

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

**PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO E HEMATOLÓGICO
DE EQÜINOS SUBMETIDOS À PROVA DE TEAM
PENNING**

Renata Lima de Miranda
Médica Veterinária

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL
Janeiro de 2009

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO E HEMATOLÓGICO
DE EQÜINOS SUBMETIDOS À PROVA DE TEAM
PENNING**

Renata Lima de Miranda

Orientador: Prof. Dr. Antonio Vicente Mundim

Co-orientador: Prof.Dr. Frederico Ozanam Carneiro e Silva

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária – UFU, como parte das
exigências para obtenção do título de Mestre em
Ciências Veterinárias (Saúde Animal)

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL

Janeiro de 2009

EPÍGRAFE

“A melhor maneira de nos prepararmos para o futuro é concentrar toda a imaginação e entusiasmo na execução perfeita do trabalho de hoje.”

Dale Carnegie

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais e irmãos
Cláudio e Vane
Fernanda e Cláudio Filho
Pelo amor, carinho, apoio e eterno incentivo.*

AGRADECIMENTOS

Ao Médico Veterinário

Sebastião Faina Duarte

Pela contribuição no desenvolvimento do trabalho.

A Médica Veterinária

Ana Carolina Silveira Saquy

Pelo incentivo e apoio na execução prática do trabalho.

Ao meu orientador

Prof. Dr. Antonio Vicente Mundim

Pelo apoio incondicional, paciência, confiança, dedicação e sabedoria. Minha eterna gratidão. Obrigada pela oportunidade.

Ao colega **Álisson Souza Costa**

Pela participação direta na realização do trabalho.

Ao **Prof. Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães**

Pela paciência e contribuição indispensável.

Ao **Prof. Dr. Frederico Ozanam Carneiro e Silva**

Pelo acompanhamento, conhecimento e experiência. Essenciais para que eu atingisse meus objetivos.

Aos demais colaboradores e amigos

Sebastião Firmiano Araújo

Felipe César Gonçalves

A todos àqueles que acreditam que a ousadia e o erro são caminhos para as grandes realizações.

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Referências	03
-------------------	----

CAPÍTULO 2 – PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE EQÜINOS SUBMETIDOS À PROVA DE TEAM PENNING

Resumo	05
Introdução	07
Material e métodos	08
Resultados	10
Discussão	14
Conclusão	17
Referências	18

CAPÍTULO 3 – PERFIL HEMATOLÓGICO DE EQÜINOS SUBMETIDOS À PROVA DE TEAM PENNING

Resumo	22
Introdução	24
Material e métodos	25
Resultados	27
Discussão	31
Conclusão	33
Referências	34

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP - trifosfato de adenosina
ADP - difosfato de adenosina
ACTH - hormônio adrenocorticotrófico
AST - aspartato aminotransferase
LDH - lactato desidrogenase
CK - creatina quinase
mL - mililitros
UFU - Universidade Federal de Uberlândia
ALP - fosfatase alcalina
UV - ultravioleta
IFCC - Federação Internacional de Química Clínica
GI - grupo I
GII - grupo II
n - número de animais.
EDTA - etilenodiaminotetraacético
VGM - volume globular médio
CHGM - concentração da hemoglobina globular média
RDW - amplitude da distribuição da série vermelha
MGG - May Grunwald Giemsa
CEUA - Comitê de Ética na utilização de Animais na Universidade Federal de Uberlândia

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Parâmetros bioquímicos avaliados com respectivas metodologias utilizadas para análise 09

Tabela 2: Grupos de animais de acordo com o número de participações na competição Team Penning 09

Tabela 3: Médias e desvios padrão dos parâmetros bioquímicos séricos dos animais em repouso (Grupo I) e após exercício (Grupo II).....11

Tabela 4: Médias dos grupos I e II e das relações GI/GII dos parâmetros bioquímicos séricos de eqüinos dos Grupos A, B, C e D.....12

Tabela 5: Médias dos parâmetros bioquímicos séricos de machos e fêmeas dos grupos I e II, com desvios padrão, e das relações GI/GII.....13

CAPÍTULO 3

Tabela 1: Grupos de animais de acordo com o número de participações na competição Team Penning 26

Tabela 2: Médias e desvios padrão dos parâmetros hematológicos dos animais em repouso (Grupo I) e após exercício (Grupo II).....27

Tabela 3: Médias dos grupos I e II e das relações GI/GII dos parâmetros hematológicos de eqüinos dos Grupos A, B, C, D.....29

Tabela 4: Médias dos parâmetros hematológicos de machos e fêmeas dos grupos I e II, com desvios padrão, e das relações GI/GII.....30

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Desde a antiguidade já se conhece a habilidade eqüina para a prática esportiva. Como atletas que são, a avaliação do desempenho destes animais se torna fundamental para o reconhecimento de suas habilidades, capacidades e da intensidade de exercício mais adequada em diferentes fases de treinamento. A demanda pelo diagnóstico de diversos distúrbios que podem afetar o desempenho atlético, bem como a busca pelo treinamento mais adequado, tornou-se imperativa (SANTOS, 2006).

A manutenção da contração muscular durante o exercício requer o fornecimento de grandes quantidades de energia química, sendo o trifosfato de adenosina (ATP) o veículo intracelular universal de energia do músculo esquelético (ERICKSON, 1996). O glicogênio muscular e hepático são os substratos energéticos usados durante o exercício, sendo o estoque esgotado durante a atividade física e repostado no período de recuperação (HODGSON et al., 1985). A produção e utilização apropriadas de energia são essenciais para o eqüino atleta e possuem função crítica para o ótimo desempenho, sendo a glicose uma importante fonte de energia para a atividade muscular. Ao aumentar a intensidade do exercício, grande parte da energia é gerada mediante glicólise anaeróbica, com conseqüente produção de ácido láctico (GOMIDE et al., 2006).

O exercício pode acarretar fadiga muscular, que é um decréscimo na capacidade de trabalho causado por exercício próprio. A fadiga do músculo estriado resulta na depleção ou ausência de energia viável na forma de ATP, ausência de oxigênio, acúmulo de ácido láctico e dióxido de carbono e alterações nos estados químicos como, redução de cálcio ou de cloretos. Um músculo fatigado pode sofrer contratura fisiológica (rigidez) e permanecer contraído devido à energia insuficiente para o relaxamento. Assim que o ATP é formado, o músculo relaxa e cessa o estado de contração (FRANDSON, 1979).

Durante o trabalho muscular, o ATP é hidrolisado pela miosina ATP-ase em difosfato de adenosina (ADP) no músculo esquelético, com liberação de fosfato inorgânico e energia. No decorrer desse processo, é liberada uma grande quantidade de energia de potencial químico sob forma de energia cinética, que pode

ser utilizada pelas proteínas contráteis do músculo para gerar força. Em condições normais, entretanto, há uma quantidade limitada de ATP na musculatura esquelética, que é suficiente para manter a contração muscular somente por alguns segundos. Existem dois processos distintos que proporcionam o reabastecimento intracelular de ATP: fosforilação oxidativa (aeróbica) em que os principais substratos são ácidos graxos não esterificados e glicose circulantes, juntamente com glicogênio e triglicerídios intramusculares; e fosforilação anaeróbia, em que o ATP é regenerado a partir de fosfato de creatina, glicose circulante e reservas locais de glicogênio (ERICKSON, 1996).

Em geral, a causa de fadiga durante um exercício depende em grande parte da duração e exigências energéticas do evento. Em atividades com duração de 20 segundos (alta intensidade) 90 % das exigências energéticas são anaeróbicas, sendo que este exercício na velocidade máxima atingida pelo animal não pode ser mantido por mais de 30 segundos, pois com a fadiga o animal diminui o ritmo. Entretanto, a exigência em esforços prolongados é 90 % aeróbica (AIELLO, 2001).

Fatores que dificultam a obtenção de oxigênio, reduzindo o suprimento de energia via aeróbica, influenciam a capacidade física do animal de forma adversa. O condicionamento à atividade aumenta a capacidade aeróbica, e, portanto, melhora o desempenho atlético. Já a diminuição dos estoques de glicogênio muscular incapacita a glicólise anaeróbica e afeta negativamente o desempenho do animal (LACOMBE et al., 1999). A redução das reservas de glicogênio é um importante causador de fadiga muscular em animais que realizam provas de resistência e corrida. A melhora do condicionamento físico pode aumentar os níveis de glicogênio muscular (FOREMAN et al., 1990).

A modalidade esportiva Team Penning é praticada por um trio de cavaleiros que buscam colocar três bezerros identificados dentro de um curral instalado na arena. A competição é complexa, pois o trio deve separar os bezerros com numeração sorteada no menor tempo possível. Neste tipo de exercício, com velocidade máxima em curta duração, os depósitos intramusculares de ATP se esgotam em 50% e levam ao acúmulo de lactato e presença de amônia nos músculos, o que contribui com a fadiga. Esta também sofre influência dos distúrbios eletrolíticos, caracterizados por diminuição nas concentrações intracelulares de

potássio e aumento de sódio e lactato, com redução na força das contrações musculares (AIELLO, 2001).

O exercício provoca aumento transitório da concentração plasmática de catecolaminas, hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e cortisol em resposta ao eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal. A contagem de leucócitos pode aumentar entre 10 e 30% dependendo da intensidade e duração do exercício (SANTOS, 2006). Os parâmetros hematológicos podem ser influenciados pela raça, idade, sexo e alimentação, além do exercício físico (PICCIONE et al., 2001).

A clínica veterinária esportiva em rápida evolução abrange a prevenção de lesões e o desejo de aprimorar a qualidade de desempenho. Assim, há um interesse crescente nos testes hematológicos e bioquímicos para avaliação do potencial de desempenho, que evitam que se exija demais fisicamente do animal, acarretando-lhe alguma lesão grave (BLOOD; RADOSTITS, 1991).

Portanto, as alterações bioquímicas e hematológicas que ocorrem em consequência do exercício e a suas importâncias na avaliação da intensidade do esforço físico, nortearam a realização desta pesquisa. Cujo objetivo foi avaliar o perfil hematológico e as atividades séricas de enzimas, minerais, metabólitos e proteínas, correlacionando o sexo e frequência da atividade física, em equinos submetidos à prova de Team Penning.

REFERÊNCIAS

AIELLO, S. E. Distúrbios metabólicos. In: _____. **Manual Merck de Veterinária**. 8.ed., São Paulo: Roca, 2001. p.593-613.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. Estados sistêmicos gerais: exercício físico e exaustão. In: _____. **Clínica Veterinária**. 7.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.71-74.

ERICKSON, H. H. Respiração e exercício: Fisiologia do exercício. In: _____. SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes/Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.277-296.

FOREMAN, J. R.; BAYLY, W. M.; ALLEN, J. R.; MATOBA, H.; GRANT, B. D.; GOLLNICK, P. D. Muscles responses of Thoroughbreds to conventional race training and detraining. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.51, n.6, p.909-913, 1990.

FRANDSON, R. D. Microanatomia e fisiologia do músculo. In: _____. **Anatomia e fisiologia dos animais domésticos**. 2.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979. p.145-161.

GOMIDE, L. M. W.; MARTINS, C. B.; OROZCO, C. A. G.; SAMPAIO, R. C. L.; BELLI, T.; BALDISSERA, V.; LACERDA NETO, J. C. Concentrações sanguíneas de lactato em eqüinos durante a prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.2, p.509-513, 2006.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J.; ALLEN, J. R.; DIMAURO, J. Glycogen depletion patterns in horses competing in day 2 of three-day event. **Cornell Veterinarian**, New York, v.75, n.2, p.366-374, 1985.

LACOMBE, V. A.; HINCHCLIFF, K. W.; GEOR, R. J.; LAUDERDALE, M. A. Exercise that induces substantial muscle glycogen depletion impairs subsequent anaerobic capacity. **Equine Veterinary Journal Supplement**, London, v.30, p.293-297, 1999.

PICCIONE, G.; ASSENZA, A.; FAZIO, F.; GIUDICE, E.; CAOLA, G. Different periodicities of some haematological parameters in exercise-loaded athletic horses and sedentary horses. **Journal of Equine Science**, Tokyo, v.12, n.1, p. 17-23, 2001.

SANTOS, V. P. **Variações hemato-bioquímicas em 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, 2006.

CAPÍTULO 2 – PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE EQÜINOS SUBMETIDOS À PROVA DE TEAM PENNING

RESUMO – O conhecimento das alterações bioquímicas séricas relacionadas ao exercício se faz necessário por refletirem na função de diferentes sistemas e no tipo de energia utilizada. Os sinais clínicos presentes em distintas alterações musculares, quando isolados, têm limitado valor diagnóstico e requer o uso de exames laboratoriais complementares. Estes também são utilizados ao avaliar treinamento, estado clínico ou capacidade atlética do animal. Objetivou-se determinar as concentrações séricas de proteínas, metabólitos, minerais e enzimas séricas em eqüinos submetidos à prova de Team Penning, correlacionando-as com o sexo e frequência da atividade física. Mediante punção da veia jugular externa coletaram-se cinco mL de sangue de 29 eqüinos, 18 machos e 11 fêmeas, em repouso (Grupo I) e após o exercício (Grupo II). As análises bioquímicas séricas foram realizadas em espectrofotômetro Micronal B-280 com uso de kits comerciais e em analisador automático multicanal (Architect C 8000 Abbott Diagnostics) utilizando kits específicos. Os animais foram divididos em Grupos A, B, C e D, de acordo com o número de participações na prova. Observou-se que as concentrações séricas de albumina, relação A:G e ferro reduziram significativamente ($p<0,05$) após o exercício, ao contrário das concentrações de proteínas totais, globulinas, cálcio total, ácido úrico, uréia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e creatina quinase (CK), que elevaram-se. O aumento da creatinina mostrou-se maior nas fêmeas. Além disso, a elevação dos valores de proteínas totais, globulinas, creatinina, AST, LDH e CK foram diferentes entre os grupos A, B, C e D. Concluiu-se que a prova de Team Penning causa alterações no perfil bioquímico sérico de eqüinos, com interferência do sexo e número de participações na prova.

Palavras-chave: *Equus caballus*; exercício; bioquímica sérica.

BIOCHEMICAL SERUM PROFILE OF EQUINES SUBJECTED TO TEAM PENNING

ABSTRACT - Knowledge of serum biochemical changes related to exercise is needed because these changes reflect the function of different systems and the type of energy used. Analyzed separately, the clinical signs of distinct muscular alterations have a limited diagnostic value and require the use of complementary laboratory exams. Such exams are also used to evaluate the animal's training, clinical state or athletic capacity. This study determined the serum concentrations of proteins, metabolites, minerals and serum enzymes in equines subjected to team penning contests, correlating these data with sex and frequency of physical activity. A puncture was made in the external jugular vein to collect five mL of blood from 29 equines, 18 males and 11 females, at rest (Group I) and after exercising (Group II). The biochemical serum analyses were carried out with a Micronal B-280 spectrophotometer using commercial kits and an automatic multichannel analyzer (Abbott Diagnostics - ARCHITECT c8000) using specific kits. The animals were divided into Groups A, B, C and D according to the number of times they participated in the contest. The serum albumin concentrations, A:G ratio and iron declined significantly ($p < 0.05$) after exercising, unlike the concentrations of total proteins, globulins, total calcium, uric acid, urea, creatinine, aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK), which increased. Females showed a higher increase of creatinine. Moreover, the rise in total protein, globulins, creatinine, AST, LDH and CK levels differed among groups A, B, C and D. It was concluded that the Team Penning contest causes alterations in the biochemical serum profile of equines, and that sex and the number of participations in the contest are interferential variables.

Keywords: *Equus caballus*; exercise; serum biochemistry.

INTRODUÇÃO

É importante entender os distúrbios bioquímicos relacionados a vários tipos de exercício, por refletirem alterações na função de diferentes sistemas e no tipo de energia utilizada (ROSE, 1992). As lesões da musculatura esquelética são freqüentemente encontradas na clínica de eqüinos. Os sinais clínicos presentes em distintas alterações musculares são semelhantes e bastante inespecíficos, portanto, quando isolados têm limitado valor diagnóstico e requer o uso de exames laboratoriais complementares (CÂMARA e SILVA; DIAS; SOTO-BLANCO, 2007).

A fadiga do músculo estriado resulta na depleção ou ausência de energia viável na forma de ATP, ausência de oxigênio, acúmulo de ácido láctico e dióxido de carbono e alterações nos estados químicos, como redução de cálcio ou de cloretos (FRANDSON, 1979). A função renal é verificada por meio da obtenção das concentrações séricas de creatinina e uréia, as quais representam grupos de metabólitos que podem se elevar em resposta à desidratação e exercícios (ROSE; HODGSON, 1994).

A melhor forma de avaliar bioquimicamente a função muscular esquelética é por meio da determinação das enzimas creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e aspartato aminotransferase (AST). A CK catalisa a fosforilação da adenosina difosfato (ADP) com o fosfato da creatina, tornando-a adenosina trifosfato (ATP), disponível para 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 específico de lesão muscular. A AST, que catalisa a transaminação de L-aspartato e alfa-cetoglutarato em oxalacetado e glutamato, é encontrada na maioria dos tecidos, e embora não seja específica para nenhum tecido, músculo e fígado podem ser considerados as maiores fontes (DUNCAN; PRASSE, 1986; CARDINET III, 1997).

Análises laboratoriais transformaram-se em ferramentas decisivas para o acompanhamento do animal atleta (BALARIN et al., 2005). Portanto, as alterações bioquímicas que ocorrem em consequência do exercício e suas importâncias na avaliação da intensidade do esforço físico, nortearam a realização desta pesquisa.

Cujo objetivo foi avaliar o perfil de proteínas, metabólitos, minerais e enzimas séricas em eqüinos submetidos à prova de Team Penning, correlacionando com sexo e frequência da atividade física.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Parque de Exposições (CAMARU) na cidade de Uberlândia – MG, durante a etapa final da modalidade esportiva Team Penning. Participaram 29 eqüinos de raças e idades variadas, sendo 18 machos e 11 fêmeas.

Realizaram-se duas coletas de sangue em cada animal. A primeira pela manhã antes da competição com o animal em repouso (Grupo I) e a segunda 20 minutos após a última entrada do animal na pista para competição (Grupo II). Em cada momento foram coletados cinco mililitros (mL) de sangue em tubo a vácuo sem anticoagulante com gel separador e ativador de coágulo (BD Vacutainer®), por venipunção da jugular externa, os quais foram utilizados na determinação dos parâmetros bioquímicos séricos.

Após a chegada ao Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), as amostras de sangue, identificadas com os dados do animal e momento da coleta, foram centrifugadas (Centrífuga Excelsa Baby I Modelo 206 – FANEM) a 720 x g durante cinco minutos. O soro obtido de cada amostra foi dividido em três alíquotas e acondicionado em microtubos (eppendorf). Uma delas foi mantida refrigerada a 7 °C, na qual se determinaram os valores de proteínas totais e albumina em espectrofotômetro Micronal B-280 com uso de kits colorimétricos comerciais (Tabela 1). Outra alíquota foi congelada (-20 °C), durante uma semana, na qual se avaliaram as concentrações séricas de cloreto, potássio, sódio, cálcio total, ferro, ácido úrico, uréia, creatinina, fosfatase alcalina (ALP), AST e CK em analisador automático multicanal (Architect C 8000 Abbott Diagnostics) com uso de kits específicos (Tabela 1) no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da UFU. A terceira alíquota, de aproximadamente 0,5 mL de soro, foi mantida a temperatura ambiente por 24 horas e utilizada para determinação da concentração de LDH no analisador acima citado.

Tabela 1: Parâmetros bioquímicos avaliados com respectivas metodologias utilizadas para análise.

Parâmetros	Metodologia
Proteínas totais	Biureto
Albumina	Verde bromocresol
Globulinas	Cálculo: proteína total - albumina
Relação A:G	Cálculo: albumina / globulina
Cloretos	Eletrodo de íons seletivos
Potássio	Eletrodo de íons seletivos
Sódio	Eletrodo de íons seletivos
Cálcio total	Cresolftaleína complexona - CPC
Ferro	Ferrosina
Ácido úrico	Uricase Trinder
Uréia	Urease cinético UV
Creatinina	Heinegard e Tiderstram`s modificado
ALP	Cinético otimizado
AST	Cinético UV-IFCC
LDH	Piruvato-Lactato
CK	Okinada modificada

UV = ultravioleta. IFCC = Federação Internacional de Química Clínica

Os animais foram agrupados de acordo com o número de participações na prova (Tabela 2).

Tabela 2: Grupos de animais de acordo com o número de participações na competição Team Penning.

Grupo	Número de participações	n
A	1 a 5	7
B	6 a 10	8
C	11 a 15	11
D	Acima de 16	3
TOTAL		29

n = número de animais

A análise estatística de cada variável em estudo se baseou em três testes estatísticos com nível de significância de 5%, de acordo com Ayres et al. (2005). Para comparação entre médias das amostras dependentes, ou seja, médias dos parâmetros séricos dos animais em repouso (Grupo I) e após a competição (Grupo II), assim como para averiguar equivalência nos valores da relação GI/GII dos

parâmetros avaliados entre machos e fêmeas, utilizou-se o teste *t* de *Student*. A análise de variância em delineamento inteiramente ao acaso com aplicação do teste de Tukey foi utilizada com intuito de verificar diferença significativa entre as relações GI/GII dos grupos A, B, C e D para cada parâmetro analisado.

Trabalho submetido e aprovado pelo Comitê de Ética na utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia (CEUA/UFU) sob o parecer número 019/09.

RESULTADOS

Na Tabela 3, encontram-se as médias e desvios padrão dos parâmetros bioquímicos séricos dos animais em repouso (grupo I) e após a competição (grupo II). Comparados os valores dos animais do grupo I e II com os referenciados por Orsini e Divers (2003), observou-se que a maioria permaneceu dentro dos limites, exceto uréia, LDH e CK, que apresentaram valores acima dos citados pelos pesquisadores confrontados. Nos eqüinos do grupo II, a creatinina e globulinas apresentaram concentrações superiores aos da literatura comparada, enquanto que a relação A:G foi inferior.

Quando confrontados os valores dos parâmetros analisados entre os animais dos grupos I e II, observou-se que as concentrações séricas de albumina, relação A:G e ferro diminuíram ($P < 0,05$), enquanto que proteínas totais, globulinas, cálcio total, ácido úrico, uréia, creatinina, AST, LDH e CK elevaram-se significativamente.

As médias do grupo I, grupo II e das relações GI/GII dos parâmetros bioquímicos séricos de acordo com o número de participações nas provas estão demonstradas na Tabela 4. Ao confrontar estes valores, evidenciou-se aumento significativamente maior das concentrações de proteínas totais, globulinas, creatinina, AST, LDH e CK após o exercício de acordo com o maior número de participações na prova.

As médias dos grupos I e II, com desvios padrão, e médias das relações GI/GII dos parâmetros bioquímicos séricos de machos e fêmeas estão expostos na Tabela 5. Ao correlacionar a variação da relação GI/GII entre machos e fêmeas, observou-se que os valores séricos de creatinina apresentaram aumento significativamente maior após o exercício nas fêmeas.

Tabela 3: Médias e desvios padrão dos parâmetros bioquímicos séricos dos animais em repouso (Grupo I) e após exercício (Grupo II).

Parâmetros	Grupo I (n=29)		Grupo II (n=29)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Proteínas totais (g/dL)	6,88 b	0,81	7,5 a	0,53
Albumina (g/dL)	3,12 a	0,54	2,77 b	0,31
Globulinas (g/dL)	3,76 b	0,91	4,74 a	0,63
Relação A:G	0,90 a	0,45	0,60 b	0,12
Cloretos (mEq/L)	101,51 a	5,72	98,56 a	4,38
Potássio (mEq/L)	3,24 a	0,57	3,44 a	0,36
Sódio (mEq/L)	135,31 a	7,93	135,96 a	5,80
Cálcio total (mg/dL)	11,02 b	0,86	11,62 a	0,80
Ferro (µg/dL)	142,91 a	42,18	112,78 b	42,68
Ácido úrico	0,42 b	0,16	0,65 a	0,46
Uréia (mg/dL)	41,00 b	7,95	45,44 a	7,09
Creatinina (mg/dL)	1,65 b	0,28	2,27 a	0,39
ALP (U/L)	178,71 a	46,76	187,72 a	49,12
AST (U/L)	208,58 b	83,86	231,20 a	90,49
LDH (U/L)	670,10 b	161,62	804,52 a	231,79
CK (U/L)	303,10 b	151,09	900,41 a	986,48

(a,b) Médias nas linhas seguidas por letras diferentes, são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

n = número de animais

Tabela 4: Médias dos grupos I e II e das relações GI/GII dos parâmetros bioquímicos séricos de equinos dos Grupos A, B, C e D.

Parâmetros	Grupo A			Grupo B			Grupo C			Grupo D		
	Média GI	Média GII	Média GI/GII	Média GI	Média GII	Média GI/GII	Média GI	Média GII	Média GI/GII	Média GI	Média GII	Média GI/GII
Proteínas totais (g/dL)	7,86	7,79	1,01 a	6,93	7,73	0,89 b	6,43	7,31	0,87 b	6,23	7,13	0,87 b
Albumina (g/dL)	3,10	2,61	1,19 a	3,26	2,85	1,16 a	2,95	2,84	1,04 a	3,43	2,76	1,25 a
Globulinas (g/dL)	4,76	5,17	0,92 a	3,66	4,89	0,75 ab	3,47	4,46	0,77 ab	2,80	4,37	0,66 b
Relação A:G	0,69	0,52	1,31 a	0,90	0,59	1,61 a	0,89	0,65	1,38 a	1,51	0,65	2,58 a
Cloretos (mEq/L)	101,79	98,34	1,03 a	103,04	96,44	1,07 a	99,37	100,12	0,99 a	104,63	99,10	1,05 a
Potássio (mEq/L)	3,63	3,46	1,05 a	3,33	3,49	0,95 a	3,05	3,43	0,90 a	2,83	3,37	0,84 a
Sódio (mEq/L)	134,29	134,71	0,99 a	137,25	133,38	1,03 a	133,36	137,55	0,97 a	139,67	140,00	0,99 a
Cálcio total (mg/dL)	11,43	11,61	0,98 a	11,24	11,63	0,97 a	10,59	11,39	0,93 a	11,10	12,50	0,88 a
Ferro (µg/dL)	141,76	118,27	1,29 a	144,40	115,15	1,28 a	145,18	112,20	1,42 a	133,33	95,87	1,40 a
Ácido úrico (mg/dL)	0,56	0,61	1,69 a	0,41	0,56	0,87 a	0,39	0,75	0,74 a	0,23	0,67	0,41 a
Uréia (mg/dL)	43,00	45,71	0,94 a	46,00	49,25	0,93 a	35,64	41,45	0,85 a	42,67	49,33	0,87 a
Creatinina (mg/dL)	1,69	2,17	0,78 ab	1,81	2,30	0,79 a	1,48	2,20	0,68 b	1,80	2,73	0,66 ab
ALP (U/L)	179,86	176,14	1,01 a	167,25	168,25	0,99 a	186,82	204,73	0,91 a	174,00	204,33	0,85 a
AST (U/L)	199,57	198,71	1,00 a	188,75	198,63	0,96 ab	242,64	280,09	0,87 ab	157,67	214,67	0,73 b
LDH (U/L)	727,50	678,36	1,08 a	614,01	727,93	0,87 ab	690,66	901,12	0,80 ab	610,37	948,97	0,64 b
CK (U/L)	336,57	388,14	0,98 a	227,13	474,75	0,55 ab	350,91	1352,27	0,54 ab	252,33	1574,00	0,17 b

(a,b,c) Médias nas linhas seguidas por letras diferentes, são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). GI = grupo I (repouso). GII = grupo II (após exercício)

Tabela 5: Médias dos parâmetros bioquímicos séricos de machos e fêmeas dos grupos I e II, com desvios padrão, e das relações GI/GII.

Parâmetros	Macho (n=18)			Fêmea (n=11)		
	Média GI	Média GII	Média GI/GII	Média GI	Média GII	Média GI/GII
Proteínas totais (g/dL)	6,94 ± 0,82	7,60 ± 0,60	0,91 a	6,80 ± 0,83	7,39 ± 0,40	0,91 a
Albumina (g/dL)	3,22 ± 0,59	2,83 ± 0,37	1,15 a	2,95 ± 0,41	2,69 ± 0,13	1,09 a
Globulinas (g/dL)	3,71 ± 1,08	4,76 ± 0,76	0,77 a	3,84 ± 0,58	4,70 ± 0,37	0,81 a
Relação A:G	0,98 ± 0,55	0,61 ± 0,15	1,67 a	0,78 ± 0,14	0,57 ± 0,05	1,35 a
Cloretos (mEq/L)	102,23 ± 2,57	97,45 ± 4,74	1,05 a	100,32 ± 8,82	100,40 ± 3,09	1,00 a
Potássio (mEq/L)	3,31 ± 0,61	3,40 ± 0,41	0,97 a	3,13 ± 0,51	3,51 ± 0,27	0,89 a
Sódio (mEq/L)	136,22 ± 3,70	134,55 ± 6,65	1,01 a	133,81 ± 12,20	138,27 ± 3,13	0,96 a
Cálcio total (mg/dL)	11,19 ± 0,56	11,66 ± 0,92	0,96 a	10,74 ± 1,18	11,55 ± 0,58	0,93 a
Ferro (µg/dL)	140,34 ± 41,15	117,10 ± 43,73	1,26 a	147,11 ± 45,53	105,73 ± 41,97	1,49 a
Ácido úrico	0,43 ± 0,17	0,62 ± 0,43	1,03 a	0,39 ± 0,14	0,70 ± 0,53	0,88 a
Uréia (mg/dL)	43,55 ± 8,34	47,38 ± 7,99	0,92 a	36,81 ± 5,26	42,27 ± 3,82	0,87 a
Creatinina (mg/dL)	1,71 ± 0,30	2,25 ± 0,42	0,76 a	1,55 ± 0,24	2,31 ± 0,34	0,67 b
ALP (U/L)	180,77 ± 50,52	185,72 ± 50,56	0,97 a	174,54 ± 41,92	191,00 ± 48,89	0,92 a
AST (U/L)	194,61 ± 39,33	207,33 ± 47,29	0,95 a	231,45 ± 127,02	270,27 ± 128,14	0,85 a
LDH (U/L)	672,29 ± 171,53	756,46 ± 189,72	0,91 a	666,51 ± 151,99	883,16 ± 279,79	0,80 a
CK (U/L)	282,00 ± 163,55	539,27 ± 387,20	0,70 a	337,63 ± 127,79	1491,36 ± 1360,53	0,47 a

(a, b) Médias nas linhas seguidas por letras diferentes, são estatisticamente diferentes (p<0,05). n = número de animais.

GI = grupo I (repouso) GII = grupo II (após exercício)

DISCUSSÃO

Os valores das concentrações séricas de proteínas totais podem fornecer o grau de hidratação do animal (ROSE; HODGSON, 1994). Estudos envolvendo exercícios a longa distância, têm demonstrado aumentos das proteínas plasmáticas e / ou da albumina, indicando o grau de desidratação (SANTOS et al., 2001). Neste estudo, ocorreu aumento nos valores das proteínas totais após o exercício, sendo esta elevação maior nos grupos B, C e D em relação ao grupo A. Postula-se estar este aumento associado à elevação de proteínas de fase aguda decorrentes da lesão muscular (miopatia), que é justificado pelo aumento simultâneo das globulinas e redução da relação A:G, assim como pela maior atividade das enzimas AST, CK e LDH após a competição. Provavelmente, a redução da albumina após o exercício seja atribuída à seu catabolismo, com conseqüente liberação de aminoácidos, os quais podem ser utilizados pelos tecidos periféricos como fonte de energia.

Devido à intensa sudorese apresentada pelos animais após o exercício, pode-se pensar que parte do aumento significativo das proteínas plasmáticas refletisse da perda de líquidos e eletrólitos. Porém, as concentrações de cloretos, potássio e sódio não mostraram variações significativas neste estudo. A semelhança dos valores dos eletrólitos sódio, cloretos e potássio antes e após o exercício e da relação GI/GII entre os grupos de acordo com o número de participações nas provas (Tabelas 3 e 4) condizem com os relatos de Perez et al. (1997), que não observaram alterações significativas nas concentrações de sódio e cloretos após competição de rodeio, apesar dos valores de potássio terem diminuído. Possivelmente, o grau de desidratação dos animais avaliados no presente estudo foi pequeno, ou as perdas pela sudorese foram compensadas pelas reservas intracelulares, especialmente das células musculares e eritrócitos.

Segundo Ferrante et al. (1995), a movimentação das hemácias do baço induzida pelo exercício auxilia na manutenção de eletrólitos no fluido extracelular e, geralmente, acompanha o cátion sódio, a fim de manter a eletroneutralidade (THRALL et al., 2007). A manutenção dos níveis séricos de sódio e cloreto é um fator importante para manter a funcionalidade celular do organismo (LINDINGER; ECKER, 1995).

Cerca de 50% do cálcio total do sangue está ligado às proteínas plasmáticas, principalmente albumina, 10% está associado a outros ânions e o restante permanece na forma ionizada ou ativa (THRALL et al., 2007). Neste estudo, ocorreu redução dos níveis de albumina, entretanto, a concentração de cálcio total aumentou após atividade física. Provavelmente, os animais avaliados apresentaram acidose metabólica, com elevação do cálcio ionizado, o que foi suficiente para elevar a concentração de cálcio total, apesar da possível redução da fração ligada à albumina, em decorrência da redução desta proteína.

As conjecturas para as variações dos valores de ferro sérico em animais após exercício são contraditórias. A redução da concentração sérica de ferro nos animais após o exercício (Grupo II) deste estudo corrobora com Rose et al. (1983) e Mills e Marlin (1996), que detectaram redução nas concentrações séricas de ferro como resposta a competição de enduro e transporte prolongado, respectivamente. Condiz também com a afirmação de que exercícios físicos extenuantes deveriam ser acompanhados por uma hipoferremia, a qual pode estar associada à resposta inflamatória de fase aguda ocasionada, provavelmente, por lesão muscular (TAYLOR et al., 1987). As atividades mais curtas e leves causariam pouco ou nenhum efeito sobre a homeostase do ferro (MILLS et al., 1996).

Elevação na concentração de ácido úrico foi relatada por Keenan (1979) após prova de enduro. Segundo este autor, a explicação mais provável é que as vias responsáveis pela regeneração dos nucleotídeos de purina tornam-se saturadas pelo aumento do consumo de ATP, conseqüentemente, alguns dos nucleotídeos são completamente metabolizados em ácido úrico, sendo assim, atribuíram o aumento ao grau de fadiga muscular. Outra possível explicação seria devido à inativação da enzima uricase, que transforma o ácido úrico em alantoína (ROSE et al., 1980).

Nesse estudo, é provável que durante a atividade física o catabolismo purínico tenha exacerbado em ritmo superior à atividade da uricase hepática e renal de transformar o ácido úrico em alantoína. A semelhança dos valores observados entre os grupos de acordo com o número de participações na prova indica que, provavelmente, a fadiga muscular não interferiu nesta variável.

Segundo Rose e Hodgson (1994) e Mundim et al. (2004), os níveis séricos de creatinina e uréia podem elevar em resposta a hemoconcentração decorrente de

exercícios e conseqüente desidratação. A creatinina sérica, a exemplo da uréia, sofre influência de condições pré-renais, como intensa atividade muscular e também, devido à hipovolemia com conseqüente redução da filtração glomerular (FERNANDES; LARSSON, 2000). Para Snow et al. (1982), a alteração na concentração sérica de uréia se deve, principalmente, ao aumento do metabolismo protéico e não à alteração renal.

No presente estudo, a elevação dos valores de uréia após o exercício, provavelmente, ocorreu devido ao aumento do catabolismo protéico, condizente à redução dos valores de albumina também encontrada. Santos (2006) não detectou variações nas concentrações de uréia, quando comparou grupos de animais em repouso, esteira, treinamento e prova, porém, os valores de creatinina, foram superiores nos animais após atividade física, aumento este em conseqüência da elevação do catabolismo da creatina e fosfocreatina nas células musculares.

Acredita-se que o maior aumento dos valores da creatinina observado nos animais do grupo C quando comparados com o grupo B após o exercício seja conseqüência da combinação de discreta desidratação com o aumento do catabolismo muscular de fosfocreatina.

O aumento na concentração sérica das enzimas biomarcadores da função muscular nos animais do grupo II, assim como a diferença significativa e menor valor da relação GI/GII para AST, LDH e CK no grupo D, ao comparar com grupo A, é devido à alteração na permeabilidade e dano à célula muscular em conseqüência da hipóxia celular gerada pelo trabalho muscular anaeróbico. Uma vez que, tais enzimas avaliam bioquimicamente o desgaste e/ou lesão muscular, embora Rose e Hodgson (1994) afirmem que a análise da AST para avaliar as lesões musculares deva ser feita com cautela, pois a enzima é encontrada na maioria dos tecidos, e não é específica para nenhum deles, apesar de músculo e fígado serem considerados as maiores fontes.

Aumento da concentração de AST foi mencionado por Snow et al. (1982) após prova de enduro de 80 km, sendo este atribuído ao decréscimo de volume plasmático e a hemólise intravascular. Por ser mitocondrial e citosólica, a elevação da AST é mais tardia que a CK e LDH, pois sua saída até a circulação geralmente requer a presença de dano celular (PEREZ et al., 1997; GÓMEZ et al., 2004).

Aumentos significativos de CK e LDH 15 minutos após o exercício, foram mencionados por Perez et al. (1997), enquanto que da AST foi evidenciado somente 24 horas após prática física. Santos (2006), comparando grupos em repouso, esteira, treinamento e prova, verificou aumento na concentração de CK à medida que se intensificou a atividade física. O efeito do exercício nas concentrações de CK em cavalos saudáveis depende da intensidade e duração do exercício, condicionamento físico e ambiente (HARRIS; MARLIN; GRAY, 1998).

Barton et al. (2003) relataram aumento de CK após 159 km de enduro. Para Gómez et al. (2004), a elevação nos valores de CK se deve a alteração na permeabilidade e dano à célula muscular, em consequência da hipóxia celular gerada pelo trabalho muscular anaeróbico.

As discrepâncias observadas entre os achados do presente estudo e os da literatura confrontada, podem ser devidas, possivelmente, ao fato de que nos diferentes estudos a intensidade do esforço físico foi variável em relação à duração e velocidade das respectivas competições.

Os valores de creatinina deste estudo tiveram aumento significativamente maior após a competição nas fêmeas. Sabe-se que a creatina é um metabólito utilizado para armazenar energia no músculo, na forma de fosfocreatina. A creatinina é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular, mediante atividade catalisadora da CK. O fosfato de creatina liberado é utilizado na fosforilação de ADP em ATP, disponibilizando energia para contração muscular (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). No presente estudo o aumento das concentrações de creatinina acompanhou as concentrações de CK, embora, o aumento da CK não se distinguiu estatisticamente entre machos e fêmeas devido ao elevado desvio padrão. Entretanto, as variações nos valores da creatinina foram pequenas, sendo visualizado diferença significativa entre sexo. Provavelmente, as fêmeas tiveram um desgaste muscular maior e estariam menos preparadas que os machos.

CONCLUSÃO

A prova de Team Penning ocasiona alterações bioquímicas séricas em eqüinos, com interferência do sexo e da frequência do exercício.

REFERÊNCIAS

- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. 2005. **Bioestat 4.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Belém, PA: Sociedade Mamiaurá, Imprensa Oficial do Estado do Pará, 2005.
- 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, gama-glutamyltransferase e lactato desidrogenase em eqüinos puro sangue inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.26, n.2, p.211-218, 2005.
- BARTON, M. H.; WILLIAMSON, L.; JACKS, S.; NORTON, N. Body weight, hematologic findings, and serum and plasma biochemical findings of horses competing in a 48-, 83-, or 159-Km endurance ride under similar terrain and weather conditions. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.64, n.6, p.746-753, 2003.
- CÂMARA E SILVA, I. A.; DIAS, R. V. C.; SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em eqüinos de diferentes categorias de atividade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n.1, p.250-252, 2007.
- CARDINET III, G. H. Skeletal muscle function. In: KANEKO, J. J; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic, 1997. p. 407-440.
- DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Veterinary laboratory medicine, Clinical pathology**. 2.ed. Ames: Iowa State University, 1986. 285 p.

FERNANDES, W. R.; LARSSON, M. H. M. A. Alterações nas concentrações séricas de glicose, sódio, potássio, uréia e creatinina, em eqüinos submetidos a provas de enduro de 30 Km com velocidade controlada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n. 3, p.393-398, 2000.

FERRANTE, P. L.; TAYLOR, L. E.; WILSON, J. A.; KRONFELD, D. S. Plasma and erythrocyte ion concentrations during exercise in Arabian horses. **Equine Veterinary Journal Supplement**, London, v.18, p.306-309, 1995.

FRANDSON, R. D. Microanatomia e fisiologia do músculo. In: _____. **Anatomia e fisiologia dos animais domésticos**. 2.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979. p.145-161.

GÓMEZ, C.; PETRÓN, P.; ANDAUR, M.; PÉREZ, R.; MATAMOROS, R. Medición post-ejercicio de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas en eqüinos da salto Holsteiner. **Revista Científica**, Maracaibo, v.14, n.3, p.244-253, 2004.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2 ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 358p.

HARRIS, R. C.; MARLIN, D. J.; GRAY, J. Plasma aspartate aminotransferase and creatine kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. **The Veterinary Journal**, London, v.155, n. 3, p.295-304, 1998.

KEENAN, D. M. Changes of blood metabolites in horses after racing, with particular reference to uric acid. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.55, p.54-57, 1979.

LINDINGER, M. I.; ECKER, G. L. Ion and water losses from body fluids during a 163 km endurance ride. **Equine Veterinary Journal Supplement**, London, v.18, p.314-322, 1995

MILLS, P. C.; MARLIN, D. J. Plasma iron in elite horses at rest and after transport. **Veterinary Record**, London, v.138, p.215-217, 1996.

MILLS P. C.; SMITH, N. C.; CASAS, I.; HARRIS, P.; HARRIS, R. C.; MARLIN, D. J. Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. **European Journal of Applied Physiology**, Heidelberg, v.74, p.60-66, 1996.

MUNDIM, A. V.; TEIXEIRA, A. A.; GALO, J. Á.; CARVALHO, F. S. R. Perfil bioquímico e osmolalidade sanguínea de eqüinos utilizados para trabalho em centros urbanos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.20, n.1, p.135-142, 2004.

ORSINI, J.A.; DIVERS, T.J. Reference values. In: _____. **Manual of Equine Emergencies. Treatment and procedures**. 2.ed., Philadelphia: Saunders, 2003. p. 808-820.

PEREZ, R.; GARCIA, M.; CABEZAS, I.; GUZMAN, R.; MERINO, V.; VALENZUELA, S; GONZALEZ, C. Actividad física y câmbios cardiovasculares y bioquímicos del caballo chileno a la competência de rodeo. **Archivos de Medicina Veterinária**, Valdivia, v.29, n.2, p.221-234, 1997.

ROSE, R. J. **Currente therapy in equine medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1992. 847p.

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

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R.; SAMPSONT, D.; CHANT, W. Changes in plasma biochemistry in horses competing in a 160 Km endurance ride. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.60, n.4, p. 101-105, 1983.

ROSE, R. J.; ILKIW, J. E.; ARNOLD, K. S.; BACKHOUSE, J. W.; SAMPSON, D. Plasma biochemistry in the horse during 3-day event competition. **Equine Veterinary Journal**, London, v.12, n.3, p.132-136, 1980.

SANTOS, S. A.; SILVA, R. A. M. S.; AZEVEDO, J. R. M.; MELLO, M. A. R.; SOARES, A. C.; SIBUYA, C. Y.; ANARUMA, C. A. Serum electrolyte and total protein alterations in Pantaneiro horse during long distance exercise. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, n.3, p.1-10, 2001.

SANTOS, V. P. **Variações hemato-bioquímicas em 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, 2006.

SNOW, D. H.; KERR, M. G.; NIMMO, M. A.; ABBOTT, E. M. Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse. **Veterinary Record**, London, v.110, n.16, p.377-384, 1982.

TAYLOR, C.; ROGERS, G.; GOODMAN, C.; BAYNES, R. D.; BOTHWELL, T. H.; BEZWODA, W. R.; KRAMER, F.; HATTINGH, J. Hematologic, iron-related, and acute-phase protein responses to sustained strenuous exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.62, n.2, p.464-469, 1987.

THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. Metabolismo de fluidos e eletrólitos. In: _____. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 1.ed., São Paulo: Roca, 2007. p.311-334.

CAPÍTULO 3 - PERFIL HEMATOLÓGICO DE EQUINOS SUBMETIDOS À PROVA DE TEAM PENNING

RESUMO - As variações nos parâmetros hematológicos são utilizadas com intuito de avaliar o grau de treinamento ou estado clínico do animal. A avaliação hematológica de eqüinos em repouso tem sido objeto de estudo, a fim de estabelecer uma relação com treinamento ou capacidade atlética. Objetivou-se avaliar o perfil hematológico de eqüinos submetidos à prova de Team Penning, correlacionando o sexo e frequência da atividade física. Mediante punção da veia jugular externa coletaram-se três mL de sangue de 29 eqüinos, 18 machos e 11 fêmeas, em repouso (Grupo I) e após o exercício (Grupo II). As amostras de sangue foram processadas em analisador hematológico automático veterinário (ABC VET - Horiba ABX Diagnostics). Os animais foram divididos em Grupos A, B, C e D, de acordo com o número de participações na prova. Observou-se que os valores de volume globular, hemoglobina, hemácias, leucócitos, neutrófilos em bastonetes e segmentados, e monócitos aumentaram após o exercício físico, ao contrário do número de linfócitos e eosinófilos, que reduziram. Não existiram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre machos e fêmeas ao confrontar as relações antes/depois. Além disso, evidenciou-se que o valor da relação GI/GII para volume globular, hemoglobina e número de hemácias variou de acordo com a frequência do exercício. Conclui-se que a prova de Team Penning ocasiona alterações hematológicas em eqüinos, com interferência da frequência do exercício, independente do sexo.

Palavras-chave: *Equus caballus*, exercício, hematologia.

HEMATOLOGIC PROFILE OF EQUINES SUBJECTED TO TEAM PENNING

ABSTRACT - Variations in hematologic parameters are used to assess the degree of training or clinical state of the animal. The hematologic evaluation of equines at rest has been an object of study in order to establish a correlation with training or athletic capacity. The purpose of this study was to evaluate the hematologic profile of horses subjected to Team Penning competitions, correlating sex and frequency of physical activity. Three milliliters of blood were drawn through a puncture made in the external jugular vein from 29 equines, 18 males and 11 females at rest (Group I) and after exercising (Group II). The blood samples were processed in an ABC VET automated veterinary hematology analyzer (Horiba ABX Diagnostics). The animals were divided into Groups A, B, C and D according to the number of times they participated in the competition. The values of globular volume, hemoglobin, erythrocytes, rod-shaped and segmented neutrophils, and monocytes were found to increase after the physical exercise, unlike the number of lymphocytes and eosinophils, which decreased. A comparison of the before/after exercise correlations showed no significant differences ($p < 0.05$) between males and females. In addition, it was found that the value of the GI/GII ratio for the globular volume, hemoglobin and number of erythrocytes varied according to the frequency of the exercise. It was concluded that the Team Penning competition produces hematologic alterations in equines, which are affected by the frequency of exercising, regardless of sex.

Keywords: *Equus caballus*, exercise, hematology.

INTRODUÇÃO

As variações no perfil hematológico são utilizadas para avaliação de treinamento ou estado clínico. A avaliação hematológica de eqüinos em repouso tem sido objeto de estudo visando estabelecer uma relação com treinamento ou capacidade atlética (ROSE et al., 1983).

De acordo com Hanzawa et al. (1999), o exercício aeróbico afeta os eritrócitos sanguíneos mediante alterações na composição lipídica e na estrutura protéica da membrana celular, que acabam reduzindo a fragilidade osmótica dos eritrócitos. Enquanto que o exercício anaeróbico torna os eritrócitos suscetíveis às variações osmóticas, ou seja, aumenta a fragilidade osmótica em eqüinos atletas.

Resposta à excitação é uma alteração imediata associada à liberação de epinefrina. Isso resulta em eventos cardiovasculares que, por sua vez aumentam o fluxo sanguíneo da microcirculação, principalmente nos músculos. O exercício extenuante antes da crise hemorrágica pode ter o mesmo efeito. Isso resulta na migração de leucócitos do compartimento marginal para o circulante. No leucograma, nota-se, aproximadamente, o dobro da quantidade de leucócitos, devido ao aumento de neutrófilos e/ou linfócitos. Não ocorre desvio a esquerda, porque a neutrofilia é decorrente do aumento da população de células maduras na microcirculação, que alcançam o compartimento circulante (THRALL et al., 2007).

Já o estresse fisiológico, em resposta, principalmente, à distúrbios metabólicos (desidratação) e dor, ocorre devido à liberação de hormônio adrenocorticotrópico pela glândula hipófise e conseqüente liberação de cortisol pela glândula adrenal. A principal alteração é linfopenia. Os esteróides podem induzir apoptose de linfócitos e alterar seu padrão de recirculação. A segunda alteração mais consistente é a duplicação da população de neutrófilos circulantes. Não há desvio a esquerda, a menos que haja uma doença inflamatória simultânea. Eosinopenia é a terceira alteração mais comum e ocorrência de monocitose é variável (THRALL et al., 2007).

A resposta hematológica frente ao exercício físico é considerada conseqüência dos níveis plasmáticos aumentados de cortisol, decorrente do estresse e está correlacionada com a concentração de adrenalina, velocidade e

freqüência cardíaca do animal. O exercício provoca aumento transitório da concentração plasmática de catecolaminas, ACTH e cortisol em resposta ao eixo hipotálamo-hipófise-suprarenal. As catecolaminas promovem mobilização de eritrócitos e linfócitos provenientes do baço. Enquanto o ACTH e cortisol estimulam a produção de neutrófilos e migração de granulócitos para os tecidos. A contagem de leucócitos pode aumentar entre 10 e 30% dependendo da intensidade e duração do exercício (SANTOS, 2006). Os parâmetros hematológicos podem ser influenciados pela raça, idade, sexo e alimentação, além do exercício físico (PICCIONE et al., 2001).

Análises laboratoriais tornaram-se fundamentais na avaliação do eqüino em competição, transformando-se em ferramentas decisivas para o acompanhamento do animal atleta (BALARIN et al., 2005). Portanto, as alterações hematológicas que ocorrem em consequência do exercício e a sua importância na avaliação da intensidade do esforço físico, nortearam a realização desta pesquisa. Cujo objetivo foi avaliar o perfil hematológico, correlacionando o sexo e freqüência da atividade física, em eqüinos submetidos à prova de Team Penning.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Parque de Exposições (CAMARU) na cidade de Uberlândia – MG, durante a etapa final da modalidade Team Penning. Participaram 29 eqüinos de raças e idades variadas, sendo 18 machos e 11 fêmeas.

Realizaram-se duas coletas de sangue em cada animal. A primeira pela manhã antes da competição com o animal em repouso (Grupo I) e a segunda 20 minutos após a última entrada do animal na pista para competição (Grupo II). Em cada momento foram coletados dois mL de sangue em tubo a vácuo com ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) (BD Vacutainer®), por venipunção da jugular externa, os quais foram utilizados no processamento do hemograma.

Após coletadas, as amostras foram imediatamente encaminhadas ao Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da UFU, onde foram processadas em analisador hematológico automático veterinário (ABC VET - Horiba ABX Diagnostics). Em que foi possível determinar os valores de volume globular,

hemoglobina, número total de leucócitos, hemácias, plaquetas, volume globular médio (VGM), concentração da hemoglobina globular média (CHGM) e amplitude da distribuição da série vermelha (RDW). A contagem diferencial complementar de leucócitos foi feita a partir de extensões sanguíneas coradas com May Grunwald Giemsa (MGG), segundo Ferreira Neto, Viana e Magalhães (1982), em que se estabeleceu a percentagem (valor relativo) de monócitos, linfócitos, eosinófilos e neutrófilos em bastonetes e segmentados, com a contagem de 100 células. Conseqüentemente, ao multiplicá-las pela contagem total de leucócitos, obtiveram-se os valores absolutos de cada tipo celular.

Os animais foram agrupados de acordo com o número de participações na prova (Tabela 1).

Tabela 1: Grupos de animais de acordo com o número de participações na competição Team Penning.

Grupo	Número de participações	n
A	1 a 5	7
B	6 a 10	8
C	11 a 15	11
D	Acima de 16	3
TOTAL		29

n = número de animais.

A análise estatística de cada variável analisada se baseou em três testes, com nível de significância de 5%, de acordo com Ayres et al. (2005). Aplicou-se o teste paramétrico *t* de *Student* de comparação de médias para amostras dependentes, ou seja, foi verificado se as variáveis analisadas apresentaram resultados estatisticamente iguais antes (Grupo I) e após (Grupo II) o exercício. Utilizou-se do mesmo teste, porém para amostras independentes, a fim de averiguar se a relação antes/depois dos atributos estudados apresentou resultados equivalentes quanto a machos e fêmeas. A análise de variância em delineamento inteiramente ao acaso com aplicação do teste de Tukey foi utilizada com intuito de verificar a existência de diferença significativa entre as relações antes/depois dos grupos A, B, C e D para cada atributo analisado. Trabalho submetido e aprovado

pelo Comitê de Ética na utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia (CEUA/UFU) sob o parecer número 019/09.

RESULTADOS

Os valores de volume globular, hemoglobina, hemácias, leucócitos, neutrófilos em bastonetes e segmentados, e monócitos aumentaram ($p < 0,05$) após o exercício físico. Entretanto o número de linfócitos e eosinófilos reduziram em consequência da atividade física (Tabela 2).

Tabela 2: Médias e desvios padrão dos parâmetros hematológicos dos animais em repouso (Grupo I) e após exercício (Grupo II).

Parâmetros	Grupo I (n=29)		Grupo II (n=29)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Volume globular (%)	34,86 b	3,29	39,00 a	3,64
Hemoglobina (g/dL)	11,54 b	1,04	12,84 a	1,14
Hemácias ($\times 10^6 / \mu\text{L}$)	7,69 b	0,77	8,58 a	0,86
VGM (μm^3)	45,41 a	2,06	45,44 a	1,90
CHGM (g/dL)	33,10 a	0,56	32,96 a	0,44
RDW (%)	17,83 a	0,75	17,78 a	0,61
Plaquetas ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)	143,27 a	50,95	141,89 a	46,09
Leucócitos ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)	8,09 b	2,01	11,95 a	3,40
Bastonetes (μL)	132,24 b	163,56	309,10 a	358,08
Segmentados (μL)	4444,79 b	1666,65	8337,17 a	3315,45
Eosinófilos (μL)	286,31 a	202,89	118,86 b	144,06
Linfócitos (μL)	2925,13 a	985,85	2574,93 b	816,18
Monócitos (μL)	249,93 b	172,19	580,68 a	324,12

(a,b) Médias nas linhas seguidas por letras diferentes, são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).
n = número de animais.

Confrontados os valores dos parâmetros hematológicos dos animais em repouso e após o exercício com os valores de referência citados Jain (1993), observou-se que a maioria deles permaneceu dentro dos limites citados pelo autor, exceto, os neutrófilos em bastonetes, os quais apresentaram seus valores ligeiramente acima do fisiológico.

Evidenciou-se redução do valor da relação GI/GII para volume globular, hemoglobina e número de hemácias nos eqüinos com mais de seis participações na prova, comparados aqueles com até cinco participações (Tabela 3). Não existiram

diferenças significativas ao confrontar as relações antes/depois de machos e fêmeas (Tabela 4).

Tabela 3: Médias dos grupos I e II e das relações GI/GII dos parâmetros hematológicos de equinos dos Grupos A, B, C, D.

Parâmetros	Grupo A			Grupo B			Grupo C			Grupo D		
	Média GI	Média GII	Média GI/GII	Média GI	Média GII	Média GI/GII	Média GI	Média GII	Média GI/GII	Média GI	Média GII	Média GI/GII
Volume globular (%)	35,87	35,70	1.00 a	33,80	39,41	0.85 b	34,84	39,91	0.87 b	35,50	42,27	0.83 b
Hemoglobina (g/dL)	11,94	11,87	1.00 a	11,25	12,99	0.86 b	11,47	13,08	0.88 b	11,67	13,90	0.84 b
Hemácias ($\times 10^6 / \mu\text{L}$)	7,85	7,80	1.00 a	7,47	8,69	0.86 b	7,65	8,75	0.87 b	8,11	9,56	0.85 ab
VGM (μm^3)	45,71	45,71	1.00 a	45,50	45,38	1.00 a	45,64	45,64	1.00 a	43,67	44,33	0.98 a
CHGM (g/dL)	33,31	33,23	1.00 a	33,28	33,00	1.00 a	32,91	32,80	1.00 a	32,90	32,83	1.00 a
RDW (%)	17,74	17,77	0.99 a	18,00	18,10	0.99 a	17,79	17,65	1.00 a	17,77	17,47	1.01 a
Plaquetas ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)	142,14	141,00	1.06 a	127,50	143,38	0.91 a	151,82	145,36	1.09 a	156,67	127,33	1.23 a
Leucócitos ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)	8,59	11,41	0.77 a	7,13	10,79	0.68 a	8,70	12,95	0.70 a	7,30	12,67	0.56 a
Bastonetes (/μL)	161,71	290,29	0.85 a	109,63	180,50	0.45 a	147,91	423,27	0.87 a	66,33	277,33	0.19 a
Segmentados (/μL)	5008,57	7704,86	0.70 a	3629,25	7202,13	0.54 a	4874,82	9180,91	0.57 a	3727,33	9745,67	0.37 a
Eosinófilos (/μL)	334,57	149,00	2.16 a	281,25	78,00	1.57 a	238,45	105,82	1.20 a	362,67	205,33	1.09 a
Linfócitos (/μL)	2688,57	2584,86	1.10 a	2865,13	2749,63	1.02 a	3106,27	2608,18	1.24 a	2973,00	1964,00	1.51 a
Monócitos (/μL)	307,43	649,14	0.64 a	211,25	528,63	0.45 a	274,27	604,00	0.48 a	129,67	474,33	0.68 a

(a,b) Médias nas linhas seguidas por letras diferentes, são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). GI = grupo I (repouso). GII = grupo II (após exercício)

Tabela 4: Médias dos parâmetros hematológicos de machos e fêmeas dos grupos I e II, com desvios padrão, e das relações GI/GII

Parâmetros	Macho (n=18)			Fêmea (n=11)		
	Média GI	Média GII	Média GI/GII	Média GI	Média GII	Média GI/GII
Volume globular (%)	34,26 ± 3,41	38,08 ± 3,40	0,90 a	35,85 ± 2,97	40,49 ± 3,68	0,89 a
Hemoglobina (g/dL)	11,38 ± 1,07	12,56 ± 1,07	0,90 a	11,80 ± 0,99	13,31 ± 1,14	0,89 a
Hemácias (x 10 ⁶ / µL)	7,54 ± 0,85	8,40 ± 0,85	0,90 a	7,93 ± 0,57	8,89 ± 0,83	0,90 a
VGM (µm ³)	45,55 ± 2,03	45,33 ± 1,74	1,00 a	45,18 ± 2,18	45,63 ± 2,20	0,99 a
CHGM (g/dL)	33,21 ± 0,64	33,00 ± 0,44	1,00 a	32,92 ± 0,36	32,89 ± 0,45	1,00 a
RDW (%)	17,84 ± 0,88	17,85 ± 0,67	0,99 a	17,81 ± 0,50	17,67 ± 0,50	1,00 a
Plaquetas (x 10 ³ / µL)	141,33 ± 41,00	147,66 ± 35,14	0,98 a	146,45 ± 66,28	132,45 ± 60,75	1,15 a
Leucócitos (x 10 ³ / µL)	7,82 ± 2,05	11,21 ± 2,71	0,71 a	8,53 ± 1,93	13,17 ± 4,15	0,68 a
Bastonetes (/µL)	163,44 ± 198,28	268,33 ± 272,54	0,95 a	81,18 ± 58,69	375,81 ± 474,20	0,26 a
Segmentados (/µL)	4313,50 ± 1663,20	7690,11 ± 2508,18	0,59 a	4659,63 ± 1729,94	9396,00 ± 4254,02	0,54 a
Eosinófilos (/µL)	346,16 ± 223,27	111,77 ± 157,00	2,03 a	188,36 ± 116,28	130,45 ± 126,38	1,16 a
Linfócitos (/µL)	2708,72 ± 888,76	2529,94 ± 649,80	1,10 a	3279,27 ± 1075,28	2648,54 ± 1066,67	1,31 a
Monócitos (/µL)	256,22 ± 187,04	584,94 ± 341,80	0,52 a	239,63 ± 152,85	573,72 ± 308,95	0,54 a

(a, b) Médias nas linhas seguidas por letras diferentes, são estatisticamente diferentes (p<0,05).

n = número de animais. GI = grupo I (repouso) GII = grupo II (após exercício)

DISCUSSÃO

Neste estudo, observou-se aumento do volume globular após a prática de atividade física, fato também relatado por Snow et al. (1983), Harris e Snow (1988, 1992), McKeever et al. (1993), Andrews et al. (1995) e Gómez et al. (2004). Segundo Snow et al. (1983), o aumento do volume globular é resultado da contração esplênica e redução do volume plasmático por redistribuição do volume vascular, perda de fluido por meio do suor e respiração. Santos (2006) salientou que a elevação do volume globular pode se dar por perda de água do compartimento extravascular ou por troca transitória de fluidos entre o compartimento extra e intravascular. A perda de líquidos é atribuída à sudorese, principalmente em condições ambientais de calor e umidade alta. A contração esplênica também é responsável pelo aumento, sendo que o volume globular pode elevar-se em 40% devido à combinação deste fator com a redistribuição do volume de fluido circulante, mediante aumento da pressão sanguínea arterial. O aumento do volume globular previne a queda da concentração de oxigênio sanguíneo durante o exercício intenso.

Aumento da concentração de hemoglobina após o exercício foi relatado por Aguilera-Tejero et al. (2000) e Gómez et al. (2004). No presente estudo, isto também ocorreu, possivelmente, com o intuito de aumentar a capacidade de oxigenação do sangue como resposta fisiológica ao exercício. Gómez et al. (2004) justificaram que este aumento responde aos mesmos fatores que levam ao aumento do volume globular, ou seja, em que o estímulo simpático do exercício mediante mecanismo adrenérgico produz contração na musculatura esplênica, lançando na circulação maior número de células vermelhas e, conseqüentemente, hemoglobina. Pode-se verificar maior elevação na concentração de hemoglobina no grupo D, quando comparado aos demais grupos. De acordo com Rose et al. (1983) e Voss, Mohr e Krzywanek (2002), as concentrações de hemoglobina são influenciados tanto pela intensidade do exercício quanto pela excitação individual ocasionada pelo ambiente da prova.

Boucher et al. (1981) relataram redução do VGM, porém aumento da CHGM após prova de enduro. Já Smith et al. (1989), depois de exercício de alta velocidade, e Pellegrini-Masini et al. (2000), após intensa atividade física, observaram elevação

do VGM e redução da CHGM. Neste estudo, o exercício não interferiu nos valores de VGM e CHGM, os quais permaneceram constantes nos grupos A, B, C e D. Segundo Muñoz et al. (2008), a diferença entre pesquisadores pode ser explicada por exercícios de diferentes intensidades, tempo de coleta das amostras sanguíneas, alimentação, procedimentos analíticos, magnitude e direção de água e íons induzidos pelo exercício.

Balarin et al. (2006) estudando eqüinos submetidos a exercícios de diferentes intensidades observaram aumento significativo dos valores de RDW, revelando ter ocorrido alteração no tamanho das hemácias. MaClay et al. (1992) e Smith et al. (1989) também relataram este aumento após exercício. Estes resultados sugerem, segundo Balarin et al. (2006) e Smith et al. (1989), que o aumento do tamanho dos eritrócitos após exercícios de alta intensidade seja atribuído à eritrócitos de maior tamanho liberado pelo baço. Porém, neste estudo, observou-se que o valor de RDW permaneceu inalterado depois da atividade física exercida pelos animais e sem diferenças entre os grupos A, B, C e D. Provavelmente, a liberação de células pelo baço foi mínima e insuficiente para provocar grande heterogeneidade entre as hemácias.

Leucocitose com neutrofilia foi detectada em eqüinos após exercício por Robson, Alston e Myburgh (2003). Para Krumrych (2006), a atividade física é considerada um fator estressante que induz leucocitose. Numerosos estudos demonstram aumento transitório dos leucócitos após o exercício (ROSE, 1982; SNOW; RICKETTS; MASON, 1983; IVERSEN et al., 1994). Acredita-se que este aumento pode ser chamado de pseudoleucocitose, porque esta reação não está relacionada com a produção de novas células (resultante do aumento da secreção de adrenalina) e se deve, principalmente, pelo aumento de linfócitos em consequência da sua introdução em sangue periférico pelo baço e em menor escala pela medula óssea e gânglios linfáticos (HOROHOV et al., 1996; IVERSEN et al., 1994).

Entretanto, observações realizadas em eqüinos submetidos a exercício mostraram que a leucocitose é caracterizada por duas fases (KORHONEN et al., 2000; ROSE, 1982; SNOW; RICKETTS; MASON, 1983; IVERSEN et al., 1994). Depois do aumento transitório do número de linfócitos existe outro aumento de

leucócito relacionado com uma pequena linfopenia e uma forte neutrofilia, resultante da liberação de um pool de granulócitos e aumento da liberação destas células pela medula óssea (PERSSON, 1983). Acredita-se que a mudança na cinética leucocitária, manifestada pelo aumento da relação neutrófilo/linfócito, está relacionada com o aumento da concentração de hormônio adrenocortical, principalmente, cortisol no sangue (JENSEN-WAERN et al., 1999; ROBSON; ALSTON; MyBURGH, 2003). Este hormônio não estimula somente a produção de neutrófilo pela medula óssea e sua liberação para o sangue periférico, mas também inibe a migração destas células para o espaço intravascular (PYNE, 1994) e interfere no número de linfócitos circulantes (SHINKAI et al., 1996).

Neste estudo, os animais apresentaram aumento do número de leucócitos e neutrófilos e redução do número de linfócitos após o exercício, caracterizando o estresse fisiológico adquirido pelos mesmos durante o exercício físico. Contudo, os valores destes parâmetros permaneceram dentro dos limites fisiológicos antes e após o exercício. Segundo THRALL et al. (2007), o estresse também pode gerar eosinopenia e monocitose. Os animais estudados apresentaram redução do número de eosinófilos e aumento do número de monócitos após o exercício, entretanto, com permanência dos valores dentro dos limites de normalidade.

Para alguns pesquisadores a intensidade do exercício influencia diretamente no aumento do número de leucócitos totais e linfócitos no sangue (ROSSDALE ; BURGUEZ ; CASH, 1982; SNOW; RICKETTS; MASON, 1983). Porém, no presente estudo não houve variação no leucograma entre os grupos A, B, C e D. Além disso, não ocorreu influência do sexo nos índices hematológicos após o exercício, corroborando com os achados de Lacerda et al. (2006) e Krumrych (2006). Este, entretanto, relatou valores da série vermelha maiores em garanhões em comparação às éguas antes de se iniciar o treinamento, e atribuiu às maiores concentrações de testosterona e cortisol nos garanhões.

CONCLUSÃO

A prova de Team Penning ocasiona alterações hematológicas com interferência da frequência do exercício, independente do sexo.

REFERÊNCIAS

AGUILERA-TEJERO, E.; ESTEPA, J. C.; LÓPEZ, I.; BAS, S.; MAYER-VALOR, R.; RODRÍGUEZ, M. Quantitative analysis of acid–base balance in show jumpers before and after exercise. **Research in Veterinary Science**, London, v.68, n.2, p.103-108, 2000.

ANDREWS, F. M.; GEISER, D. R.; WHITE, S. L.; WILLIAMSON, L. H.; MAYKUTH, P. L.; GREEN, E. M. Haematological and biochemical changes in horses competing in a 3 Star horse trial and 3-day-event. **Equine Veterinary Journal Supplement**, London, v.20, p.57-63, 1995.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. 2005. **Bioestat 4.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Belém, PA: Sociedade Mamiaurá, Imprensa Oficial do Estado do Pará, 2005.

BALARIN, M. R. S.; LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; LAPOSY, C. B.; FONTEQUE, J. H. Valores da Amplitude de Distribuição do Tamanho dos Eritrócitos (RDW) em eqüinos Puro Sangue Inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.43, n.5, p.637-641, 2006.

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, gama-glutamilttransferase e lactato desidrogenase em eqüinos puro sangue inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.26, n.2, p.211-218, 2005.

BOUCHER, J. H.; FERGUSON, E. W.; WILHELMSSEN, C. L.; STATHAM, N.; McMEEKIN, R. R. Erythrocyte alterations endurance exercise in horses. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.51, n.1, p.131-134, 1981.

FERREIRA NETO, J. M.; VIANA, E. S.; MAGALHÃES, L. M. **Patologia Clínica Veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo, 1982, 293p.

GÓMEZ, C.; PETRÓN, P.; ANDAUR, M.; PÉREZ, R.; MATAMOROS, R. Medición post-ejercicio de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas en eqüinos da salto Holsteiner. **Revista Científica**, Maracaibo, v.14, n.3, p.244-253, 2004.

HANZAWA, K.; KAI, M.; HIRAGA, A.; WATANABE, S. Fragility of red cells during exercise is affected by blood pH and temperature. **Equine Veterinary Journal Supplement**, London, v.30, p.610-611, 1999.

HARRIS, P.; SNOW, D. H. Plasma potassium and concentrations in Thoroughbred horses during exercise of varying intensity. **Equine Veterinary Journal**, London, v.24, n.3, p.220-225, 1992.

HARRIS, P.; SNOW, D. H. The effects of high-intensity exercise on the plasma concentration of lactate, potassium and other electrolytes. **Equine Veterinary Journal**, London, v.20, n.2, p.109-113, 1988.

HOROHOV, D. W.; KEADLE, T. L.; POURCIAU, S. S.; LITTLEFIELD-CHABAUD, M. A.; KAMERLING, S. G.; KEOWEN, M. L.; FRENCH, D. D.; MELROSE, P. A. Mechanism of exercise-induced augmentation of lymphokine activated killer (LAK) cell activity in the horse. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v.53, n.3-4, p.221-233, 1996.

IVERSEN, P. O.; STOKLAND, A.; ROLSTAD, B.; BENESTAD, H. B. Adrenaline-induced leucocytosis: recruitment of blood cells from rat spleen, bone marrow and lymphatics. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, Berlin, v.68, n.3, p.219-227, 1994.

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

JENSEN-WAERN, M.; LINDBERG, A.; JOHANNISSON, A.; GRÖNDAHL, G.; LINDGREN, J. A.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B. The effects of an endurance ride on metabolism and neutrophil function. **Equine Veterinary Journal Supplement**, London, v.30, p.605-609, 1999.

KORHONEN, P. A. S.; LILIUS, E. M.; HYYPPÄ, S.; RÄSÄNEN, L. A.; PÖSÖ, A. R. Production of reactive oxygen species in neutrophils after repeated bouts of exercise in standardbred trotters. **Journal of Veterinary Medicine, Series A**, Berlin, v.47, n.9, p.565-573, 2000.

KRUMRYCH, W. Variability of clinical and haematological indices in the course of training exercise in jumping horses. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, Poland, v.50, p.391-396, 2006.

LACERDA, L.; CAMPOS, R.; SPERB, M.; SOARES, E.; BARBOSA, P.; GODINHO, E.; FERREIRA, R.; SANTOS, V.; GONZÁLEZ, F. D. Hematologic and biochemical parameters in three high performance horse breeds southern Brazil. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.11, n.2, p.40-44, 2006.

McCLAY, C. B.; WEISS, D. J.; SMITH, C. M.; GORDON, B. Evaluation of hemorheologic variables as implications for exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing thoroughbreds. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.53, n.8, p.1380-1385, 1992.

McKEEVER, K. H.; HINCHCLIFF, K. W.; REED, S. M.; ROBERTSON, J. T. Plasma constituents during incremental treadmill exercise in intact and splenectomised horses. **Equine Veterinary Journal**, London, v.25, n.3, p.233-236, 1993.

MUÑOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJÓN, F. Erythrocyte indices in relation to hydration and electrolytes in horses performing exercises of different intensity. **Comparative Clinical Pathology**, London, v.17, n.4, p.213-220, 2008.

PELLEGRINI-MASINI, A.; BARAGLI, P.; TEDESCHI, D.; LUBAS, G.; MARTELLI, F.; GAVAZZA, A.; SIGHIERI, C. Behaviour of mean erythrocyte volume during submaximal treadmill exercise in the horse. **Comparative Haematology International**, London, v.10, n.1, p.38-42, 2000.

PERSSE, S. G. B. The significance of haematological data in the evaluation of soundness and fitness in the horse. In: SNOW, D.H., PERSSE, S.G.B., ROSE R.J. (Eds.) **Equine exercise physiology**, Cambridge, England: Granta, 1983. p.324-327.

PICCIONE, G.; ASSENZA, A.; FAZIO, F.; GIUDICE, E.; CAOLA, G. Different periodicities of some haematological parameters in exercise-loaded athletic horses and sedentary horses. **Journal of Equine Science**, Tokyo, v.12, n.1, p. 17-23, 2001.

PYNE, D. B. Regulation of neutrophil function during exercise. **Sports Medicine**, Auckland, v.17, n.4, p.245-258, 1994.

ROBSON, P. J.; ALSTON, T. D.; MYBURGH, K. H. Prolonged suppression of the innate immune system in the horse following an 80 km endurance race. **Equine Veterinary Journal**, London, v.35, n.2, p.133-137, 2003.

ROSE, R. J. Haematological changes associated with endurance exercise. **Veterinary Record**, London, v.110, n.8, p.175-177, 1982.

ROSE, R. J.; ALLEN, J. R.; HODGSON, D. R.; STEWART, J. H.; CHAN, W. Responses to submaximal treadmill exercise and training in the horse: changes in haematology, arterial blood gas and acid base measurements, plasma biochemical values and heart rate. **Veterinary Record**, London, v.113, n.26-27, p.612-618, 1983.

ROSSDALE, P. D.; BURGUEZ, P. N.; CASH, R. S. Changes in blood neutrophil/lymphocyte ratio related to adrenocortical function in the horse. **Equine Veterinary Journal**, London, v.14, n.4, p.293-298, 1982.

SANTOS, V. P. **Variações hemato-bioquímicas em 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, 2006.

SHINKAI, S.; WATANABE, S.; ASAI, H.; SHEK, P. N. Cortisol response to exercise and post-exercise suppression of blood lymphocyte subset counts. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.17, n.8, p.597-603, 1996.

SMITH, J. E.; ERICKSON, H. H.; DEBOWES, R. M.; CLARK, M. Changes in circulating equine erythrocytes induced by brief, high-speed exercise. **Equine Veterinary Journal**, London, v.21, n.6, p.444-446, 1989.

SNOW, D.H., MASON, D.K., RICKETTS, S.W.; DOUGLAS, T. A. Post-race blood biochemistry in Thoroughbreds. In: SNOW, D.H., PERSSON, S.G.B., ROSE R.J. (Eds.) **Equine exercise physiology**, Cambridge, England: Granta, 1983. p.389-399.

SNOW, D. H.; RICKETTS, S. W.; MASON, D. K. Haematological response to racing and training exercise in Thoroughbred horses, with particular reference to the leucocyte response. **Equine Veterinary Journal**, London, v.15, n.2, p.149-154, 1983.

THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. Interpretação da resposta leucocitária nas doenças. In: _____. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 1. ed., São Paulo: Roca, 2007. p. 127-140.

VOSS, B.; MOHR, E.; KRZYWANIEK, H. Effects of aqua-treadmill exercise on selected blood parameters and on heart-rate variability of horses. **Journal of Veterinary Medicine, Series A**, Berlin, v.49, n.3, p.137-143, 2002.