^{bc}	634,0[26,8] ^{bc}	672,1[18,4]	578,6[21,2]	0,07	<0,01 0,44
CK	128,5[6,5] ^f	159,4[12,9] ^a	265,7[63,4] ^a	200,7[26,3] ^a	223,8[18,0] ^a	153,4[18,0] ^b	0,02	<0,01 0,09

¹Dias de coleta: D0 (início do programa de treinamento e suplementação), D30, D60 e D90 (respectivamente, 30, 60 e 90 dias após o D0); ²Trat: efeito principal de tratamento. T³D: interação tratamento³dias; GC: grupo controle. GS: grupo suplementado. Médias seguidas por letras minúsculas (efeito de dias de coleta) e maiúsculas (efeito de tratamento) diferem entre si pelo teste de Tukey $P < 0,05$.

A suplementação com CoQ₁₀ não alterou ($P=0,70$) a concentração de lactato no sangue de cavalos. Não houve efeito interativo entre tratamento*dia ($P=0,20$), tratamento*tempo ($P=0,95$) e dia*tempo ($P=0,14$). Porém, os resultados foram diferentes ($P<0,01$) ao longo dos 90 dias de treinamento e nos 15 minutos após o exercício. A maior concentração de lactato foi observada nos dias de coleta D60 (1,78 mmol/L) e D90 (1,82 mmol/L) e a menor concentração nos dias D0 (1,18 mmol/L) e D30 (0,99 mmol/L). Após o término do treinamento aeróbio, a concentração de lactato no sangue foi semelhante nos tempos zero (1,18 mmol/L) e 2 minutos (1,13 mmol/L). A partir dos 4 minutos (1,40 mmol/L), a concentração aumentou ($P<0,01$) até 15 minutos (1,67 mmol/L). Os resultados estão apresentados na Figura 1.

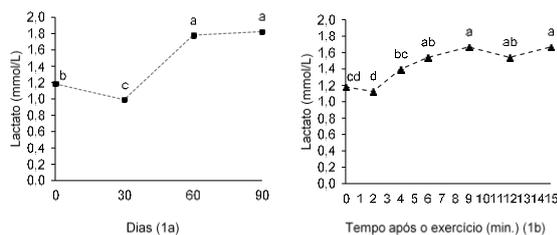


Figura 1 – Concentração de lactato no sangue de cavalos de acordo com os dias de coleta (1a) e os tempos de coleta pós-exercício (1b).

Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si pelo teste de Tukey $P<0,05$; Dias: D0 (início do programa de treinamento e suplementação), D30, D60 e D90 (respectivamente, 30, 60 e 90 dias após o D0).

A concentração de glicose no sangue não foi alterada ($P=0,64$) pela suplementação com CoQ₁₀. Porém, houve efeito interativo ($P<0,01$) entre os dias de coleta e os tempos após o exercício e os resultados se ajustaram à equação de regressão linear. A concentração de glicose diminuiu após o exercício em D0 ($y = -0,2365x + 85,993$; $R^2 = 0,3020$), D60 ($y = -0,2416x + 93,828$; $R^2 = 0,4816$) e D90 ($y = -$

$0,2808x + 88,268$; $R^2 = 0,6534$) e aumentou em D30 ($y = 0,4403x + 89,552$; $R^2 = 0,5467$). Em D60 e D90 os valores foram estatisticamente iguais de T0 a T15 minutos após o exercício. No D0 as maiores concentrações foram registradas de 2 a 9 minutos e, no D30, o aumento foi mais pronunciado de 9 a 15 minutos. Os resultados estão apresentados na Figura 2.

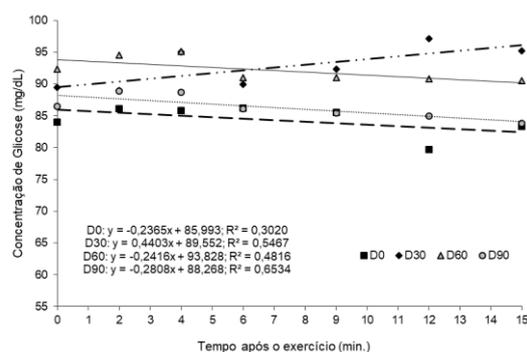


Figura 2 – Concentração de glicose no sangue de cavalos de acordo com os dias e tempo de coleta após o exercício. D0 (início do programa de treinamento e suplementação), D30, D60 e D90 (respectivamente, 30, 60 e 90 dias após o D0).

Não houve efeito ($P>0,05$) da suplementação com CoQ₁₀ e dos dias de coleta para as frequências cardíacas basal, máxima e de recuperação. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Frequência cardíaca (FC) basal, de recuperação (Rec) e máxima (Máx) de cavalos em exercício aeróbio, suplementados ou não com coenzima Q₁₀ (CoQ₁₀) durante 90 dias.

FC (bpm)	Tratamento			Dias de Coleta ¹				Média	Valor de P			
	GC	GS	EP	D0	D30	D60	D90		Trat	Dia	T*D	
Basal	41	41	0,6	39	42	41	40	0,9	41	0,64	0,15	0,95
Rec	47	47	1,1	45	45	50	45	1,5	47	0,75	0,06	0,14
Máx	156	160	7,3	163	167	162	140	10,3	158	0,67	0,26	0,14

¹Dias de coleta: D0 (início do programa de treinamento e suplementação), D30, D60 e D90 (respectivamente, 30, 60 e 90 dias após o D0); ²Trat: efeito principal de tratamento; T*D: interação tratamento*dia; GC: grupo controle; GS: grupo suplementado; EP: erro padrão

Na avaliação da FC durante os 60 minutos de exercício do treinamento, não houve efeito dos dias de coleta ($P=0,0831$), interação tratamento*velocidade ($P=0,9854$), dias de coleta*velocidade ($P=0,9382$) e interação tratamento*dias de coleta*velocidade ($P=0,9902$). Porém, o

tratamento ($P=0,0414$), as velocidades ($P<0,0001$) e a interação tratamento*dias de coleta ($P=0,0005$) imprimiram diferenças nas frequências cardíacas (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 – Frequência cardíaca (FC) de cavalos durante 60 minutos de exercício aeróbico, de acordo com as velocidades, suplementados ou não com coenzima Q₁₀ (CoQ₁₀).

Tratamento	Velocidades (km/h) ¹								Valor de P			
	GC	GS	E	8	12	15	15	12	8	EP	Trat	Vel
FC	118	110	2	90	118 _a	128 _a	130	118 _a	99 _b	5,0	0,0	<0,00
(bpm)	A	B	9	c	b	a	a	b	c	2	4	1

¹Aceleração: 8, 12 e 15 km/h por 10, 12 e 5 minutos, respectivamente. Desaceleração: 15, 12 e 8 km/h por 5, 12 e 10 minutos, respectivamente; Trat: efeito principal de tratamento; Vel: efeito principal de velocidade; GC: grupo controle; GS: grupo suplementado; EP: erro padrão. Médias seguidas por letras minúsculas (efeito das velocidades) e maiúsculas (efeito de tratamento) diferem entre si pelo teste de Tukey $P<0,05$.

Tabela 5 – Frequência cardíaca (FC; bpm) de cavalos em exercício aeróbico suplementados ou não com coenzima Q₁₀ (CoQ₁₀) durante 90 dias.

FC	Dias de coleta				EP	Valor de P
	D0	D30	D60	D90		
GS	122 _{aA}	110 _{aA}	104 _{aA}	103 _{aA}	5,8	<0,001
GC	105 _{bB}	125 _{aAB}	135 _{aA}	108 _{bB}	5,8	

¹Dias de coleta: D0 (início do programa de treinamento e suplementação), D30, D60 e D90 (respectivamente, 30, 60 e 90 dias após o D0); ²Trat: efeito principal de tratamento, T²D: interação tratamento*dia; GC: grupo controle; GS: grupo suplementado; EP: erro padrão. Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (efeito de tratamento) e maiúsculas na linha (efeito de dias de coleta), diferem entre si pelo teste de Tukey $P<0,05$.

De acordo com a Tabela 4, o grupo suplementado apresentou menor FC em relação ao grupo controle, evidenciando a melhora no condicionamento cardíaco dos cavalos. Além disso, como já esperado, a FC aumentou de acordo com as velocidades, sendo maior para a velocidade de 15 km/h. O desdobramento da interação (Tabela 5) mostrou que, no início da suplementação e treinamento (D0), o GC apresentou a menor FC em relação ao GS. Porém, do D30 ao D90, o GS apresentou menores valores de FC, com efeito estatístico no D60. Além disso, o GS não apresentou variação da FC no decorrer dos dias de avaliação, ao contrário do GC, que apresentou maior FC no D60 (135 bpm), sugerindo melhor adaptação cardíaca ao longo do tempo para o GS.

DISCUSSÃO

Quando avaliadas em conjunto, alterações nas atividades das enzimas AST, LDH e CK indicam possíveis lesões musculares decorrentes do exercício físico extenuante em equinos de esporte. O desgaste físico pode provocar lesões da musculatura esquelética e/ou cardíaca e impossibilitar o animal de qualquer atividade física. Neste trabalho, os valores de AST, CK e LDH corroboram os encontrados por Thomassian *et al.* (2007); Sales *et al.* (2013) e Demirtaş (2018). A avaliação de forma conjunta dessas enzimas não permitiu observar a ocorrência de lesões musculares, visto que os cavalos usados no experimento não apresentaram sinais de desgaste físico. As diferenças entre os trabalhos estão relacionadas à velocidade testada, condições experimentais (provas, esteiras de velocidade ou exercitadores circular), sexo, idade e raça.

A atividade da AST aumentou 12,6% do D0 ao D90, enquanto Sales *et al.* (2013) observaram aumento de 31% na atividade dessa enzima do início ao final das coletas. Assim como Sales *et al.* (2013), esses resultados não foram associados à danos musculares. A AST não apresenta especificidade com o tecido muscular esquelético visto que pode ser encontrada também no citosol e mitocôndria do músculo cardíaco e hepatócitos, onde apresenta maior atividade. Assim, sugere-se que, para o entendimento das alterações, o discreto aumento na atividade dessa enzima esteve associado ao aumento da permeabilidade do sarcolema e não por ruptura ou lesão de miócitos.

A atividade da enzima LDH está diretamente relacionada com a produção de lactato, visto que catalisa a oxidação reversível do lactato para piruvato. Assim como a AST, a LDH é encontrada em vários tecidos, com maior concentração na musculatura

esquelética. Porém, sem indicar a ocorrência de lesão muscular. A atividade da LDH aumentou 19,2% nos primeiros 30 dias de treinamento com redução até o final do período. Esse aumento foi inferior ao observado por Sales et al. (2013) de 41%, porém a concentração foi similar. Esse resultado foi associado aos fatores extrínsecos, como o clima e ambiente, e com as características individuais dos animais, que podem interferir na atividade das enzimas musculares (Thomassian et al., 2007; Mattosinho et al., 2017).

A enzima CK é citosólica e, um mínimo de lesão celular, como uma injeção intramuscular, pode elevar sua concentração no sangue. Se expressa de maneira mais específica em relação ao tecido muscular estriado esquelético e está relacionada com a ocorrência de danos musculares, dependendo da duração e intensidade do exercício (Sales et al., 2013). Os resultados da tabela 2 mostram que a atividade da enzima CK do início do programa de treinamento até o D60 mais que dobrou, com posterior redução no D90. Sales et al. (2013) observaram aumento de 83% na atividade da enzima. Porém, a maior concentração obtida pelos autores no final do período (660,25 UI/L) foi maior ao obtido neste trabalho (265,7 UI/L). O GS apresentou melhor atividade da enzima CK quando comparado com o GC, o que sugere melhor adaptação fisiológica frente ao estímulo imposto pelo programa de treinamento.

A elevação da produção de energia em curto período de tempo se dá pela glicólise anaeróbia concomitante à produção de lactato, o que não parece ser deletério para a saúde ou representar fadiga muscular, visto que o lactato, até determinada concentração, é um substrato energético para o coração e musculatura esquelética durante o exercício. O músculo esquelético é o tecido que representa a maior fonte de lactato e atua na

remoção e liberação do ácido para o plasma sanguíneo. No fígado, a metabolização e conversão em glicose (via gliconeogênese) transformam o lactato em fonte de energia para o cavalo. O ciclo do lactato a glicose entre os músculos e o fígado é denominado ciclo de Cori (Pösö et al., 2004; Stockham e Scott, 2008).

As maiores concentrações de lactato sanguíneo obtidas neste trabalho foram de 1,78 mmol/L (D60) e 1,82 mmol/L (D90), sendo atribuídos às condições climáticas, que nesses dias de coleta apresentaram maior temperatura e menor umidade relativa do ar, exigindo maior esforço dos animais. Segundo Pösö et al. (2004), concentrações de lactato até 1,6 mmol/L indicam que o animal permanece em exercício aeróbio, enquanto Art (1990) sugere que o metabolismo anaeróbio prevaleça quando as concentrações estão acima de 4 mmol/L. Assim, seguindo essa classificação, os cavalos permaneceram em fase transitória entre o metabolismo aeróbio e anaeróbio, sem apresentar sinais de fadiga.

Segundo Evans (2000), cavalos da raça Árabe e Anglo-Árabe apresentam músculos com elevada proporção de fibras tipo I. Essas fibras apresentam contração lenta e, apesar de não gerarem potência, apresentam capacidade de trabalho aeróbio por longos períodos sem causar fadiga. A maior quantidade de lipídios e capacidade oxidativa conferida pelo elevado número de mitocôndrias no citoplasma, estão diretamente relacionadas com a manutenção da postura e na execução de exercício prolongado com intensidade reduzida (Marlin e Nankervis, 2002; Rivero e Piercy, 2004).

A produção de lactato aumenta durante o exercício de alta intensidade e cessa quando a intensidade do exercício é reduzida. Porém, o pico de lactato no sangue ocorre,

aproximadamente, de 2 a 10 minutos após o exercício e os valores são inferiores a 2 mmol/L em provas de enduro, 10,24 mmol/L em competições de polo e 20-25 mmol/L em corridas. Além disso, quanto maior for a concentração de lactato durante o exercício, mais tarde ocorrerá o pico da sua concentração (Marlin e Nankervis, 2002; Demirtaş, 2018). Esses resultados também foram observados neste trabalho (Figura 1b), visto que a concentração de lactato aumentou entre os tempos 2 (1,13 mmol/L) e 12 (1,54 mmol/L) minutos após o exercício, porém, com exercício de intensidade moderada (metabolismo aeróbio).

Fatores como o aporte nutricional, o condicionamento físico e a intensidade e duração do exercício, afetam as vias metabólicas produtoras de energia durante a contração muscular e favorecem a manutenção da glicemia em cavalos. Neste trabalho, as concentrações de glicose no sangue permaneceram dentro dos limites normais para cavalos em treinamento aeróbio (Williams *et al.*, 2001; Viu *et al.*, 2010). É importante salientar que os cavalos iniciaram o programa de treinamento aproximadamente 2 horas após a refeição.

O aumento na concentração de glicose após o exercício, como observado no D30 (variação de 89,5 a 95,2 mg/dL de 0 a 15 minutos após o exercício, respectivamente), também foi relatado por Martins *et al.* (2005): no repouso, os cavalos apresentaram $86,9 \pm 15$ mg/dL e, meia hora após o término do exercício, chegou a $116,3 \pm 34$ mg/dL. Allaam *et al.* (2014) reportaram que o aumento da concentração de glicose ocorre devido à glicogenólise hepática. Por outro lado, a diminuição na concentração de glicose após o exercício, como observada no D0 deste trabalho, foram relatadas por Fernandes e Larsson (2000). Os três grupos de animais avaliados por esses autores

apresentaram redução na concentração de glicose de 20 a 30 minutos após o exercício.

A adaptação do animal ao treinamento induz à menor produção e utilização de glicose durante o exercício, além de melhorar os resultados de frequência cardíaca. A suplementação com CoQ₁₀ melhorou a capacidade cardiocirculatória dos animais uma vez que foram capazes de realizar a atividade física imposta utilizando-se de menor frequência cardíaca. A adaptação da musculatura de cavalos ao treinamento ocorre em forma contínua baseada na intensidade e duração do exercício (Rivero, 2007). O treinamento de resistência resulta em maior densidade mitocondrial e suprimento capilar, alterações das principais enzimas metabólicas e aumento do consumo máximo de oxigênio, promovendo transição dos tipos de fibras musculares (Thayer *et al.*, 2000).

CONCLUSÃO

A suplementação com CoQ₁₀ reduziu a atividade da enzima CK e o valor da FC em equinos submetidos ao exercício aeróbio. Além disso, o GS apresentou maior estabilidade da FC e menores valores (do D30 ao D90) ao longo dos dias de avaliação, sugerindo melhor adaptação cardíaca. Porém, não se mostrou eficiente no metabolismo do lactato, da glicose e da atividade das enzimas AST e LDH. As respostas observadas para esses parâmetros apresentaram-se dentro dos limites recomendados pela literatura.

Agradecimentos: Os autores agradecem o Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP/FMVZ/USP) e os alunos do Laboratório de Pesquisa em Alimentação e Fisiologia do Exercício em Equinos (LabEqui) pelo apoio e colaboração na execução desse trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALLAAM, M.; ELSEADY, Y.; NAYEL, M. et al. Physiological and hematochemical evaluation of thoroughbred race horse after exercise. **International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences**, v.8, n.3, p.81-93, 2014.
- ART, T. Effect of show jumping on heart rate, blood lactate and other plasma biochemical values. **Equine Veterinary Journal**, v.9, p.78-82, 1990.
- BAE, G.S.; CHOI, A.; YEO, J.M. et al. Supplementing *Rhodobacter sphaeroides* in the diet of lactating Holstein cows may naturally produce coenzyme Q10-enriched milk. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.31, n.1, p.40-46, 2018.
- BANK, G.; KAGAN, D.; MADHAVI, D. Coenzyme Q10: clinical update and Bioavailability. **Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.16, n.2, p.129-137, 2011.
- BARBIROLI, B.; IOTTI, S.; LODI R. Aspects of human bioenergetics as studied in vivo by magnetic resonance spectroscopy. **Biochimie**, v. 80, p. 847-53, 1998.
- BRAUN, B.; CLARKSON, P.M.; FREEDSON, P.S. et al. Effects of coenzyme Q10 supplementation on exercise performance, VO₂max, and lipid peroxidation in trained cyclists. **International Journal of Sport Nutrition**, v.1, p.353-365, 1991.
- DEMİRTAŞ, B. Physical, Haematological and Biochemical Responses of Arabian Horses to Jereed (Javelin Swarm) Competition. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v.24, n.2, p.219-226, 2018. DOI: 10.9775/kvfd.2017.18674
- EVANS, D.L. Training and fitness in athletic horses [2000]. Department of Animal Science University of Sydney. Sydney: Rural Industries Research and Development Corporation. 88p. Disponível em: <<https://rirdc.infoservices.com.au/downloads/00-001>>. Acesso em: 12/01/2018.
- FERNANDES, W.R.; LARSSON, M.H.M.A. Alterações nas concentrações séricas de glicose, sódio, potássio, ureia e creatinina, em equinos submetidos a provas de enduro de 30 km com velocidade controlada. **Ciência Rural**, v.30, n.3, p.393-398, 2000.
- FERREIRO-BARROS, C.C.; SUGAWARA, E.K.; SANCHES, L.R. Determination of a method for extraction of coenzyme Q10 in human plasma: optimization of the use of surfactants and other variables. **Einstein**, v.10, n.2, p.203-208, 2012.
- KIKUSATO, M.; NAKAMURA, K.; MIKAMI, Y. et al. The suppressive effect of dietary coenzyme Q10 on mitochondrial reactive oxygen species production and oxidative stress in chickens exposed to heat stress. **Animal Science Journal**, v.87, n.10, p.1244-1251, 2016.
- Koyama, T.; Keatisuwan, W.; Kinjo, M.; Saito, H. Suppressive effect of coenzyme Q₁₀ on phospholipase A2 activation in cardiac cells after prolonged swimming. **Life Science**, v. 51, p. 1113-1118, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(92\)90512-N](https://doi.org/10.1016/0024-3205(92)90512-N)
- Leadon, D.P. A review of Co-enzyme Q10 as an enhancer of recovery in exercised horses. **EFTBA Veterinary Newsletter**, n.18, 2015.
- MARLIN, D.; NANKERVIS, K. **Equine Exercise Philosophy**. Oxford: Blackwell Publishing. 2002.
- MARTINS, C.B.; OROZCO, C.A.G.; D'ANGELIS, F.H.F. et al. Determinação de variáveis bioquímicas em equinos antes e após a participação em prova de enduro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.12, n.1/3, p.62-65. 2005.
- MATTOSINHO, R.O.; SAMPAIO, A.J.S.A.; BALARIN, M.R.S. et al. Alterações hematológicas e bioquímica sérica de equinos atletas. **Revista de**

- Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v.4, n.1, p.082-091, 2017.
- MENKE, T.; NIKLOWITZ, P.; DE SOUSA, G. et al. Comparison of coenzyme Q10 plasma levels in obese and normal weight children. **Clinica Chimica Acta**, v.349, n.1-2, p.121-1277, 2004.
- MIZUNO, K.; TANAKA, M.; NOZAKI, S. et al. Antifatigue effects of coenzyme Q10 during physical fatigue. **Nutrition**, v.24, p.293-299, 2008.
- NIELSEN, A.N.; MIZUNO, M.; RATKEVICIUS, A. et al. No effect of antioxidant supplementation in triathletes on maximal oxygen uptake, detected muscle energy metabolism and muscle fatigue. **International Journal of Sports Medicine**, v.20, n.3, p.154-158, 1999.
- NRC – National Research Council. **Nutrients Requirements of Horses**, 2007. 6.ed Revised Edition. National Academic Press: Washington. 341p.
- PÖSÖ, A.R.; HYYPPÄ, S.; GEOR, R.J. Metabolic response to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K.W.; KANEPS, A.J.; GEOR, R.J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 771-792, 2004.
- RAHMAN, S.; CLARKE, C.; HIRANO, M. 176th European Neuro Muscular Centre (ENMC) International Workshop: **Diagnosis and treatment of coenzyme Q10 deficiency**. *Neuromuscular Disorders*, v.22, n.1, p.76-86, 2012.
- RIVERO, J.L.L. A scientific background for skeletal muscle conditioning in equine practice. **Journal of Veterinary Science**, v.54, p.321-332, 2007.
- RIVERO, J.L.L.; PIERCY, R.J. Muscle physiology: responses to exercise and training. In HINCHCLIFF, K.W.; KANEPS, A.J.; GEOR, R.J. **Equine Sports Medicine and Surgery: Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete**. Philadelphia: Saunders. 2004.
- SALES, J.V.F.; DUMONT, C.B.S.; LEITE, C.R. et al. Expressão do Mg⁺², CK, AST e LDH em equinos finalistas de provas de enduro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.1, p.105-110. 2013.
- STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. Monovalent Eletrolites and osmolarity. In: STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology**. 2.ed. Ames: Blackwell Publishing, 2008, p. 495-558.
- SINATRA, S.T.; CHOPRA, R.K.; JANKOWITZ, S. et al. Coenzyme Q10 in Equine Serum: Response to Supplementation. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.33, p.71-73. 2013.
- THAYER, R.; COLLINS, E.; NOBLE, G. Decrease of aerobic endurance training: Histological evidence for fiber type transformation. **Journal of Sports Medical Physical Fitness**, v.40, p.284-289, 2000.
- THOMASSIAN, A.; CARVALHO, F.; WATANABE, M.J. 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.
- TURUNEN, M.; OLSSON, J.; DALLNER, G. Metabolism and function of coenzyme Q. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1660, n.1-2, p.171-199, 2004.
- VIU, J.; JOSE-CUNILLERAS, E.; ARMENGOU, L. et al. Acid-base imbalances during a 120 km endurance race compared by traditional and simplified strong ion difference methods. **Equine Veterinary Journal**, v.42, p.76-82. 2010.
- WILLIAMS, C.A.; KRONFELD, D.S.; STANIAR, W.B. Plasma glucose and insulin responses of Thoroughbred mares fed a meal high in starch and sugar or fat and fiber. **Journal of Animal Science**, v.79, n.8, p.2196-201, 2001.