

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

**Efeito da acupuntura nos níveis de cortisol e na
variabilidade do intervalo cardíaco de cães submetidos ao
exercício incremental progressivo**

Marimar Mayworm Beck

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**EFEITO DA ACUPUNTURA NOS NÍVEIS DE CORTISOL E NA
VARIABILIDADE DO INTERVALO CARDÍACO DE CÃES
SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO INCREMENTAL PROGRESSIVO**

MARIMAR MAYWORM BECK

Sob Orientação da Professora
Magda Alves de Medeiros

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ
Agosto de 2016

636.70895892 Beck, Marimar Myworm, 1978-

B393e

T

Efeito da acupuntura nos níveis de cortisol e na variabilidade do intervalo cardíaco de cães submetidos ao exercício incremental progressivo / Marimar Mayworm Beck. - 2016.

70 f.: il.

Orientador: Magda Alves de Medeiros.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, 2016.

Bibliografia: f. 58-64.

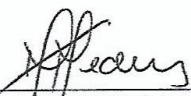
1. Acupuntura veterinária - Teses. 2. Cão - Efeito do stress - Teses. 3. Cão - Exercícios - Teses. 4. Medicina veterinária - Teses. I. Medeiros, Magda Alves de, 1973-II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

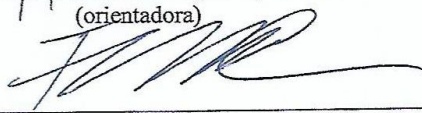
MARIMAR MAYWORM BECK

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

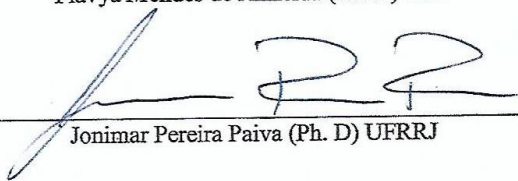
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31/08/2016



Magda Alves de Medeiros (Ph. D) UFRRJ
(orientadora)



Flavya Mendes de Almeida (Ph. D) UFF



Jonimar Pereira Paiva (Ph. D) UFRRJ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meus maiores
incentivadores, meus pais.
À Valeria, Luan, Leon e Luigi Lennon meus amados.
À minha linda madrinha Irene de abraço confortável.
E à minha amiga Julia que não me deixou nem por um instante.

“Tudo que é seu encontra uma maneira de chegar até você”
(Chico Xavier)

AGRADECIMENTOS

Toda essa história começou em um momento especial da minha vida, e por esta ocasião retomei minha trajetória ao trabalho e estudos. Nesse trajeto conheci a professora Magda que me incentivou a fazer o mestrado. Aceitei o convite e realizei o sonho de estudar na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Por isso, devo todos os agradecimentos a Deus por toda força, garra, perseverança e determinação para suportar toda essa “correria” de trabalho diário, atendimentos, serviços, “apertos” da Marinha do Brasil e viagens para chegar aos locais de destino.

Agradeço aos meus pais, meus amores, meus maiores incentivadores, amigos e apoiadores para a conquista dos meus sonhos. Pai: meu exemplo de trabalho, disciplina, força, honestidade e justiça. Mãe: minha luz, meu conforto e aconchego.

Agradeço a minha Dinha Irene por todos os conselhos, risos e por ser tão moderna aos 73 anos de vida “Minha Dinha para Frente”.

Agradeço a Valeria pela companhia de uma irmã e por estar disposta a ouvir-me nas horas mais difíceis e, principalmente, por ter me dado àqueles a que chamo de filhos: Luan, Leon e Luigi Lennon. Luan meu companheiro diário dos cinemas, ouvidos e brincadeiras. Leon meu lindo afilhado alegre e extrovertido. Luigi espevitado, outrora irritado e companheiro. Amo vocês três!

Agradeço a todos os familiares que me apoiaram: Max e Dani, Georgia pelas companhias ao volante, além de Deb, Valmir, Rogério, Lohana, Zoé, Renata e Vitor, obrigada!

Agradeço também à *Family Crasy*, em especial Alessandro pelo apoio para o transporte da esteira; Sonia e Mauro pelas conversas e cervejas.

Agradeço a minha amiga e irmã Fernanda que está ao meu lado em qualquer circunstância mesmo com toda distância. Deu-me sobrinhos incríveis!!!

Aline que Deus te abençoe por sua luz e por sua vontade de cuidar. Obrigada!!!

Aos meus amigos, Thaylla, Ana, Meri, Hugo, Sonali e Vini, agradeço pela companhia, força, conversas, risos, esporte e as “festinhas”. Jessica, obrigada pelo apoio nos atendimentos aos pacientes e Lilian obrigada pela ajuda nas aulas de fisiofarmacologia. Adenir, sua ajuda foi fundamental para o entendimento da estatística e análises gráficas.

Aos companheiros de estudos do Ambulatório de Acupuntura da UFRRJ, agradeço a Ana Paula, Manoella, Giulia, Gabriel, Geovani, Tatianne e Camila. Julia e Carla, vocês merecem um anexo de coisas escritas, que até me emociono ao escrever. Julia, grande amiga, dedicou parte de seu tempo, muitas vezes, para me ouvir, aconselhar, e me mostrar onde estava errando, fora as brincadeiras que foram muitas, agradeço a você e sua família. Deu-me apoio de irmã desde o primeiro dia que a conheci. Obrigada! Carla, nunca vou esquecer o seu abraço no meu primeiro dia de experimento (você sabe), a mão que você me deu naquela hora, não me deixou cair, mas sim continuar até o final. Obrigada!

Raquel, obrigada pela ajuda nas análises. Marissa, agradeço pela estadia e ajuda em Seropédica.

Meus sinceros agradecimentos a todos os proprietários que tiveram paciência com meus dias curtos para atendimento e pela força. Em representação coloco Marucia, Cristiane, Sandra, Joca e Bal.

Trilheiros: Norma, Bia, Marianna, Flavya, Bebel, Sapo, Cadu, Bruno, Claudia, Rebeca, Will, Sara, Celeste e Luzia. Obrigada!

Obrigada pelo incentivo Comtes Sotero e Paula Reis, e meus colegas da Marinha!

Agradeço ao Sr. Guilherme Agnew, por ter aberto a porta do *Dog's Heaven* para a nossa pesquisa e por ter me mostrado o valor de seu trabalho e amor pelos cães que cuida. Continuo o agradecimento para Tiago, Peterson, Marcos e Binho, pelo apoio no canil.

Agradeço aos cães do projeto por terem cumprido a missão no exercício desafiador: Nara, Banzé, Jade e Sunny; Coisa, Pitoco, Malu e Scooby; Tigreza, Falcon, Mesclada e Preto; Canil 15, Kiko, Caramelo e Último.

Priscila muito obrigada por sua contribuição no experimento e por sua amizade, sua esteira foi de ouro!

Agradeço ao Celinho, o anjo que apareceu na hora certa com seus toques peculiares durante o experimento e pela vontade de fazer dar certo, muito obrigada pelo apoio.

Agradeço às clínicas de Petrópolis que me prestaram apoio: Amigo Bicho, Pet Amado, Vila de São Francisco (Marluce e Mauricio), Bichos e Caprichos e o MV Renan.

Agradeço aos meus pacientes que a cada manhã de trabalho, me faziam cada vez mais entender o amor que sinto pela minha profissão e especialidade. Vocês me mostraram o caminho que devo seguir e continuar trilhando. Sempre fui e sou feliz estando com vocês. Gratidão!

Por fim, agradeço a professora Magda, por seus ensinamentos, por suas ideias e críticas, por mostrar-me o que é trabalhar em um grupo com harmonia (algo difícil em trabalhos), por introduzir-me ao nosso grupo de estudos, pela paciência com meus dias de cansaço e por ter confiado que esse trabalho sairia independente de qualquer desventura.

RESUMO

BECK, Marimar Mayworm. **Efeito da acupuntura nos níveis de cortisol e na variabilidade do intervalo cardíaco de cães submetidos ao exercício incremental progressivo.** 2016. 73f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Humanos e animais são constantemente submetidos ao estresse, que é uma situação gerada por um desafio ao qual um organismo é submetido. Apesar do exercício físico ser uma forma poderosa e relativamente simples de tratamento e prevenção de doenças, o exercício agudo é considerado uma ferramenta eficaz para estudar as respostas fisiológicas ao estresse metabólico. Como outras formas de estresse, o exercício agudo induz respostas neuroendócrinas e autonômicas caracterizadas principalmente pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e do sistema simpato adreno-medular. A acupuntura é uma prática milenar da Medicina Tradicional Chinesa, utilizada para reduzir as respostas de estresse em humanos e animais. Desta forma, o estudo propõe estudar o efeito da estimulação aguda de pontos de acupuntura nas respostas fisiológicas ao exercício incremental progressivo (EIP) em cães de canil, através da análise da variabilidade do intervalo cardíaco (VIC), do lactato e do cortisol sérico. Os procedimentos experimentais foram realizados em 16 cães, sem raça definida, com idades entre 2 e 5 anos, pesando de 8 a 23 kg, clinicamente saudáveis, com vacinas e vermifugação em dia e destreinados à esteira ergométrica. Os cães foram submetidos a um período de adaptação a esteira que consistiu de 5 dias de treino consecutivos de 20 min cada, com velocidades variáveis (máxima de 5 km/h) e 5% de inclinação. No dia do experimento os animais foram divididos em dois grupos: controle (CTL, apenas submetidos ao EIP, n=8) e acupuntura (tratados com acupuntura antes do EIP, n=8). No grupo ACUP foram inseridas agulhas de acupuntura nos acupontos BP6, E36 e PC6 bilateralmente por 20min. O EIP consistiu de caminhada seguida de corrida de 5 km/h por 5 minutos, seguida de aumento gradual de 0,5 km/h a cada 30 segundos, com inclinação de 5%, até o alcance da exaustão que foi considerada por meio de uma parada abrupta ou perda de coordenação durante o exercício. Para a análise da VIC, os intervalos cardíacos foram registrados por frequencímetro cardíaco (Polar), e o lactato e cortisol analisados através de espectrofotômetro, e pela técnica de radioimunoensaio, respectivamente. O EIP foi capaz de aumentar significativamente os níveis de lactato, a FC média, a razão LF/HF e o LH e diminuir o HF nos três minutos finais do exercício demonstrando uma maior ativação do componente simpático em relação ao parassimpático. No entanto o EIP não foi capaz de induzir aumento significativo do cortisol. Não foi detectada diferença significativa entre os grupos acupuntura e controle em nenhum dos parâmetros analisados. Concluímos que uma sessão de acupuntura imediatamente antes do EIP não foi capaz de alterar significativamente as respostas autonômicas e endócrinas induzidas pelo exercício.

Palavras-chaves: estresse de exercício, variabilidade do intervalo cardíaco, cortisol, lactato.

ABSTRACT

BECK, Marimar Mayworm. **Effect of acupuncture in cortisol levels and variability of cardiac interval of dogs submitted to progressive incremental exercise.** 2016. 73f. Dissertation (Master of Veterinary Medicine, Clinical Sciences). Veterinary Institute, Rural Federal University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Man and animals are constantly subjected to stress, which is a situation caused by a challenge to which a body is subjected. Despite the exercise be a powerful and relatively simple way of treating and preventing diseases, acute exercise is considered an effective tool to study the physiological responses to metabolic stress. Like other forms of stress, acute exercise induces neuroendocrine and autonomic responses characterized mainly by activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic-adrenal system. Acupuncture is an ancient practice of Traditional Chinese Medicine, used to reduce stress responses in humans and animals. Therefore, the work suggests to study the effect of acute stimulation of acupuncture points on the physiological responses to progressive incremental exercise (PIE) in shelter dogs, by analysis of the variability of the cardiac interval (VIC), lactate and serum cortisol. It is noteworthy that the PIE is an exercise stress test recognized worldwide, that has been used in domestic animals and humans. The experimental procedures were performed in 16 dogs, mix breed, aged between 2 and 5 years, weighing 8-23 kg healthy with vaccinations and deworming updated and untrained to the treadmill. The dogs were subjected to an adaptation to the treadmill that consisted of 5 consecutive days of training 20 min each, with variable speeds (maximum of 5 km / h) and 5% inclination. On the day of the experiment the animals were divided into two groups: control (CTL only submitted to PIE) and acupuncture (treated with acupuncture before PIE). In ACUP group acupuncture needles were inserted into acupoints BP6, E36 and PC6 bilaterally for 20min. The PIE consisted in walking, followed by running in 5 km / h for 5 minutes, then gradually increase 0.5 km / h every 30 seconds, with inclination of 5%, until reaching exhaustion (abrupt stop or coordination loss during exercise). For the analysis of VIC, cardiac intervals were recorded by cardiac frequency meter (Polar); lactate and cortisol were analysed by spectrophotometer and radioimmunoassay, respectively. The EIP was able to significantly increase lactate levels, average HR, LF / HF ratio and LH and decrease the HF in the final three minutes of exercise demonstrating a greater activation of the sympathetic component in relation to the parasympathetic. However PIE was not able to induce significant increase of cortisol. No significant differences were detected between the acupuncture and control groups in any of the parameters analysed. We conclude that an acupuncture session immediately before the EIP was unable to significantly change the autonomic and endocrine responses induced by exercise.

Keywords: exercise stress, variability of cardiac interval, cortisol, lactate.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1: Localização e características dos pontos de acupuntura.....	37
Tabela 2: Frequências cardíacas (FC) em função do aumento incremental da velocidade, obtidas durante todo o teste de exercício progressivo até a exaustão.....	44
Figura 1: Ativação do Sistema Simpato-adreno-medular (SAM) e do eixo Hipotálamo Hipófise Adrenal (HHA).....	17
Figura 2: Respostas fisiológicas ao exercício agudo.....	21
Figura 3: Efeito do sistema nervoso autônomo sobre a atividade cardíaca.....	25
Figura 4: Análise espectral da Variabilidade do Intervalo Cardíaco (VIC).....	28
Figura 5: Canil <i>Dog's Heaven</i>	31
Figura 6: Seleção dos animais.....	32
Figura 7: Esquema do protocolo experimental.....	33
Figura 8: Cão iniciando Exercício Incremental Progressivo (EIP).....	34
Figura 9: Fases do protocolo do exercício incremental progressivo.....	36
Figura 10: Componentes do Polar modelo RS800CX.....	38
Figura 11: Programa Polar Pro Trainer 5®.....	39
Figura 12: Registro de dados da Frequência Cardíaca.....	40
Figura 13: Tela do programa CardioSeries.....	41
Figura 14: Efeito da acupuntura no treinamento de cães durante o teste de exercício incremental progressivo.....	43

Figura 15: Efeito da acupuntura na frequência cardíaca atingida em cada aumento da velocidade incremental até a o momento final do EIP.....	45
Figura 16: Efeito da acupuntura nos níveis de lactato sérico de cães durante o teste de exercício incremental progressivo em esteira ergométrica.....	46
Figura 17: Efeito da acupuntura na VIC de cães durante o teste de exercício incremental progressivo até a exaustão na esteira.....	47
Figura 18: Efeito da acupuntura na VFC de cães durante o teste de exercício incremental progressivo até a exaustão na esteira.....	48
Figura 19: Efeito da acupuntura na análise do cortisol sérico de cães durante o teste de exercício incremental progressivo até a exaustão na esteira.....	49

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACh: Acetilcolina
ACTH: Hormônio Adrenocorticotrófico
ACUP: Acupuntura
AMPc: Monofosfato Cíclico de Adenosina
ATP: Trifosfato de Adenosina
AVP: Hormônio Liberador de Vasopressina
B: Meridiano da Bexiga
BP: Meridiano do Baço Pâncreas
C: Meridiano do Coração
CCP: Células Pré-Ganglionares
CEUA: Comitê de Ética de Uso de Animais
CLV: Curva Lactato-Velocidade
CTL: Grupo Controle
CRH: Hormônio Liberador de Corticotrofina
E: Meridiano do Estômago
EF: Exercício Físico
EIP: Exercício Incremental Progressivo
FC: Frequência Cardíaca
HF: Alta Frequência
HHA: Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
IRR: Intervalos RR
FFT: Transformada Rápida de Fourier
GR: Receptor de Glicocorticoide
IV: Instituto de Veterinária
LC: Locus coeruleus
LF: Baixa Frequência
MR: Receptor de Mineralocorticóide

MTC: Medicina Tradicional Chinesa
NA: Noradrenalina
NAV: Nodo Átrio-Ventricular
NS: Nodo Sinoatrial
P: Meridiano do Pulmão
PASS: Pressão Arterial Sistêmica Sistólica
PC: Meridiano do Pericárdio
PKA: Proteína Quinase dependente de AMPc
PVN: Núcleo Paraventricular
SAM: Sistema Simpato-Adrenomedular
SCP: Substância Cinzenta Periaquedutal
SNC: Sistema Nervos Central
SNA: Sistema Nervoso Autônomo
SNS: Sistema Nervoso Simpático
SNP: Sistema Nervoso Parassimpático
SNP: Sistema Nervoso Periférico
SRD: Sem Raça Definida
TA: Triplo Aquecedor
TEI: Teste de Exercício Incremental
VB: Meridiano da Vesícula Biliar
VC: Meridiano Vaso da Concepção
VFC: Variabilidade da Frequência Cardíaca
VG: Meridiano Vaso do Governo
VIC: Variabilidade do Intervalo Cardíaco
VO₂máx: Volume Máximo de Oxigênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.2. Justificativa	14
1.3. Objetivos	15
1.3.1. Geral	15
1.3.2. Específico	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. Neurobiologia do Estresse	16
2.1.1. Cortisol	18
2.2. Exercício Agudo como Modelo de Estresse	19
2.3. Modelos Experimentais de Exercícios em Veterinária	20
2.4. Respostas Fisiológicas no Modelo do Exercício Agudo	20
2.5. Exercício Incremental Progressivo	22
2.5.1. Lactato	23
2.5.2. Resposta Autonômica Cardíaca	24
2.5.3. Variabilidade do Intervalo Cardíaco	26
2.6. Acupuntura	29
2.6.1. Acupuntura na Medicina Tradicional Chinesa	29
2.6.2. Mecanismos Fisiológicos da Acupuntura	29
2.6.3. Efeito da Acupuntura no Estresse e no Exercício	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1. Local de Execução do Trabalho Experimental	31
3.2. Animais	31
3.3. Considerações Éticas	33
3.4. Protocolo Experimental	33
3.5. Protocolo de Adaptação ao Treinamento a Esteira Ergométrica	34
3.6. Exercício Incremental Progressivo	35
3.7. Grupos Experimentais	37
3.8. Coletas de Sangue	37
3.9. Uso do Frequencímetro	38
3.11. Análise do Lactato	41
3.12. Análise de Cortisol	41
3.13. Análise Estatística	42
4 RESULTADOS	43
4.1 Adaptação a Esteira	43
4.2. Velocidade Máxima Alcançada no Exercício Incremental Progressivo	43
4.3. Análise do Lactato	45
4.4. Variabilidade da Frequência Cardíaca	46
4.5. Cortisol	49

5 DISCUSSÃO	50
5.1 Adaptação à Esteira	50
5.2. Exercício Incremental Progressivo	50
5.2.1 Velocidade Máxima Alcançada no Exercício Incremental Progressivo	50
5.3. Efeito da Acupuntura sobre a Frequência Cardíaca	52
5.4. Efeito da Acupuntura sob os Níveis de Lactato	53
5.5. Efeito da Acupuntura na Variabilidade do Intervalo Cardíaco	54
5.6. Efeito da Acupuntura na Análise do Cortisol	55
6 CONCLUSÃO	57
7 BIBLIOGRAFIA	58
8 ANEXO	65
ANEXO 1: Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)	65
ANEXO 2: Termo de Consentimento	67
ANEXO 3: Tabela do Protocolo de Adaptação ao Treinamento à Esteira Ergométrica	69
ANEXO 4: Protocolo de Experimento EIP em Cães	70

1 INTRODUÇÃO

Humanos e os animais são constantemente submetidos a situações de estresse no seu cotidiano. A avaliação das respostas fisiológicas é uma forma de estudar e compreender melhor como o estresse e pode induzir distúrbios comportamentais e físicos, e então propor estratégias de prevenção e tratamento.

Os estímulos indutores de estresse podem ser divididos em predominantemente físicos, como exemplo a hemorragia, o exercício, baixas ou altas temperaturas, e psicológicos como exemplo o estresse social, sonoro e por imobilização.

Apesar de o exercício ser uma forma muito poderosa e relativamente simples de tratamento e prevenção de diversas doenças, principalmente as doenças metabólicas, bem como o diabetes tipo 2 e obesidade, o exercício agudo continua sendo considerado uma ferramenta metodológica eficaz para estudar as respostas fisiológicas ao estresse metabólico.

O exercício incremental progressivo (EIP) em esteira ergométrica é um método no qual os animais correm inicialmente a uma velocidade constante e depois a velocidade e/ou a inclinação da esteira são progressivamente aumentados até que o animal apresente incoordenação ou cansaço extenuante, indicando exaustão.

A magnitude do estresse induzido pelo exercício incremental pode ser avaliada através da mensuração de parâmetros fisiológicos, como a dosagem de cortisol, e análise da variabilidade do intervalo cardíaco (VIC) que vem se mostrando um parâmetro importante e não invasivo para avaliar o balanço simpato-vagal em indivíduos submetidos a estímulos potencialmente desafiadores.

A acupuntura tem sido usada para reduzir as respostas de estresse em seres humanos e animais. O termo acupuntura é derivado dos radicais latinos "acus e pungere", que significam agulha e punção, respectivamente. Essa técnica pretende tratar e curar doenças por aplicação de estímulos na pele, com a inserção de agulhas em pontos específicos.

Na medicina ocidental contemporânea, a acupuntura é considerada uma forma de estimulação sensorial que ativa vários tipos de fibras nervosas aferentes que através da medula e do bulbo mandam projeções diversas estruturas encefálicas, acionando eventos neurofisiológicos que geram os resultados terapêuticos. Os estímulos gerados pela acupuntura podem ativar os centros autonômicos e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e, desse modo, ajudar a manter homeostase e melhorar a eficiência de vários sistemas do organismo. Assim, a estimulação de acupontos pode modular as respostas induzidas pelo estresse no sistema nervoso autônomo e no eixo HHA.

Dessa forma, propomos um estudo do efeito da estimulação aguda de pontos de acupuntura aplicados bilateralmente nos pontos BP6, E36 e PC6 na variabilidade do intervalo cardíaco, nos níveis de cortisol e no limiar de lactato em cães do Canil Dog's Heaven submetidos ao exercício incremental progressivo.

1.2. Justificativa

Assim como outros tipos de estresse, o exercício agudo pode induzir uma série de respostas neuroendócrinas e autonômicas caracterizadas pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e do sistema simpato-adreno-medular (SAM). Neste sentido, a acupuntura tem sido usada para reduzir as respostas de estresse em humanos e animais, uma vez que estímulos gerados pela acupuntura podem ativar os centros autonômicos e neuroendócrinos e, desse modo, ajudar a manter homeostase e melhorar a eficiência de vários

sistemas do organismo. Assim, a estimulação de acupontos pode evitar alterações induzidas pelo estresse no sistema nervoso autônomo e no eixo HHA.

Nos dias atuais, muitos cães participam de atividades físicas como *Agility*, trabalhos de busca, captura, pastoreio, dentre outras, tornando o assunto de grande importância na medicina veterinária.

Isso posto, o presente estudo propõe analisar o efeito da estimulação aguda de pontos de acupuntura nas respostas fisiológicas a um modelo bem caracterizado de estresse: o exercício incremental progressivo e, assim, utilizamos cães de abrigo para a mensuração da variabilidade do intervalo cardíaco, cortisol e lactato, como marcadores de estresse.

1.3. Objetivos

1.3.1. Geral

Avaliar se a acupuntura pode alterar as respostas fisiológicas induzidas pelo exercício incremental progressivo (EIP) em cães.

1.3.2. Específico

- Padronizar o teste de exercício incremental progressivo (EIP) em cães de abrigo;
- Avaliar as alterações no perfil sérico de cortisol, de lactato e na variabilidade do intervalo cardíaco induzidas pelo EIP em cães de abrigo; e
- Estudar o efeito de uma única estimulação dos pontos de acupuntura E36, PC6 e BP6, usados bilateralmente para avaliar o perfil sérico de cortisol, de lactato e da variabilidade do intervalo cardíaco em cães submetidos ao estresse do exercício incremental progressivo (EIP).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Neurobiologia do Estresse

A nomenclatura “estresse” foi usada pela primeira vez, na área da saúde, pelo fisiologista canadense Hans Selye que averigou a condição de pessoas que sofriam de doenças físicas e reclamavam de alguns sintomas em comum como: falta de apetite, desânimo, fadiga, pressão alta, dentre outros sintomas. No entanto, na época, as pesquisas médicas definiram o estresse como “um desgaste geral do organismo” causado por alterações psicofisiológicas decorrentes de situações que excitam, amedrontam, confundem ou fazem intensamente felizes as pessoas (FERREIRA, 2012).

Em 1936, Hans Selye definiu o estresse como uma situação gerada por um desafio ao qual um organismo é submetido. Foi o criador do termo estressor, para designar o agente causador (estímulo) e manteve o termo estresse, para designar a condição gerada pelo estímulo desafiador (FRANCI, 2005). A sentença reporta ao significado do estado gerado pela percepção de estímulos que provocam algum tipo de excitação no organismo e, ao alterarem a homeostase, desencadeiam um processo de adaptação que pode ser caracterizado pela ativação do sistema nervoso simpático (SNS) o qual produz diversas manifestações sistêmicas, fisiológicas e emocionais (MARGIS, 2003). O estresse sempre esteve presente desde o início da evolução dos seres, porém, hoje, a intensidade dos estímulos é bem mais acentuada e o organismo reage usando suas reservas energéticas (FERREIRA, 2012).

A resposta a um estímulo estressor é fundamental para homeostase de um ser vivo e sua sobrevivência. Nas condições de estresse, o organismo reage por meio da ativação e desativação de mecanismos de controle de várias funções para recuperar e manter a homeostase. Contudo, essas respostas podem ser insuficientes para restabelecer ou manter o equilíbrio ou podem ser exageradas, representando risco de doenças. Portanto, o estresse pode ser definido como a soma de respostas físicas e mentais causadas por determinados estímulos externos e que permitem ao indivíduo superar determinadas exigências do meio-ambiente (FRANCI, 2005). E o início da resposta pode ser causado por atividade física ou até mesmo um estímulo psicológico (KEELING; JENSEN, 2002).

As respostas fisiológicas ao estresse envolvem uma combinação de sistemas bastante eficientes e integrados que objetiva a manutenção da integridade, mesmo nas circunstâncias de grande demanda do organismo (ULRICH-LAI; HERMAN, 2009).

Em situações de estresse, ocorre a ativação de duas principais vias: o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), por meio do aumento da produção de cortisol e o sistema nervoso simpático (SNS), através da liberação de catecolaminas (noradrenalina/adrenalina). Nessas situações, dois eixos são ativados, tanto o sistema simpato-adrenomedular (SAM), que promove aumento da secreção de catecolaminas e conseqüentemente excitação rápida do sistema cardiovascular e leva a um aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial; e o eixo HHA, que gera aumento na produção de cortisol, e conseqüente mobilização de energia (ULRICH-LAI; HERMAN, 2009) (figura 1).

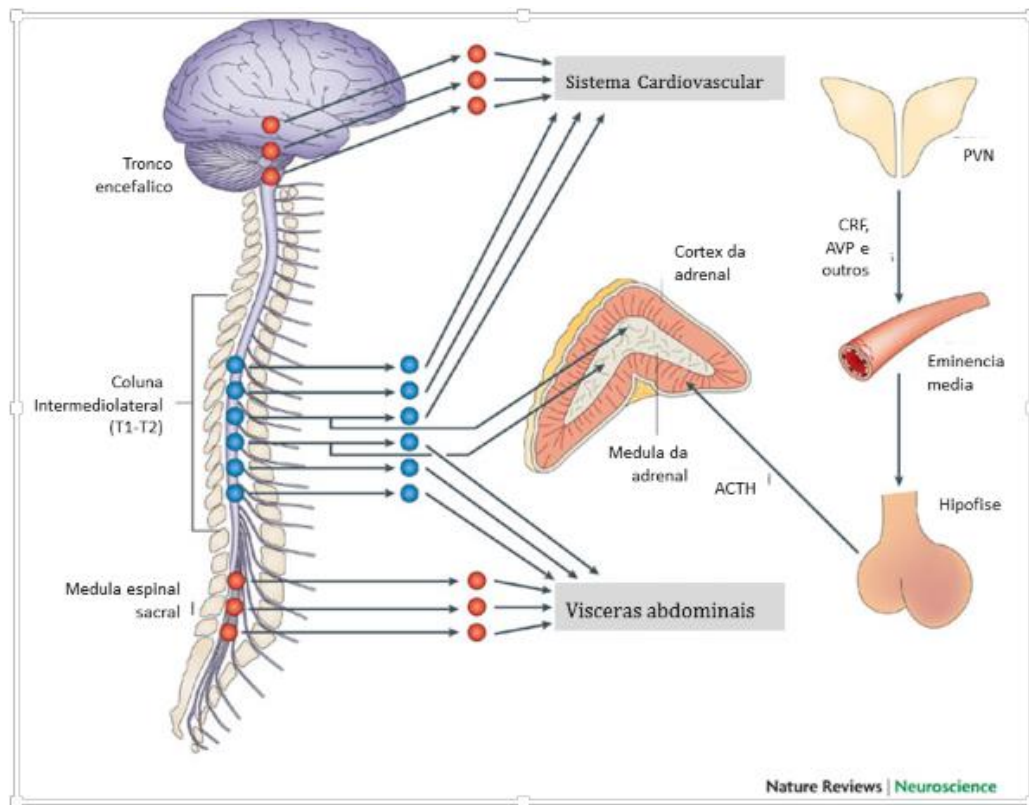


Figura 1: Ativação do SAM e do eixo HHA. (ULRICH-LAI & HERMAN, 2009).

A ativação do sistema simpato-adreno-medular e do eixo do hipotálamo hipófise adrenal são como sistemas primários para a manutenção e restabelecimento da homeostase. A exposição ao estímulo estressor resulta em ativação do SAM que excita os neurônios pré-ganglionares simpáticos na coluna intermediolateral da medula espinal toracolombar (T1 a L2). Estes neurônios, se projetam para gânglios pré e paravertebrais que irão terminar em órgãos alvo e nas células cromafins da medula da adrenal. Esta ativação simpática representa a resposta clássica de luta e fuga, que foi primariamente caracterizada por Walter Cannon e colaboradores no início do século passado e leva a um aumento dos níveis de adrenalina que é proveniente da glândula adrenal, e de noradrenalina proveniente dos terminais simpáticos, que geram aumento da frequência cardíaca e da força de contração do coração, além de vasoconstrição periférica e mobilização de energia. O sistema parassimpático que também é ativado durante o estresse, é representado através da ativação de núcleos pré-ganglionares crânio-sacrais que ao serem estimulados, excitam neurônios dos núcleos pós-ganglionares localizados próximos aos órgãos inervados, que, por conseguinte, geram o efeito oposto ao sistema simpático. Para o eixo HHA, a exposição ao estressor ativa neurônios hipofisiotróficos no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) que secretam hormônios de liberação, como o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e vasopressina (AVP) na circulação porta da eminência média da hipófise. Estes hormônios liberadores atuam na hipófise anterior para promover a secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que atua no córtex da adrenal (zona fasciculata) para iniciar a síntese e liberação dos hormônios glicocorticóides. Os glicocorticóides circulantes promovem a mobilização de energia estocada e potencializam numerosos efeitos simpáticos, como a vasoconstrição periférica. Além disso, o córtex da adrenal é diretamente inervado pelo sistema simpático, que regula a liberação de glicocorticóides. Então a ativação do sistema simpático e do eixo HHA tem ações complementares no organismo, incluindo a mobilização de energia e a manutenção da pressão arterial durante o estresse (ULRICH-LAI & HERMAN, 2009) (figura 1).

O hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) é sintetizado por células especializadas da hipófise anterior. A ativação do eixo HHA por um contato com o estímulo estressor faz com que o eixo seja excitado, o que estimula a hipófise anterior para a liberação de ACTH na corrente sanguínea para estimular o córtex da glândula adrenal na zona fasciculada e, assim sintetizar os glicocorticóides por meio de esteroides derivados do colesterol. O glicocorticóide ativo do eixo é o cortisol nos cães, gatos, equinos e humanos; ou a corticosterona nos pássaros e roedores (MORMÈDE et al., 2006).

Esse hormônio final, do eixo HHA, interage com as células, através da ligação a dois receptores: o receptor glicocorticóide (GR) e o receptor de mineralocorticóide (MR). O receptor GR é encontrado na maioria dos tecidos do corpo, incluindo áreas do encéfalo. No rim e em outros tecidos a aldosterona liga-se ao MR durante a regulação da reabsorção de sódio, mas o MR também está presente no hipocampo, em que ocorre a ligação do cortisol. O cortisol tem mais afinidade ao MR que ao GR e em baixos níveis ou em situações de ausência de estresse, a maior parte do cortisol liga-se aos MRs no cérebro (principalmente no hipocampo) e modula a atividade basal do eixo HHA e o aparecimento de resposta ao estresse. (DE KLOET et al., 1999).

A secreção de cortisol obedece a um padrão de ritmo circadiano endógeno, como os cães são animais diurnos, os níveis mais altos de glicocorticóides acontecem pela manhã, próximo ao despertar e níveis mais baixos à noite. (MOORE, 1999). As variações circadianas do cortisol podem ser afetadas por vários fatores como exercício, padrões de sono, tipo de atividade e ambientes estressantes (PELL; MC GREEVY, 1999).

As respostas adaptativas ao estresse físico ou mental envolvem ajustes funcionais e comportamentais que são essenciais para recuperar o equilíbrio homeostático. Os ajustes funcionais envolvem mobilização de reservas energéticas, redirecionamento e priorização da utilização de energia, além de inibição ou estímulo de atividades de sistemas. O suprimento maior de energia para órgãos priorizados é regulado, principalmente, pela liberação de catecolaminas e glicocorticóides, que promovem o aumento da neoglicogênese e da glicogenólise, inibição da captação de glicose, ativação da proteólise e lipólise. Paralelamente, ocorre inibição das funções digestivas, reprodutoras, imunes e de crescimento (CHROUSOS et al., 1988).

As respostas primárias, que são ativadas pelo SAM vão ocorrer quando o organismo prepara-se rapidamente para o ataque ou defesa, e a adrenalina é excretada pela adrenal. O suprimento de sangue é desviado para os músculos e, com isso, há elevação do débito cardíaco total e da redistribuição do sangue, aumentando a oferta de oxigênio e nutrientes para as estruturas vitais. Há uma elevação da pressão arterial, bronquíolos se dilatam e a respiração torna-se mais rápida e profunda para remoção do excesso de dióxido de carbono. Dessa forma, ocorre uma diminuição de funções como digestão e liberação de secreções corporais, além de haver uma liberação de qualquer excesso pela bexiga e intestino. As pupilas dilatam-se e os sentidos (tato, visão e audição) ficam em estado de alerta (ROGERSON, 1997).

2.1.1. Cortisol

As glândulas adrenais são órgãos endócrinos bilateralmente simétricos localizados próximos aos rins, os quais se situam na porção dorsal do abdome, próximo à junção toracolombar. Em cães adultos medem de 2 a 3 cm de comprimento. Cada glândula é dividida em duas áreas separadas, a medula e a cortical, com produção de diferentes tipos de hormônios. A cortical é composta por três zonas: glomerular, fasciculada e reticulada. A zona glomerular, a mais externa, é responsável pela síntese e secreção de mineralocorticóides, como a aldosterona. Tanto a zona fasciculada quanto a zona reticulada são responsáveis pela produção de cortisol (ROMÃO, 2012).

O cortisol e a insulina são hormônios que têm um papel primordial na regulação do metabolismo da glicose, e cuja concentração pode sofrer alterações significativas durante o exercício, de modo a controlar o aporte energético que as células necessitam (ROVIRA et al., 2008). O cortisol é considerado um dos maiores indicadores de estados fisiológicos em resposta a situações que induzam estresse. Este hormônio está envolvido na regulação de reações inflamatórias que ocorrem durante o exercício, desencadeia mecanismos anabólicos e catabólicos, influencia o metabolismo dos hidratos de carbono, proteínas e lipídios (HELTON, 2009).

O cortisol atua em quase todos os tecidos do organismo com função de manter o balanço hidroeletrolítico, a pressão sanguínea, além de aumentar a sensibilidade vascular à ação das catecolaminas. Também pode suprimir a resposta imune, estimula a eritrocitose e possui efeitos catabólicos sobre tecidos conjuntivos, musculares e ósseos. Adicionalmente, esta substância estimula a neoglicogênese e aumenta o glicogênio hepático e a glicemia (ROMÃO, 2012). Esta liberação pode ser estimulada pelo exercício haja vista que animais a trote numa esteira manifestaram aumentos da concentração plasmática de cortisol (RAEKALLIO et al., 2005). O tipo de exercício a que um animal está sujeito parece influenciar a liberação de cortisol, estando este hormônio mais dependente da duração do que da intensidade do exercício (ROVIRA et al., 2008).

Embora o cortisol seja usado como um indicador de estresse e da qualidade de vida, suas características ainda não são bem definidas em cães domésticos, quando avaliadas no cortisol salivar, por exemplo. A pesquisa da concentração do cortisol salivar pode ser determinada através de uma referência em cães domésticos que são avaliados de acordo com as características, desenvolvimento e o modelo experimental. Este hormônio é usado para mensurar a atividade do eixo HHA e encontrado no plasma, saliva, fezes, urina e no cabelo de diversas espécies (COBB, 2016).

De acordo com Cobb (2016), a concentração do cortisol salivar pode variar de 0 a 33,79 µg/dL, com mediana de 0,15 µg/dL e média de 0,45 µg/dL. Esses resultados são importantes para novos estudos relacionados a este hormônio além de mostrar que a concentração do cortisol salivar de cães domésticos tem características individuais. De acordo com o mesmo autor, cães de abrigos ou de trabalho apresentam uma concentração de cortisol salivar estimada em 5,33 µg/dL e cães de residências tem uma concentração estimada em 4,02 µg/dL.

2.2. Exercício Agudo como Modelo de Estresse

Em definição, o exercício físico (EF), enquanto modelo mensurável de indução de estresse provoca alterações funcionais nos sistemas imunológico, cardiorrespiratório e sistema musculoesquelético, como constataram os pesquisadores (BRENNER, 1999; HOFFMAN-GOETZ, 1994; PYNE, 1998). Durante a atividade física, ocorre ativação inicial do sistema nervoso simpático (SNS), que estimula a produção e a liberação de hormônios e neurotransmissores relacionados ao estresse (LEANDRO, 2002).

O sistema endócrino integra e regula os sistemas corporais em estado de repouso e de exercício, portanto, os hormônios produzidos nessas condições, ativam os sistemas enzimáticos, de maneira que possa alterar a permeabilidade das membranas celulares e modificar o transporte através da membrana citoplasmática e alterar o ritmo da atividade enzimática, e, assim, induzir a atividade secretória, que contribui para a contração e o relaxamento dos músculos, e estimulando a síntese das proteínas e das gorduras, bem como a capacidade do organismo de responder aos estresses físico e fisiológico (efeitos agudo e crônico, respectivamente) (McARDLE, 2011).

O exercício físico representa o estímulo estressante mais fisiológico que existe, pois submete o organismo a desafios temporários na sua homeostasia, por conseguinte, quando o esforço físico torna-se sistemático e contínuo é denominado treinamento, sendo que o maior objetivo desse processo é provocar adaptações fisiológicas que aprimorem o desempenho atlético (FERRAZ, 2010).

2.3. Modelos Experimentais de Exercícios em Veterinária

De acordo com Berkman (2015) na medicina veterinária, a espécie atlética mais estudada é a equina, por serem os astros dos esportes de velocidade, saltos, adestramento, enduro e outros. Por essa trajetória, eles são indicadores dos estudos científicos para a fisiologia do exercício. Essas pesquisas têm um delineamento para o incremento da capacidade dos animais atletas.

Em se tratando da espécie canina, os modelos experimentais estudados por longos períodos para exercício, utilizaram como método de avaliação das respostas fisiológicas, a administração de fármacos e procedimentos cirúrgicos tal qual Corneille Heymans que utilizou cães para demonstrar o papel de quimiorreceptores periféricos na regulação respiratória, trabalho pelo qual recebeu seu Prêmio Nobel em 1938 (BERKMAN, 2015).

As primeiras participações dos cães como modelo experimental em pesquisas no esporte, tiveram suas raças omitidas, contudo cães sem raça definida (SRD) foram largamente utilizados como modelo e, subseqüentemente, com a evolução dos esportes caninos, os velocistas Greyhounds e cães de trenó ganharam notoriedade no estudo em fisiologia do exercício. Outros estudos foram delineados para raças específicas, como os Foxhounds, Beagles, Pastores Australianos e Retrievers do Labrador, participantes de modalidades como farejamento, pastoreio e busca, respectivamente. Estudos também foram realizados para descrever respostas fisiológicas para determinadas atividades, como o *Agility*, bem como, busca e resgate (BERKMAN, 2015).

2.4. Respostas Fisiológicas no Modelo do Exercício Agudo

O exercício agudo promove respostas cardiovasculares que podem variar em função do tipo, intensidade e duração do exercício. Tomando por base o exercício resistido executado em alta intensidade, este possui seu componente estático e provoca o aumento da resistência vascular periférica. Ademais, a oclusão do leito vascular promove o acúmulo de metabólitos que ativam os quimiorreceptores musculares, estimulando o sistema nervoso simpático na liberação de catecolaminas. Por conseguinte, ocorre o aumento da frequência cardíaca (FC) e, sobretudo, da pressão arterial sistêmica sistólica (PASS) durante o esforço, as quais são indicadores de estresse cardíaco (ASSUNÇÃO et al, 2007).

O início dos movimentos físicos acontece por uma decisão no córtex motor no cérebro e simultaneamente existe uma ativação voluntária dos movimentos por meio do sistema muscular esquelético, pelo comando central que ativa o sistema nervoso simpático e deprime o ramo parassimpático. Essa série de reações coordenam o sistema cardiovascular associado a respostas ventilatórias, que resultam em aumento do débito cardíaco para assim, estabelecer o fornecimento de oxigênio por meio do fluxo sanguíneo em direção ao miocárdio e músculos esqueléticos (figura 2) (HEINONEN, 2013).

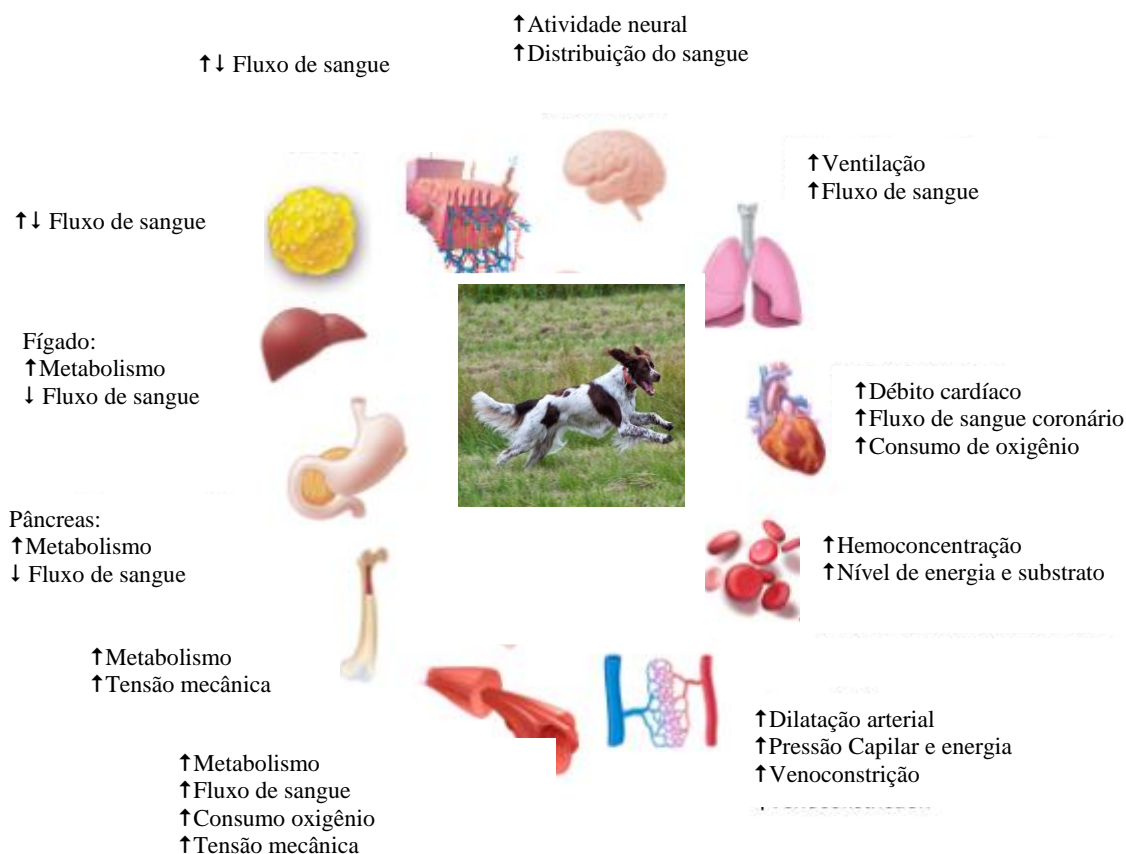


Figura 2: Respostas fisiológicas ao exercício agudo. Respostas fisiológicas ao exercício físico agudo desencadeadas a partir de estímulos cerebrais. Os principais ajustes fisiológicos incluem o aumento da ventilação e função do coração associados com substancialmente bombeamento do coração e diminuição da resistência vascular periférica nos músculos. Isso facilita o fornecimento de oxigênio e nutrientes para os músculos, que consomem grandes quantidades de oxigênio e nutrientes, especialmente quando a intensidade do exercício aumenta (HEINONEN, 2013).

Os músculos cardíaco e esquelético desempenham um papel central na determinação do nível de metabolismo do corpo inteiro, não só no repouso, mas principalmente durante o exercício. Isso pode ser elucidado pelo fato desses tecidos receberem a quase totalidade (85 a 95%) da entrega de oxigênio e, portanto, o débito cardíaco durante o exercício máximo. Devido ao seu papel central no movimento do corpo, no bombeamento de substratos de oxigênio e de energia para todos os tecidos, músculos esquelético e cardíaco também foram os órgãos mais intensamente investigados na fisiologia do exercício (HEINONEN *et al*, 2013).

A distribuição do fluxo sanguíneo dentro e entre os músculos esqueléticos ativos têm importância para o consumo de oxigênio localmente nesse músculo, além de desempenhar um papel na captação de substrato energético com as necessidades metabólicas locais (HEINONEN *et al*, 2012). Assim, embora a absorção de glicose seja aumentada em resposta ao exercício a sua absorção regional, não se correlaciona com a perfusão muscular local (LAAKSONEN *et al*, 2013). Isso é particularmente verdadeiro com exercícios de baixa intensidade, em que a captação regional dos ácidos graxos livres correlaciona-se fortemente com a perfusão muscular local (LAKSONEN, 2013; HANUKAINEN, 2006). A interação entre a captação de glicose e perfusão muscular local melhora quando a intensidade do exercício aumenta e atinge níveis de captação mais elevados na resistência e, assim, pode

executar níveis mais elevados. A captação de glicose no miocárdio aumenta apenas até de intensidade moderada (HEINONEN, 2013).

2.5. Exercício Incremental Progressivo

O exercício incremental progressivo em esteira ergométrica é um teste no qual os animais correm inicialmente a uma velocidade constante e depois a velocidade e/ou a inclinação da esteira são progressivamente aumentados até que o animal apresente incoordenação ou cansaço extenuante, indicando exaustão. O exercício produz respostas fisiológicas no organismo em decorrência do estresse e do esforço físico.

Os testes de condição física são usados há décadas tanto no desporto e na medicina humana quanto no desporto animal e na medicina veterinária. Estes testes foram utilizados em 1923, por Hill e Lupton, com o objetivo de prever o volume máximo de oxigênio (VO_{2max}) consumido pelos atletas enquanto valor preditivo tanto de saúde quanto de desempenho (WADDOUPS, WAGNER, FALLON & HEATH, 2008). Na medicina humana, os testes de esforço são também usados, por exemplo, em pacientes com insuficiência cardíaca, de modo a caracterizar tanto o grau de insuficiência quanto para verificar a eficácia da terapêutica instituída (KITTLESON, JOHNSON & PION, 1996).

No desporto animal, durante as décadas de 1960 e 1970 e antes da disponibilidade geral das esteiras ergométricas de alta velocidade em centros de investigação, os estudos de campo eram conduzidos com equinos. Com a evolução dos testes, foi possível estabelecer relações entre diferentes parâmetros como a frequência cardíaca e o número de passadas na esteira (EVANS, 2008).

Embora os equinos tenham sido os primeiros animais a serem estudados, os testes estenderam-se a outras espécies, dentre as quais a canina. O estudo da fisiologia de animais sujeitos a exercícios físicos tornou-se bastante estudado, seja em trabalho, como os cães de trenó ou cães de polícia ou animais que participam em competições desportivas. Por exemplo, os estudos de McKenzie et al. (2007) verificaram quais as alterações séricas em cães e trenó do Alasca durante 5 dias consecutivos de exercício intenso prolongado, no entanto, a sua utilidade não se resume à prática desportiva ou ao trabalho físico, os testes de esforço podem ser utilizados no campo da medicina veterinária enquanto auxiliares ao diagnóstico de insuficiência cardíaca congestiva (KITTLESON et al. 1996).

O recurso para os testes de esforço em meio laboratorial, em particular com o uso de esteira ergométrica, apresenta um conjunto de vantagens importantes face aos testes em meio aberto, ou seja, testes com diferentes etapas que envolvem séries de exercícios com intensidade progressiva e distância conhecida, podendo apresentar intervalos para repouso ou serem contínuos. Uma das vantagens é a possibilidade de controle do ambiente físico, o desenho preciso do protocolo, a velocidade atingida e a duração de cada etapa são facilmente repetíveis e o acesso aos animais para realizar as operações como colheitas de sangue ou proceder a um eletrocardiograma (EVANS, 2008 E FERASIN & MARCORA, 2009).

Estes testes também apresentam um conjunto de desvantagens, ou seja, com relação a disponibilidade ou não de instrumentos como a esteira, e além disso, alguns autores documentam a necessidade de adaptação dos animais ao equipamento (KITTLESON ET AL. 1996). Isso pode constituir uma limitação importante, especialmente quando se trabalha com um intervalo de tempo limitado. Outros autores, como Ferasin e Marcora (2009) verificaram que todos os animais se adaptaram bem à esteira quando conduzidos pelos donos, que permitem o incentivo aos seus animais. Não obstante, os mesmos autores referem-se ao efeito da aprendizagem que deve ser considerado. Tal observação feita por Ferasin e Marcora (2009), deriva da constatação de que, com o decorrer do teste, a frequência cardíaca desce

quando um animal é sujeito ao mesmo esforço, possivelmente devido a uma diminuição da ansiedade ou a um aumento da eficiência nos seus movimentos.

Nesse sentido, foram elaborados diferentes protocolos tendo em vista diferentes objetivos. Os testes de esforço em meio laboratorial ocorrem com exercícios em séries intervaladas e de intensidades crescentes, podendo variar as condições em cada uma delas. Por exemplo, estudos em que os animais foram sujeitos a inclinações de 16% a uma velocidade de 1, 2 e 3 milhas por hora e 22 ou 26% a 3 milhas por hora, constituindo assim um protocolo com 5 etapas para avaliar cães com insuficiência cardíaca (KITTLESON ET AL. 1996). Em outro estudo, os cães são sujeitos a inclinações de 5 ou 15% a velocidades de 6, 7, 8, 9 ou 10 milhas por hora, num tempo máximo de 30 minutos (FERASIN & MARCORA, 2009).

2.5.1. Lactato

O termo "limiar aeróbico" foi proposto por Wasserman, McIlroy (1964) para identificar a intensidade do esforço em que existe o aumento da concentração de lactato de cargas progressivas (COELHO, 2007). O acúmulo de lactato no sangue reflete um aumento do metabolismo anaeróbio e/ou uma diminuição nos mecanismos responsáveis pela remoção do lactato, ocasionando a perda do equilíbrio no organismo (CAPUTO et al., 2009).

A produção de lactato ocorre internamente no músculo esquelético e pode ser mensurada através de suas concentrações plasmáticas avaliadas durante o exercício, fornecendo informações precisas acerca da demanda energética para execução do mesmo, implicando na utilização desse parâmetro como uma ferramenta na prescrição e obtenção de treinamento (PYNE et al., 2001)

As concentrações circulantes de lactato são proporcionais à intensidade do exercício físico realizado, sendo que, após o encontro do limiar anaeróbio ou limiar de lactato, as concentrações de lactato elevam-se rapidamente, resultado de uma maior participação da via anaeróbia. A ativação exagerada da via metabólica anaeróbia gera como consequência, alterações sistêmicas e locais causadas pelo aumento da concentração de lactato sanguíneo, prejudicando a continuidade do exercício físico, sendo então, um fator limitante na realização da atividade física. Dessa maneira, a realização de exercícios progressivos máximos até a exaustão, utilizando incrementos constantes de esforço, torna-se respeitável a análise do comportamento do lactato sanguíneo, possibilitando apontar a fase em que ocorre a descompensação entre produção e remoção do lactato (TEIXEIRA, 2010).

Diante disso, a realização do teste progressivo máximo até a exaustão identifica o ponto em que ocorre alteração no comportamento metabólico, devido ao fato do limiar anaeróbio ser um importante indicador da capacidade de realização de exercícios de resistência (PILIS et al., 1993).

Em cães a quantificação da concentração do lactato plasmático ou sanguíneo é um instrumento clínico importante, especialmente para o prognóstico de pacientes críticos que apresentam hipoperfusão tecidual sistêmica. Esse biomarcador foi relacionado à aplicação da concentração de lactato, na avaliação fisiológica da resistência durante a prática de exercício físico, sendo considerada uma variável para avaliação do efeito do exercício em cães, ratos, humanos e equinos (BERCKMAN, 2015).

Proscurshim e colaboradores (1989) descreveram que cães submetidos ao treinamento aeróbico têm valores médios para a concentração de lactato de $2,12 \pm 0,44$ mmol/l, observaram também, que a latência para obter a máxima concentração de lactato durante a recuperação do exercício, foi maior para cães não-treinados (7,8 minutos) do que para os treinados durante um ou dois meses, respectivamente, 3,0 e 1,5 minutos. Em repouso, cães normais apresentam concentrações venosas de $0,6 \pm 0,15$ mmol/l.

Em estudos realizados por diferentes autores, Berckman (2015), fez um apanhado das concentrações de lactato em relação a velocidades percorridas em exercícios. Por exemplo, ao final de uma corrida, os cães Greyhounds podem atingir até 18 m/s a uma distância de 800 m, sendo esta modalidade considerada de intensidade máxima que provoca alterações hematológicas, bioquímicas e do equilíbrio ácido-base. Essas alterações são evidenciadas principalmente pelo hematócrito, que atinge 64% da concentração de lactato de 28,9 mmol/l e pH venoso de 6,997.

Para atividades que exigem velocidades menores como praticada por cães da raça Retrievers Labradores, ocorrem elevações moderadas da concentração de lactato, atingindo 3,1 mmol/l. Em cães que praticam *Agility*, a concentração de lactato é de 4,5 mmol/l, quando praticam exercício em esteira ergométrica, a uma intensidade submáxima de esforço, a 2 m/s, cães da raça Beagle atingiram a concentração de lactato de 2,47 mmol/l (BERCKMAN, 2015). Segundo Alves (2013), o limite do lactato serve para mensurar a capacidade física com os efeitos individuais de cada animal, o limite será maior para os que chegarem a estágios mais avançados em animais mais aptos.

2.5.2. Resposta Autonômica Cardíaca

O Nodo Sinoatrial (NS) é responsável pelo início dos batimentos cardíacos, possui a maior frequência de disparo no coração, estimulando outras áreas cardíacas, como é o caso do nodo atrioventricular. Quando não ocorre nenhuma influência neural ou hormonal, a frequência cardíaca permanece constante e equivale à frequência de disparos promovida pelo NS (STAUSS, 2003; STRAUSS, 2007). Em condições de repouso, tanto o sistema nervoso simpático (SNS) como o parassimpático (SNP) são ativados e regulam a atividade cardíaca, porém com a predominância da regulação vagal. Em humanos, a ativação vagal gera resposta rápida na FC onde o NS responde ao estímulo em no máximo cinco segundos, diminuindo a FC. No caso da ativação simpática, a resposta ocorre de modo mais lento e aumenta progressivamente, assim a aumentando a FC (HAINSWORTH, 1995). Ainda assim, os dois ramos do sistema nervoso autônomo (SNA) possuem a habilidade de atuar de forma simultânea ou independente um do outro, na regulação da atividade cardíaca. Portanto, a elevação da atividade vagal não resulta instantaneamente na redução da simpática e vice-versa (VON BORELL et al., 2007) (figura 3).

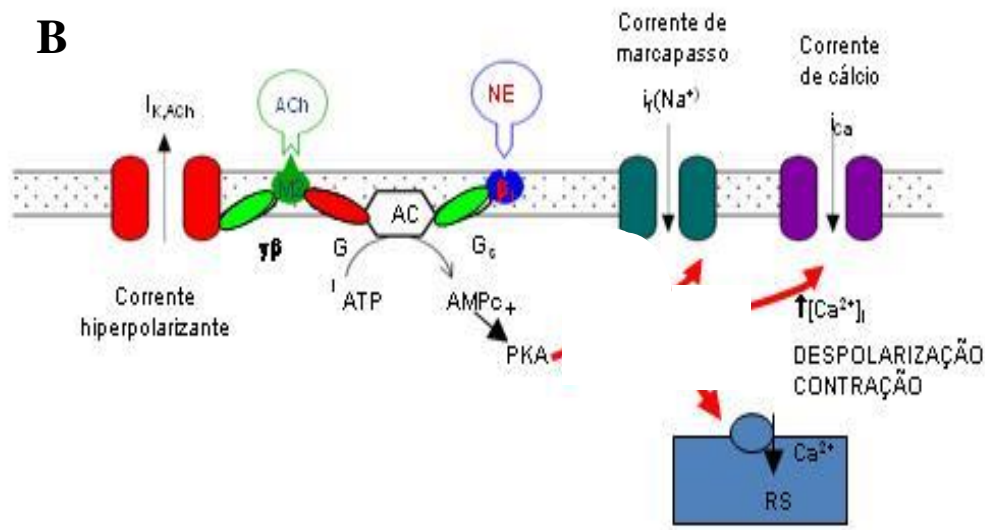
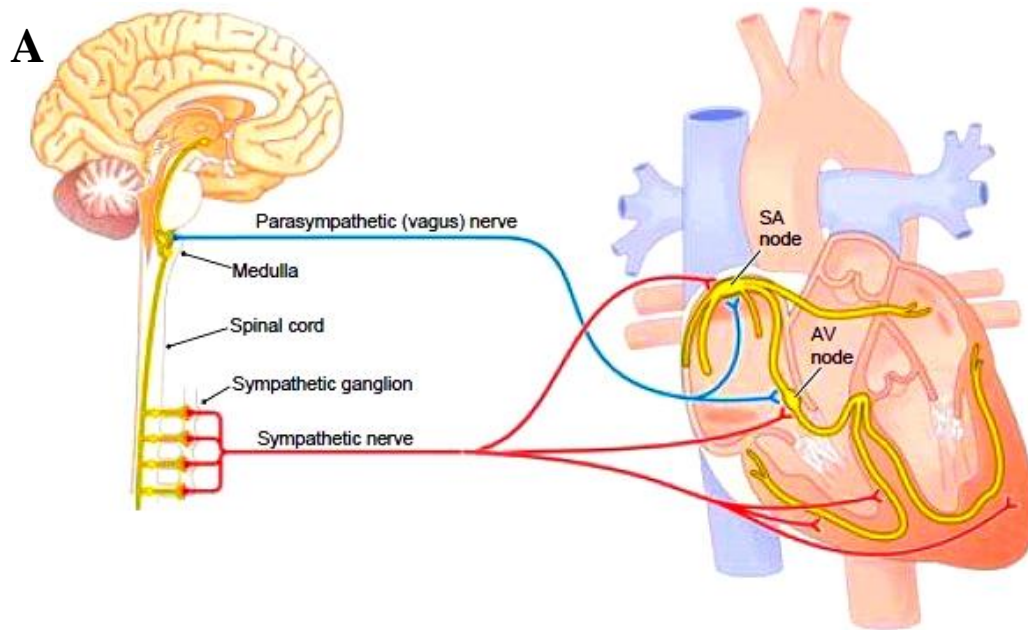


Figura 3: Efeito do sistema nervoso autônomo sobre a atividade cardíaca. Em A, inervação autonômica do coração e locais de atuação da noradrenalina (NA) e da acetilcolina (ACh) no coração. Em B, mecanismos intracelulares envolvidos com a estimulação simpática e parassimpática no coração. (CURI & PROCOPIO, 2009).

As fibras nervosas simpáticas são responsáveis pela descarga de noradrenalina (NA) nos nodos, nos átrios e nos ventrículos, quando o SNS é ativado. A noradrenalina e a adrenalina (liberada pela medula adrenal), estimulam os receptores β_1 adrenérgicos do coração que, por intermédio de proteínas G excitatórias (Gs), ativam a enzima adenilato ciclase (AC) para produzir monofosfato cíclico de adenosina (AMPC). O aumento da concentração intracelular AMPC leva à ativação da proteína quinase (PKA) dependente de

AMPC, que aumenta as correntes de canais iônicos (Ca^{+2} e Na^{+}), acelerando a velocidade de despolarização celular e resulta em aumento da frequência de disparo de potenciais de ação das células do NS, que leva ao aumento da frequência cardíaca (a diminuição do AMPC intracelular reduz a atividade da PKA). As fibras nervosas parassimpáticas dos nervos vagos inervam o NS e o nodo Átrio-ventricular (NA) e também o miocárdio atrial. A estimulação vagal libera acetilcolina (ACh), que ativa receptores M2, acoplados a uma proteína G inibitória (Gi), que tem como função inibir a síntese de AMPC. Ademais, a ACh ativa uma corrente de efluxo de K^{+} que gera uma hiperpolarização da membrana, levando ao aumento do limiar de ativação do potencial de ação sinusal. Esses efeitos reduzem a frequência de disparo de potenciais de ação das células sinusais, reduzindo a frequência cardíaca (CURI & PROCOPIO, 2009).

As diferenças observadas em relação ao tempo de resposta da ativação simpática e parassimpática podem ser em parte, pela liberação lenta de noradrenalina pelos terminais nervosos simpáticos, assim podem ocorrer diferenças anatômicas entre os ramos do sistema nervoso autônomo, como é o caso dos corpos celulares pré-ganglionares (CCP) do sistema nervoso periférico (SNP) que estão localizados dentro do coração, enquanto os CCP da inervação simpática estão localizados comparativamente isolados, no gânglio paravertebral (VON BORELL et al., 2007).

Como exemplo de uma resposta autonômica cardíaca, no decorrer de um treino de exercício submáximo, as variações da frequência cardíaca parecem refletir em uma diminuição da modelação vagal e um aumento da influência do sistema nervoso simpático, em indivíduos humanos saudáveis. Ou seja, a ação do sistema nervoso simpático durante o exercício envolve um conjunto de ações: como a antecipação do esforço, ou melhor, o *feedback* a partir dos mecanorreceptores musculares e a regulação dos diferentes baroreceptores sistêmicos. Contudo, as fibras nervosas do sistema parassimpático têm um efeito oposto estando, no entanto restritos ao nódulo sinoatrial e aos átrios, assim, a sua atuação causa uma redução da frequência cardíaca, da força de contração e da condução dos impulsos através do nódulo atrioventricular (ALVES, 2012).

2.5.3. Variabilidade do Intervalo Cardíaco

O melhor termo para descrever a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é variabilidade do intervalo cardíaco (VIC) e podemos caracterizá-la por intervalos de tempo irregulares entre os batimentos cardíacos consecutivos. Essa variabilidade ocorre devido a oscilação rítmica dos componentes regulatórios da atividade cardíaca. Esses componentes são responsáveis pela manutenção da homeostase cardiovascular e por determinar respostas a desafios (VON BORELL et al., 2007). As variações da frequência cardíaca devem-se principalmente às mudanças na atuação simpática e parassimpática sobre o nódulo sinoatrial e sua quantificação reflete a modulação autonômica sobre o coração. Desse modo, as medidas da VIC vêm sendo amplamente utilizadas como ferramenta não invasiva para investigação da modulação autonômica sobre o nódulo sinoatrial (FIGUEREDO, MARTINS, 2011). Com a VIC observa-se as flutuações que ocorrem durante curtos e longos períodos de tempo (ROQUE, 2009), desta forma tem sido considerada uma medida empregada para avaliar a regulação autonômica da atividade cardíaca e conseqüentemente medir o estresse e o bem-estar de animais em diversas circunstâncias (VON BORELL et al., 2007).

Para análise da VIC, podem ser utilizados índices obtidos por meio de métodos lineares no domínio do tempo e da frequência. No domínio do tempo em milissegundos (ms), mede-se cada intervalo RR durante um determinado espaço de tempo e, com base em métodos estatísticos ou geométricos, como: média, desvio padrão e índices derivados do histograma ou do mapa de coordenadas cartesianas dos intervalos RR, calculam-se os índices tradutores de flutuações na

duração dos ciclos cardíacos (HOSHI, 2009). Para os domínios de frequência são utilizados para mensurar as principais flutuações rítmicas que caracterizam, inclusive em estado de repouso, a série cronológica dos intervalos cardíacos RR. Dessa forma, pode-se mensurar a atividade do SNA (SONG et al., 2006; MARQUES et al., 2010). Os dados são obtidos através da gravação dos intervalos entre batimentos cardíacos, feitos por frequencímetros capazes de detectar em milissegundos o tempo entre os batimentos e armazená-los (LOMBARDI, 1997; VON BORELL et al., 2007).

A técnica utilizada com esse objetivo é chamada de análise espectral e consiste no uso de algoritmos matemáticos, como é o caso da Transformada Rápida de Fourier (FFT), para obter diagramas dimensionais. Em um gráfico, são dispostos os componentes oscilatórios de frequência da VIC no eixo X e a amplitude dos componentes oscilatórios no eixo Y. Utilizando-se esse procedimento é plausível produzir a força espectral, uma medida para a amplitude, das frequências baixas e altas da VIC. Sendo assim, a VIC contém dois componentes de frequência principais que são divididos através da análise espectral.

1. Frequência baixa (LF) que é o componente caracterizado pelo espectro de 0,04 a 0,15Hz; e
2. Frequência alta (HF) que está situada na faixa de 0,15 a 0,4 Hz na análise espectral (KAWASE et al., 2002; VON BORELL et al., 2007; PICCIRILLO et al., 2009).

Um gráfico é confeccionado quando os intervalos cardíacos IRR são dispostos em uma escala de tempo, e as oscilações que são formadas no gráfico, é o resultado da ação dos diferentes componentes regulatórios dos pulsos cardíacos, onde a atividade rítmica resultante da ativação parassimpática exhibe frequências mais altas que aquelas resultantes da atividade simpática (LOMBARDI, 1997; VON BORELL et al., 2007) (figura 4).

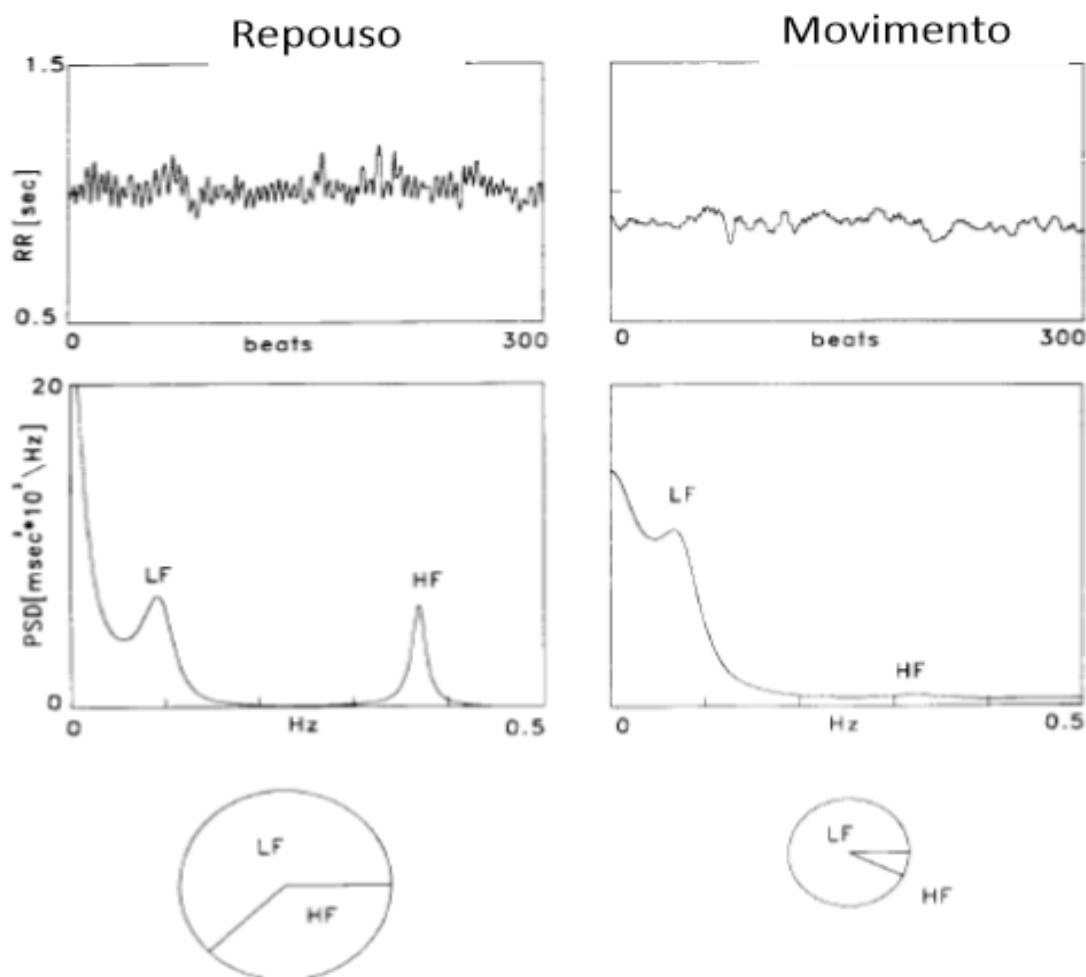


Figura 4: Análise espectral da VIC. Variabilidade do intervalo cardíaco em um indivíduo jovem durante o repouso e quando em movimento. A série temporal de intervalos RR está disposta nos gráficos do topo. Os gráficos centrais ilustram a presença de dois componentes (representada pela área) (MALLIANI, 1997).

Os valores dos componentes frequenciais modificam entre as espécies e os valores citados, são utilizados em humanos e vem sendo utilizados, também, em estudos em cães. A partir dos valores obtidos de LF e HF, calcula-se a razão entre os dois componentes de frequência e, assim, pode-se acessar o balanço entre a atividade simpática e parassimpática (PAGANI et al., 1986; LOMBARDI et al., 1996; MALLIANI et al., 1997; VON BORELL et al., 2007; HARADA et al., 2005).

2.6. Acupuntura

2.6.1. Acupuntura na Medicina Tradicional Chinesa

A acupuntura é uma técnica terapêutica da Medicina Tradicional Chinesa (MTC), que nas últimas décadas veio ganhando reconhecimento no ocidente. Seu papel é importante na civilização chinesa desde os tempos antigos, quando os chineses além de utilizarem esse tratamento em humanos, também a praticava em seus animais, inicialmente em cavalos, que eram essenciais para a agricultura e para a guerra (TORRO, 1997).

A palavra acupuntura é derivada dos radicais latinos “acus” e “pungere”, que significam agulha e puncionar, respectivamente. Tem como técnica a inserção de agulhas em pontos específicos da pele, com propósitos terapêuticos. Os locais ou regiões anatômicas onde se realizam as punções com agulhas são conhecidos como “pontos de acupuntura” ou “acupontos”. (WEN, 1989; JAGGAR, 1992; SCHOEN, 2006). Tem sido usada na atualidade para o tratamento de dores crônicas e agudas de diversas origens e tem indicação como tratamento de dores musculoesqueléticas e a promoção e normalização da homeostasia (Luna, 2005), e também para o tratamento do estresse (TIRGOVISTE, 1975; YAMAMURA, 1993).

Pela visão da MTC, a energia flui através do organismo ao longo dos canais específicos ou meridianos. Esses meridianos fazem a comunicação entre órgãos e extremidades, portanto é através deles que as funções fisiológicas do organismo são reguladas e o equilíbrio é mantido. Ao longo de cada meridiano existem pontos específicos em que as agulhas são inseridas (MACIOCIA, 1996).

O mecanismo da Acupuntura proposto é baseado no princípio de manter ou recuperar a homeostase. Muitos esforços têm sido feitos para estabelecer adequadamente as propriedades e características desses mecanismos em termos de neuroanatomia, neurofisiologia e neuroquímica (TIRGOVISTE, 1975; YAMAMURA, 1993).

2.6.2. Mecanismos Fisiológicos da Acupuntura

A acupuntura trata-se de uma terapia reflexa na qual o estímulo nociceptivo dado ao ponto desencadeia respostas em outras áreas do organismo (SCOGNAMILLO-SZABÓI, 2010). O ponto de acupuntura pode ser estimulado além das agulhas, por acupressão, moxabustão, laserpuntura, aquapuntura e eletroacupuntura, dentre outras técnicas. De modo que a escolha dos pontos seja feita de acordo com o trajeto do meridiano e a distribuição da inervação que atravessa a área do estímulo doloroso (TAFFAREL e FREITAS, 2009).

A acupuntura estimula as fibras sensitivas do sistema nervoso periférico (SNP) fazendo com que ocorra uma transmissão elétrica de vias neuronais para produzir alterações no sistema nervoso central (PIRES 2010; PELLEGRINOTTI, 2004).

Segundo Schoen (2006), o modelo básico de analgesia por acupuntura atua da seguinte forma: existe uma estimulação nos pontos de acupuntura, que ativa as fibras nervosas de pequeno diâmetro, dentro dos nervos periféricos, os quais fazem sinapses no corno dorsal da medula espinhal e, assim, ativam três regiões do SNC (medula espinhal, tronco cerebral e hipotálamo-hipófise), essas áreas estimuladas liberam neurotransmissores que vão inibir a mensagem de dor. Nos trajetos ascendentes, os axônios fazem sinapses dentro dos núcleos da formação reticular medular. Esses impulsos são transmitidos à substância cinzenta periaquedutal (SCP) e ao tálamo, regiões que possuem altas concentrações de opióides endógenos e/ou receptores de opiáceos. Os impulsos descendentes da medula espinhal inibem a transmissão espinhal dos aferentes de dor. As endorfinas funcionam como os mediadores de analgesia por acupuntura.

Na medicina ocidental contemporânea, acupuntura é considerada uma forma de estimulação sensorial que afeta várias classes de fibras nervosas aferentes que mandam projeções para medula espinal e para centros superiores no encéfalo, acionando eventos neurofisiológicos que geram os resultados terapêuticos (SOLIGO et al., 2013). Os estímulos gerados pela acupuntura podem ativar os centros autonômicos e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e, desse modo, ajudar a manter homeostase e melhorar a eficiência de vários sistemas do organismo (LI et al., 2013). Assim, a estimulação de acupontos pode evitar alterações induzidas pelo estresse no sistema nervoso autônomo (Li et al., 2013) e no eixo HHA (ESHKEVARI et al., 2012, ESHKEVARI et al., 2013; YANG et al., 2002). Estudos recentes do grupo de pesquisa da UFRRJ, mostraram que a acupuntura pode reduzir o balanço simpato-vagal em cães da raça Beagles submetidos ao estresse sonoro agudo (MACCARIÉLO, 2012) e em cavalos submetidos a um teste de sobressalto (VILLAS-BOAS, 2015).

A acupuntura tem sido usada para reduzir as respostas de estresse em humanos e nos animais (ESHKEVARI et al., 2013). Em estudos de Villas-Boas (2015), foi testado a resposta da acupuntura em mudanças na resposta comportamental, variabilidade do intervalo cardíaco e os níveis de cortisol em cavalos.

2.6.3. Efeito da Acupuntura no Estresse e no Exercício

Estudos evidenciaram os efeitos da acupuntura no estresse, como a ação inibitória da eletroestimulação do ponto E36 sobre a hipersecreção de corticosterona induzidos pelo estresse de imobilização em coelhos (LIAO, 1979). Em indivíduos saudáveis, a acupuntura no mesmo ponto, significativamente reduz as elevações na pressão arterial induzida pelo estresse (MIDDLEKAUFFET al., 2001). A eletroacupuntura nos pontos PC6 e C3 reduziu os níveis de adrenalina e noradrenalina, a frequência cardíaca e a pressão arterial em ratos submetidos ao estresse de imobilização (YANG et al., 2002).

O efeito da acupuntura nos acupontos BP6, E36, VC17, PC6 e VG20 durante um período de imobilização de 60 minutos em ratos *Wistar*, utilizando como parâmetros cardiovasculares a pressão arterial, a frequência cardíaca e análise de comportamento, sugerindo que a acupuntura aplicada durante o estresse agudo por contenção atenua alguns comportamentos envolvidos na reação de luta ou fuga característica do estresse, de maneira independente dos parâmetros cardiovasculares avaliados (GUIMARÃES et al, 1997). Santos (2008) em seu estudo constatou a eficácia da acupuntura na melhoria da performance de corrida em atletas de handebol, utilizando os pontos B58, E36, VB30, P1, B17, TA15. A melhora teve média de 5,72% no tempo final durante os 100 metros rasos e foi estatisticamente significativa.

A acupuntura vem destacando-se no cenário desportivo com a finalidade de melhorar o desempenho de atletas, porém seus benefícios não são totalmente esclarecidos nesse contexto, mas sabe-se que proporciona benefícios físicos, mental e de equilíbrio orgânico aos praticantes de exercícios. Para o tratamento, são sugeridos pontos específicos para melhorar o desempenho físico, esportivo e a plasticidade muscular (PIRES 2010; PELLEGRINOTTI, 2004).

Segundo Belmiro e colaboradores (2013), existem poucos estudos experimentais com acupuntura na melhora do rendimento físico. Talvez devido a escassa atenção científica, tenha sido direcionada para o estudo dos efeitos da acupuntura nas respostas fisiológicas ao exercício. Em contrapartida, tem sido aproveitada por atletas, profissionais e amadores para promover bem-estar físico, para o alcance de um nível mais alto de performance competitiva e para um melhor treinamento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de Execução do Trabalho Experimental

Os procedimentos experimentais foram realizados no canil *Dogs Heaven*, entidade filantrópica, no Distrito de Secretário, Município de Petrópolis, Estado do Rio de Janeiro (figura 5). O canil possui 180 animais acomodados em baias de 15 a 25 m², contendo de 2 a 5 animais por baia. Todos os procedimentos estão de acordo com os preceitos da lei de bem-estar animal, Instrução Normativa n° 56 de 2008, sendo o presente experimento aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), da UFRRJ, Instituto de Veterinária (IV), sob o número: 9190190216 (anexo 1).



Figura 5: Canil Dog's Heaven, Secretário, Petrópolis, RJ. Foto: acervo pessoal, 2016.

3.2. Animais

Foram selecionados 16 cães, 8 machos e 8 fêmeas. Os critérios de seleção dos animais foram temperamento sociável, peso entre 8 a 23 kg, com idades entre 2 e 5 anos, apresentando altura de cernelha de 42 a 66 cm, clinicamente saudáveis e com características de exames laboratoriais normais, vacinação e vermifugação em dia. Todos os cães eram destreinados à esteira ergométrica e não conviviam entre si. Os animais passaram por um exame clínico que consistiu em inspeção, palpação, auscultação, termometria retal e um exame ortopédico para descartar doenças concomitantes. Os critérios de exclusão foram animais arredios, agressivos, doentes e com alterações ortopédicas.

A altura dos animais foi medida através da cernelha, que foi verificada da ponta da escápula esquerda ao primeiro dedo através de uma fita métrica, essa avaliação foi realizada com o propósito de selecionar animais do mesmo tamanho para deixar os grupos mais

homogêneos. Outras considerações importantes foram com relação as avaliações da rotina do cão e observação de aspectos comportamentais como: medo, atenção, coordenação na esteira, andar na guia e agitação, além de confirmar a ausência de problemas locomotores como claudicação.

Os animais foram submetidos à adaptação à esteira e ao ambiente experimental, e posteriormente divididos em grupos controle (CTL) e acupuntura (ACUP) de modo aleatório. A adaptação começou no mesmo dia da seleção dos animais e inicialmente foram colocados sob a esteira desligada; em seguida submetidos a um treino de 3 a 5 minutos em velocidade baixa (1km/h) para observação da marcha na esteira. Os treinos iniciaram no dia seguinte. Não houve mudança na rotina, nem no manejo nas atividades dos animais (figura 6).



Figura 6: Seleção dos animais. O animal em estação posicionado para a avaliação. Foto: acervo pessoal, 2016.

3.3. Considerações Éticas

A participação no estudo ocorreu somente com a autorização do proprietário do canil mediante termo de consentimento em que se garantia plena liberdade para interromper quando desejado (anexo 2). Não houve riscos à saúde física ou mental dos animais que participaram do projeto.

3.4. Protocolo Experimental

O protocolo experimental foi realizado em 12 dias, sendo 1 dia para avaliação e seleção; 5 dias para treino na esteira ergométrica; 2 dias de descanso, e após o treino, 5 dias para o exercício incremental progressivo. No EIP, quatro animais foram testados por dia, iniciando sempre às 7:30 horas da manhã, com os cães alimentados.

No dia do EIP, o frequencímetro cardíaco (Polar Pro Trainer RS800CX) foi posicionado através de sua faixa elástica ao redor do tórax do animal, quando foi dado início a gravação. Nesse momento, cada animal, permaneceu sem manipulação por 7 minutos, para adaptação ao próprio dispositivo e registro dos dados de VIC do momento basal/inicial, e posteriormente foi realizada a coleta de sangue para a análise de cortisol sérico basal e de lactato (C1). Todas as coletas de sangue foram realizadas no local do experimento na mesa de avaliação ou na própria esteira. Logo após, os animais receberam os tratamentos de acordo com os grupos CTL (sem tratamento, apenas submetido ao EIP) e/ou ACUP (tratados com acupuntura 20 minutos antes do EIP) e, assim, submetidos ao EIP na esteira ergométrica (Athletic Advanced), 30 minutos após a coleta (C1). Os cães permaneceram com o frequencímetro posicionado no tórax, durante todo o protocolo experimental até os 15 minutos após o término do EIP.

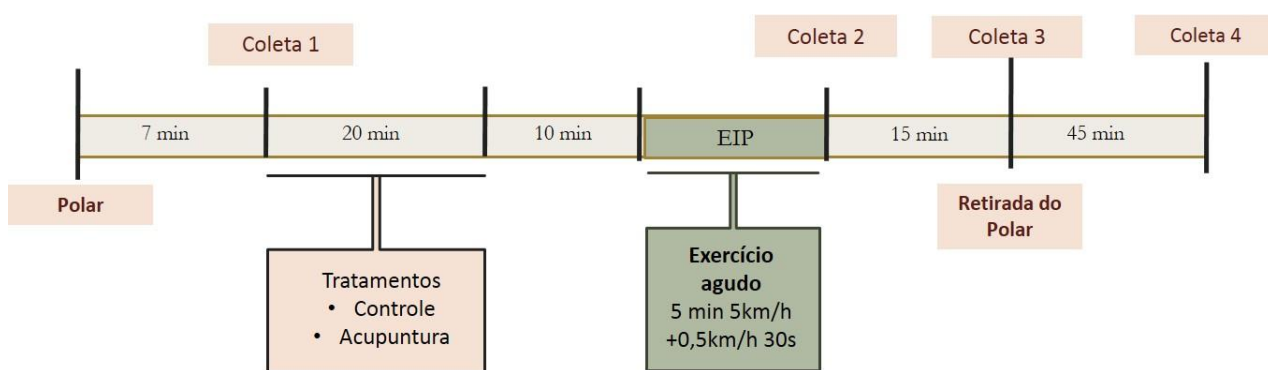


Figura 7: Esquema do protocolo experimental.



Figura 8: Cão iniciando EIP. Cão realizando exercício incremental progressivo, após tratamento com acupuntura. Foto: acervo pessoal, 2016.

A segunda coleta de sangue (C2) ocorreu imediatamente após o término de cada exercício, para avaliações do lactato sérico, seguida da terceira coleta (C3) feita quinze minutos após o término do EIP, para avaliação de cortisol e a quarta coleta (C4) feita uma hora após o término do EIP, para verificação de lactato e cortisol, foi realizada na baia onde o animal fica acomodado. O frequencímetro foi retirado após a coleta de quinze minutos posterior ao EIP e o animal levado de volta à sua baia com o pesquisador e/ou condutor, através da guia não anatômica (figura 7).

3.5. Protocolo de Adaptação ao Treinamento a Esteira Ergométrica

Os treinos começavam às 8 horas da manhã no canil. Individualmente, os cães eram retirados de suas baias e levados para a adaptação ao exercício na esteira, contidos através de guia. Quando necessário, o condutor realizava uma caminhada ou corrida no solo, próximo ao local da esteira para adaptação.

No primeiro dia de treino o cão era colocado na esteira desligada para a familiarização com reforço positivo (biscoitos, petiscos, estímulos sonoros e carinho). Em seguida a esteira era ligada a velocidades baixas de 1,0 km/h a 2,0 km/h, iniciando a fase de adaptação, chegando a velocidade máxima de 5,0 km/h, acrescidas de 5% de inclinação para todos os animais, desde o início do exercício. Esse conjunto de variáveis foi aleatoriamente combinado

de diversas maneiras, até que o cão não se assustasse mais com qualquer uma das variações de inclinação, velocidades ou ruídos (adaptado de BERCKMAN, 2015).

O protocolo de adaptação consistiu em cinco sessões de 20 minutos cada, durante cinco dias consecutivos foi usado reforço positivo como: brinquedos, bolinhas ou cordas, para ajudar o animal a realizar o exercício (BERCKMAN, 2015). Dois dias após o fim do período de adaptação à esteira, os animais foram submetidos ao exercício incremental progressivo (EIP).

Os cães selecionados para o protocolo experimental participaram do protocolo de adaptação ao treinamento à esteira ergométrica em todos os dias propostos e com todas as velocidades estipuladas (anexo 3).

3.6. Exercício Incremental Progressivo

O EIP teve início trinta minutos após a primeira coleta de sangue. O exercício incremental progressivo consistiu na técnica proposta por Radin e colaboradores (2015), em que cada cão iniciou o treino com aquecimento, caminhando por 5 minutos a uma velocidade de 5,0 km/h, seguido de aumento gradual de 0,5 km a cada 30 segundos, com inclinação de 5% (anexo 4) (figura 8).

O alcance da exaustão foi considerado a parada abrupta ou perda de coordenação durante o exercício (BERCKMAN, 2015 e RADIN et al., 2015). No EIP existe grande variação no tempo para exaustão, e com isso o período das coletas de sangue também varia já que está relacionado com o término do exercício.

Posteriormente à conclusão do EIP, de acordo com o tempo e mudanças de cada animal, novas amostras de sangue foram coletadas para dosagem de cortisol e curva de lactato que ocorreram nos seguintes momentos: imediatamente após (C2); 15 minutos após (C3) e 1 (uma) hora após o exercício (C4). Onde: C1- cortisol basal e lactato; C2 - lactato; C3 - cortisol; e C4 – lactato e cortisol (figuras 9, fases do exercício incremental).



Figura 9: Fases do protocolo do exercício incremental progressivo. Em A, condução do animal da baia para o local do exercício; **em B,** realização da primeira coleta; **em C,** tempo de espera para adaptação ao polar; **em D,** tratamento com acupuntura (ponto E36); **em E,** exercício incremental progressivo e **em F,** término do EIP, animal demonstrando incoordenação. Fotos: arquivo pessoal, 2016.

3.7. Grupos Experimentais

Dezesseis cães foram submetidos ao EIP, sendo um total de 8 para o grupo controle e 8 para o grupo tratamento com acupuntura.

1) Exercício Incremental Progressivo (EIP): animais permaneceram sem manipulação antes do exercício.

2) Acupuntura nos pontos E36, PC6 E BP6 + Exercício Incremental Progressivo (EIP): foram inseridas agulhas de acupuntura (Dong Bang, 30X40) nos pontos E36, PC6 e BP6, bilateralmente por 20 minutos (tabela 1). Posteriormente as agulhas foram retiradas e os animais permaneceram por mais 10 minutos sem manipulação até serem levados para o exercício incremental progressivo.

Tabela 1: Localização e características dos pontos de acupuntura

Ponto	Localização	Inervação	Indicação pela Medicina Tradicional Chinesa:
E-36 ou <i>Zusanli</i>	1 cun lateralmente ao aspecto distal da crista tibial, no aspecto crâniolateral da tíbia, sobre o músculo tibial cranial.	Nervo cutâneo femoral cranial, nervos fibular superficial e profundo.	Tonifica a raiz do Qi pós-celestial. Tonifica o Qi Vertical e a resitencia patologias, imunoestimulação.
PC-6 ou <i>Nei-guan</i>	Na face medial do membro torácico 3 cun proximal à prega transversal do carpo.	Nervos cutâneos Antebraquial medial e lateral.	Usado para distúrbios do Shen, ansiedade, desordens do sono, epilepsia, vento interno, vertigens e desordens vestibulares.
BP-6 ou <i>San-yin-jiao</i>	Na superfície medial do membro pélvico, 3 cun proximal à ponta do maléolo medial.	Nervo safeno.	Tonifica yin e sangue, usado para tratamento da diarreia, secreção genital, infertilidade paresia ou paralisia dos membros pélvicos.

Fonte: (MACIOCIA, 1996; SCHOEN, 2006; XIE, 2011).

3.8. Coletas de Sangue

As amostras de sangue foram coletadas com seringa da marca BD[®] de 5 ml, por punção das veias cefálica ou jugular. Foram retiradas amostras no período basal, ou seja, antes do protocolo experimental e nas etapas que se seguiram aos exercícios: antes do EIP e nas etapas que se seguiram aos exercícios: imediatamente após a exaustão (C2), 15 minutos após (C3) e 1 (uma) hora após o EIP (C4).

As amostras de sangue foram acondicionadas em tubos específicos (BD Vacutainer[®]) de bioquímica para dosagem de cortisol, e tubos que continham K₃EDTA para dosagem de lactato. As amostras foram armazenadas sob-refrigeração até passarem por centrifugação na velocidade 3000 RPM por 10 minutos ao final do EIP. O soro coletado de cada amostra foi alocado em 2 (dois) tubos tipo Ependorffs e estocado em freezer a -20°C, até a realização da análise.

3.9. Uso do Freqüncímetro

Os intervalos cardíacos foram registrados através de freqüncímetro cardíaco (Polar® modelo RS800CX) utilizando um sistema de gravação móvel (figura 10).

O Polar ficou unido ao tórax dos cães através de uma faixa elástica ajustada individualmente de forma a permanecer em contato com a região precordial.

Foi aplicado gel condutor para garantir a condução adequada dos pulsos cardíacos. O transmissor do sistema permanece adaptado e capta seus sinais enviando-os para o relógio do equipamento, que armazena os dados.

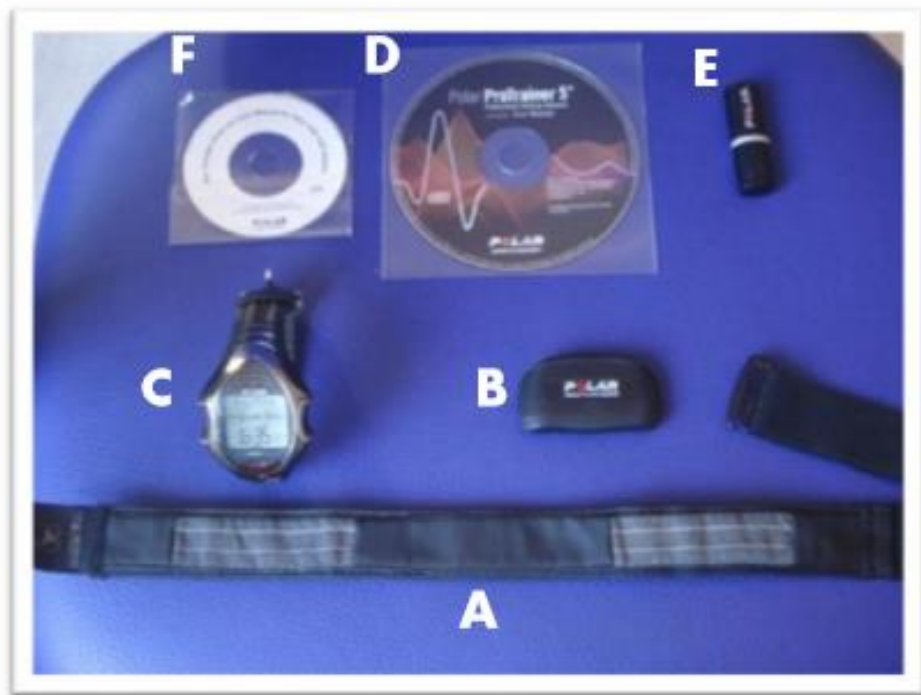


Figura 10: Componentes do freqüncímetro (Polar modelo RS800CX): A- faixa com freqüncímetro, B- transmissor, C- relógio, D- manual e CD de instalação do programa, E- Driver Polar IrDA USB Adapter (interface de emissão de infravermelho), F- cd de instalação da interface de emissão de infravermelho. Fonte: FRANZINI, 2015.

3.10. Análise Espectral da Variabilidade do Intervalo Cardíaco

Os dados armazenados foram enviados para o programa Polar Pro Trainer 5® (figura 11) por meio da interface de emissão de infravermelho, para realizar a análise espectral da variabilidade do intervalo cardíaco (VIC).

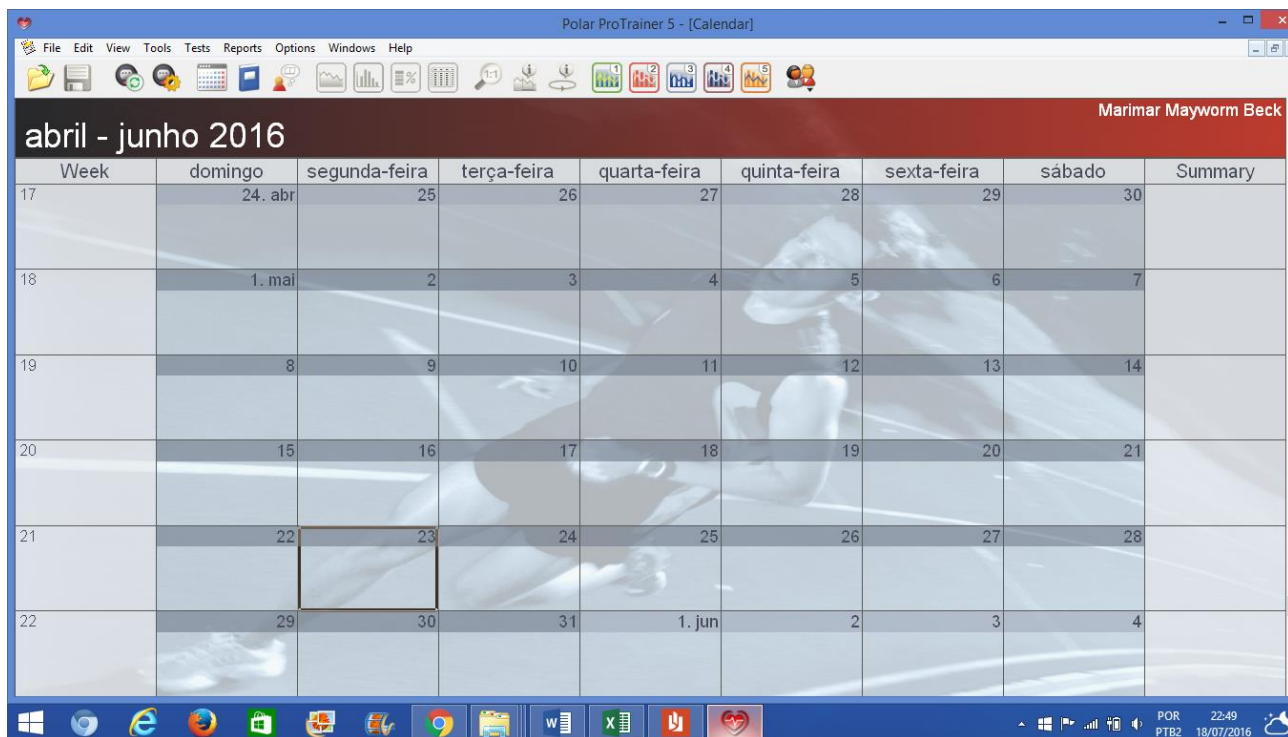


Figura 11: Programa Polar Pro Trainer 5®. Foto: arquivo pessoal, 2016.

Os dados obtidos foram dispostos em um gráfico confeccionado a partir da frequência cardíaca (bpm) em razão do tempo (figura 12), e enviados para o programa Excel 2007, que gera uma lista de valores de intervalos RR em milissegundos. A partir da lista de valores de intervalos RR foram selecionados os diversos segmentos a serem analisados. No Excel, foi realizada correção de alguns artefatos de leitura através da substituição dos valores de intervalos RR discrepantes pela média dos valores dos dois RR anteriores e dos dois posteriores (VON BORELL et al., 2007).

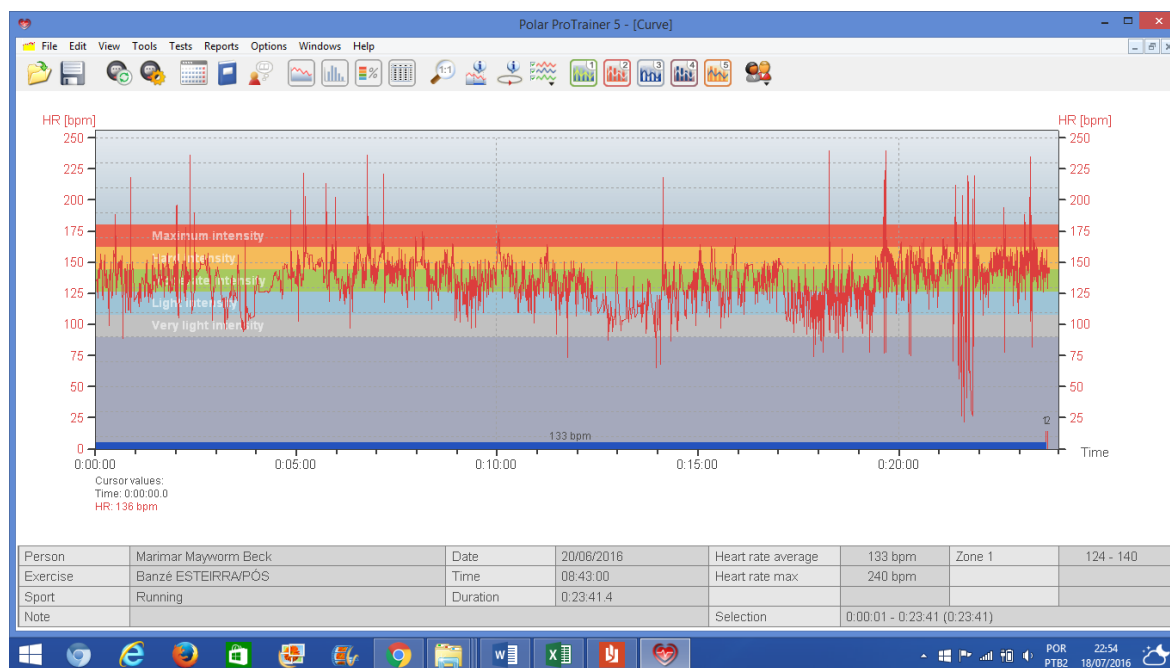


Figura 12: Registro de dados da Frequência Cardíaca. Foto: arquivo pessoal, 2016.

Os segmentos foram enviados para o programa Cardioseries 2.4 (figura 13) que gera os valores dos parâmetros da análise da VIC no domínio da frequência e no domínio do tempo de cada segmento.

Os componentes frequenciais LF e HF foram obtidos pela Transformada Rápida de Fourier (FFT) para realizar a análise da VIC no domínio da frequência. A razão LF/HF permite identificar o balanço entre a ativação simpática e parassimpática nos momentos selecionados. Os valores das variáveis utilizadas pelo programa Cardioseries 2.4 foram padronizados da seguinte forma: VLF– 0 a 0,04; LF 0,04 – 0,15; HF – 0,15 – 0,4; taxa de interpolação = 4 e pontos no domínio da frequência = 512 (VON BORELL et al., 2007; HARADA et al., 2005).

Além disso, foi avaliada a frequência cardíaca média para realizar a análise da VIC no domínio do tempo, e avaliada de duas formas: uma análise durante todo o EIP e outra apenas nos três minutos finais do EIP, momento em que os animais passaram de 5 minutos de velocidade constante e estavam no momento de incremento da velocidade.



Figura 13: Tela do programa CardioSeries. Demonstra a razão entre os componentes de frequência LF e HF, a partir da FFT. Fonte: acervo pessoal, 2016.

3.11. Análise do Lactato

As análises das concentrações séricas de lactato foram realizadas com o objetivo de verificar se o EIP foi de intensidade suficiente para produzir um estímulo metabólico nos animais. Para essas análises utilizou-se kits reagentes (Biosystem®) em espectrofotômetro BTS 315 (Biosystem®).

Após centrifugação e separação do plasma, as alíquotas de 1,0 ml foram acondicionadas em tubos tipo Eppendorf, devidamente identificados e armazenados em freezer à temperatura de -20°C para posterior análise. A análise foi realizada com kit reagente comercial para lactato (Katal®), utilizando-se um espectrofotômetro modelo BTS 315 (Biosystem®).

3.12. Análise de Cortisol

As análises hormonais foram realizadas no Laboratório de Neuroendocrinologia Comportamental do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ pela técnica de radioimunoensaio (RIE). Todos os ensaios/dosagens foram realizados em duplicata.

Após descongelamento das amostras à temperatura ambiente e numeração dos tubos, foi pipetado em duplicata, 25µL de diferentes concentrações padrões de cortisol do kit (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 3; 10; 30; 100 µg/dl) nos tubos, adicionando-se 25µL dos soros testes e em seguida testados e posteriormente adicionado 1,0 ml de cortisol em todos os tubos.

Os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 37°C +/- 1°C sendo feita em seguida decantação e secagem de todos utilizando um papel absorvente.

A contagem foi realizada em um contador gama calibrado para iodo radiativo (I125) da marca Wallac ®. Após as leituras, foi confeccionado o gráfico da curva padrão de acordo com as instruções do kit e os valores de cortisol das amostras testadas foram calculados a partir dos valores de radioatividade obtidos individualmente em relação aos valores da curva padrão.

Os cálculos dos valores testes apresentados em µg/dl foram realizados através do programa Graph Prism 5.0. Para a manutenção da confiabilidade do teste, todos os valores deveriam estar dentro dos valores da curva padrão, não podendo ser considerados os valores fora da curva.

3.13. Análise Estatística

A análise estatística dos dados da VIC (razão LF/HF, FC média, LF e HF), lactato e cortisol foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de duas vias para medidas repetidas e quando significativa seguida de teste de comparações múltiplas de Bonferroni. A análise da velocidade máxima alcançada foi analisada através do teste t. As análises foram realizadas e os gráficos construídos através do programa GraphPad Prism 5.

4 RESULTADOS

4.1 Adaptação a Esteira

Os animais demonstraram-se adaptados ao protocolo de treinamento, embora tenham apresentado no primeiro momento reações de medo, agitação e desatenção que são atitudes normais frente a cães sem contato prévio com o equipamento. Contudo, ao final do treino todos os animais estavam adaptados ao exercício na esteira ergométrica.

4.2. Velocidade Máxima Alcançada no Exercício Incremental Progressivo

Na tabela 2 estão representadas as frequências cardíacas obtidas durante todo o teste de esforço máximo em função do aumento incremental da velocidade.

O teste t não detectou diferença significativa entre os grupos CTL e ACUP na velocidade máxima atingida ($P > 0,05$), demonstrando que apenas uma sessão de acupuntura imediatamente antes do exercício não foi suficiente para alterar este parâmetro (figura 14).

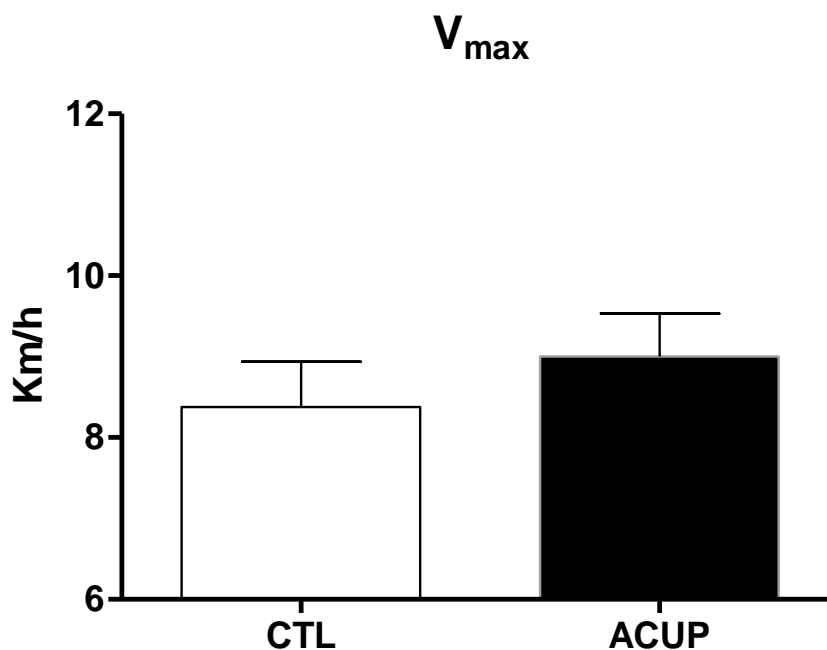


Figura 14: Efeito da acupuntura no treinamento de cães durante o teste de exercício incremental progressivo. Comparação da velocidade máxima alcançada entre os diferentes grupos (CTL e ACUP), durante o teste com velocidade progressiva. Não foi observada diferença significativa entre o grupo CTL e ACUP. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média. Analisados através de teste t.

	Basal	5	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8	8,5	9	9,5	10	10,5	11	11,5	12	POS
	km/h	Km/h	Km/h	Km/h	Km/h	Km/h	Km/h	Km/h	Km/h	Km/h	Km/h	Km/h	Km/h	km/h	km/h	km/h	
CTL																	
Nara	112	132	159	159	174	175	176	180	180	171	149	-	-	-	-	-	118
Banzé	145	172	225	188	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	132
Coisa	125	132	186	97	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	129
Pitoco	123	130	118	124	124	127	138	134	158	-	-	-	-	-	-	-	105
Tigresa	155	142	125	164	160	164	163	164	177	187	182	180	-	-	-	-	140
Falcão	110	130	119	120	123	126	135	138	140	144	143	153	149	-	-	-	128
Caramelo	107	171	177	188	191	184	201	199	193	178	-	-	-	-	-	-	163
Kiko	139	190	193	211	201	207	199	198	200	203	146	-	-	-	-	-	150
	127±18	150±24	163±39	156±40	162±33	164±32	169±29	169±29	175±22	177±22	155±18	167±19	149±0	-	-	-	133±18
ACUP																	
Sanny	101	111	113	154	142	133	158	152	151	156	154	165	-	-	-	-	129
Jade	102	150	147	147	144	135	172	189	146	142	153	-	-	-	-	-	131
Malu	138	187	170	158	164	169	173	151	-	-	-	-	-	-	-	-	118
Scooby	127	149	135	129	137	139	146	147	158	-	-	-	-	-	-	-	112
Preto	138	131	150	126	169	154	134	-	-	-	-	-	-	-	-	-	139
Mesclado	131	100	129	137	143	147	153	157	164	-	-	-	-	-	-	-	128
Canil15	161	164	179	189	184	194	193	201	224	-	-	-	-	-	-	-	158
Último	129	178	172	165	156	153	148	169	180	182	168	173	177	170	180	163	125
	128±20	146±31	149±23	151±21	155±16	153±	160±19	167±21	171±29	160±20	158±8	169±6	177±0	170±0	180±0	163±0	130±17

Tabela 2: Frequências cardíacas (FC) em função do aumento incremental da velocidade, obtidas durante todo o teste de exercício progressivo até a exaustão.

Frequência Cardíaca

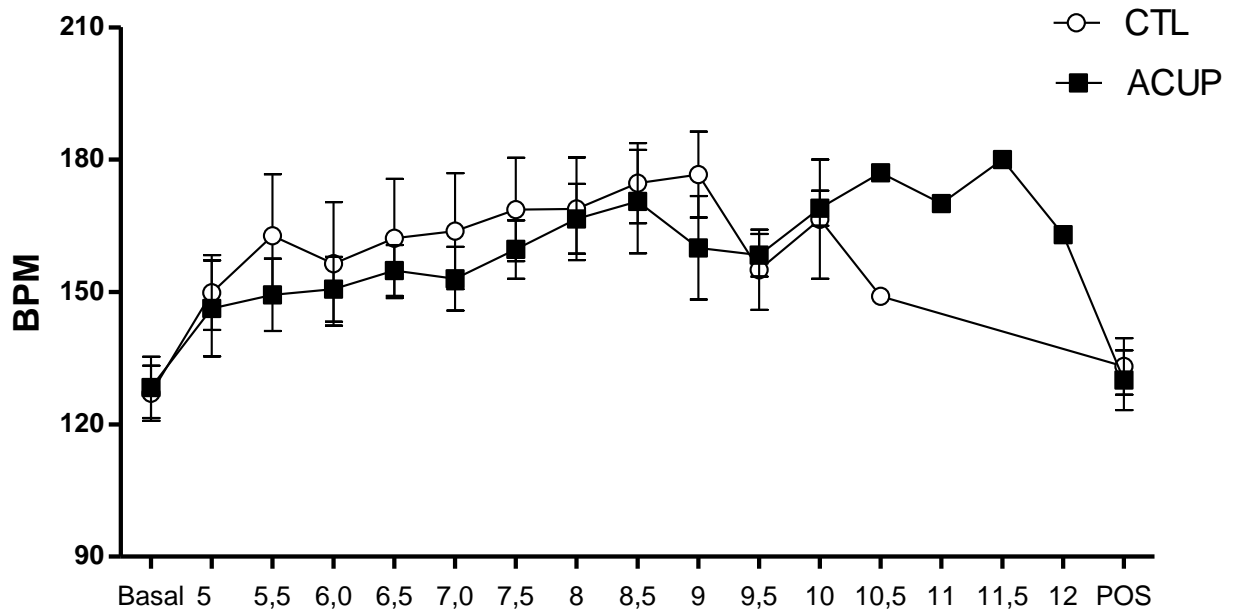


Figura 15: Efeito da acupuntura na frequência cardíaca atingida em cada aumento da velocidade incremental até a o momento final do EIP. Comparação da frequência cardíaca atingida entre os diferentes grupos (CTL e ACUP), durante o teste de exercício incremental progressivo.

4.3. Análise do Lactato

Animais dos grupos controle e acupuntura apresentaram um aumento significativo dos níveis de lactato no exercício incremental em relação aos momentos basal e pós-exercício ($F_{2, 26} = 15.42$; $p = 0.0003$). No entanto, não houve diferenças significativas entre grupos ($F_{1, 13} = 0.9849$; $p = 0.3540$) e interação entre grupos e o tempo ($F_{2, 26} = 0.3854$; $p = 0.6872$) (figura 16 A).

Embora tenha havido uma tendência de redução dos níveis de lactato imediatamente após o exercício, não houve diferença significativa entre os grupos controle e acupuntura ($p > 0,05$) (figura 16 B).

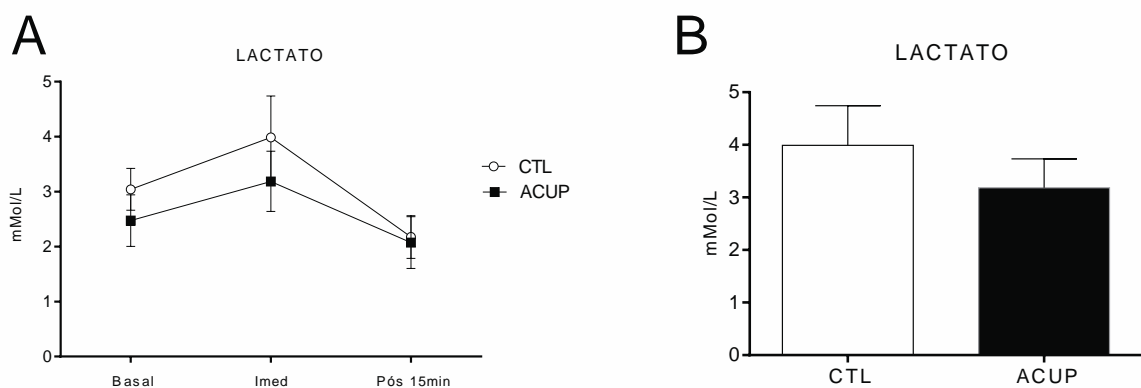


Figura 16: Efeito da acupuntura nos níveis de lactato sérico de cães durante o teste de exercício incremental progressivo em esteira ergométrica. Em A, os dados são apresentados como média \pm epm nos momentos antes (Basal), imediatamente após (IMED) e 15 min após (Pós) o teste de exercício incremental progressivo e não tratados (CTL). **Em B**, efeito da acupuntura nos níveis de lactato imediatamente após o exercício. Não houve diferença significativa entre os grupos CTL e ACUP. Houve diferença significativa apenas no fator tempo.

4.4. Variabilidade da Frequência Cardíaca

Quando avaliado o período completo do exercício, o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas não detectou diferença significativa na razão LF/HF, no LF e no HF (Figura 17 B,C,D). Na análise da FC média, os dois grupos demonstraram um aumento significativo da FC média no momento estresse (tanto no momento de ativação simpática quanto no de ativação parassimpática) em relação aos momentos basal (ANOVA de duas vias para medidas repetidas detectou diferença significativa no fator Tempo ($F_{(2, 26)} = 10.78$; $p = 0.0005$), não apresentando diferença na Interação ($F_{(2, 26)} = 0.09128$; $p = 0.9131$) e Grupo $F_{(1, 13)} = 0.04856$; $p = 0.8293$). Além disso, foi observado o retorno aos valores de FC média no momento pós-estresse (figura 17 A).

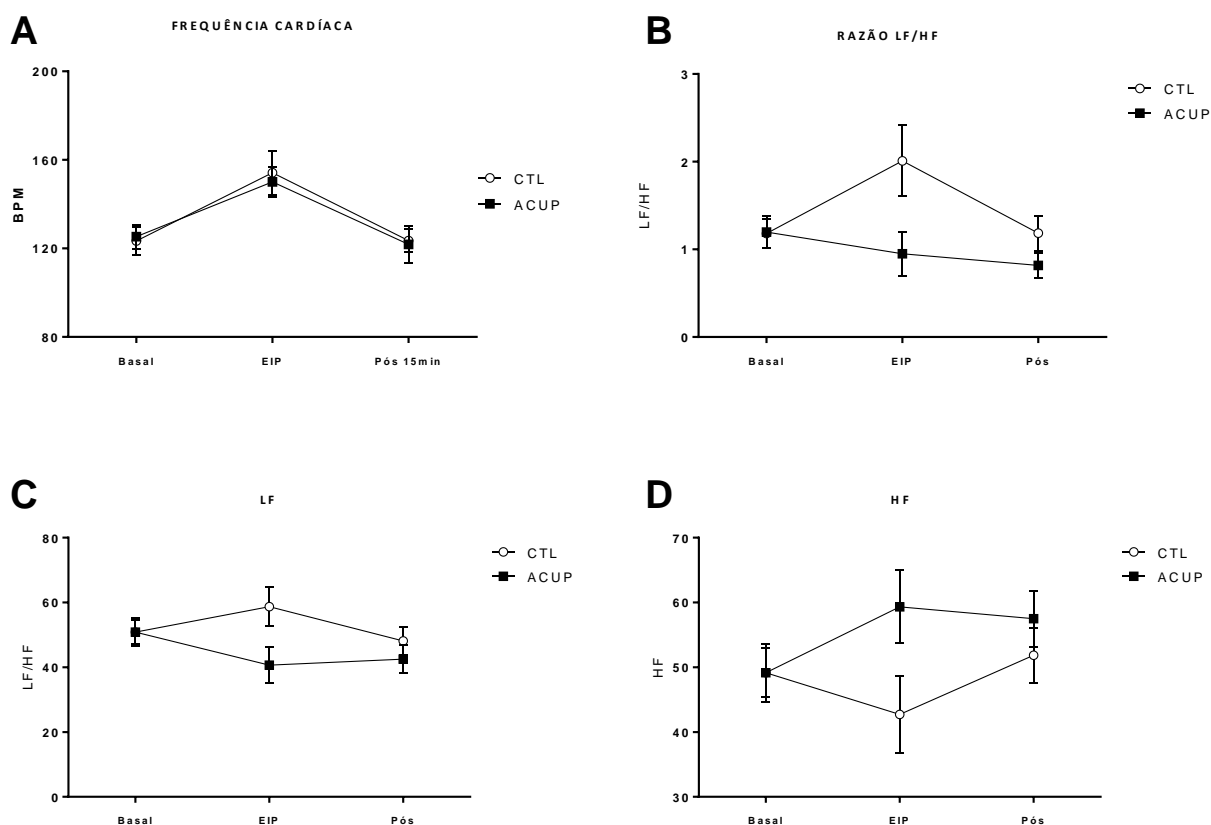


Figura 17: Efeito da acupuntura na VIC de cães durante todo o teste de exercício incremental progressivo.

Os dados são apresentados como média \pm epm nos momentos antes (Basal), no tempo total da (EMP) e 15 min após (Pós) o teste de exercício incremental progressivo até a exaustão na esteira. Os cães foram previamente tratados por 10 min com acupuntura nos pontos E36, PC6 e BP6 (ACUP) e não tratados (CTL). **Em A**, efeito da acupuntura na Frequência Cardíaca Média. **Em B**, efeito da acupuntura na VFC, expressa pela razão LF/HF. Em C, efeito da acupuntura na VFC, expressa pelo componente de baixa frequência. Em D, efeito da acupuntura na VFC, expressa pelo componente de alta frequência.

Quando considerado os três minutos finais de exercício, ou seja, período em que os animais estão em exercício progressivo, na análise da FC média, houve diferença significativa no fator tempo ($F_{2, 26} = 13.12$; $p < 0.0001$), não apresentando diferença na interação ($F_{(2, 26)} = 0.03907$; $p = 0.9617$) e grupo $F_{(1, 13)} = 0.01557$; $p = 0.9028$), sendo assim, os dois grupos demonstraram um aumento significativo da FC média no momento estresse (tanto no momento de ativação simpática quanto no de ativação parassimpática) em relação aos momentos basal e tratamento com acupuntura. Além disso, foi observado o retorno aos valores de FC média no momento pós-estresse (figura 18A).

Na razão LF/HF, houve diferença significativa no fator tempo ($F_{(2, 26)} = 6.128$; $p = 0.0066$), ou seja, os dois grupos demonstraram um aumento significativo da LF/HF no exercício incremental progressivo em relação aos momentos basal e pós-exercício, demonstrando uma maior ativação do componente simpático em relação ao parassimpático, em todos os animais, durante o exercício. Além disso, foi verificado o retorno aos valores de LF/HF apresentados antes do exercício, no momento pós-exercício (15 minutos após o término do exercício). Nos fatores interação $F_{(2, 26)} = 0.3876$; $p = 0.6825$) e grupo $F_{(1, 13)} = 0.5261$; $p = 0,4811$) não houve diferença significativa (figura 18 B).

Nos componentes de baixa frequência (LF), houve diferença significativa no fator tempo ($F_{2, 26} = 3.842$; $p < 0.0345$), portanto os dois grupos demonstraram um aumento significativo do componente LF no momento do exercício (momento de ativação simpática e momento de ativação parassimpática) em relação aos momentos basal e pós-exercício, demonstrando uma maior ativação do componente simpático em todos os animais, durante esse momento. Foi verificado o retorno aos valores de LF apresentados antes do teste, no momento pós-exercício (15 minutos após o término do exercício). Nos fatores interação $F_{(2, 26)} = 0.2788$; $p = 0.7589$ e grupo $F_{(1, 13)} = 0.2885$; $p = 0.6002$ não houve diferença significativa (figura 18 C).

Para análise dos componentes de alta frequência (HF), houve diferença significativa no fator tempo ($F_{2, 26} = 3,842$; $p = 0.0345$), indicando que os dois grupos apresentaram uma diminuição significativa do componente HF no momento estresse (momento de ativação simpática e momento de ativação parassimpática) em relação aos momentos basal e pós-estresse. Foi verificado o retorno aos valores de HF apresentados antes do estresse, no momento pós-estresse (30 minutos após o término do estímulo). Nos fatores interação $F_{(2, 26)} = 0,2788$; $p = 0,2885$ e grupo $F_{(1, 13)} = 0,1729$; $p = 0.6002$) não houve diferença significativa (figura 18 D).

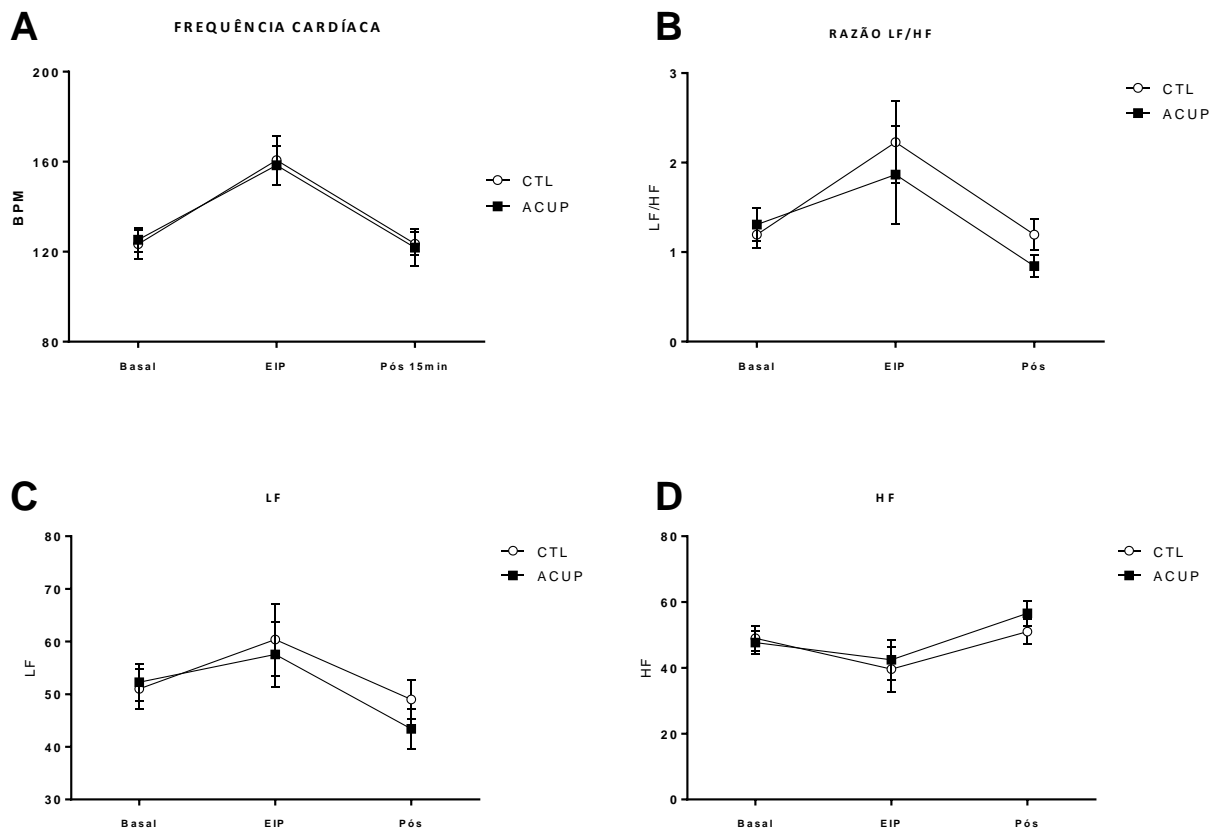


Figura 18: Efeito da acupuntura na VIC de cães durante os três minutos finais do teste de exercício incremental progressivo. Os dados são apresentados como média \pm epm nos momentos antes (Basal), nos 3 minutos finais da EMP (EMP) e 15 min após (Pós) o teste de exercício incremental progressivo até a exaustão na esteira. Os cães foram previamente tratados por 10 min com acupuntura nos pontos E36, PC6 e BP6 (ACUP) e não tratados (CTL). **Em A**, efeito da acupuntura na Frequência Cardíaca Média. **Em B**, efeito da acupuntura na

VFC, expressa pela razão LF/HF. Em C, efeito da acupuntura na VFC, expressa pelo componente de baixa frequência. Em D, efeito da acupuntura na VFC, expressa pelo componente de alta frequência. Não houve diferença significativa entre os grupos CTL e ACUP. Houve diferença significativa apenas no fator tempo.

4.5. Cortisol

Não foi observado nos grupos aumento significativo dos níveis de cortisol no exercício incremental em relação aos momentos basal e pós-exercício ($F_{(2, 26)} = 9.768$; $p = 0.2694$) e interação ($F_{(2, 26)} = 1.010$; $p = 0.3791$), porém observamos diferença significativa no grupo $F_{(1, 13)} = 9.768$; $p = 0.0088$). No entanto, o teste de comparações múltiplas de Bonferroni não foi capaz de identificar diferenças entre o grupo ACUP e CTL ($p > 0,05$) (figura 20), embora tenha havido uma tendência para redução dos níveis cortisol 15 minutos e 60 minutos após o exercício, não houve diferença significativa entre os grupos controle e acupuntura ($p > 0,05$) (figura 20). Portanto, sugere-se que a acupuntura reduziu os níveis de cortisol, havendo uma indicação para o controle do estresse de exercício e uma menor variação do cortisol (figura 19).

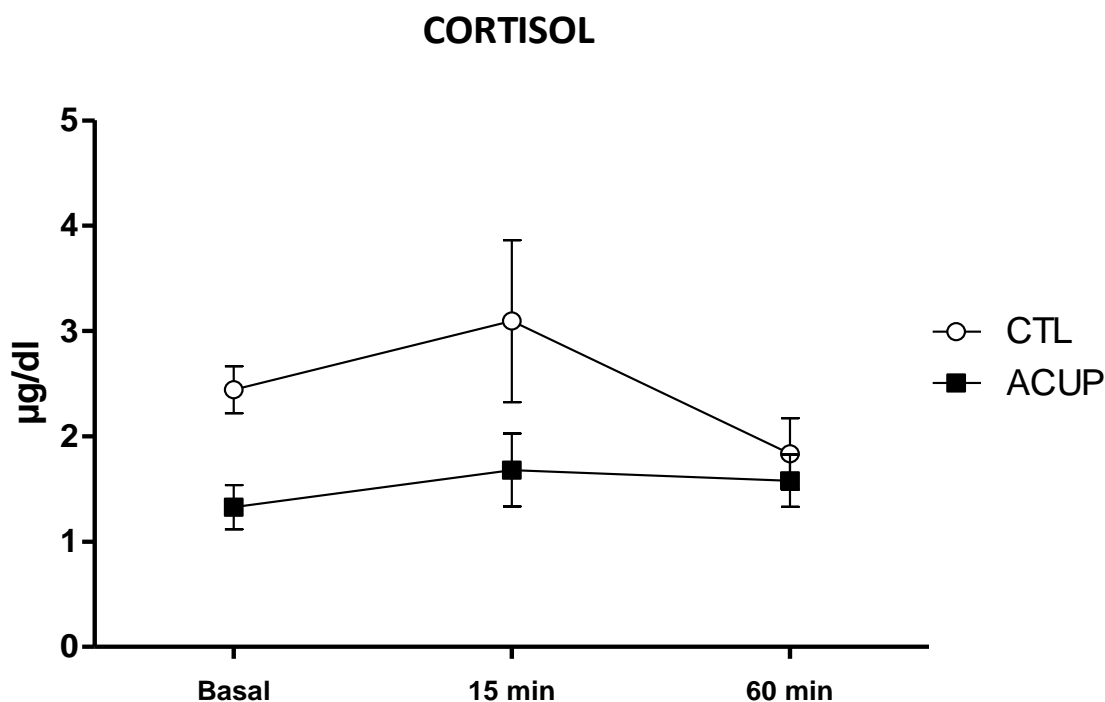


Figura 19: Efeito da acupuntura na análise do cortisol sérico de cães durante o teste de exercício incremental progressivo até a exaustão na esteira. Cortisol sérico em $\mu\text{g/dl}$, antes (basal), 15 min e 60 min após o teste de exercício incremental progressivo até a exaustão na esteira. Os cães foram previamente tratados por 10 min com acupuntura nos pontos E36, PC6 e BP6 (ACUP) e não tratados (CTL). Não houve diferença significativa nos fatores tempo e grupo.

5 DISCUSSÃO

5.1 Adaptação à Esteira

Durante a adaptação à esteira ergométrica, a maioria dos animais apresentou reações de medo, desatenção e fadiga nos dois primeiros dias do protocolo de treinamento, provavelmente por não terem tido nenhum contato prévio com atividades na esteira ergométrica. De acordo com Kittelson et. al., (1996), citado por Ferasin e Marcora (2009), atitudes como sair da esteira, não completar o teste, medo e falta de vontade podem ser reações normais em cães devido à falta de familiaridade com a esteira, sendo necessário somente o treinamento.

Inicialmente alguns animais estavam desatentos, porém ao final dos treinos as distrações diminuía, principalmente quando a velocidade era aumentada. Segundo Alves (2012), os animais se distraem menos com o ambiente ao redor quando estão adaptados à esteira e focam-se mais no treinador, diminuindo os movimentos laterais tornando a corrida mais fluida.

Os animais do Canil Dog's Heaven usados na pesquisa, possuem um amplo espaço de lazer e moradia, acesso aos tratamentos médicos necessários, e mantém preservadas as condições básicas de bem-estar. Porém, como o contato humano para espécie canina é importante, especialmente para cães advindos de resgate das ruas, o momento do exercício, e consequente o contato com os tratadores e pesquisadores, tornam o processo de adaptação a esteira mais fácil por apresentar um caráter lúdico ao animal. Dessa forma, ao final do protocolo de adaptação, todos os cães estavam habituados a esteira, podendo colaborar com o exercício incremental progressivo. Concordando com Alves (2012; 2013) que relata que os cães podem apresentar inicialmente incoordenação, então para manter a permanência do exercício estímulos positivos, por exemplo, biscoitos, petiscos e/ou brinquedos, podem ser oferecidos, como incentivos do tratador, condutor e/ou tutor. Ferasin e Marcora (2009) descrevem que três de 16 cães foram excluídos do experimento por não completarem o teste por terem apresentado relutância a caminhada e exaustão em 5 minutos de treino, diferente do que ocorreu no presente estudo onde todos os animais selecionados puderam ser utilizados, pois apresentaram boa adaptação ao exercício na esteira ergométrica.

5.2. Exercício Incremental Progressivo

5.2.1 Velocidade Máxima Alcançada no Exercício Incremental Progressivo

Os animais não apresentaram grandes dificuldades para correr na esteira com o aumento da velocidade estipulada. Segundo Alves (2012) o recurso do teste de esforço com esteira ergométrica em laboratório, apresenta um conjunto de vantagens importantes face aos testes em meio aberto (campo). No nosso experimento a esteira foi levada ao abrigo dos animais e foi montado um ambiente com menos artefatos que pudessem promover distração dos animais. De acordo com Evans, (2008) e Ferasin & Marcora (2009), para que o teste possa dar certo, existe um conjunto de possibilidades, como: controle do ambiente físico, desenho preciso do protocolo, as velocidades atingidas, a duração de cada etapa e o acesso aos animais

para realizar operações como colheitas de sangue. Nesse sentido, acreditamos que o ambiente foi satisfatório para execução do experimento.

No teste de EIP todos os animais chegam a fase final do exercício com os parâmetros esperados de cansaço extenuante, ou seja, esperasse que todos animais tenham alcançado níveis de esforço semelhante. Inicialmente o exercício incremental progressivo foi realizado submetendo os cães a uma velocidade constante de 5 km/h, seguida de um aumento progressivo até o animal apresentar incoordenação ou cansaço extenuante, indicando exaustão. Os cães apresentaram exaustão, incoordenação e cansaço corroborando com os estudos de Ferasin e Marcora (2009), Alves (2013), Radin et. al. (2015) e Berckman (2015).

Em se tratando das velocidades alcançadas, nesse protocolo a máxima obtida foi de 12 km/h em um animal do grupo acupuntura, já no protocolo de Radin (2015), a maior velocidade alcançada chegou a 17,5 km/h, provavelmente devido a origem dos cães utilizados ser da raça Border Collie acostumados a prática de exercícios diferente dos cães SRD utilizados no presente estudo. Ferasin e Marcora (2019), realizaram o EIP com cães da raça Retriever do Labrador que chegaram a velocidades de 16 km/h, sendo que 3 de 16 cães não completaram a prova, ao contrário do observado na presente pesquisa onde todos os cães completaram o teste.

O protocolo seguido do EIP exigiu um esforço significativo dos animais, especialmente quando imposta a inclinação de 5% e mais o aumento da velocidade gradual, no entanto, os animais tiveram uma boa resposta durante todas as fases. Esse fato pode ser considerado devido ao treinamento repetido ou ao ambiente que os animais vivem. Nesse sentido, o protocolo está de acordo com os autores Ferasin e Marcora (2009) que mencionam que os cães que repetem o teste demonstram uma aprendizagem que lhes permite correr de uma forma mais eficiente, diminuindo assim o esforço dispendido para realizar o mesmo trabalho.

O aumento da inclinação da esteira em 5%, na presente pesquisa imposto durante o EIP, a fim de aumentar a carga do exercício. Acredita-se que os animais tiveram maior resposta à velocidade do que a própria inclinação que era constante. No entanto, a essa inclinação houve diferenças registradas nas pesquisas de Ferasin e Marcora (2009), em que a inclinação usada era de 5% ou 15%. Diferente de Alves (2013) que submeteu seus cães a inclinação de 10%, e Berckman (2015) que acrescentava 5% de inclinação a cada 4 (quatro) minutos.

Ao final do exercício os animais apresentaram cansaço, tremores musculares transitórios nos membros e dois animais apresentaram claudicação, no entanto, não apresentaram hiperventilação ou outros sinais. Esses sinais também foram observados por Tristão (2015) que mostra que no período de recuperação, observou que os animais apresentavam hiperventilação e tremores musculares transitórios, sugerindo fadiga muscular e exaustão física.

O exercício representa um estresse físico que desafia a homeostase, portanto seu efeito indubitável benéfico sobre a saúde do corpo tem sido comprovado em numerosos estudos científicos. No entanto, o exercício representa uma perturbação ou, até mesmo, uma condição de estresse, uma vez que altera muitos sistemas para se adaptar a uma nova condição (CAYADO et al, 2006).

Alguns animais do grupo acupuntura chegaram a velocidades maiores e mais constantes se compararmos com o grupo controle (tabela 2). Para a comparação da velocidade máxima alcançada durante o EIP, não foi observada diferença significativa entre os grupos, tendo como média 8,5 e 9,1 km/h, para os grupos controle e acupuntura, respectivamente. Embora os resultados não demonstrem uma diferença estatística significativa, é possível sugerir que essa pequena diferença na velocidade, possa ter ocorrido devido ao curto período de tratamento por acupuntura, tópico que será abordado posteriormente.

No geral, embora a acupuntura no exercício agudo não tenha diminuído os níveis de cortisol, lactato e a frequência cardíaca, houve uma tendência à diminuição desses níveis.

Na etapa de EIP foi realizado o tratamento por acupuntura agudo, ou seja, 20 minutos antes de começar o exercício e uma única aplicação. No entanto, conforme Angeli e Luna (2008) em pesquisas com equinos, citam não ter conseguido demonstrar a via de efeito da aquapuntura sobre a performance de equinos atletas, ou seja, somente puderam observar a melhora de resultados alcançados por cavalos de corrida, após protocolo de tratamento prolongado (crônico), com duração de 3 (três) semanas sendo 2 (dois) tratamentos semanais nos pontos Baihui, VB27, E30, BP13.

Erlich & Haber (1992) demonstraram aumento significativo na capacidade atlética de humanos tratados com sessões semanais de acupuntura, durante 5 (cinco) semanas. Karvelas e colaboradores (1996) não encontraram diferença nos parâmetros fisiológicos em humanos após único tratamento com acupuntura. Esses trabalhos sugerem a necessidade de mais de um tratamento por acupuntura para que haja alguma resposta de melhora fisiológica na performance de atletas. Portanto, em estudos futuros outros protocolos mais intensos de acupuntura devem ser usados.

Fonseca (2011) cita em sua pesquisa em humanos o efeito da aplicação da acupuntura na resistência muscular localizada de membros superiores em praticantes de exercício resistido, e afirma que o ponto E36 teve como finalidade aumentar o aporte sanguíneo e melhor utilização da energia corpórea, visando gerar efeito positivo na resistência muscular dos participantes.

Como não encontramos trabalhos na literatura que descrevessem o EIP realizado em cães de companhia SRD e tão pouco comparando animais submetidos a um tratamento com acupuntura, a presente pesquisa vem colaborar não só com a apresentação de novos dados ao teste de EIP, como com a produção de informações acerca dos efeitos da acupuntura no estresse de exercício.

5.3. Efeito da Acupuntura sobre a Frequência Cardíaca.

Os resultados demonstram que os valores da FC variaram entre os diferentes momentos do EIP (período pré-exercício (basal), durante o EPI EIP e o instante final), apresentando seus maiores aumentos durante o EPI EIP como era de se esperar (figura 15). Essas variações devem estar relacionadas aos períodos de maior atividade e esforço físico. Corroborando com Alves (2013) que mencionou que o aumento durante os estágios do exercício reflete o nível de esforço ao qual sistema cardiovascular está sendo submetido.

O aumento da FC foi gradual desde o início do protocolo experimental (nível basal) até o final do exercício. O presente estudo está de acordo com Ferasin e Marcora (2009), que relataram ter havido aumento da FC no início do exercício se mantendo baixa e depois estável em poucos minutos do treino, tendo um declínio importante no período de recuperação. Indicaram ainda que as respostas da FC durante o exercício, sugerem controle do sistema nervoso autônomo (SNA) e que a diminuição da FC, pode ser causada também pela redução da ansiedade, por haver uma variabilidade nos parâmetros fisiológicos. Mesmo que no presente estudo não tenha ocorrido grande variação na FC, Alves (2012), aponta ter sido o parâmetro avaliado que registou maiores variações em seu estudo.

A mensuração da FC como índice de estresse tem limitações, uma vez que em indivíduos saudáveis, representa as interações entre a regulação vagal (que reduz a FC) e a simpática (que aumenta FC). Em repouso, a regulação vagal domina, enquanto que na atividade física a atividade vagal sofre uma diminuição, havendo uma influência simpática (HAINSWORTH, 1995), mas pode resultar também de uma redução no controle vagal ou a

partir de mudanças simultâneas em ambos os sistemas de regulação (VON BORELL et al., 2007).

Belmiro (2013) relata que em um grupo de atletas de elite a FC foi avaliada em um treinamento com bicicleta onde 24 atletas foram divididos em dois grupos (grupo 1: acupuntura auricular; grupo 2: controle,). Cada componente dos grupos, pedalou na bicicleta até a exaustão. A FC máx, foi mensurada durante o período de descanso, após aquecimento, no exercício (após cinco, 30 e 60 minutos). Os resultados mostraram que, houve redução da FC no grupo tratado, mais do que no grupo controle, nos momentos 30 e 60 minutos após o exercício. Existe um consenso entre autores no que diz respeito ao uso do ponto E36, já que o ponto usado tonifica o *Qi* e o *Sangue*, ou seja, pode aumentar o aporte sanguíneo e energético para as demandas metabólicas durante o exercício, e o tratamento no ponto PC6 observou uma redução significativa da FC máx (BELMIRO, 2013).

No presente estudo os cães SRD submetidos ao EIP atingiram velocidades máximas entre 10 e 10,5 km/h, com FC de 149 a 180 batimentos por minuto (bpm) no grupo controle e velocidades máximas de 10 e 12 km/h com FC entre 165 e 163, no grupo acupuntura. Todavia, Radin et. al. (2015) relatou que seus cães, já adaptados a atividade física, da raça Border Colie, atingiram velocidade máxima de 17.69 km/h com frequência cardíaca chegando a 246 bpm, porém é sabido que os cães dessa raça têm uma estrutura corpórea e herança genética que favorecem um melhor desempenho.

5.4. Efeito da Acupuntura sob os Níveis de Lactato

O aumento significativo do lactato nos dois grupos imediatamente após o EIP observado na figura 16, não confirma os achados de Ferasin e Marcora (2009), que relataram um aumento não abrupto na concentração de lactato durante o exercício incremental em seus cães labradores, embora tenha havido uma variação significativa nos diferentes estágios. Em contrapartida, Berckman (2015) relatou ser seu principal achado, a identificação do ponto de deflexão em cães, a partir de um crescimento exponencial do lactato induzido pelo EIP. Dessa forma, propõe que deve existir uma diferença entre raças com relação ao aumento ou diminuição dos níveis de lactato nos exercícios.

Piccione e colaboradores (2012) observaram em pesquisa com cães da raça Beagles submetidos ao exercício submáximo na esteira, o aumento das concentrações de lactato séricas. De fato, a concentração de lactato eleva significativamente após o trote, o que mostra uma semelhança com nosso estudo.

Os autores Berckman (2015) e Tritão (2015) discorrem sobre a evidência da utilidade dos limiares de lactato para delinear a velocidade de treinamento para cada animal, sendo indicadores de tolerância ao exercício, uma vez que indica aumento na capacidade funcional, consequentemente, melhora da tolerância ao exercício. Quer dizer que, a elevação abrupta do lactato gera melhor resistência ao exercício, indicando maior capacidade de resistir a fadiga.

Coelho (2007) enfatiza que o treinamento 5 (cinco) vezes na semana, proporciona diminuição da concentração de lactato sanguíneo em teste com a mesma velocidade, antes e após o treinamento, o que pode sugerir melhora do condicionamento físico, diferente do nosso estudo que usou como protocolo de treinamento 5 (cinco) dias seguido e dois de descanso antes do EPI.

Belmiro (2013) demonstrou em seus estudos que, a utilização dos acupontos E36 e IG4 podem reduzir tanto a FC como o ácido láctico sanguíneo, quando comparados os grupos testados, ou seja, grupo exercício e acupuntura e controle somente exercício em 30 e 60 minutos de exercício.

5.5. Efeito da Acupuntura na Variabilidade do Intervalo Cardíaco

No presente estudo um dos principais objetivos foi analisar as respostas autonômicas através da análise da variabilidade do intervalo cardíaco com o modelo de estresse de exercício agudo em cães, sem histórico de contato com esteira ergométrica. Como visto anteriormente, a VIC é definida como oscilações nos intervalos RR entre ciclos cardíacos instantâneos. Além de ser obtida por métodos lineares e não-lineares, tem sido utilizada para identificar a intensidade das transições metabólicas durante o esforço, e determinada pelo equilíbrio entre atividade vagal e simpática do SNA, permitindo assim, quantificar sua modulação e a frequência de disparo do nodo sinoatrial. Logo a VIC pode ser considerada um indicador da capacidade aeróbia, sendo utilizada como parâmetro fisiológico para prescrição de exercício (SILVA *et al*, 2010).

Os resultados apresentados mostraram que no período completo do exercício, o teste não detectou diferença significativa na razão LF/HF (figura 17 B). No entanto, na análise dos componentes de alta frequência (HF) (figura 17 D), houve diferença significativa.

Considerando os três minutos finais de exercício, ou seja, o período em que os animais estão em exercício progressivo e não mais com a velocidade constante de 5km/h (inicial), o teste ANOVA detectou na razão LF/HF diferença significativa. Em ambos os grupos, houve um aumento significativo de LF/HF durante exercício incremental progressivo em comparação aos momentos basal e pós-exercício, demonstrando uma maior ativação do componente simpático em relação ao parassimpático, em todos os animais. Além disso, foi verificado o retorno aos valores basais de LF/HF no momento pós-exercício (15 minutos após o término do exercício) (figura 18 B).

Os dois grupos demonstraram um aumento significativo do componente LF e diminuição no componente HF durante o exercício em relação aos momentos basal e pós-exercício nos três minutos finais (figura 18 C e D). Considerando que o LF representa a atividade do sistema nervoso simpático e que HF representa exclusivamente a atividade vagal para o coração (KAREMAKER & LIE, 2000; HOSHI, 2009; VANDERLEI, 2009), podemos concluir que houve um aumento da regulação simpática em relação a parassimpática nesses momentos. A análise espectral ainda mostrou que houve diferenças significativas nos valores de LF/HF entre os momentos basal e pós-exercício, sugerindo que houve diferença na regulação autonômica. Por conseguinte, estudos afirmam que a FC aumentada resulta em menores alterações na VIC e essa tendência de comportamento ocorre, possivelmente, devido à redução da VIC estar associada à retirada da influência vagal durante o esforço físico, (Silva *et al*, 2010).

Em cães no repouso, os efeitos vagais sobre o coração distinguem-se sobre os efeitos simpáticos (Little *et al.*, 1999), e quando ocorre aumento na atividade física, há um incremento da ativação simpática. Contudo, os dois ramos do SNA possuem a habilidade de atuar de forma simultânea ou independente um do outro, na regulação da atividade cardíaca. Sendo assim, o aumento da atividade vagal não resulta instantaneamente na redução da ativação simpática e vice-versa. Desse modo, não é possível determinar as características

regulatórias do SNA, simplesmente, através da mensuração da FC (VON BORELL et al., 2007).

Silva e colaboradores (2010) demonstraram a participação do nervo vago na resposta da FC na fase inicial do exercício identificando predominância da atividade vagal, que é gradualmente inibida no exercício submáximo tanto ativo como passivo até o nível máximo de esforço, percebendo-se que a atividade parassimpática aparentemente foi inibida produzindo menor ou ausência de VIC.

De acordo com Silva (2016) à fase pós exercício, ainda não tem estudos suficientemente profundos e os resultados ainda são divergentes com relação ao tempo para a total restauração aos níveis de repouso do SNA. O tempo necessário para o retorno da FC aos níveis de repouso depende das funções autonômicas, do grau de condicionamento do indivíduo e da intensidade que o exercício foi interrompido.

Pesquisas em humanos vêm demonstrando os efeitos benéficos do tratamento com acupuntura no estresse, seja ele de fatores físicos, psicológicos ou de exercício. Huang e colaboradores (2005) utilizaram um único ponto de acupuntura (PC6) e observaram a modulação vagal representada pela ativação do HF e decréscimo dos valores da razão LF/HF. Silva e colaboradores (2016) relataram que os efeitos benéficos da estimulação do acuponto PC6 foram gerar reduções na pressão arterial média, volume diastólico final, frequência cardíaca, débito cardíaco e pressão sistólica final.

A resposta da acupuntura sobre a VIC nos animais submetidos ao estresse de exercício pode estar relacionada ao mecanismo de ação da acupuntura sobre o SNA e, conseqüentemente, sobre o sistema cardiovascular, ou estruturas centrais relacionadas a ativação do sistema simpato-adrenal. A ação da acupuntura sobre o sistema simpático foi sugerida em estudos com indivíduos saudáveis, onde no ponto E36 promoveu uma redução significativa das elevações na pressão arterial induzida pelo estresse, sendo esses efeitos principalmente relacionados a inibição simpática (MIDDLEKAUFF; YU; HUI, 2001).

5.6. Efeito da Acupuntura na Análise do Cortisol

Não houve aumento do cortisol no exercício incremental em relação aos momentos basal e pós-exercício, embora tenha sido observada uma pequena elevação nos níveis desse hormônio. Diferente do relatado por Ando e colaboradores (2016), que verificou a elevação dos níveis de cortisol imediatamente após o exercício e apontou, ainda, existir diferença nas concentrações séricas entre cães que treinados e não treinados. Ferraz (2010) sugere que nos exercícios de curta duração, realizados em intensidades altas, a resposta do córtex da adrenal será menor quando comparada àquelas observadas com intensidades moderadas, mas ocorridas em exercícios de duração maior. Esse autor concluiu que a elevação do cortisol está mais relacionada à duração do que à velocidade (intensidade) do esforço.

Cobb (2016) descreveu que durante o exercício houve um aumento da concentração de cortisol plasmático em cães e os efeitos do cortisol salivar ainda são desconhecidos. Ainda segundo o autor, durante o exercício, o cortisol pode representar potencialmente uma variável com possíveis mudanças. E relata ainda que em fêmeas castradas a concentração de cortisol pode ser mais alta do que em machos castrados. Porém, a informação mais interessante para o presente estudo foi de que a concentração de cortisol costuma ser mais baixa em cães que vivem em abrigo quando comparada a cães de canil ou de trabalho. Talvez devido a desregulação do eixo HHA, já que em humanos submetidos a um longo período de estresse observa-se uma hipoatividade do eixo HHA.

O pico de cortisol tende a estar presente no plasma 15-30 minutos após um estímulo estressor real em cães. O cortisol liga-se a uma globulina específica chamada transcortina no

plasma (BERNE E LEVY, 1998). O cortisol não ligado livre é biologicamente ativo. Por isso a coleta de sangue de 15 minutos após o exercício representa o pico após o exercício.

No presente estudo, utilizamos animais destreinados, que tiveram contato com o esquema de treinamento em esteira somente durante o período experimental. Quando se compara a atletas humanos destreinados como aqueles submetidos à treinamento aeróbio, observa-se que a concentração basal de cortisol pode estar igual, nos atletas treinados, indicando perda de sensibilidade da glândula adrenal em decorrência do treinamento, pois em indivíduos treinados, geralmente verifica-se que as concentrações do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) estão elevadas. Adicionalmente, a redução da sensibilidade da glândula adrenal pode indicar adaptação bem sucedida ao programa de treinamento (GRAAFROELFSEMA et al., 2007).

Os dois grupos não apresentaram um aumento significativo dos níveis de cortisol no exercício incremental em relação aos momentos basal e pós-exercício (figura 19). Outros pesquisadores mostram que a acupuntura pode reduzir os níveis de estresse, promovendo uma redução dos níveis de cortisol (LIAO et al,1997). No entanto, no presente estudo isso deve ser analisado com cautela, pois, mesmo que o exercício agudo produza um aumento dos níveis de cortisol, o mesmo não foi observado. Dessa forma, a acupuntura não parece ter sido responsável por prevenir o estresse induzido pelo exercício (VILLAS BOAS, 2013).

Estudos anteriores não conseguiram mostrar essa redução (GUIMARÃES et al., 1997; ANGELI & LUNA, 2008; GODOI, 2011). Segundo Luna (1998) sugerem, a acupuntura pode apresentar aumento ou diminuição das concentrações plasmáticas de cortisol em exercícios com cavalos, por exemplo. Segundo Zheng (2008), isso acontece porque a acupuntura pode equilibrar as funções da tireóide e da adrenal, de modo a otimizar o nível dos seus hormônios. A acupuntura estimula a glândula adrenal a produzir mais cortisol, aumentando as suas funções, em vez de esgotar a sua como a cafeína faz. Quando os nossos corpos produzem cortisol demais para lidar com o estresse, a acupuntura reduz a produção de cortisol e reequilibra o corpo.

Akimoto e colaboradores (2003), usaram os pontos P4, E36, E6, F6 a fim de promover o bem estar físico durante o período de competição e avaliou os níveis da imunoglobulina. A (SigA) e de cortisol salivar. E diferente dos resultados aqui apresentados eles observaram diminuição dos níveis de SigA salivar, induzida pelo exercício, e o aumento dos níveis de cortisol salivares.

Uma possível causa para os resultados apresentados seria de que a acupuntura tenha causado um relaxamento que pode ter se sobreposto ao estímulo de estresse, no entanto não podemos afirmar, já que não verificamos as alterações comportamentais dos animais tratados e não tratados. Novos estudos devem verificar se a acupuntura pode alterar outros marcadores do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal como o ACTH e outros marcadores de estresse para confirmar estes resultados corroborando com Villas Boas (2013).

6 CONCLUSÃO

- Os animais demonstraram-se adaptados ao protocolo de treinamento, embora tenham apresentado no primeiro momento reações de medo, agitação e desatenção que são atitudes normais frente a cães sem contato previo com o equipamento.
- Apenas uma sessão de tratamento com acupuntura imediatamente antes do exercício não foi capaz de alterar a velocidade máxima alcançada.
- O exercício incremental progressivo foi capaz de aumentar significativamente os níveis de lactato, a FC média, a razão LF/HF e o LH e diminuir o HF nos três minutos finais do exercício demonstrando uma maior ativação do componente simpático em relação ao parassimpático.
- O exercício incremental progressivo não foi capaz de alterar significativamente os níveis de cortisol.
- Uma sessão de acupuntura nos pontos BP6, E36 e PC6 imediatamente antes do estresse de exercício não foi capaz de reduzir significativamente as respostas autonômicas e endócrinas induzidas pelo exercício incremental progressivo em cães.
- Dessa forma, estudos com protocolos mais prolongados devem ser testados.

7 BIBLIOGRAFIA

- AKIMOTO T, NAKAHORI C, AIZAWA K, KIMURA F, FUKUBAIASHI T, KONO I. Acupuncture and responses of immunologic and endocrine markers during competition. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.35, n.8, p. 1296-302, 2003.
- ALVES, J.; SANTOS, A.; BRITES, P., G. FERREIRA-DIAS. Evaluation of physical fitness in police dogs using an incremental exercise test. **Comparative Exercise Physiology**, 8(3/4): 219-226, 2013.
- ALVES, J.C.A Avaliação da Condição Física em Cães de Polícia. **Dissertação**. Mestrado da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa 2012.
- ANDO, I.; KARASAWA, K.; MATSUDA, H.; TANAKA1, A. Changes in serum NGF levels after the exercise load in dogs. **The Journal of Veterinary Medical Science**, 2016.
- ANGELI, A.L.; JOAQUIM, J.G.F.; LUNA, S.P.L. Acupuntura Aplicada à Medicina Esportiva Equina. **Rev. Acad.**, Curitiba, v. 5, n. 3, p. 325-333, 2008.
- ASSUNÇÃO, W.D; DALTRO, M.; SIMÃO, R.; POLITO, M.; MONTEIRO, W. Respostas cardiovasculares agudas no treinamento de força conduzido em exercícios para grandes e pequenos grupamentos musculares. **Revista Brasileira de Medicina no Esporte**, v.13, n 2, 2007.
- BERKMAN, C. Cães American Pit Bull Terrier Submetidos a Exercício: Respostas Fisiológicas e Estudo Comparativo de Métodos para Quantificação de Lactato. **Tese**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp. Campus de Jaboticabal, 2015.
- BELMIRO, H.; VICENTINI, D.O.; CAMILOTTI, C.M. Efeitos da Acupuntura no Desempenho Motor de Atletas. **Revista da Faculdade de Educação Física da UNICAMP**. Campinas, v. 11, n. 3, p. 176-191, 2013.
- BERNE, R.; LEVY, M.N. **Tratado de Fisiologia Humana**. 4 ed. RJ: Guanabara Koogan, 1998.
- BRENNER, I.K; NATALE, V.M; VASILIOU, P; MOLDOVEANU, A.I; SHEK, P.N; SHEPHARD, R.J. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, 80(5):452-60, 1999.
- CAPUTO, F. et al. Exercício aeróbio: aspectos bioenergéticos, ajustes fisiológicos, fadiga e índices de desempenho. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 11, n.1, p. 94-102, 2009.
- CAYADO, P.; MUNOZ-ESCASSI, B.; DOMÍNGUEZ, c.; MANLEY, W.; OLABARRI, B.; SANCHEZ DE LA MUELAS, M.; CASTEJON, f.; MARANON, G.; VARA, E.. Hormone response to training and competition in athletic horses. **Equine vet. J. Suppl**, v. 36, p. 274-278. 2006.
- CHROUSOS, G.P.; LORIAUX, D.L.; GOLD, P.W. Mechanisms of physical and emotional stress. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.245, p.3-11, 1988.
- COBB, M.I.; ISKANDARANI, K.; CHINCHILLI, V.M.; DESCHEL, N.A. A Systematic review and meta-analysis of a salivary cortisol measurement in domestic canines. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 57, p. 31-42, 2016.
- COELHO, A.S. Parâmetros fisiológicos de cães submetidos a treinamento em esteira. **Dissertação**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa: MG, 2007.
- CURI, R.; PROCOPIO, J. Fisiologia Básica. Guanabara Koogan: São Paulo, 2009.
- DE KLOET, E. R.; OITZL, M. S.; JOËLS, M. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? **Trends in Neurosciences**, v.22, p.422-26, 1999.

- EHRLIC, D.; HABER, P. Influence of acupuncture on physical performance capacity and haemodynamic parameters. **Am J Acupuncture**, 21(1), 85, 1993.
- ESHKEVARI, L.; EGAN, R.; PHILLIPS, D. “Acupuncture at ST36 prevents chronic stress-induced increases in neuropeptide Y in rat”. **Experimental Biology and Medicine**, v.237, n.1, p.18–23, 2012.
- ESHKEVARI, L., PERMAUL, E.; MULRONEY, S. E. “Acupuncture blocks cold stress-induced increases in the hypothalamus pituitary-adrenal axis in the rat.” **Journal of Endocrinology**, v. 217, n.1, p.95–104, 2013.
- EVANS, W.J.; CALMON, J.G. The metabolic effect of exercise induced muscle damage. **Exercise and Sport Science Review**, 19:99-125, 1991.
- EVANS, DAVID. Exercise testing in the field. In: Hinchcliff et al. Equine Exercise Physiology – the science of exercise in the athletic horse. **Filadélfia: Saunders**, p.12-27, 2008.
- FERASIN, L., MARCORA, S. Reliability of an incremental exercise test to evaluate acute blood lactate, heart rate and body temperature responses in Labrador retrievers. **Journal Comparative Physiology**, v. 179, p, 839–845, 2009.
- FERRAZ, G.C.; TEIXEIRA-NETO, A.R.; PEREIRA, M.C; LINARDI, R.L; LACERDA-NETO, J.C; QUEIROZ-NETO A. Influência do treinamento aeróbico sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.1, p.23-29, 2010.
- FERREIRA, A.M. Influência da Prática de Exercícios Físicos no Estresse. Artigo apresentado para o curso de Especialização em Musculação e Personal Training. **Pontifícia Universidade Católica de Goiás**. Goiânia, 2012.
- FIGUEIREDO, A.L.Z.; MARTINS, D.S.P. Influência do Tipo de Treinamento Físico na Variabilidade da Frequência Cardíaca no Repouso e na Dinâmica do Exercício Submáximo. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Faculdade de Fisioterapia, Universidade Federal de Juiz de Fora. Universidade Federal de Juiz de Fora, JF, 2011.
- FONSECA, L.F.; LESSA, J.F.M. Efeito da Aplicação da Acupuntura na Resistência Muscular Localizada de Membros Superiores em Praticantes de exercício resistido. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Faculdade de fisioterapia. Faculdade de Ciências de Educação e Saúde Curso de Fisioterapia. Brasília, 2011.
- FRANCI, C.R. Estresse: Processos adaptativos e não adaptativos. In: ANTUNES-Rodrigues, F., et al. **Neuroendocrinologia Básica Aplicada**. 1 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan.15, p.200-223, 2005.
- GODOI, T.L.O.S. Influência da farmaco-acupuntura nas respostas de estresse de equinos durante o transporte rodoviário. **Dissertação**. Mestrado em Medicina Veterinária. Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.
- GRAAF-ROELFSEMA, E.; KEIZER, H.A.; BREDA E.V. et al. Hormonal responses to acute exercise, training and overtraining: A review with emphasis on the horse. **Vet. Q.**, v.29, p.82-101, 2007.
- GUIMARÃES, C.M., PINGE, M.C.M., YAMAMURA, Y., MELLO L.E.A.M. Effects of acupuncture on behavioral, cardiovascular and hormonal responses in restraint-stressed Wistar rats. **Brazilian Journal Medicine Biology Res**, v. 30, n. 12, p. 1445-50. 1997.
- HAINSWORTH R. The control and physiological importance of heart rate. In: MALIK, M.; CAMM, A. J. Heart Rate Variability Armonk. N.Y.: **Futura**, p. 3–19. 1995.
- HANNUKAINEN, J.C.; NUUTILA, P.; KAPRIO, J.; HEINONEN, O.J.; KUJALA, U.M.; JANATUINEN, T.; RÖNNEMAA, T.; KAPANEN, J.; HAAPARANTA-SOLIN, M.; VILJANEN, T.; KNUUTI, J.; KALLIOKOSKI, K.K. Relationship between local perfusion and FFA uptake in human skeletal muscle: no

effect of increased physical activity and aerobic fitness. **Journal Applied Physiology**, v. 101, p. 1303–1311, 2006

HARADA, T.; ABE, J.; SHIOTANI, M.; HAMADA, Y.; HORII, I. Effect of autonomic nervous function on QT interval in dogs. **The Journal of Toxicological Sciences**, v. 30, n.3, p. 229-237, 2005.

HEINONEN, I.; KEMPPAINEN, J.; KASKINORO, K.; PELTONEN, J.E.; SIPILA, H.T.; NUUTILA, P.; KNUUTI, J.; BOUSHEL, R.; KALLIOKOSKI, K.K. Effects of adenosine, exercise, and moderate acute hypoxia on energy substrate utilization of human skeletal muscle. **Am Journal Physiology Regulation Integral Comp Physiology**, v. 302, p. R385–R390, 2012.

HEINONEN, I.; HELAJÄRVI, H.; PAHKALA, K.; HEINONEN, O.J.; HIRVENSALO, M.; PÄLVE, K.; TAMMELIN, T.; YANG, X.; JUONALA, M.; MIKKILÄ, V.; KÄHONEN, M.; LEHTIMÄKI, T.; VIIKARI, J.; RAITAKARI, O.T. Sedentary behaviours and obesity in adults: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. **BMJ**, v. 3, 2013.

HELTON, W. Canine ergonomics: the science of working dogs. **Boca Raton, EUA: CRC Press**, 2009.

HOFFMAN-GOETZ, L.; PEDERSEN, B.K. Exercise and the immune system: a model of the stress response? **Imunologic Today**, v.15, n. 8, p. 382-387, 1994.

HOSHI, R. A. Variabilidade da frequência cardíaca como ferramenta de análise da função autonômica: revisão de literatura e comparação do comportamento autonômico e metabólico em recuperação pós-exercício. **Dissertação**. Unesp. 65-f, 2009.

HUANG, S.T.; CHEN, G.Y.; LO, H.M.; LIN, J.G; LEE, Y.S; KUO, C.D.. Increase in the vagal modulation by acupuncture at Neiguan point in the healthy subjects. **Am. J. Chin. Med**, v.33, p. 157-164, 2005.

IMBAR, O.; OREM, A.; SCHEINOVITZ, M.; ROTSTEIN, A.; DLIN, R.; CASABURI, R. Normal Cardiopulmonary responses during incremental exercise in 20 – to 70- yr-old men. **Official Journal of the American College of Sports Medicine**, 1993.

JAGGAR, D. History and basic introduction to veterinary acupuncture. **Problems in Veterinary Medicine**, v.4, n.1, p.1-11, 1992.

KAREMAKER, J.M.; LIE, K.I. Heart rate variability: a telltale of health or disease. **Eur. Heart J**, v.21, n.6, p. 435-437, 2000.

KARVELAS, B.R.; HOFFMAN, M.D.; ZENI, A.I. Acute effects of acupuncture of physiological and psychological responses to cycle ergometry. **Arch Phys Med Rehabil**, 77(12), p. 1256-1259, 1996. In: SFARA, M. The Use of Acupuncture in Sports Medicine. **Master of Science in Health and Human Movement**, Utah State University, 2013.

KAWASE, M.; KOMATSU, T.; NISHIWAKI, K.; KOBAYASHI, M.; KIMURA, T.; SHIMADA, Y. Heart Rate Variability and Arterial Blood Pressure Variability Show Different Characteristic Changes During Hemorrhage in Isoflurane Anesthetized, Mechanically Ventilated Dogs. **International Anesthesia Research Society**, v. 94, p. 16-21, 2002.

KEELING, L.; P. JENSEN. Behavioural disturbances, stress and welfare. In: Jensen, P. The Ethology of Domestic Animals: An Introductory Text. **CABT Publishing**, pp. 79–98, 2002.

KITTLESON, M.D. Pathophysiology of heart failure. In: KITTLESON, M.D.; KIENLE, R.D. Small animal cardiovascular medicine. Saint Louis: Mosby, cap.9, p.136-148, 1996.

- KITTLESON, M.; JOHNSON, L. E PION, P. Submaximal exercise testing using lactate threshold and venous oxygen tension as endpoints in normal dogs and in dogs with heart failure. **Journal of Veterinary Internal Medicine** v. 10, p. 21-27, 1996.
- LAAKSONEN, M.S.; KEMPPAINEN, J.; KYROLAINEN, H.; KNUUTI, J.; NUUTILA, P.; KALLIOKOSKI, K.K. Regional differences in blood flow, glucose uptake and fatty acid uptake within quadriceps femoris muscle during dynamic knee-extension exercise. **European Journal Appl Physiology**, v. 113, p. 1775–1782, 2013.
- LEANDRO, C.; NASCIMENTO, E.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; DUARTE, J.A.; CASTRO, C.M.M.B. Exercício físico e sistema imunológico: mecanismos e integrações. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v. 2, n 5, 80–90, 2002.
- LOMBARDI, F. Spectral Analysis of Heart Rate Variability. **Cardiac Electrophysiology Review**, v. 3, p. 335-337, 1997.
- LI, Z.; WANG, C.; MAK, A.F.T. Effects of acupuncture on heart rate variability in normal subjects under fatigue and nonfatigue state. **European Journal Applied Physiology**, v. 94, p. 633-640, 2013.
- LIAO, Y.Y. Effect of Acupuncture on Adrenocortical Hormone Production: I. Variation in the Ability for Adrenocortical Hormone Production in Relation to the Duration of Acupuncture Stimulation. **The American Journal of Chinese Medicine**, v.7, p. 362-371, 1979.
- LITTLE, C.J., JULU, P.O., HANSEN, S., REID, S.W., Real-time measurements of cardiac vagal tone in conscious dogs. **Animals Journal Physiology**, 276, H758–H765. 1999.
- LUNA, S. P. L.; JOAQUIM, J. G. F. Effect of electroacupuncture on intestinal motility in dogs. **Annual International Congress on Veterinary Acupuncture**, Taiwan. Proceedings, Taiwan, I.V.A.S. p. 134-136, 1998.
- LUNA, M. P. et al. Efeitos da acupuntura na performance de atletas velocistas de alto rendimento do Rio de Janeiro. **Fitness & Performance**, v. 4, n. 4, p. 199-214, 2005.
- McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 7.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2011.
- MACCARIELLO, C.E.M. Efeitos da acupuntura na variabilidade da frequência cardíaca e no comportamento em cães submetidos ao estresse sonoro agudo. **Dissertação**. Mestrado em Medicina Veterinária. Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.
- MACIOCIA, G. **Fundamentos da medicina chinesa**. São Paulo: ROCA, 658p, 1996.
- MALLIANI, A.; MONTANO, N.; PAGANI, M. Physiological Background of Heart Rate Variability. **Cardiac Electrophysiology Review**, v. 3, p. 343-346, 1997.
- MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F.; SILVEIRA, R. O. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de Psiquiatria**, n. 25, p. 65-74, 2003.
- MARQUES, A. H.; SILVERMAN, M. N.; STERNBERG, E. M. Evaluation of Stress Systems by Applying Noninvasive Methodologies: Measurements of Neuroimmune Biomarkers in the Sweat, Heart Rate Variability and Salivary Cortisol. **Neuroimmunomodulatio**, v. 17, p. 205-208, 2010.
- MCKENZIE, E.; CUNILLERAS, E.; HINCHCLIFF, K.; HOLBROOK, T.; ROYER, C.; PAYTON, M.; WILLIAMSON, K E NELSON, S. Serum chemistry alterations in alaskan sled dogs during five successive days of prolonged endurance exercise. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 230, p. 1486-1492, 2007.

- MIDDLEKAUFF, H. R.; YU, J. L.; HUI, K. Acupuncture effects on reflex responses to mental stress in humans. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.280, p.462-468, 2001.
- MORMÈDE, P.; ANDANSON, S.; AUPÉRIN, B.; BEERDA, B.; GUÉMENÉ, D.; MALMKVIST, J.; MANTECA, X.; MANTEUFFEL, G.; PRUNET, B.; REENEN, C.G.; RICHARD, S.; VEISSIER, I. Exploration of the hypothalamic– pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. **Journal of affective disorders**, v. 91, p. 113-124, 2006.
- MOORE, R. Neuroendocrine Systems: I. The Brain-Pituitary-Adrenal Axis Mediates Response to Stress. **Fundamental Neuroscience**, p. 1137-1147, 1999.
- PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; GUZZETTI, S.; RIMOLDI, O.; FURLAN, R.; PIZZINELLI, P.; SANDRONE, G.; MALFATTO, G.; DELL'ORTO, S.; PICCALUGA, E.; TURIEL, M.; BASELLI, G.; CERUTTI, S.; MALLIANI, A. Power Spectral Analysis of Heart Rate and Arterial Pressure Variabilities as a Marker of SympathoVagal Interaction in Man and Conscious Dog. **Circulation Research**, v. 59, p. 178-193, 1986.
- PELL, S.M.; MCGREEVY, P.D. A study of cortisol and beta-endorphin levels in stereotypic and normal thoroughbreds. **Applied Animal Behaviour Science**, v.64, n.2, p.81-90, 1999.
- PELLEGRINOTTI, I. L. (Org.). Performance Humana Saúde e Esporte. Ribeirão Preto, SP: **Tec medd**, p. 17-23, 2004.
- PICCIRILLO, G.; OGAWA, M.; SONG, J.; CHONG, V.; JOUNG, B.; HAN, S.; MAGRI, D.; CHEN, L.; LIN, S.; CHEN, P. Power spectral analysis of heart rate variability and autonomic nervous system activity measured directly in healthy dogs and dogs with tachycardia-induced heart failure. **Heart Rhythm Society**, v. 6, n. 4, p. 546-552, 2009.
- PICCIONE, G.; CASELLA, S.; PANZERA, M.; CLAUDIA, G.; FAZIO, F. Effect of Moderate Treadmill Exercise on Some Physiological Parameters in Untrained Beagle Dogs. **Exp. Anim**, v. 61 n. 5, p. 511–515, 2012.
- PILLIS, W.; ZARZECZNY, R.; LANGFORT, J.; KACIUBA-USCILKA, H.; NAZAR, K.; WORTYNA, J.; Anaerobic threshold in rats. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 106^a p. 285-289, 1993.
- PIRES, T.F. Acupuntura na performance atlética: estudo exploratório. Oitavo Simpósio de Ensino de Graduação. **Mostra Acadêmica UNIMEP**, 2010.
- PROUSCURSHIM, P.; RUSSO, A.K.; PIÇARRO, I.C.; FREIRE, E.; TARASANTCHI, J. Aerobic training effects on maximum oxygen consumption, lactate threshold and lactate disappearance during exercise recovery of dogs. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 94, p. 743-747, 1989.
- PYNE D.B E GLEESON M. Effects of intensive exercise training on immunity in athletes. **Internal Jornal Sports Medicine**, v. 19, p. 138-194, 1998.
- PYNE, D.B. Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review. **Jornal of Scienci of Medicine of Sport**, v. 26, p. 49-58, 2001.
- RAEKALLIO, M.; KUUSELA, E.; LEHTINEN, M.; TYKKYLAINEN, M.; HUTTUNEN, P. E WESTERHOLM, F. Effects of exercise-induced stress and dexamethasone on plasma hormone and glucose concentrations and sedation in dogs treated with dexmedetomidine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, p. 260-265, 2005.
- RADIN L, BELIĆ M, BRKLJAČA BOTTEGARO N, HRASTIĆ H, TORTI M, VUČETIĆ V, STANIN D, VRBANAC Z. Heart Rate Deflection Point During Incremental Test in Competitive Agility Border Collies. **Vet Res Commun**, v. 39, n. 2, p. 137-42, 2015.

- ROGERSON, John. Canine fears and phobias; a regime for treatment without recourse to drugs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 52, n. 3, p. 291-297, 1997.
- ROMÃO, F.G.; MIPP, A. Hipoadrenocorticismo em cães: Revisão. **Vet. e Zootec**, 2012.
- ROQUE, J.M.A. Variabilidade da Frequência Cardíaca. **Faculdade de Ciências do Desporto e Educação Física**. Universidade de Coimbra. Coimbra, 2009.
- ROVIRA, S.; MUÑOZ, A. E BENITO, M. Effect of exercise on physiological, blood and endocrine parameters in search and rescue-trained dogs. **Veterinarni Medicina**, v. 53, n. 6, p. 333-346, 2008.
- ROVIRA, S.; MUÑOZ, A.; RIBER, C. E BENITO, M. Heart rate, electrocardiographic parameters and arrhythmias during agility exercises in trained dogs. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 161, n. 7, p. 37-313, 2010.
- SANTOS, V. G. et al. Acupuntura na melhora da performance em atletas juvenis de handebol. Saúde e Pesquisa, Maringá, v. 1, n. 3, p. 331-335, 2008.
- SCOGNAMILLO-SZABÓ, M.V.R.; BECHARA, G.H. Acupuntura: histórico, bases teóricas e sua aplicação em Medicina Veterinária. **Ciência Rural**. v 40 n 2, Santa Maria, 2010
- SCHOEN, A.M. Acupuntura Veterinária – Da Arte Antiga à Medicina Moderna. 2ª Ed. São Paulo: Roca, 2006.
- SEYLE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*. v. 138, p.32. 1936.
- SILVA, R.B.; SILVA, G.R.; ABAD, C.C.C. Comportamento da variabilidade da frequência cardíaca, pressão arterial e glicemia durante exercício progressivo máximo em dois ergômetros diferentes. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, São Paulo, v.4, n.19, p.13-23, 2010.
- SILVA, E.G.M.; Conti, L.M.C.; Champion, T.; Souza, V.R.C.; Mathias, C.H.T.; Lázaro, M.A.; Fortunato, V.R.; Ferreira, F.S. Efeitos da acupuntura nos acupontos Shenmen (C-7) e Neiguan (PC-6) sobre a frequência cardíaca, a variabilidade da frequência cardíaca e o ritmo cardíaco em cães saudáveis. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.68, n.1, p.252-256, 2016.
- SOLIGO, M.; LUCIA, S. L.; NORI, V.; PROTTO, V.; FLORENZANO, F.; MANNI, L. “Acupuncture and neurotrophin modulation,” in *Neurobiology of Acupuncture: 111 International Review of Neurobiology*, B.-Y. Zeng, K. Zhao, and F.-R. Liang, Eds., Academic Press. London, UK, 2013.
- SONG, J.; OGAWA, M.; TAN, A.; CHEN, P.; LIN, S. Heart Rate Variability and Autonomic Nerve Activities in Ambulatory Dogs. **28th EMBS Annual International Conference**, p. 1780-1783, 2006.
- SOLBERG, G.; ROBSTAD, B.; SKJONBERG, O.; Respiratory gas exchange indices for estimating the anaerobic threshold. **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 4 p. 29-36, 2015.
- SOUZA.C.C.F. Respostas autonômicas e comportamentais ao estresse sonoro agudo em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício. **Dissertação**. Mestrado em Medicina Veterinária. Departamento de Fisiologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.
- STAUSS, H. M. Heart rate variability. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v.285, p.927-931, 2003.
- STRAUSS, H. M. Physiologic mechanisms of heart rate variability. **Revista Brasileira de Hipertensão**. v. 14, n. 1, p. 8-15, 2007.
- TAFFAREL, M.O.; FREITAS, P.M.C. Acupuntura e analgesia: aplicações clínicas e principais acupontos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.9, p.2665-2672, dez, 2009.

- TEIXEIRA, P.S.A. Caracterização e Experimental do Treinamento Físico de Endurance em Esteira Adaptada Através de Marcadores Metabólicos Energéticos. **Dissertação**. Mestrado de Ciências Fisiológicas. Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza, 2010.
- TORRO, C. A. Atlas prático de acupuntura do cão. São Paulo: **Livraria Varela**, p.185, 1997.
- TIRGOVISTE, C. I. Anatomic and functional particularities of skin areas used in acupuncture. **American Journal of Acupuncture**, v. 3, p.199-206, 1975.
- TRISTÃO, A. P. P. A. Biomarcadores Cardíacos em Cães com Degeneração Mixomatosa da Valva Mitral Submetidos a um Programa de Condicionamento Físico. **Dissertação**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 2015.
- ULRICH-LAI, Y. M.; HERMAN, L. P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. **Nature Reviews Neuroscience**, v.10, p.397-409, 2009.
- VANDERLEI, L. C. M., PASTRE, C.M., HOSHI, R.A., CARVALHO, T.D, GODOY, M.F. Noções Básicas de Variabilidade da Frequência Cardíaca e sua aplicabilidade Clínica. **Ver. Bras. Cir. Cardiovasc**, v. 24, n. 2, p. 205-217, 2009.
- VILLAS-BOAS, J.D. Efeito da Acupuntura nas Respostas de Estresse em Equinos: Testes Laboratorial e a Campo. **Dissertação**. Mestrado em Medicina Veterinária. Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.
- VILLAS-BOAS, J.D.; DIAS, D.P.M.; TRIGO, P.I.; ALMEIDA, N.A.S.; ALMEIDA, F.Q.; MEDEIROS, M.A. Acupuncture Affects Autonomic and Endocrine but Not Behavioural Responses Induced by Startle in Horses. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2015.
- VON BORELL, E.; LANGBEIN, J.; DESPRÉS, G.; HANSEN, S.; LETERRIER, C.; MARCHANT-FORDE, J.; MARCHANT-FORDE, R.; MINERO, M. F.; MOHR, E.; PRUNIER, A.; VALANCE, D.; VEISSIER, I. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals .**A review. Physiology & Behavior**, v. 92, p 293–316, 2007.
- WADDOUPS, L.; WAGNER, D.; FALLON, J. E HEATH, E.. Validation of a single-stage submaximal treadmill walking test. **Journal of Sports Sciences**, v. 26, n. 5, p. 491-497, 2008.
- WASSERMAN, K.; McILROY, M.B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **American Journal of Cardiology**, v. 14, p. 844-852, 1964.
- WEN, T.S. Acupuntura clássica chinesa. 2.ed. São Paulo: **Cultrix**, p. 225, 1989.
- XIE, H.; PREAST, V. Acupuntura Veterinária Xie. São Paulo: MedVet, 2011.
- YAMAMURA, Y. Acupuntura-Tradicional: a **Arte de Inserir.Roca**. São Paulo. 2 Ed, p.980, 1993.
- YANG, C.H., LEE, B., JUNG, H., SHIM, I., ROH, P., GOLDEN, G. Effect of acupuncture on response to immobilization stress. **Pharmacology Biochemistry Behavior**. v. 72, p. 847-855. 2002.
- ZHENG, L. Acupuncture and Hormone Balance. **Edited by Iris M. Zhou**, p. 48-49, 2008. In: <http://books.google.com.br/books>, p. 48-49. 2008.

8 ANEXO

ANEXO 1: Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito da acupuntura nas respostas imunes, endócrinas e autonômicas ao exercício incremental progressivo em cães.", protocolada sob o CEUA nº 9190190216, sob a responsabilidade de Magda Alves de Medeiros *e equipe; Marimar Mayworm Beck* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 29/07/2016.

We certify that the proposal "Effect of acupuncture on immune, endocrine and autonomic responses to incremental progressive exercise in dogs", utilizing protocol number CEUA 9190190216, under the responsibility of Magda Alves de Medeiros *and team; Marimar Mayworm Beck* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was approved by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 07/29/2016.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [04/2016](#) a [04/2018](#) Área: [Ciências Fisiológicas](#)

Resumo: Estresse é uma situação gerada por um desafio a qual um organismo está submetido; desta forma, a resposta a um estímulo estressor é fundamental para a sobrevivência e a homeostase de um ser vivo. No entanto, a exposição continuada e repetida a estímulos estressantes pode afetar o bem-estar e a saúde dos animais. Apesar do exercício físico ser uma

forma muito poderosa e relativamente simples de tratamento e prevenção de diversas doenças, o exercício agudo é considerado uma ferramenta metodológica eficaz para estudar as respostas fisiológicas ao estresse metabólico. Assim como outros tipos de estresse, o exercício induz uma série de respostas neuroendócrinas e autonômicas caracterizadas pela ativação do eixo hipotálamo-hipofise-adrenal e do Sistema simpato-adrenal. Além disso, o exercício induz um aumento no número de células brancas e uma resposta inflamatória aguda, com o aumento da liberação de citocinas como as interleucinas 6 e 10 (IL6, IL10) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF α) (Ball, 2015). Frente a necessidade de melhorar a qualidade de vida, e manter o bem-estar animal é fundamental o desenvolvimento de estratégias para minimizar os efeitos do estresse. A acupuntura tem sido usada para reduzir as respostas de estresse em seres humanos e animais. Desta forma, propomos um estudo minimamente invasivo do efeito da estimulação aguda e crônica de pontos de acupuntura nas respostas fisiológicas a um modelo bem caracterizado de estresse: o exercício incremental progressivo. O projeto prevê a utilização de cães de laboratório da raça Beagle e a mensuração da variabilidade da frequência cardíaca, do cortisol, do lactato e das citocinas. Vale ressaltar que o exercício incremental progressivo é um teste ergométrico mundialmente reconhecido e tem sido utilizado em animais domésticos e no homem.

Local do experimento: Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária

Seropédica, 29 de julho de 2016



Prof. Dr. Fabio Barbour Scott

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais



Prof. Dr. Jonimar Pereira Paiva

Vice-Coordenador da Comissão

de Ética no Uso de Animais

Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Janeiro

Janeiro

BR 465, Km 7 / Campus da UFRRJ - Seropédica - Rio de Janeiro - CEP: 23.890-000 - tel: 55 (21) 2682-3051 / fax: ---
Horário de atendimento: 2ª a 6ª das 8 às 17h : e-mail: ceuav@ufrj.br

CEUA N 9190190216



ANEXO 2: Termo de Consentimento

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA E RESPONSÁVEL:
A- DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE:

- 1) Nome do paciente: _____
- 2) Raça: _____ Pelagem: _____
- 3) Sexo: (M) (F) Castrado? () SIM () NÃO
- 4) Data de Nascimento: ____/____/____.

B- DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO RESPONSÁVEL LEGAL:

- 5) Nome: _____
- 6) Identidade: _____ Sexo: (M) (F) 10)
Endereço: _____
Bairro: _____ Cidade: _____
CEP: _____ Telefone: _____

II – DADOS DA PESQUISA:

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO MEDICINA VETERINÁRIA E CIÊNCIAS CLÍNICA

A- TÍTULO DO PROTOCOLO DA PESQUISA:

“EFEITO DA ACUPUNTURA NOS NÍVEIS DE CORTISOL E NA VARIABILIDADE DO INTERVALO CARDÍACO DE CÃES SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO INCREMENTAL PROGRESSIVO”

B- PESQUISADORES: PESQUISADOR:

MARIMAR MAYWORM BECK – MESTRANDA PESQUISADORA:
MAGDA ALVES MEDEIROS – ORIENTADORA

C- GRAU DE RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

87

A - Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.

B - Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo.

C - Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS:

Mestranda, Med. Vet. Marimar M. Beck

Profª Drª. Magda Alves Medeiros

Cel: (21) 98184-6997

Cel: (21) 994278179

E-mail: marimar.beck@hotmail.com
magda.medeiros@gmail.com

E-mail:

VI - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que foi explicado, consinto que meu animal participe do presente Protocolo de Pesquisa.

Petrópolis, ____ de _____ de 2016.

Assinatura do responsável legal

Assinatura do pesquisador

ANEXO 3: Tabela do Protocolo de Adaptação ao Treinamento à Esteira Ergométrica

TREINO 1	PESO	MEDIDA (cernelha)	VELOCIDADE	TEMPO	BAIA	DIA
A						
B						
C						
D						
TREINO 2	PESO	MEDIDA (cernelha)	VELOCIDADE	TEMPO	BAIA	DIA
E						
F						
G						
H						
TREINO 3	PESO	MEDIDA (cernelha)	VELOCIDADE	TEMPO	BAIA	DIA
I						
J						
L						
D						
TREINO 4	PESO	MEDIDA (cernelha)	VELOCIDADE	TEMPO	BAIA	DIA
M						
N						
O						
P						

ANEXO 4: Protocolo de Experimento EIP em Cães

Controle horário - TREINO - DIA

DIA:

Ordem	Hora	POLAR	C1	TREINO		C2	C3	C4	C5	C6	C7	Grupo
		Hora	Antes	Início/Final		15min	1h	3h	6h	12h	24h	
A												CTL
B												CTL
C												ACUP
D												ACUP

ACUPUNTURA

DIA:

Acupuntura	E36	PC6	BP6
A			
B			
C			
D			

VELOCIDADE/TEMPO

DIA:

EIP	Velocidade	Inclinação	Tempo
A			
B			
C			
D			