

UFRRJ

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

DISSERTAÇÃO

**PERFIL BIOQUÍMICO E OXIDATIVO DE CAVALOS EM
PROVA SIMULADA DE TRÊS TAMBORES**

Isabella Manes Soutto Mayor da Motta Rodrigues

2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MEDICINA VETERINÁRIA (PATOLOGIA E CIÊNCIAS
CLÍNICAS)**

**PERFIL BIOQUÍMICO E OXIDATIVO DE CAVALOS EM PROVA
SIMULADA DE TRÊS TAMBORES**

**ISABELLA MANES SOUTTO MAYOR DA MOTTA
RODRIGUES**

Sob orientação do Professor
Paulo de Tarso Landgraf Botteon

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas). Área de concentração em Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Julho de 2013

658.32

B333r RODRIGUES, Isabella Manes Soutto Mayor da Motta, **2013** -

Perfil bioquímico e oxidativo de cavalos em prova simulada de três tambores/

Isabella Manes Soutto Mayor da Motta Rodrigues. - 2013

82f. : grafs., tabs.

Orientador: Paulo de Tarso Landgraf Botteon.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária.

Bibliografia: f. 40-67.

1. Equino – Enzimas antioxidantes – Exercício Anaeróbio – Dissertação. 2. Medicina Veterinária – Brasil – Teses. I. Rodrigues, Isabella Manes Soutto Mayor da Motta. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Ciências Humanas e Sociais. III. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(Patologia e Ciências Clínicas)

ISABELLA MANES SOUTTO MAYOR DA MOTTA RODRIGUES

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31/07/2013

Paulo de Tarso Landgraf Botteon Dr. UFRRJ
(Orientador)

Daniel Augusto Barroso Lessa Dr. UFF

Andreza Amaral da Silva Dra. UFRRJ

DEDICATÓRIA

Agradeço à Deus e a espiritualidade por guiar meus passos sempre.

Ao meu pai Mauro Rodrigues por toda à confiança.
A minha mãe Eliana Manes que nos momentos mais difíceis dos estudos e da vida sempre esteve ao meu lado me incentivando. Nunca vou ter palavras suficientes para agradecer. Te amo

Ao Filipe por todos esses anos de companheirismo, amparo e incentivo nas horas mais difíceis e forma muitas.

Aos meus cães e gatos, impossíveis de serem citados os nomes devido à quantidade, mas que foram meus primeiros pacientes.

Aos cavalos especialmente as minhas éguas Gitana, Flecha e Boneca, mesmo não estando mais comigo amarei vocês por toda a vida.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Paulo de Tarso Langdraf Botteon pela confiança em me dar uma das mais importantes chances que eu tive na Universidade, que foi executar um trabalho com cavalos.

A prof. Dra. Rita de Cássia Machado Campbell Botteon por toda a ajuda, por despertar o espírito do questionamento, fazendo com que agente queira sempre mais.

Ao prof Dr. João Telhado pelo carinho e confiança depositados há muito tempo, e que me deu a oportunidade do meu primeiro projeto de pesquisa.

Aos amigos Thuany Limia pela confiança depositada em mim sempre, e a Gabriela Ferreira pela ajuda de sempre e oportunidade que começou com o estágio.

A família amiga da pós graduação Ana Paula Lopes marques, Bruno Spíndola, Erika Bertha, Janne Paula, Leandro Mascarenhas, Natália Lores e Renata Lanna pela ajuda na coleta , nas análises e pela força nos momentos de desespero! Nunca vou esquecer vocês.

A equipe do Rancho Águas Pratas, cedendo o espaço e os animais.

À Cíntia Santos pela ajuda fundamental na execução do projeto.

Aos colegas veterinários Andresa Guimarães, Juliana Macedo e Matheus Dias Cordeiro, por toda ajuda na realização das análises.

À equipe do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), da UFRRJ pela ajuda na realização das análises.

Ao HVGA que me proporcionou momentos de muito aprendizado juntamente com Dr.Bruno Souza e Dr. Gilberto dos Santos Seppa.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro que fez tudo isso ser possível.

RESUMO

Rodrigues, I.M.S.M.M. **Perfil bioquímico e oxidativo de cavalos em prova simulada de três tambores**. 2013. 82F. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

As exigências por níveis elevados de desempenho atlético dos equinos crescem à medida que aumentam os participantes em cada modalidade esportiva. A prova de Três tambores se caracteriza por ser um exercício de explosão com metabolismo anaeróbico predominante. Com o objetivo de avaliar a atividade das enzimas séricas Creatinaquinase (CK), Aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH), defesa antioxidante enzimática, Glutathione peroxidase (GPx), Superóxido Dismutase (SOD) e concentração de malondialdeído (MDA), um grupo de seis equinos participou de uma prova simulada de três tambores. Foram evidenciadas diferenças significativas entre os momentos de coleta na atividade sérica da enzima AST, com aumento nas 4h após a prova, porém com valores normais nas 24h seguintes. A enzima CK também apresentou diferença significativa comparada com o repouso, apresentando valores mais altos imediatamente após o exercício e nas 4h após a prova. A LDH apresentou valores mais altos nas 4h após a prova porém com diferença significativa em relação ao repouso. A SOD não apresentou diferença significativa, já a GPx apresentou valores mais altos nas 24h após a prova, O MDA teve um aumento significativo imediatamente após a prova comprovando que houve peroxidação lipídica. O exercício físico anaeróbico mesmo sendo rápido promoveu estresse oxidativo,

Palavras chave: defesa antioxidante, enzimas, equinos

ABSTRACT

Rodrigues, I.M.S.M.M. **Biochemical profile and oxidative horse race simulated in three drums**. 2013. 82L. Dissertation (Master in Veterinary Medicine, Clinical Sciences).Veterinary Institute Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The demands for high levels of athletic performance of horses grow as we increase the participants in each sport. Proof Three barrels is characterized as an exercise of explosion with predominantly anaerobic metabolism. Aiming to evaluate the activity of serum enzymes Cretine Kinase (CK), Aspartate aminotransferase (AST) and Lactate dehydrogenase (LDH), antioxidant defense enzyme, Glutathione peroxidase (GPx), Superoxide dismutase (SOD) and Malondialdehyde (MDA) concentration, a group of six horses participated in a mock trial of three barrels. Significant differences were observed between the times of collection in the serum activity of the enzyme AST, increasing in 4h after the race, but with normal values in the next 24 hours. The CK also showed significant difference compared with the rest, and higher values immediately after exercise and at 4 h after the test. The LDH values were higher in 4h after the race but with a significant difference compared to rest. SOD showed no significant difference, as the GPx showed higher values in the 24 hours after the race. The MDA increased significantly immediately after the evidence was showing that lipid peroxidation. The anaerobic exercise even being promoted fast oxidative stress.

Keywords: antioxidant defense, horses, serum enzymes.

LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

ABQM Associação Brasileira de Quarto de Milha

ADP Adenosina difosfato

AD Ausculta digestiva

AP Ausculta pulmonar

ATP Adenosina trifosfato

ATP-CP Adenosina trifosfato creatina fosfato

AST Aspartato aminotransferase

BPM Batimentos por minuto

CAT Catalase

CK Creatinina quinase

CK- BB Creatina quinase

CK- MB Creatina quinase

CK-MM Creatina quinase

CO₂ Dióxido de carbono

DNA cido desoxirribonucléico

DP Desvio padrão

EDTA cido etilenodiaminotetracético

EO Estresse oxidativo

ERO Espécies reativas de oxigênio

FC Frequência cardíaca

FR Frequência respiratória

g/dL Grama por decilitro

GPx Glutathiona peroxidase

GSH Glutathiona reduzida

GSHRed Glutathiona redutase

GSSG Glutathiona oxidada

H Hidrogênio

H₂O Água

H₂O₂ Peróxido de hidrogênio

Kg Quilograma

Km/h Quilometro por hora

LDH Lactato desidrogenase

m Metros

M1 Coleta no repouso

M2 Coleta logo após o exercício

M3 Coleta 4horas após o exercício

M4 Coleta 24horas após o exercício

MCT₁ Monocarboxilatos

MCT₄ Monocarboxilatos

MDA Malondialdeído

min Minutos

Mg/dL Miligrama por decilitro

mL Mililitro

mmol Milimol

NAD Nicotinamida adenina dinucleotídeo

NADH Nicotinamida adenina dinucleotídeo hidreto

NAD(P)H Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

nmol Nanomol

NO Óxido nítrico

O₂ Oxigênio

O₂⁻ radical superóxido

OH⁻ radical Hidroxila

PCr Fosfocreatina

PCO₂ Pressão de gás carbônico

pH Potencial de hidrogênionico

PO₂ Pressão de oxigênio

PPT Proteína plasmática total

RPM Rotação por minuto

SOD Superóxido dismutase

TBA Ácido tiobarbitúrico

TBARS Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TC Turgor cutâneo

TPC Tempo de preenchimento capilar

UI/L Unidade internacional por litro

VG Volume globular

VO₂ máx Volume máximo de oxigênio

PSI Puro sangue Inglês

SH radical sulfidríla

HPLC cromatografia líquida de alta eficiência

INDICE DE TABELAS

- Tabela 1** - Parâmetros da avaliação clínica de equinos nos momentos M1, imediatamente antes do início da prova, M2, após o exercício, M3, após 4 h, e M4 após 24h do exercício28
- Tabela 2** - Valores médios e desvio padrão da atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase (AST), Creatinaquinase (CK), Lactato desidrogenase (LHD), creatinina e uréia e concentração plasmática de glicose e lactato de equinos praticantes de tambor, nos momentos M1, imediatamente antes do início da prova, M2, após o exercício, M3, após 4 h, e M4 após 24h do exercício29
- Tabela 3** - Valores médios e desvio padrão da concentração eritrocitária de TBARS/MDA, superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx) em equinos praticantes da prova dos três tambores, nos momentos M1, imediatamente antes do início do jogo, M2, após o exercício, M3, após 4 h, e M4 após 24h do exercício 37

INDICE DE FIGURAS

Figura 1- Desenho esquemático do percurso percorrido pelo conjunto de montaria na prova dos três tambores (embrahmados.rede.comunidades.net).	4
---	---

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	OBJETIVOS	2
2.1	Gerais:	2
2.2	Específicos:	2
3.	REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1	Prova dos Três Tambores	3
3.2	Exercício e treinamento	4
3.3	Intensidade do exercício e fontes de energia	5
3.4	Metabolismo do Lactato	6
3.5	Hematologia e fisiologia do exercício	8
3.6	Influência do exercício sobre os constituintes sanguíneos	9
3.7	Frequência cardíaca	10
3.8	Marcadores bioquímicos de lesão muscular	11
3.8.1	Creatinoquinase, Aspartato aminotransferase e Lactato desidrogenase	11
3.9	Glicose	13
3.10	Creatinina e ureia	13
3.11	Radicais livres	14
3.12	Estresse oxidativo	15
3.13	Defesa Antioxidante	16
3.14	Superóxido Dismutase	17
3.15	Sistema Glutationa	18
3.16	Substancias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) – Malondialdeído (MDA) como marcador de estresse oxidativo	19
3.17	Avaliação da lipoperoxidação em equinos	20
4.	MATERIAL E MÉTODO	22
4.1	Local da pesquisa	22
4.2	Animais avaliados	22
4.3	Avaliação clínica	22

4.4	Seções de treino.....	23
4.5	Metodologia da execução.....	23
4.5.1	Modelo experimental:.....	23
4.5.2	Exercício executado.....	23
4.5.3	Momentos de coleta de amostras.....	23
4.5.4	Coleta de amostras:.....	24
4.6	Análises Laboratoriais.....	25
4.6.1	Hemograma.....	25
4.6.2	Glicose e Lactato.....	25
4.6.3	<i>Enzimas séricas</i>	25
4.6.4	TBARS - MDA.....	25
4.6.5	Hemoglobina.....	26
4.6.6	Enzimas antioxidantes.....	26
4.7	Análise Estatística.....	26
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1	Avaliação Clínica.....	28
5.2	Avaliação bioquímica.....	28
5.2.1	Aspartato aminotransferase (AST), Creatinaquinase (CK) e Lactado Desidrogenase (LDH).....	29
5.2.2	Glicose.....	32
5.2.3	Lactato.....	33
5.2.4	Creatinina e ureia.....	34
5.3	Dano oxidativo e controle antioxidante.....	36
5.3.1	Concentração de TBARS - MDA.....	36
5.3.2	Superóxido Dismutase (SOD).....	37
5.3.3	Glutationa Peroxidase (GPx).....	38
6.	CONCLUSÃO.....	39
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

As exigências por níveis extremos de desempenho atlético por parte da espécie equina crescem cada vez mais, devido à cultura do esporte juntamente à valorização econômica de animais de alto desempenho esportivo. Tal desempenho só é alcançado com trabalhos físicos, técnicos e nutricionais cada vez mais intensificados. Como consequência dessa intensa rotina de treinamentos e competições, esses equinos estão sujeitos ao aparecimento de lesões relacionadas à sua utilização nas diversas modalidades do esporte.

A prova dos três tambores se caracteriza por ser um exercício de duração menor, com predomínio do metabolismo anaeróbico como produtor de ATP durante o período de exercício. O tipo de treinamento vai variar de acordo com a modalidade esportiva.

Lesões musculoesqueléticas constituem o principal fator determinante da remoção temporária ou permanente de equinos de sua vida atlética (VERHEYEN; WOOD, 2004). Algumas modalidades esportivas submetem os cavalos a diferentes esforços que produzem lesões e estresse característicos no sistema músculo esquelético, decorrentes de movimentos repetitivos (BLACK, 2000).

Ultimamente têm-se dado muita atenção às lesões relacionadas com o metabolismo oxidativo, uma vez que o processo de produção de radicais livres tem sido incriminado na fisiopatologia de diversas enfermidades que acometem os equinos, principalmente os cavalos atletas. Lesões oxidativas podem ocorrer quando há excesso de produção de radicais livres e/ou quando os sistemas antioxidantes celulares se tornam ineficazes no controle e eliminação dessas substâncias (SILVEIRA, 2005). Esse desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a defesa antioxidante, em favor da produção de radicais livres é conhecido como estresse oxidativo.

O aumento do consumo de oxigênio, assim como a ativação de vias metabólicas específicas durante ou após o exercício, resulta na formação de espécies reativas de oxigênio (ERO). Estas moléculas são produzidas em grande quantidade nos exercícios de alta intensidade e extenuantes, no entanto o treinamento físico é capaz de gerar adaptações capazes de mitigar os efeitos deletérios provocados pelas mesmas. Estas adaptações estão relacionadas com a uma série de sistemas antioxidantes, dos quais os mais importantes são os sistemas enzimáticos compostos pela superóxido dismutase, catalase e glutatona peroxidase.

2. OBJETIVOS

2.1 Gerais:

O objetivo desta pesquisa foi estudar a influência do exercício de alta intensidade e curta duração, sobre a atividade de enzimas marcadoras de lesão muscular e os biomarcadores de estresse oxidativo em cavalos atletas, submetidos à prova simulada dos três tambores.

2.2 Específicos:

- Verificar a atividades de enzimas séricas Creatina quinase (CK), Aspartato amino transferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH) em equinos submetidos à prova simulada de Três Tambores e no período de recuperação.
- Avaliar a defesa antioxidante enzimática através da atividade das enzimas Glutathione Peroxidase, Superóxido Dismutase em equinos durante a prova simulada de Três Tambores e no período de recuperação.
- Avaliar a concentração do malondialdeído como biomarcador de estresse oxidativo em equinos durante a prova simulada de Três Tambores e no período de recuperação.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Prova dos Três Tambores

A raça de cavalos Quarto de Milha começou a ser desenvolvida na América, surgindo nos Estados Unidos por volta do ano de 1600. Comerciantes espanhóis e exploradores trouxeram os primeiros animais que a originaram da Arábia e Turquia à América do Norte. Os colonizadores do Oeste Norte americano se divertiam promovendo corridas nas ruas nos finais de semana com distância de um quarto de milha (402 metros), originando o nome da raça (ABQM, 2012).

Esta raça tem como principais características a força e a docilidade, o que lhe permite partidas rápidas, paradas bruscas e grande habilidade de girar sobre si mesmo. Por estas características os animais desta raça são os mais utilizados para as provas tipo *western* que incluem apartação, cinco tambores, laço em dupla, rédeas, três tambores, vaquejada e laço comprido, onde a maioria dos circuitos é oficializado pela Associação Brasileira de Quarto de Milha (ABQM, 2012). A prova dos três tambores é uma modalidade de esporte equestre muito difundida no Brasil e o Quarto de Milha é o cavalo utilizado nesta prova (ABQM, 2012). Nesta modalidade esportiva de precisão, os animais percorrem à galope o percurso contendo três tambores dispostos de forma triangular e com uma distância mínima de 27 metros um do outro (figura 1).

Depois do sinal de largada, a amazona ou cavaleiro fazem voltas completas nos tambores, e retornam em disparada até a linha de chegada. O tempo de percurso entre as linhas de partida e de chegada é cronometrado. É desclassificada, a amazona ou o cavaleiro que errar o percurso ou que cair do cavalo. Cinco segundos é a penalização prevista para derrubada do tambor.

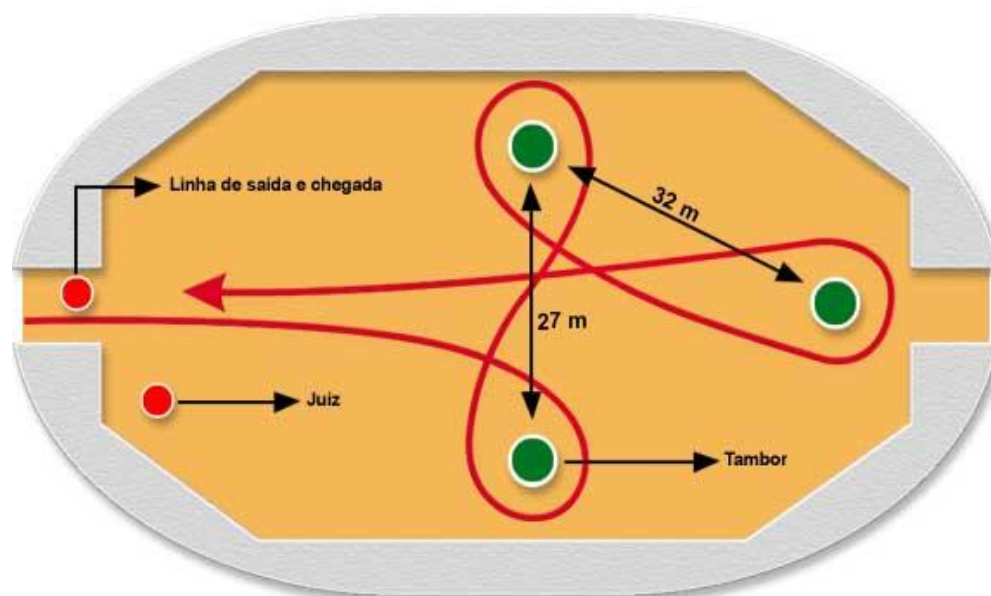


Figura 1- Desenho esquemático do percurso percorrido pelo conjunto de montaria na prova dos três tambores (embrahmados.rede.comunidades.net).

3.2 Exercício e treinamento

A formação de um cavalo não é baseada somente em características geneticamente controladas, outros fatores tais como os ambientais são capazes de influenciar seu desempenho, como nutrição, saúde e treinamento. A seleção das raças proporcionou uma variedade de atividades desenvolvidas por estes animais. Puros-Sangues correm a altas velocidades (63 km/h) por distâncias de 800 a 5000 metros, Quartos de Milha fazem tiros de 400m ou menos a velocidades tão altas quanto 88 km/h e os Árabes percorrem mais de 160 km em um dia nas competições de enduro (HINCHCLIFF,1996; GEOR, 2004).

Cavalos que praticam de algum tipo de esporte, quando submetidos a frequentes treinamentos, tornam-se altamente capazes de realizar atividades intensas. Como exemplo, cavalos treinados para exercícios de curta duração e alta intensidade desenvolvem fibras musculares esqueléticas apropriadas para exercícios de altas velocidades. Segundo Allen et al. (2008), a fadiga pode ser entendida como qualquer declínio no desempenho muscular. O exercício físico representa o estímulo estressante mais fisiológico que existe, pois submete o organismo a desafios temporários na sua homeostasia (CAYADO et al., 2006).

Quando o esforço físico torna-se sistemático e contínuo, com aumento gradual da intensidade, intercalado a períodos de repouso, é denominado treinamento, sendo que o maior

objetivo deste processo é provocar adaptações fisiológicas que aprimorem o desempenho atlético (GRAAF-ROELFSEM, et al., 2007). Com o exercício o fluxo sanguíneo muscular pode elevar-se 60 a 70 vezes. Apesar da pressão da perfusão aumentar substancialmente, a elevada condutância muscular vascular (vasodilatação) constitui o primeiro mecanismo que faz elevar o fluxo sanguíneo muscular (POOLE; ERICKSON, 2008). O volume de oxigênio máximo (VO_2 máx) nos cavalos é em média 130 a 220 mL/kg/min e que comparativamente aos atletas humanos, cujo valor é em média de 40 a 80 ml/kg/min, possuem valores mais elevados de VO_2 máx, demonstrando assim a sua elevada capacidade aeróbia e portanto superioridade atlética (POOLE; ERICKSON, 2008).

A sincronização da vascularização muscular e das enzimas oxidativas musculares permite que o músculo treinado aceite um maior débito cardíaco, aumentando a troca de oxigênio (O_2) e facilitando uma maior utilização do mesmo em exercícios de intensidade máxima (POOLE; ERICKSON, 2008).

3.3 Intensidade do exercício e fontes de energia

No músculo em repouso, a principal fonte de energia vem dos ácidos graxos livres provindos do tecido adiposo e os corpos cetônicos, produtos da quebra de ácidos graxos provindos do fígado. Estes são oxidados e degradados liberando acetil-coA, que entra no ciclo de Krebs e é oxidado até chegar a dióxido de carbono (CO_2). A transferência de elétrons do oxigênio (O_2) fornece energia para a síntese de ATP pela fosforilação oxidativa (NELSON; COX, 2008).

Quando o animal inicia o exercício, os músculos utilizam a energia fornecida pelo corpo para a contração das fibras. Durante o trabalho muscular a adenosina trifosfato (ATP), principal fonte de energia utilizada na contração das fibras, é hidrolisada em adenosina difosfato (ADP) no músculo esquelético, por meio da enzima miosina-ATPase, com a liberação de fosfato inorgânico e energia para a contração muscular. A fibra muscular é um conjunto de miofibrilas e feixes cilíndricos organizados longitudinalmente que apresentam unidades contráteis do músculo, os sarcômeros. As miofibrilas diferem entre si de acordo com o metabolismo energético dominante, suas características funcionais e metabólicas, segundo aspectos histológicos e de coloração, estando correlacionados com a velocidade da contração muscular e atividades enzimáticas.

Os músculos esqueléticos dos equinos são compostos por dois tipos principais de fibras: tipo I, as fibras lentas oxidativas ou vermelhas, e tipo II, as fibras rápidas ou fibras brancas, que são subdivididas nos tipos IIA ou rápidas oxidativas-glicolíticas e IIX ou rápidas glicolíticas. Além dessas fibras consideradas “puras”, Rivero et al. (1996) demonstraram a existência de dois tipos de fibras “híbridas”, que representam um estágio intermediário entre as fibras I e IIA, que seria a tipo C, e outra, a IIX-XA que seria intermediária entre a IIA e a IIX.

As fibras musculares requerem abastecimento de combustível fornecido por um ou mais dos sistemas de produção de energia. A única fonte de energia que pode ser utilizada como combustível direto para a contração muscular é o ATP. Um dos caminhos que o cavalo pode utilizar para obtê-lo é por meio da quebra dos estoques de fosfato creatina. O segundo caminho é por meio da quebra do glicogênio muscular que nos cavalos se encontra na concentração de aproximadamente 140 mmol/Kg, enquanto que no ser humano é de 80 a 100 mmol/kg (HINCHCLIF, 1996; GEOR, 2004).

Quando o músculo utiliza o glicogênio de reserva para obtenção de energia sob a forma de ATP, a glicose é convertida a piruvato e durante o metabolismo aeróbio normal o piruvato é então oxidado pelo oxigênio molecular a CO₂ e H₂O. Durante a realização de intenso exercício físico, o oxigênio fornecido aos tecidos musculares pode não ser suficiente para oxidar totalmente o piruvato (FERRAZ et al., 2009).

Nestes casos, a glicose é convertida a piruvato e depois a lactato pela via da fermentação láctica, obtendo ATP sem recorrer ao oxigênio (NELSON; COX, 2005). O lactato, produto formado durante a glicólise anaeróbica, é produzido primeiramente nas fibras glicolíticas, oxidado nas fibras oxidativas e no coração e também usado como substrato para a gliconeogênese hepática (BONEN, 2001; FERRAZ et al., 2008).

3.4 Metabolismo do Lactato

Lactato é produzido no citosol pelo ramo fermentativo da via glicolítica. O lactato é um substrato gliconeogênico tem como função o fornecimento de ATP de maneira rápida, porém com capacidade energética menor que a via de ATP fosfocreatina. A elevação na formação de lactato ocorrerá por uma concentração maior de piruvato no citoplasma, sempre que a demanda glicolítica ultrapassar a capacidade do sistema de transporte mitocondrial. Este transporte de piruvato para a mitocôndria é ativo dependente de transportadores de membrana.

A geração de lactato a partir do piruvato consome nicotinamida adenina (NADH) e regenera NAD⁺, realimentando o sistema de produção aeróbia de energia para que possa continuar (ROBERG et al., 2004)

O lactato formado em fibras musculares ativas pode atingir fibras adjacentes altamente oxidativas, onde será utilizado como combustível e podendo ser oxidado em CO₂. Por outro lado, o lactato que provém de fibras ativas pode ser transportado para os capilares e em seguida, entrar na circulação e ser reconvertido a glicogênio no fígado (STANLEY et al., 1985).

A conversão em glicose no fígado e nos rins é responsável por aproximadamente 25% da eliminação de lactato durante o exercício (DONAVAN; BROOKS, 1983). Assim, o lactato passa a ser considerado como um importante combustível oxidante, tanto durante o repouso como em exercício (GLADDEN, 2004).

A concentração do lactato no sangue indica a diferença entre a velocidade de seu transporte, de onde é produzido, para o sangue e a de sua metabolização nos tecidos. Logo entende-se que uma elevação na lactatemia não significa exatamente aumento de sua produção, devido ao fato que uma diminuição na sua remoção pode estar propiciando um aumento da concentração do lactato circulante.

As concentrações plasmáticas de lactato são fruto do *turnover* de lactato, ou seja, da entrada menos a captação pelos tecidos. Dessa forma, a quantidade de lactato plasmático ao final do exercício é muitas vezes menor que a quantidade de lactato total produzida durante o exercício (BENETTI et al., 2000).

Durante atividade aeróbica, como o enduro equestre, o lactato é removido do sangue à mesma taxa em que é produzido, de forma que a concentração de lactato no sangue em cavalos permanece aproximadamente entre 1 e 1,5 mmol/L o que indica liberação contínua (HIGGINS; SNYDER, 2006).

No músculo de cavalos, vários tampões são utilizados para redução das flutuações do potencial hidrogeniônico (pH) nas células durante a atividade muscular (HYYPÄ; PÖSÖ, 1998; FERRAZ et al., 2010). Além dos tampões, na maioria dos tecidos e também nas hemácias (HALESTRAP; PRICE, 1999), existem proteínas transportadoras chamadas monocarboxilatos (MCTs), que facilitam o transporte de lactato e outros ânions como o piruvato, o acetoacetato e o β-hidroxibutirato, para dentro e fora das células através da membrana plasmática. Este transporte é realizado juntamente com um próton e é controlado

pelo gradiente de íon hidrogênio, portanto, não requer ATP (MEREZHINSKAYA; FISHBEIN, 2009).

Embora dados relativos à cinética de lactato em equinos sejam escassos na literatura, Weber et al. (1987) demonstraram que em cavalos de raça Puro Sangue Inglês, o aproveitamento do lactato sanguíneo é sete vezes maior quando comparada aos valores encontrados por Chin et al, (1991) para capacidade de transformação de lactato em ratos, e três vezes maior quando comparado aos valores obtidos para atletas humanos por Bassett et al. (1991).

Dentre as isoformas já encontradas, as chamadas MCT1 e MCT4 são consideradas as principais transportadoras de lactato do músculo cardíaco e esquelético dos mamíferos (BROOKS; McCLELLAND, 2002; HALESTRAP; MEREDITH, 2004). A isoforma MCT1 é predominante em fibras oxidativas e responsável por facilitar a absorção de lactato, já a MCT4 é predominantemente encontrada em fibras glicolíticas e facilita a extrusão do lactato (KITAOKA et al., 2010).

3.5 Hematologia e fisiologia do exercício

O esforço físico de curto período e alta intensidade induzem alterações em variáveis hematológicas e bioquímicas nos equinos (BALOGH et al., 2001). Mudanças cardiovasculares ligadas ao exercício são medidas por catecolaminas e envolvimento do sistema nervoso simpático promovendo contrações esplênicas. O baço nos equinos atua como reservatório de sangue com liberação de quatro a doze litros de células vermelhas para a corrente sanguínea no começo do exercício (PERSSON, 1967; McKEEVER et al., 1993). Aumentando a capacidade do sangue em carrear O₂ e na capacidade aeróbica (PERSSON, 1967; MUÑOZ et al., 1999; KEARNS et al., 2002).

Além disso, o exercício induz alterações no volume sanguíneo, devido à variação na pressão sanguínea, como a mudança intercompartimental de fluidos entre os meios extracelular e vascular ou a perda de água e eletrólitos na evaporação de suor para controlar a temperatura corporal. Posteriormente as modificações no volume sanguíneo também determinarão o grau de aumento das células vermelhas e de hemoglobina durante o exercício (MUÑOZ et al., 1999).

3.6 Influência do exercício sobre os constituintes sanguíneos

No início do exercício a estimulação dos nervos simpáticos resulta num aumento da adrenalina em circulação que por sua vez causa contração esplênica e a libertação de eritrócitos para a circulação. Em resposta ao treino, ocorre também um aumento do número de eritrócitos em circulação por contração esplênica e conseqüentemente o aumento da hemoglobina no sangue. Este aumento da hemoglobina no sangue é relativo à sua quantidade absoluta (quantidade total de hemoglobina em circulação), pois com o aumento do volume plasmático a concentração de hemoglobina (g/dl) não sofre alteração (MARLIN; NANKERVIS, 2002). Deste modo, o exercício desencadeia uma resposta fisiológica em que a percentagem do débito cardíaco responsável pela perfusão da região esplênica e renal reduz de 50% em repouso para apenas 5% em exercício intenso. Em contraste, o músculo esquelético durante o exercício recebe cerca de 80 a 90% do débito cardíaco comparativamente aos 10 a 20% em repouso (POOLE; ERICKSON, 2008). Segundo Art et al. (1990), em cavalos de salto um aumento de volume globular (VG) e proteína plasmática total (PPT) foi observado após a realização do exercício, com isso demonstrando a influência do exercício sobre os constituintes sanguíneos. Os autores relataram que este achado foi menor quando comparado às outras modalidades de exercício máximo, sendo esse fato explicado pela incompleta contração esplênica associada à menor atividade simpática. Resultados semelhantes foram também obtidos por Lekeux et al. (1991).

O hemograma realizado no repouso e após o exercício são fundamentais uma vez que o exercício causa alterações no volume globular, devido à liberação de eritrócitos do baço na circulação, sendo o número de células liberadas relacionado com o aumento da atividade simpática que é proporcional à velocidade, intensidade e duração do exercício (SNOW, 1983), como também pela influência direta da população eritrocitária e as concentrações de catecolaminas (HODGSON; ROSE, 1994). O leucograma juntamente com o eritrograma de cavalos atletas em repouso recebeu ênfase na avaliação do condicionamento físico, especialmente a relação neutrófilos/linfócitos.

Uma relação neutrófilo: linfócito de 1,5:1 (60% de neutrófilos para 40% de linfócitos) foi considerada ideal, sendo indicada a utilização da relação neutrófilo/linfócito do hemograma de repouso como marcador hematológico de excesso de treinamento, alterações nessa relação são ligadas à liberação de cortisol devido ao estresse físico (HODGSON; ROSE, 1994).

Leucocitose moderada é induzida pelo exercício intenso. No cavalo a leucocitose associada ao exercício se deve ao aumento dos linfócitos e contagem variável de neutrófilos (CARLSON, 1987).

O exercício máximo de curta duração determina um influxo leucocitário oriundo da reserva esplênica levando a uma leucocitose moderada e diminuição da relação neutrófilo/linfócito. Isso ocorre porque a mobilização de leucócitos é mascarada pelo aumento concomitante da mobilização eritrocitária (SNOW, 1983). Essas alterações são transitórias, durando cerca de algumas horas. A seguir o número de linfócitos volta a baixar determinando assim o aumento da relação neutrófilo/linfócito coincidindo com o aumento do cortisol pós-exercício (HODGSON; ROSE, 1994).

3.7 Frequência cardíaca

A frequência cardíaca (FC) aumenta linearmente com a velocidade e intensidade do exercício até um valor máximo frequência cardíaca máxima (FC máx) em que atinge um platô mesmo que a velocidade continue a aumentar, O aumento da frequência cardíaca ocorre devido a uma estimulação do sistema nervoso simpático com o aumento na circulação de adrenalina e uma diminuição da estimulação parassimpática, (MARLIN; NANKERVIS, 2002).

Com o exercício a produção de CO₂ pelos músculos aumenta, que por sua vez aumentando a pressão de dióxido de carbono (pCO₂) venosa, desencadeando a elevação da frequência cardíaca e do débito cardíaco. A pressão de oxigênio (pO₂) venosa diminui quando é atingido o VO₂max, o que significa que os músculos estão a aumentar o consumo de oxigênio (BUHL, 2011). A frequência cardíaca é influenciada não só pelo aumento da necessidade de transporte de oxigênio, mas também pela temperatura corporal (BUHL, 2011), sendo um importante indicador de saúde do cavalo no momento do repouso. Num cavalo treinado a FC máx não se altera não sendo, por isso, determinante na capacidade atlética. Contudo, com o treino e o cavalo sendo submetido à diferentes intensidades de exercício, o animal consegue manter os valores da FC abaixo dos níveis máximos (POOLE; ERICKSON, 2008). Deste modo, o treino não leva a alterações nos parâmetros ventilatórios e, apesar de ocorrerem alterações em nível muscular e cardiovascular com o treino, há uma falta de adaptação em nível do sistema respiratório (POOLE; ERICKSON, 2008).

3.8 Marcadores bioquímicos de lesão muscular

3.8.1 Creatinoquinase, Aspartato aminotransferase e Lactato desidrogenase.

As lesões da musculatura esquelética são relativamente frequentes na clínica de equinos e seus sinais clínicos são inespecíficos. Geralmente, para o diagnóstico de tais afecções, são realizados exames laboratoriais complementares, como por exemplo, a determinação das atividades séricas de aspartato aminotransferase (AST) e creatinoquinase (CK) (CÂMARA; SILVA et al., 2007). O exercício induz mudanças reversíveis do músculo esquelético dos cavalos, como a elevação da permeabilidade do sarcolema e das proteínas musculares, tais como a mioglobina, creatinoquinase (CK) e a aspartato aminotransferase (AST) que são liberadas na circulação (THOMASSIAN et al., 2007).

No equino, a CK possui quatro isoenzimas, a CK-MM presente no músculo esquelético e cardíaco, a CK-BB presente no cérebro, a CK-MB encontrada somente no coração. Também, a CK-Mt, que é uma enzima mitocondrial responsável por 15% da atividade da CK cardíaca (KRAMER; HOFFMANN, 1997). O nível sérico da enzima CK é utilizado para avaliar efeito cardíaco e muscular sobre diferentes condições de estresse. Informações sobre o estado muscular durante exercícios podem ser obtidos pela mensuração da concentração de CK e seus níveis elevados estão correlacionados com o treinamento físico e podem refletir doenças musculares subclínicas (VOLFINGER et al., 1994; GONZÁLES; SILVA, 2003 ; PICCIONE et al., 2009). Assim níveis elevados de CK indicariam degeneração aguda do músculo, sendo um forte indício para diagnóstico de rabdomiólise (VALBERG, 2002). Segundo Cardinet III. (1997), os valores de CK podem variar com a atividade física, idade e sexo, indicando $12,9 \pm 5,2$ UI/L como referência para a espécie equina. Robsom, (2003) foi mais específico descrevendo valores de acordo com a raça e tipo de trabalho citando o intervalo de referência de 2- 147 UI/L para equinos da raça Puro Sangue Inglês e 18-217 UI/L para equinos no trote. No entanto, Pritchard, et al. (2009) registraram valores superiores, entre 123-358 UI/L não distinguindo raça.

A Aspartato amino transferase (AST), que catalisa a transaminação de L-aspartato e alfacetoglutarato em oxalacetato e glutamato, é encontrada em quase todos os tecidos, logo, a atividade sérica de AST não é específica para nenhum tecido, mas o músculo e o fígado podem ser considerados maiores fontes (SILVA et al., 2007). Porém um aumento dos níveis de AST pode ser causado por necrose e lesão subletal de hepatócitos e de células musculares e

sua mensuração é padrão para determinar os efeitos promovidos pelo exercício físico. O aumento contínuo dos níveis de AST vem sendo demonstrado em equinos já sobrecarregados e em treinamento (MURAKAMI; TAGAGI, 1974; THRALL et al., 2007). Considerado que o pico de AST ocorre de 24 a 48 horas após a lesão muscular, é importante coletar a amostra dentro deste período, pois sua concentração sérica reduz de maneira rápida acarretando num falso diagnóstico, se coletado no momento errado (CARDINET III, 1997; HARRIS, 2000). Em trabalho realizado por Seppa et al. (2009), utilizando animais que sofreram lesão após exercício intenso, foi observado que AST apresentou elevação mesmo após 24h do término do exercício. Os valores de referência para esta enzima na espécie equina variam consideravelmente. De acordo com Harris (2000), os valores oscilam de 58 a $161 \pm 16,2$ UI/L, em animais sem treinamento, e 48 a $456 \pm 75,4$ UI/L para animais em treinamento. No entanto Franciscato et al. (2006), não encontraram em seu experimento interferência da idade, sexo, gestação, repouso ou exercício, sob a concentração sérica desta enzima com valores de AST entre 179 e 210 UI/L.

A lactato desidrogenase (LDH) é a enzima responsável por catalisar a reação reversível de L-lactato para piruvato em todos os tecidos, estando presente em grande quantidade na musculatura esquelética. O aumento da atividade sérica desta enzima não é específico para lesão muscular (DUNCA; PRASSE, 1986; CARDINET III, 1997). Portanto é necessário utilizar outras enzimas como CK, para complementar o diagnóstico de lesão muscular ou até mesmo observar variações existentes em consequência do exercício físico dado ao aumento da permeabilidade citoplasmática (ERICKSON; POOLE, 2006; THRALL, 2006). Kaneko et al. (1997) obtiveram valores basais da atividade da LDH para equinos Puro sangue Inglês (PSI) de 252 ± 63 UI/L. Já Balarian et al. (2005), que também utilizaram equinos PSI, obtiveram valores de $374,05 \pm 67,07$ UI/L para machos e $360,85 \pm 73,70$ UI/L para fêmeas. Os autores observaram variação da atividade enzimática da LDH após o treinamento de corrida somente para fêmeas, registrando $433,83 \pm 176,32$ UI/L, variação que não foi encontrada após submeter os animais a exercício de atividade moderada.

As enzimas CK (sua fração MB), AST e LDH são sinalizadoras auxiliares de lesão muscular em equinos, mas que devem estar associadas a um exame físico prévio, a fim de se estabelecer de maneira mais precisa a causa e a extensão da lesão. Apesar do conhecimento sobre a meia vida destas enzimas na circulação, ainda são duvidosas as informações a respeito da atividade das mesmas, em diversas categorias de animais, submetidos a diferentes tipos e graus de exercícios (BAPTISTELLA, 2009).

3.9 Glicose

O efeito do exercício sobre a glicemia é variável. A glicose por si só não nos dá muitas informações sobre o metabolismo de carboidratos durante o exercício, de maneira que reflete o balanço entre a glicose sanguínea metabolizada para o suprimento energético durante a atividade física, com aquela suprida pela glicogenólise hepática. A produção e utilização apropriadas de energia são essenciais para o equino atleta e possuem função crítica para um bom desempenho sendo a glicose uma importante fonte de energia para a atividade muscular (GOMIDE et al., 2006)

Mudanças na produção de glicose ocorrem na dependência da glicemia e aporte de glicose plasmática aos tecidos, mediada pela glicogenólise e gliconeogênese hepática, influenciada pelo estado de condicionamento e intensidade, bem como pela duração do esforço (COGGAN, 1991; GREEN et al., 1995).

A glicogenólise é dominante na maioria dos exercícios, e é maior no começo e durante esforço de alta intensidade (COGGAN, 1991). A gliconeogênese aumenta com o prolongamento do esforço. A utilização de glicose plasmática aumenta com a intensidade do exercício devido ao aumento na utilização por cada fibra muscular e ao incremento no número de fibras musculares em atividade. As concentrações plasmáticas de glicose aumentam geralmente após exercícios máximos e submáximos de curta distância (SNOW; MaCKENZIE, 1977; ROSE et al., 1983).

3.10 Creatinina e ureia

A determinação sérica de ureia e creatinina são de grande importância para avaliação da função renal. Ao aumento de ureia e creatinina no sangue, dá-se à denominação de azotemia. Animais com azotemia, moderada à severa, podem apresentar uma variedade de sinais clínicos, incluindo letargia, anorexia e alterações na produção de urina (MOTTA, 2003). A creatinina plasmática é derivada, praticamente na sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular como energia, na forma de fosfocreatina. A presença de creatinina na circulação é um fator fisiológico uma vez que é um catabólito do metabolismo proteico. A ureia é produzida no fígado a partir da amônia liberada durante o catabolismo dos aminoácidos, A excreção da ureia e da creatinina é realizada por via renal por isso seus níveis

refletem a taxa de filtração renal (LARA et al., 1976; SCHOTT, 2000; ORTOLANI et al., 2002)

Segundo Kaneko, (1989) os valores de referência para creatinina em equinos estão compreendidos na faixa de 106 a 168 $\mu\text{mol/l}$, enquanto outros autores citam como valores de referência os inferiores a 2,0 mg/dl. Valores elevados de creatinina podem significar problemas agudos ou crônicos, e valores muito baixos podem significar distrofia muscular.

3.11 Radicais livres

Radicaís livres são moléculas ou átomos simples que possuem um elétron desemparelhado em sua órbita externa, o qual diminui sua estabilidade e aumenta sua reatividade com outras moléculas ou átomos, principalmente lipídios celulares, proteínas e bases nucleícas (MARLIN et al., 2002). Muitos estudos vêm demonstrando um aumento nos marcadores de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxil em sangue e tecidos humanos e de animais, durante e após a lesão muscular (PATTWELL, 2004; NIELS, 2005; ZHAO, 2004).

A presença do oxigênio é um componente essencial para o metabolismo celular porém, qualquer situação que ocorra excesso de consumo, como exercício aeróbico, fosforilação oxidativa, NAD(P)H e xantina oxidase, pode levar à produção (ERO) (KERKSICK; WILLOUGHBY, 2005). Existe uma variedade de ERO que interagem com membranas celulares e compostos citoplasmáticos, atrapalhando algumas funções, sendo estão envolvidas na etiologia de muitas patologias dos cavalos atletas, como fadiga muscular, intolerância ao exercício, injúrias musculares, articulares e doenças respiratórias (JANIAK et al., 2009).

As ERO desempenham funções de sinalizadores, ou seja, animais expostos frequentemente a exercícios (treinamento crônico) demonstram menores níveis de estresse oxidativo após exercícios intensos, em relação aos não treinados (GOMEZ-CABRERA et al., 2006). Dentre as ERO aparecem com maior destaque o ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2003). O radical superóxido (O_2^-) é o radical mais abundante na célula, sendo o primeiro a ser formado após a redução do O_2 e é gerado, por meio de cadeia transportadora de elétrons no interior da mitocôndria a sua produção envolve as enzimas NADPH redutase e citocromo redutase. Pode ser gerado na membrana de células fagocitárias como neutrófilos, monócitos e macrófagos para defesa

antibacteriana; neste caso a produção se dá devido a ativação da enzima NADPH oxidase que está presente na membrana das células.(GARCEZ et al., 2004; KARIHTALA; SONI, 2007; MANDELKER, 2008; VALDIVIA et al., 2009).

O radical superóxido é um radical de baixa reatividade, atuando na maioria das reações como agente redutor, porém como tem um potencial de gerar o radical peróxido de hidrogênio (H_2O_2) fica com um efeito tóxico. O H_2O_2 , após a reação com o íon ferro, forma o radical hidroxila (OH^\cdot) altamente reativo, que por sua vez reage de maneira rápida e inespecífica com qualquer estrutura que esteja próxima ao seu sítio de formação, podendo lesar DNA, lipídeos, proteínas e carboidratos (GARCEZ et al., 2004; NANDELKER, 2008). Além disso, inativa enzimas que contenham ferro ou enxofre e inicia peroxidação dos ácidos graxos poli-insaturados das membranas celulares. A toxicidade também está relacionada ao fato de reagir com compostos carbonílicos e carbonos halogenados, formando radicais mais reativos e nocivos ao organismo (TISDALE; MAHNOUD, 1983; GARCEZ et al., 2004; VALDIVIA et al., 2009).

3.12 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo (EO) ocorre quando a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) excede os mecanismos de defesa antioxidante do organismo animal (SPEARS; WEISS, 2008). Esta situação de EO traduz-se de forma imediata, na incapacidade de impedir ou reparar as repercussões nefastas das ERO sobre as estruturas celulares e ocorre em todos os seres biológicos, mesmo em repouso (MOTA et al., 2004). Células imunes são particularmente sensíveis ao estresse oxidativo por terem em suas membranas altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados que são muito susceptíveis à peroxidação. Além disso, estas células são grandes produtoras de ERO quando estimuladas (SPEARS; WEISS, 2008). Uma das consequências do estresse oxidativo mais importante é a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados das membranas celulares, mais conhecida como peroxidação lipídica, que provoca danos e impede a passagem de nutrientes, como proteínas e glicose, e diminui a capacidade de reação do sistema imunológico. A peroxidação lipídica pode ser quantificada através da mensuração do acúmulo de subprodutos resultantes desse processo, como o malondialdeído (MDA), que normalmente serve como índice da intensidade da ocorrência de tal reação (KERKSICK; WILLOUGHBY, 2005). Os eritrócitos possuem,

além da função de troca gasosa, mecanismos efetivos na desativação dos ERO produzidos em outros tecidos, representando assim, uma importante fonte antioxidante para o sangue.

O desbalanço no sistema antioxidante pode causar danos a todos os tipos de biomoléculas (DNA, proteínas, lipídios, e carboidratos) e ocasionalmente induzir a injúrias tissulares (LAUZON et al., 2006). Entretanto existem complexos sistemas de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos para proteger o organismo da injúria oxidativa (DEATON et al., 2002).

3.13 Defesa Antioxidante

Devido ao efeito tóxico das ERO, sobre o organismo do animal existe um eficiente sistema antioxidante dos quais alguns microminerais e vitaminas são componentes. O sistema possui antioxidantes lipossolúveis e hidrossolúveis, uma vez que estas estão presentes em diversos compartimentos celulares. Quando a capacidade antioxidante é limitada a vida útil das células imunológicas envolvidas no processo inflamatório é reduzida e a infecção pode se tornar mais grave (WEISS, 2005).

As enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx) provêm a defesa primária contra as EROs geradas durante o exercício, e a atividade destas enzimas aumenta em resposta ao exercício tanto em animais quanto no homem (JENKINS, 1988; JI e SEN, 1995).

A primeira enzima envolvida é a cobre e zinco superóxido dismutase (CuZn-SOD), que converte o ânion superóxido em peróxidos. A glutathiona peroxidase GSH-Px remove os peróxidos produzidos pela CuZn-SOD convertendo-os em água (VAZQUEZ-ANON et al., 2008). Embora a CAT esteja amplamente distribuída na célula, altas concentrações desta enzima são verificadas tanto nos peroxissomos como nas mitocôndrias (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989) e também removem peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A CAT requer o ferro como co-fator (DEATON; MARLIN, 2003) e, similarmente a outras enzimas antioxidantes primárias (GSHPx e SOD), é maior nas fibras musculares com elevada capacidade oxidativa e menor em fibras musculares com baixa atividade oxidativa (POWERS, 1994).

Estas enzimas atuam associadas a substâncias antioxidantes extraídas da dieta, como as vitaminas A, C e E, convertendo os agentes oxidantes em moléculas não tóxicas (JI, 1995; MASTALOUDIS et al., 2001; DRÖGE, 2002; URSO; CLARKSON, 2003). Além disso,

existem compostos que tem baixa atividade antioxidante, porém quando presentes em altas concentrações podem contribuir significativamente para a remoção dos radicais livres, como os aminoácidos, os peptídeos e as proteínas (DRÖGE, 2002).

A prevenção da geração de oxidantes ocorre principalmente dentro da cadeia respiratória mitocondrial, onde complexos enzimáticos limitarão fortemente o vazamento de elétrons. Além disso, as proteínas de ligação de ferro livre e de cobre, tais como a transferrina, ferritina, ceruloplasmina ou albumina, que favorecem os processos oxidativos, vão diminuir ainda mais a capacidade celular de geração de oxidantes (BECKMAN; AMES, 1998).

3.14 Superóxido Dismutase

A SOD catalisa a reação de dismutação do O_2^- em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2 . A primeira isoenzima a ser caracterizada foi a Cu/Zn-SOD, que também é chamada de SOD-1 que está inserido no citoplasma, núcleo e plasma e a forma mais abundante no organismo. A SOD-2 caracteriza-se por ter o manganês no seu grupo proteico, encontra-se no interior das mitocôndrias, local de maior consumo de oxigênio e logo maior liberação de radicais livres, por esse motivo esta isoforma é considerada a principal defesa antioxidante celular. (BORELLA; VARELA, 2004; KARIHTALA; SOINI, 2007). A superóxido dismutase extracelular SOD-3, contém Cu e Zn e possui um peptídeo sinalizador, que a direciona para o espaço extracelular. Diferentemente das SOD-1 e SOD-2 encontra-se em alguns tecidos com; endotélio vascular do músculo liso e células alveolares tipo II. (BORELLA; VARELA, 2004; VALDIVIA et al., 2009). A Cu/Zn-SOD é a principal isoforma envolvida na remoção dos ânions superóxido do citoplasma e, possivelmente, também do peroxissoma enquanto a função fisiológica da Mn-SOD parece proteger a mitocôndria dos superóxidos gerados durante a respiração celular. A forma Cu/Zn-SOD apresenta-se mais resistente às variações de temperatura e à desnaturação por substâncias como cloreto de guanidina, duodecil sulfato de sódio, ou ureia. As diferentes formas de SOD catalisam a mesma reação de dismutação do radical O_2^- (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Os efeitos antioxidantes da superóxido dismutase no estresse oxidativo sistêmico durante o exercício e inflamação local (líquido sinovial), foram recentemente determinados (LAMPRECHT, 2009). Estudos anteriores em ratos (RADAK et al., 1995) e humanos (ARENT et al., 2009, 2010) têm mostrado resultados benéficos, no entanto, esses estudos em

cavalos e não mostrou resultados semelhantes (ARENT et al., 2009, 2010). Recentemente, os efeitos de uma suplementação de superóxido dismutase oral em jogadores de futebol universitários (ARENT et al., 2010) e jogadores de futebol (ARENT et al., 2009) em pré-temporada determinou que o desempenho dos jogadores suplementados apresentou melhorias na potência de pico e baixou a degradação muscular, medido a partir da creatinaquinase.

Na tentativa de conter ou diminuir os efeitos do estresse oxidativo, que podem acontecer após o exercício, a atividade desta enzima que representa a primeira linha de defesa pode apresentar-se diminuída ou alterada dependendo da quantidade de radical superóxido que esteja sendo liberado. Trata-se de uma enzima essencial para a sobrevivência dos eritrócitos, devido à produção de radical superóxido durante a auto-oxidação da hemoglobina (HALLIWEL; GUTTERIDGE, 2001) e participação deste na formação de OH⁻, ERO de maior potencial lesivo (FRIDOVICH, 1975).

3.15 Sistema Glutationa

Entre todos os mecanismos que as células vermelhas possuem, o mais importante é o sistema da glutaciona, que consiste na glutaciona reduzida (GSH), glutaciona oxidada (GSSG) e nas duas enzimas funcionalmente relacionadas, a glutaciona peroxidase (GPX) e glutaciona redutase. Na presença de ERO, a forma reduzida é oxidada por ação da glutaciona peroxidase, diminuindo os níveis circulantes de GSH. Normalmente, esta forma oxidada é rapidamente reconvertida em GSH por ação da glutaciona redutase (JANIÁK et al., 2009). O sistema glutaciona é dependente de energia e influencia o metabolismo glicolítico eritrocitário, assim, a taxa de glicólise pela via das pentoses é regulada pela demanda de NADPH, produzido exclusivamente nesta via, e é inversamente proporcional à concentração de GSH (JACOB e JANDL, 1966). O NADPH, é utilizado pela glutaciona redutase (GSHRed) na redução do GSSG para a forma reduzida (GSH) (SEN, 1997)

A glutaciona reduzida (GSH), um tripeptídeo de ácido glutâmico, cisteína e glicina (SEN, 1997; KURATA et al., 2000) é sintetizada nos eritrócitos pelas enzimas g-glutamilcisteína-sintetase e glutaciona sintetase com consumo de ATP (HARVEY; SEN, 1997). Sua principal função é a manutenção dos radicais sulfidrilas (SH) da célula na forma reduzida (COSTAGLIOLA et al., 1985). O radical SH da cisteína é a porção reativa da GSH e atua como aceptor de elétrons (HARVEY; HOKAMA, 1997). A GSH é abundante e alterações em seus níveis, normalmente, refletem modificações musculares recentes. Porém, como é parte

importante do sistema antioxidante celular, responde prontamente ao treinamento, aumentando seus níveis celulares e conseqüentemente manifestando poucas alterações após o exercício (WILLIAMS et al., 2004).

A glutationa peroxidase (GPx) é uma enzima que catalisa a redução de H_2O_2 e hidroperóxidos orgânicos (ROOH) em H_2O e álcool, respectivamente, usando a glutationa reduzida (GSH) como doadora de elétrons que se transforma em glutationa oxidada (GSSG). A GPx é encontrada tanto no citoplasma como na matriz mitocondrial da célula (DRÖGE, 2002). Durante o funcionamento normal do sistema de defesa antioxidante, a glutationa reduzida (GSH) é utilizada pela GPx para detoxificar o H_2O_2 . Além disso, a enzima glutationa redutase converte o H_2O_2 à GSH, contribuindo também para a detoxificação do H_2O_2 (DRÖGE, 2002).

Sabe-se que exercícios intensos e de curta duração em equinos são capazes de aumentar os níveis de hemoglobina e hemácias. A GSH esta presente em grandes quantidades nas hemácias, alterações em seus níveis, normalmente, refletem modificações musculares recentes. Porém, como é parte importante do sistema antioxidante celular, responde prontamente ao treinamento, aumentando seus níveis celulares e conseqüentemente manifestando poucas alterações após o exercício (WILLIAMS et al., 2004). Segundo Kinnunem et al. (2005) foi demonstrado que maior quantidade de antioxidantes antes do exercício está associado com menor peroxidação lipídica 4 horas após o exercício e treinamento regular induz aumento da atividade da GPx muscular e a grandeza desse aumento é proporcional à intensidade e duração dos trabalhos. Em cavalos de trote foram evidenciados sinais de estresse oxidativo nos tecidos e eritrócitos de forma intensa (MILLS et al., 1996; DE MOFFARTS et al., 2004) assim como no exercício de enduro. Cavalos de enduro em corrida de 80 Km apresentaram valores elevados em 27% de glutationa peroxidase em eritrócitos, nas últimas etapas da corrida em ambos os grupos os suplementados com vitamina-E e o controle. Esse aumento reflete uma resposta por utilizar glutationa reduzida durante o processo de geração de radicais livres (WILLIAMS et al., 2004).

3.16 Substancias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) – Malondialdeído (MDA) como marcador de estresse oxidativo

A peroxidação dos componentes da membrana plasmática induzida pelo estresse oxidativo é prejudicial, porque leva a alterações nas propriedades biológicas da membrana.

Este fato é observado em exercícios de curta duração também. Esta ação deletéria dos radicais livres leva ainda à inativação de receptores de membrana e /ou enzimas, prejudicando a função celular normal e aumentando a permeabilidade do tecido (ABOU-SEIF; RABIA e NASR, 2000; DALLE- DONNE et al., 2006). Além disso, a peroxidação lipídica pode aumentar o dano celular através da geração de produtos oxidados, alguns sendo reativos, podendo reagir com proteínas, DNA e fosfolípidos, modificando suas propriedades além de gerar compostos estáveis que estão envolvidos na patogenia de várias doenças (DALLE- DONNE et al., 2006).

As ERO possuem uma meia vida curta, por isso os produtos de peroxidação lipídica por serem mais estáveis são utilizados como biomarcadores de estresse oxidativo, (LOCATELLI et al., 2003). O ensaio do malondialdeído (MDA) envolve derivação com o ácido tiobarbitúrico, sendo por isso chamado de determinação de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (LYKKESFELD; SVENDSEN, 2007). Segundo Esterbauer e Cheeseman, (1990), o MDA participa de reações com outras moléculas além do TBA.

A metodologia tradicional empregada para detecção das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é realizada por meio da mensuração espectrofotométrica da absorvância ou ainda a fluorescência. Durfinová et al. (2007) realizaram comparação entre o teste espectrofotométrico do TBA e o HPLC para análise do conteúdo do MDA utilizando como amostra um homogeneizado de tecido cerebral de ratos. O conteúdo de TBARS determinados espectrofotometricamente assim como as de complexo TBA-MDA estimado por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) foram similares. Como os eritrócitos circulam por todo o organismo a avaliação do estresse oxidativo eritrocitário, por meio da mensuração do MDA eritrocitário, pode ser utilizada como um índice de estresse oxidativo (MACHADO et al., 2007). Sendo já usada na espécie equina (CHIARADIA et al., 1998; WHITE et al., 2001; DEATON et al., 2002; MARLIN et al., 2002).

3.17 Avaliação da lipoperoxidação em equinos

Moffarts et al. (2004) demonstraram que o exercício pode influenciar significativamente sobre os marcadores antioxidantes em cavalos trotadores e observaram que marcadores, tanto hidrofílicos quanto lipofílicos podem sofrer processo adaptativo oriundo do treinamento e de acordo com a intensidade do exercício. Aumentos no MDA, óxido nítrico e monóxido de carbono, juntamente com diminuição da glutatona reduzida e enzimas

antioxidantes são encontrados no sangue de cavalos de corrida e após a atividade de salto (MARAÑÓN et al., 2008).

Em equinos realizando uma prova de 80km, não foi observado aumento de MDA, embora uma elevação de CK tenha sido encontrada, fato que foi atribuído a um aumento da ejeção para fora da célula devido a ocorrência de pequenas lises na membrana celular devido à peroxidação (ANTUNES, 2013). Por outro lado em equinos que realizaram a prova de enduro durante três dias percorrendo 210km no total, observou-se uma elevação de TBARS (GONDIM et al., 2009).

O aumento da concentração de TBARS após o exercício em equinos de salto foi observado em grupos suplementados com vitamina E. Isso foi observado em equinos submetidos a exercício em diferentes modalidades de esforço (AVELLINI, et al., 1999; WHITE, et al., 2001; SILVEIRA, 2005; MACHADO, 2006; MUÑOZ-ESCASSI, et al., 2006). O exercício é capaz de gerar radicais livres e peroxidação lipídica, bem como depende da intensidade da atividade de modo que a eliminação dos produtos da peroxidação lipídica é um processo lento (CHIARADI et al.,1998).

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Local da pesquisa

O teste físico foi executado no Centro de Treinamento Águas Pratas, Cidade de Resende- RJ e o material colhido foi processado e analisado no Laboratório de Pesquisa Clínica em Animais de Produção da UFRRJ, Laboratório de Patologia Clínica da UFRRJ e Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da UFRRJ.

4.2 Animais avaliados

Seis equinos atletas clinicamente sadios, com idade variando entre 6 a 10 anos, com peso médio de 400kg, da raça Quarto de Milha e mestiços, submetidos a regime de treinamento de 5 vezes por semana para prova de tambor, manejo alimentar à base de concentrado com ração peletizada comercial¹, (1kg para cada 100 kg de peso vivo) divididas em duas ou três refeições diárias, de conformidade com o regime de preparação (manutenção plena dos equinos preparados para tambor, fase inicial de treinamento e de adestramento) e forragem, constituída de pastagem Napier (*P. purpureum*) e feno (alfafa) - administradas em cochos, desedação com água tratada e encanada à vontade.

4.3 Avaliação clínica

Antes e após cada treino, os animais foram examinados quanto aos sinais de claudicação, lesões musculares ou lombares e avaliados os parâmetros vitais: coloração de mucosas, tempo de enchimento capilar (TEC em segundos), turgor cutâneo (TC), frequência cardíaca (FC, batimentos por minuto), frequência respiratória (FR, movimentos por minuto) e ausculta pulmonar e intestinal.

¹ Purina

4.4 Seções de treino

Os treinamentos foram realizados no período da manhã, com temperatura média de 25°C, consistindo em aquecimento inicial de 5 a 10 minutos em marcha leve a passo e andadura intermediária entre passo e trote; a seguir, condicionados a treinos específicos com três galopes de 400 metros nas velocidades de 6, 8 e 10 m/s.

4.5 Metodologia da execução

Os animais em experimento foram testados anteriormente com coleta de sangue para hemograma de rotina. Após a liberação dos mesmos houve uma simulação de prova de três tambores, após o aquecimento prévio, todos os seis animais foram submetidos a passadas nos Três Tambores. Todos os animais realizaram o exercício na mesma intensidade e nas mesmas condições ambientais.

4.5.1 Modelo experimental:

O estudo foi realizado mediante um delineamento em medidas repetidas, comparando-se diversos momentos após o exercício com os parâmetros colhidos com o animal em repouso.

4.5.2 Exercício executado

O treinamento foi executado de maneira ininterrupta, cada animal passou pelo processo de aquecimento, passando do trote para o galope e incluindo as passadas nos três tambores igualmente ocorre na prova oficial.

4.5.3 Momentos de coleta de amostras

As amostras de sangue, plasma e soro foram colhidas com os animais ainda em repouso (M1), imediatamente após o término do exercício (M2), quatro horas após o exercício (M3) e 24 h após o exercício (M4).

4.5.4 Coleta de amostras:

Coleta de amostras sanguíneas, foi realizada através de venopunção jugular em frascos à vácuo de 4,0ml², contendo anticoagulantes³ Amostras colhidas em tubos contendo heparina foram imediatamente submetidas à centrifugação (1200rpm/10minutos, 4°C), para obtenção do plasma, que foram aliqüotados em frascos para criopreservação 1,5 mL, rotulados e transportados em caixas de isopor com gelo até o laboratório na UFRRJ, onde foram estocadas em ultra freezer a – 80 °C até o momento do descongelamento para determinação de biomarcadores de radicais livres.

Amostras colhidas em frascos contendo (EDTA) foram transportadas em caixas de isopor com gelo até o laboratório na UFRRJ para realização de hemograma.

Amostras colhidas em frascos sem anticoagulante foram mantidas em repouso durante 30 minutos sob condições ambientais com temperatura média de 24 °C à sombra e, posteriormente centrifugadas à velocidade de 1500 rpm , durante cinco minutos, para a obtenção do soro que foram aliqüotados em frascos de 1,5 mL, rotulados e armazenados sob gelo para o transporte até o laboratório na UFRRJ, onde foram estocadas em freezer a – 20 °C até o momento do descongelamento para determinação bioquímica.

Para as análises de concentração de lactato e glicose as amostras do sangue coletadas em tubos contendo fluoreto de sódio foram imediatamente submetidas à centrifugação à velocidade de 1500 rpm, durante cinco minutos, aliqüotados em frascos de 1,5 mL, rotulados e armazenados sob gelo para o transporte até o laboratório, na UFRRJ, onde foram estocadas em ultra freezer a – 20 °C até o momento do descongelamento.

A papa de hemácias resultante foi ressuspensa, volume a volume com PBS, homogeneizada e novamente centrifugada, o procedimento foi repetido por três vezes. Após, a lavagem, algumas foram envasadas diretamente em frascos para criopreservação e outras foram diluídas com água milique para obtenção do hemolisado 1:20 e então envasadas em frascos para criopreservação de 2 ml, identificadas e em seguida congeladas em gelo seco para o transporte até o laboratório, na UFRRJ, onde foram estocadas em ultra freezer a – 80 °C até o momento do descongelamento para determinação de biomarcadores de radicais livres.

² Vacuette®

³ EDTA; fluoreto de sódio; heparina

4.6 Análises Laboratoriais

4.6.1 Hemograma

A determinação do hemograma foi realizada em dois momentos, no repouso e imediatamente após o exercício para verificar possíveis variações como desidratação através de hemoconcentração ou leucocitose fisiológica. A análise do hemograma foi feito através de leitura automática⁴ e após avaliação dos resultados, não foi evidenciada nenhuma alteração significativa e por isso ficou apenas sendo utilizado como ferramenta de triagem.

4.6.2 Glicose e Lactato

As determinações da concentração de glicose e lactato foram realizadas a partir das amostras plasmáticas empregando-se *Kits* comerciais⁵ pelo método cinético em espectrofotômetro⁶.

4.6.3 Enzimas séricas

Das amostras de soro, foram realizadas as determinações das concentrações de ureia (ensaio cinético em ultravioleta) e creatinina (método de ponto final), atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e creatinoquinase (CK) através de ensaio cinético em ultravioleta (SCHIMIDT; VON FOSTER, 1986) em analisador Bioquímico automático⁷.

4.6.4 TBARS - MDA

⁴ Poch- 100

⁵ Biosystems

⁶ A15: Biosystems

⁷ A15: Biosystems

A avaliação do estresse oxidativo foi realizada através da determinação dos produtos resultantes da peroxidação lipídica. Foram medidos os produtos resultantes da reação com o ácido tiobarbitúrico, conforme descrito por Wills (1966).

Amostras de 1000µL de hemolisado foram tratadas com 1000µL de ácido sulfossalicílico (3%), centrifugados por 11000 rpm/3 minutos, o sobrenadante foi retirado e neste foi acrescentado ácido tiobarbitúrico 0,67% foram incubados por 30 minutos a 80°C. Após o procedimento a absorbância do sobrenadante foi determinada em 535nm. Os resultados foram expressos em nM de malonaldeído (MDA) por grama de hemoglobina (nM/gHb) (FERREIRA et al., 1999).

4.6.5 Hemoglobina

A quantidade de hemoglobina (g/dL) foi determinada como fator de referência para estimar as atividades enzimáticas de antioxidantes do MDA. Foi utilizado Kit comercial⁸.

4.6.6 Enzimas antioxidantes

A atividade das enzimas SOD e GPx foi determinada utilizando-se kits comerciais (Glutathione Peroxidase ⁹; Superoxide Dismutase ¹⁰) e analisadas em leitor de microplacas com absorbância de 450 nm e 304 nm¹¹, respectivamente.

4.7 Análise Estatística

Para análise estatística, os dados de cada variável foram analisados quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro Wilk. Nos casos onde não se observou a distribuição normal, os dados foram transformados pela raiz quadrada e novamente submetida ao teste de Shapiro Wilk. Garantida a distribuição normal, estes foram então analisados pelo método de

⁸ Bioclin

⁹ Glutathione Peroxidase Assay Kit – Cayman – referência 703102

¹⁰ Superóxido Dismutase Assay Kit – Cayman – referência 706002

¹¹ Espectrofotômetro Termo Scientific© Uniscience Multiskan FC para leitura de Elisa

análise de variância para medidas repetidas, com 95% de significância, para avaliar as alterações ocorridas em cada parâmetro ao longo do tempo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação Clínica

Os animais participantes do experimento apresentaram todos os parâmetros vitais, nos quatro momentos de avaliação pré-determinados, dentro da normalidade e não foram constatadas lesões macroscópicas. (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros da avaliação clínica de equinos nos momentos M1, imediatamente antes do início da prova, M2, após o exercício, M3, após 4 h, e M4 após 24h do exercício

Parâmetro	M1	M2	M3	M4
Frequência respiratória	18,3 ± 1,96	46,3 ± 4,8	22,1 ± 6,2	19,1 ± 1,32
Frequência cardíaca	36 ± 6,9	111,3 ± 9,9	42,3 ± 13,8	36,8 ± 6,3
Tempo de preenchimento capilar	2 ± 0	1,5 ± 0,5	2 ± 0	2 ± 0
AP/AD	N	N	N	N
Mucosa/TC	N	N	N	N

N é normal; AP ausculta pulmonar e AD ausculta digestiva.

5.2 Avaliação bioquímica

O plasma sanguíneo representando uma fração do meio interno permite realizar dosagens dos constituintes bioquímicos, visto que estes podem ser obtidos por uma simples tomada de sangue em uma veia superficial.

O exercício representa um potente estímulo fisiológico para o eixo hipotálamo-pituitário adrenal. Esse eixo desempenha papel principal no ajustamento ao esforço e a concentração plasmática de cortisol é influenciada pela duração do exercício (VALBERG et al., 1989). Entretanto, a concentração plasmática induzida pelo exercício pode refletir as exigências fisiológicas de qualquer tipo de esforço (DESMECHT et al., 1996).

Quando o exercício ultrapassa os limites fisiológicos produz efeitos nocivos ao organismo. A produção de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (ERO) relacionada ao exercício é uma das consequências deste processo (JI, 1999), como demonstrado por Sjodin et al. (1990).

A avaliação bioquímica do estresse oxidativo é comumente realizada utilizando-se marcadores bioquímicos indiretos como líxios antioxidantes, enzimas antioxidantes e vitaminas (DE MOFFARTS et al., 2006). Em cavalos, numerosos experimentos têm sido realizados e também estudos a campo têm demonstrado que ocorrem mudanças oxidativas promovidas pelo exercício induzido, apoiando o uso racional de antioxidantes nas competições equestres (MILLS et al., 1996; DEATON et al., 2002; HARGREAVES et al., 2002; MARLIN et al., 2002; DE MOFFARTS et al., 2004, 2005).

Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão da atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase (AST), Creatinaquinase (CK), Lactato desidrogenase (LDH), creatinina e uréia e concentração plasmática de glicose e lactato de equinos praticantes de tãbor, nos momentos M1, imediatamente antes do início da prova, M2, após o exercício, M3, após 4 h, e M4 após 24h do exercício

	M1	M2	M3	M4	Valor P
AST (UI/L)	263,66 ± 26,39	270 ± 19,07	291,5 ± 24,14	283,33 ± 23,5	0,144
CK (UI/L)	229,2a ± 26,39	257,2 ab ± 29,8	278,2b ± 30,7	226 a ± 46	0,049
LDH (UI/L)	586 ab ± 108,7	661 b ± 65,11	620 ab ± 86	575 a ± 93,77	0,046
Creatinina (mg/dL)	0,95 a ± 0,07	1,43 b ± 0,58	1,08 a ± 0,42	1,16 a ± 0,20	0,042
Ureia (mg/dL)	39,17 ± 5,03	41,16 ± 3,18	42,5 ± 5,16	40,6 ± 4,22	0,1425
Glicose (UI/L)	76,5 ± 9,85	65,33 ± 15,01	80,33 ± 8,01	74,5 ± 6,41	0,1821
Lactato (mmol/L)	0,5 a ± 0,2	10,28 b ± 2,01	0,48 a ± 0,44	0,7 a ± 0,56	0,0001

Medias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si. $\alpha = 0,05$

5.2.1 Aspartato aminotransferase (AST), Creatinaquinase (CK) e Lactato Desidrogenase (LDH)

A determinação sérica da atividade da AST tem sido utilizada associada à CK e lactato desidrogenase (LDH) para a avaliação dos efeitos do exercício físico sobre a musculatura (CÂMARA; SILVA et al., 2007; VALBERG, 2008). A CK é uma enzima de extravasamento uma vez que é liberada das células musculares quando estas sofrem lesão. O que não está relacionado com lesão de miócitos, mas sim pelo fato do exercício induzir mudanças reversíveis do músculo esquelético dos cavalos, como a elevação da permeabilidade do sarcolema e das proteínas musculares, tais como a mioglobina, creatinaquinase (CK) e a aspartato amino transferase (AST) que são liberadas na circulação (THOMASSIAN et al., 2007) Além disso ocorre aumento da permeabilidade do sarcolema e mitocôndrias aumenta durante o exercício e LDH, CK e AST podem escoar para o plasma (VALBERG, 1996).

Assim, as concentrações de AST e CK poderiam ser influenciadas pela fase de treinamento e pelo tipo de exercício (CÂMARA; SILVA et al., 2007). Se a duração do exercício for mantida constante, a intensidade do mesmo determina o aumento de suas concentrações séricas (HARRIS et al., 1998).

Os resultados descritos na literatura são conflitantes com alguns autores citando influência positiva ou a não interferência do exercício sobre estas variáveis sanguíneas (ROSE et al., 1980, FREESTONE et al., 1991, BALARIAN et al., 2005; KOWAL et al., 2006; PALADINO et al., 2007).

A atividade sérica das enzimas AST, CK e LDH variou dentro do considerado fisiológico para a espécie (RADOSTITIS et al., 2002; HODGSON; ROSE, 1994; THOMASSIAN, 2007). Segundo Kaneko et al. (1997), os valores de referência da atividade sérica de AST variam de 226 a 366 UI/L. Já Rose e Hodgson, (1994) relatam valores variando entre 150 e 400 UI/L. Neste estudo, no M1 a atividade sérica de AST foi de 263,66 UI/L, entre os valores considerados normais por Kaneko et al. (1997), porém maior que os valores observados por Franciscato et al. (2006) que relataram valores de AST entre 73 e 382 UI/L. Esta enzima é encontrada nos hepatócitos, células musculares esqueléticas e cardíacas. No caso de lesão muscular o aumento ocorre de maneira mais lenta quando comparada a CK, tendo seus valores máximos entre 24 e 36 horas após a ocorrência da lesão. Porém mesmo ocorrendo um aumento dos valores de AST, não foi significativo para demonstrar lesão muscular uma vez que os níveis após 24 horas do exercício já se encontravam menores que na avaliação dos momentos anteriores e quase iguais aos do repouso. O exercício promove elevação dos valores de AST, com o pico da atividade enzimática ocorrendo entre 24 e 36 horas após o exercício. Este comportamento foi observado neste estudo, com o maior valor, 283,33 UI/L (Tabela 2), observado 24 horas após o exercício, porém sem diferença significativa em relação ao repouso ($P= 0,1444$). Esta elevação decorre de um aumento da permeabilidade das paredes celulares em decorrência da grande atividade muscular determinada pelo exercício (SICILIANO et al., 1997).

A amplitude desta variação vai depender da intensidade, tipo de exercício executado e condicionamento do animal (DA CÁS et al., 2000). Assim, durante o treinamento são observadas as maiores variações desta enzima, conforme relatado por Franciscato et al., (2006) que verificou amplitudes de 99 a 364 UI/L em cavalos crioulos em treinamento, contra variação de 73 a 288 UI/L para fêmeas em gestação. Sales, (2011), avaliando cavalos de enduro, observou valores de $313 \pm 67,48$ UI/L com os animais em repouso e $455 \pm 88,87$

UI/L após a prova de 90 km, evidenciando a importância da intensidade do exercício na taxa de atividade desta enzima. Em casos de rabdomiólise exercicional, a atividade sérica desta enzima aumenta dramaticamente, cerca de 24 horas após o exercício, com valores da ordem de 3600 UI/L, e permanece elevada por dias (KNOEPFLI, 2002). Já McEwen e Hullan, (1992) relataram valores superiores a 10.000 UI/L em cavalos com rabdomiólise.

Neste estudo a atividade sérica da enzima CK no M2 apresentou-se elevada 257,2 UI/L indicando que houve aumento da carga de trabalho (Tabela 2), porém o maior valor foi no M3 com valores de 278,2 UI/L apresentando diferença significativa em relação ao repouso (M1) 229,2 UI/L (P= 0,049). Esse comportamento está corroborando com estudo de Thral, (2006) aonde a atividade de CK atinge seu valor máximo de 6 a 12 horas após a lesão muscular aguda, com os valores retornando ao normal de 24 a 48 horas após a ocorrência e recuperação da lesão.

Martins et al. (2008) acompanharam os efeitos do treinamento. Para tal, alguns animais passaram por um longo período de preparação, sendo posteriormente submetidos a uma prova de enduro de aproximadamente 40 km. Os resultados encontrados para a atividade sérica de CK após 6 horas do final do exercício foram mais elevados (189 ± 62 UI/L), Segundo os autores esta foi uma elevação discreta, apesar de demonstrar significância. Ainda ressaltaram que o aumento da atividade enzimática encontrada não indicou lesão muscular. Tyler-McGowan et al. (1999) observaram que o treinamento pode levar a adaptações músculo-esqueléticas, mas elevações das atividades de AST e CK podem aparecer associadas a dor muscular, fadiga e baixa performance. Segundo Toledo et al. (2001) ocorre aumento da atividade sérica de CK após exercícios intensos. O aumento da atividade sérica de CK foi relacionado com a permeabilidade de membrana aumentada devido à hipóxia que se desenvolve durante o exercício.

Animais mal condicionados fisicamente apresentarão hipóxia em trabalhos de baixas intensidades e, conseqüentemente, maiores concentrações da enzima em relação àqueles animais bem condicionados (MILNE, 1976; SNOW; MACKENZIE, 1977; MILNE, 1982; SEECHERMAN; MORRIS, 1990). A creatina-quinase não entra na corrente sanguínea diretamente depois da sua liberação pelas células musculares, mas transita através da linfa pelo líquido intersticial. Um aumento de três a cinco vezes dos valores fisiológicos máximos para a espécie equina na atividade de CK plasmática corresponde a miólise aparente de aproximadamente 20 g de músculo (CORNELIUS; BURNHAM, 1963).

5.2.2 Glicose

Os valores da glicose variaram dentro do fisiológico para a espécie equina apresentando valores entre 76,5 UI/L e 74,5 UI/L (tabela 2). Martins et al. (2005) citaram valores de glicemia em cavalos da raça Árabe no repouso de 86,9mg/dL atingindo 116,3mg/dL 30 minutos após o exercício. Gordon et al. (2007) citaram como valores de referência no jejum o intervalo entre 80-95mg/dL. Nadeau et al. (2006) registraram o intervalo de 59,8-82,0mg/dL para equinos da raça Morgan e de 66,6-87,6mg/dL para equinos da raça Puro Sangue Inglês.

Neste estudo, no M1 os valores de glicose 76,5 UI/L encontram-se dentro dos limites superiores do intervalo de referência descrito por Robinson, (2003) para a espécie equina (75,0-115,0 mg/dL). Porém no M2 foi observado um decréscimo do valor glicêmico 65,33 mg/dL como também citado por Kerber e Trindade, (2003), provavelmente pela assimilação da glicose pelos músculos durante atividade física. A fonte primária de glicose para o músculo é a circulante no sangue, seguida por pequenas quantidades de glicose livre no sarcoplasma e glicogênio estocado nas células musculares. O fígado é uma grande fonte de glicogênio fora do músculo e libera glicose na corrente sanguínea durante o esforço (MACLEAY, 2004).

As mudanças nas concentrações de glicose plasmática indicam estímulo para a glicogênese hepática (ROSE; HODGSON, 1994). Segundo Coogan (1991) a glicogenólise é dominante na maioria dos exercícios, e é maior no começo e durante esforço de alta intensidade como o avaliado neste estudo. A taxa de gliconeogênese é maior com o prolongamento do esforço, Paladino et al. (2007) testou cavalos de corrida submetidos a overtraining e não foram detectadas alterações nos níveis de glicose entre os animais saudáveis e os hipoteticamente acometidos. Como consequência das catecolaminas circulantes frente ao exercício físico, há a redução na liberação de insulina e o aumento de glucagon circulante (McKEEVE, 2002; HYYPPÄ, 2005), que somados a ação do cortisol, promovem um efeito hiperglicemiante. O aumento da glicemia no exercício foi descrito em trabalhos de Gordon et al. (2007) e Ferraz et al. (2010), trabalhando com equinos em diferentes intensidades de atividade física. Freestone et al. (1991) e Orozco et al. (2007) comprovaram, além do aumento da glicemia, uma redução concomitante dos valores séricos de insulina. Entretanto, na presente pesquisa, essa hiperglicemia pós-exercício não foi observada, no M3 os valores apresentaram uma elevação para 80 UI/L, porém não apresentou diferença significativa em relação ao repouso ($P= 0,1821$). Lopes et al. (2009) relataram

aumento significativo da glicose sérica em cavalos após realização da prova de vaquejada. Teixeira e Pádua, (2002) também reportaram aumento significativo da glicemia em cavalos da raça Puro Sangue Inglês após prova de corrida com valores maiores que os descritos no presente trabalho (entre 92,12 mg/dL e 107,88 mg/dL).

Segundo Rose et al. (1983), a velocidade e duração do exercício são os fatores mais importantes para alteração na concentração de glicose. Spinha et al. (2001) realizaram estudos com equinos PSI e observaram que os valores médios dos teores séricos de glicose sofreram elevação nos diferentes tipos de exercício, sendo proporcional a intensidade do esforço físico. Segundo Tadich et al. (1997), verificaram que os equinos não acostumados ao exercício apresentam variações sanguíneas, mas eles retornam aos seus níveis de referência uma vez que animal se adapta ao exercício. A glicose plasmática tende a reduzir durante esforços prolongados (maiores que três horas), enquanto que naqueles de curta duração, tanto o aumento quanto a diminuição já foram relatados, dependendo da intensidade do exercício, da nutrição e do condicionamento do cavalo (PÖSO et al., 2004). A regulação da glicemia durante o exercício é mediada principalmente por controle hormonal. O aumento na liberação de glicose hepática associada ao exercício é predominantemente mediada pela diminuição da relação insulina:glucagon, enquanto que a taxa de consumo e utilização pelo músculo são moderadas pelo aumento da epinefrina circulante (PÖSO et al., 2004).

5.2.3 Lactato

Os valores basais de lactato plasmático oscilam no repouso entre 0,5-1,0 mmol/L, segundo McGowan, (2008) em cavalos de corrida. Neste estudo, o M1 apresentou valores considerados fisiológicos para a espécie 0,5mmol/L (Tabela 2). Segundo Gomide et al. (2006) a determinação plasmática de lactato após o exercício permite determinar o nível de esforço físico ao qual os animais foram submetidos, bem como determinar o preparo dos referidos animais para realizar o exercício imposto. O lactato se difunde dos músculos para o sangue, sendo assim, a concentração de lactato no sangue ou no plasma reflete a produção muscular (HINES, 2003).

Com o início do exercício, há uma enorme aceleração na velocidade de quebra do glicogênio do músculo (glicogenólise), na absorção de glicose e na quebra de glicose (glicólise) (BROOKS; FAHEY, 1984). O lactato se acumula no sangue em função da velocidade do exercício e tem sua concentração bastante elevada quando próxima do final do

exercício, indicando grande contribuição da glicólise anaeróbica para produção de energia (MORRIS, 1992; DAVIE; EVANS, 2000). O aumento dos valores plasmáticos de lactato é esperado pós qualquer tipo de exercício, pois todas as fontes de energia são ativadas (MCGOWAN, 2008).

Porém, este aumento é dependente principalmente da intensidade e da duração do mesmo (Santos, 2006). Este comportamento foi observado neste estudo com maior valor no M2 com valores de 10,28 mmol/L apresentando diferença significativa em relação ao repouso ($P= 0,0001$). Esta elevação ocorre porque houve predominância da produção de energia por via anaeróbica láctica, visto que os valores foram superiores a 4 mmol/L, caracterizado como o limiar anaeróbico (GOMIDE et al.,2006; KOWAL et al., 2006; TATEO et al., 2008). O aumento de ADP local pode causar diminuição de performance por fadiga muscular, sendo o principal impedimento para a continuidade do trabalho (HARRIS, 1998) Porém não foi evidenciada lesão muscular por causa da elevação dos valores até 10,28 mmol/L. Segundo Pösö, (2002) os valores tem que estar acima de 30 mmol/L para que ocorra declínio do pH sanguíneo, em consequência da falha no clearance do lactato acumulado, levando a acidemia, fadiga muscular e a miopatia. Associa-se a tal fato, uma musculatura não adaptada à intensidade de exercício imposto. Após corrida ou esforço submáximo, as concentrações séricas podem atingir até 25-30mmol/L (McGOWAN, 2008).

Segundo Luna (1993) os exercícios de baixa intensidade com duração de um longo período de tempo, foram mais eficazes em provocar a secreção adrenocortical que uma maior intensidade da carga de trabalho por um período mais curto. A hiperlactatemia persistente pode refletir que a via da glicólise aeróbica foi estimulada pela adrenalina ao invés de hipóxia (JAMES et al., 1999). Este fato não foi observado neste estudo, uma vez que os valores de lactato no M4 já estavam dentro do fisiológico 0,7mmol/L segundo McGowan (2008), e próximos aos do repouso M1 0,5 mmol/L. De uma forma geral, o aumento da concentração de lactato plasmático poderá ser usado para indicar a capacidade atlética do cavalo visto que animais que apresentam grande capacidade aeróbia geralmente têm baixas elevações das concentrações de lactato em resposta ao exercício ou apresentam uma clearance mais eficiente (VABERG, 2008).

5.2.4 Creatinina e ureia

A ureia assim como a creatinina sérica, sofrem influências de condições pré-renais, como intensa atividade ou alteração muscular e também, devido à hipovolemia que leva à diminuição da filtração glomerular (FOREMAN; FERLAZZO, 1996).

Segundo Kaneko, (1989) os valores de referência para creatinina em equinos estão compreendidos na faixa de 106 a 168 mol/L, enquanto outros autores citam como valores de referência os inferiores a 2,0 mg/dl. De acordo com Hodgson e Rose, (1994) valores na ordem de 24 a 48 mg/dL de ureia estão dentro do limite fisiológico. A formação da ureia é uma reação que requer a utilização de energia, e ocorre quase que exclusivamente no fígado. A taxa de formação da ureia depende da taxa de catabolismo protéico. A atividade sérica desta enzima neste estudo esteve dentro do fisiológico apresentando valores de 39,17 mg/dL no M1(tabela 2). Um aumento na concentração da ureia sanguínea pode refletir tanto uma aceleração no catabolismo protéico, quanto uma diminuição na sua excreção urinária (FOREMAN; FERLAZZO, 1996). E este comportamento foi observado neste estudo com maior valor no M3, nas 4h após o exercício com valores de 42,5 mg/dL (Tabela 2), porém não apresentando diferenças significativas quando comparado ao repouso ($p = 0,1425$) e além disso após as 24 horas no M4 já estavam apresentando valores mais próximos do repouso novamente 40,5 mg/dL. A creatinina é produzida a partir da decomposição de creatina, um composto nitrogenado utilizado por células musculares para armazenar energia. A concentração sérica de creatinina varia de acordo com a síntese de creatina e a quantidade de tecido do músculo do animal (STOCKHAM, 1995). Por esse motivo seu aumento é fisiológico (LARA et al.,1976; SHOTT, 2006; ORTOLANI et al., 2002). Este comportamento foi observado no M2 com valor de 1,42mg/dL (tabela 2) apresentando diferenças significativas em relação ao repouso ($P= 0,042$). Este aumento após o exercício também foi constatado por (HODGSON; ROSE, 1994; PICCIONE et al., 2008) assim como, ocorreu em cavalos árabes acometidos por rabdomiólise (EL-DEEB; EL-BAHR 2010). O aumento da concentração da creatinina nos momentos M2, imediatamente após o exercício, até M4 nas 24h após o exercício, considerando que os cavalos exercitados mantiveram uma função renal normal demonstra que o exercício anaeróbico de curta duração, como o efetuado neste estudo, eleva a creatinina urinária por aumentar o catabolismo da fosfocreatina (PCr) durante sua execução (KUROSAWA et al; TURGUT et al., 2003; MENDE et al 2004; VOLEK et al., 2004) uma vez que, neste tipo de exercício a energia necessária é fornecida pelo sistema ATP-CP, resultando na maior produção de creatinina. A creatinina é usada como marcador da massa muscular, por ser o local de maior estocagem de creatina (TAES et al., 2003; CHUNG

et al., 2003). Além disso, indica que a concentração de creatinina pode aumentar conjuntamente com a massa muscular e exercício (SCHIMID; VONFORSTNER, 1986). A fadiga no exercício aeróbio está mais relacionada à depleção de glicogênio, hipertermia e desequilíbrio eletrolítico, enquanto que no anaeróbio, como no presente estudo, os fatores mais importantes são a depleção de ATP e creatina fosfato, sendo a creatinina um produto da degradação desta no músculo (MACLEAY, 2004).

5.3 Dano oxidativo e controle antioxidante

5.3.1 Concentração de TBARS - MDA

O malondialdeído (MDA) é um dos produtos finais da peroxidação lipídica que ocorre como consequência do estresse oxidativo induzido pelo exercício físico. (DEATON; MARLIN, 2003; RADAK et al., 2008; SUN et al., 2010) Como os eritrócitos circulam por todo o organismo a avaliação do estresse oxidativo eritrocitário, por meio da mensuração do MDA eritrocitário, pode ser utilizada como um índice de estresse oxidativo (MACHADO et al., 2007). Os valores de MDA obtidos por Michima et al. (2004) foram na ordem de 0,90nmol/L. Neste estudo no M1 os valores foram de 0,39nmol/gHb (Tabela 3), o que foi considerado fisiológico para a espécie. As modificações das membranas celulares decorrentes da peroxidação lipídica são causadas por superprodução de ERO e isso pode ser uma das causas de miopatia induzida por exercícios e hemólise dos cavalos (CHIARADIA et al., 1998; MARLIN et al., 2002). O aumento dos níveis de MDA serve como um marcador de estresse oxidativo e da intensidade do exercício. Neste estudo, verificamos no M2 com valores de 1,02 nmol/gHb que apresentaram diferenças significativas em relação ao repouso ($p = 0,0058$). Este mesmo comportamento foi relatado em cavalos de corrida puro-sangue após exercício de pista, sem alterações significativas 30 minutos após repouso (KEDZIERSKI et al., 2009). Em outro estudo, realizado em cavalos de corrida puro-sangue (WHITE et al., 2001) demonstraram concentrações de MDA significativamente elevadas minutos após a corrida.

Estes dados evidenciam que a intensidade do exercício pode ser um fator importante no estresse oxidativo. O retorno aos níveis basais da concentração de MDA, também é um parâmetro que pode ser influenciado pelo tipo de exercício e intensidade do mesmo. Este estudo os valores no M3 eram 0,4 nmol/gHb, semelhantes aos valores basais, já Avellini et al. (1999) relataram que as concentrações plasmáticas de MDA permaneceram

significativamente elevadas após 24h em cavalos de corrida após o ensaio de potência máxima, e Chiaradia et al. (1998) relataram concentrações plasmáticas de MDA significativamente elevadas 18 horas após o exercício em cavalos de corrida. Todos estes autores trabalharam com atividade de explosão e velocidade. Quando analisamos os resultados obtidos por autores que trabalharam com atividades de resistência, verificamos que concentrações elevadas de MDA plasmático foram encontrados 14 dias após uma corrida de resistência em cavalos de corrida (Al-QUADAH; Al-MAJALI, 2008).

Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão da concentração eritrocitária de TBARS/MDA, superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) em de equinos praticantes da prova dos três de tambores, nos momentos M1, imediatamente antes do início do jogo, M2, após o exercício, M3, após 4 h, e M4 após 24h do exercício

	M1	M2	M3	M4	P
TBARS/MDA (nmol/g Hb)	0,39 a ± 0,19	1,02 b ± 0,69	0,44 a ± 0,26	0,22 a ± 0,09	0,0058
SOD (U/L)	2,860 ± 0,88	2,377 ± 1,26	2,883 ± 0,44	2,533 ± 0,579	0,7421
GPx (mmol/mL)	40,89 a ± 17,61	36,78 a ± 17,46	36,81 a ± 21,96	64,18 b ± 25,75	0,0420

Medias seguidas das mesmas letras, ou sem elas não diferem estatisticamente entre si. $\alpha = 0,05$

5.3.2 Superóxido Dismutase (SOD)

Para avaliar o sistema de defesa antioxidante endógeno, tanto a defesa antioxidante enzimático e não enzimático precisam ser analisados ao mesmo tempo. Embora vários estudos têm relatado mudanças na atividade enzimática de SOD e CAT após o exercício de resistência aguda, os resultados permanecem controversos (N EUBAUER et al., 2008)

Neste estudo os valores de SOD variaram dentro dos limites fisiológicos de acordo com estudo feito por Takahashi, et al. (2012). A atividade de SOD no M1 apresentou valores de 2,86 UI/L. O valor mais baixo observado foi no M2 2,37 UI/L (Tabela 3), porém não foi observada diferença significativa quando comparadas com o repouso (P= 0,7421). Corroborando com este estudo, nem sempre ocorre aumento da atividade da SOD após o exercício, como por exemplo, ao término de um programa de treinamento de oito semanas de ciclismo de intensidade moderada em indivíduos não treinados (TIIDUS et al., 1996) e em indivíduos treinados para competir em provas de corrida (TAULER et al., 1999). Segundo Takahashi et al. (2012) os valores encontrados de SOD não apresentaram diferença estatística

significativa mesmo quando foram comparados diferentes intensidades de exercício de enduro apresentando valores de 4,60 UI/L no repouso e 3,79 UI/L imediatamente após o exercício de alta intensidade.

5.3.3 Glutationa Peroxidase (GPx)

Com a liberação de ERO a glutatona reduzida é oxidada por ação da GPx. Neubauer et al. 2008 em estudo informou recentemente que GPX no sistema de defesa antioxidante enzimático pode ser altamente responsivo para os exercícios de resistência em geral, e para o exercício a uma elevada intensidade, particularmente. Neste estudo no M1 foram encontrados valores de 40,8 mmol/ml. Em estudo de Takagashi et al. 2012 em atividades de GPx no plasma foram elevados imediatamente e após 30 min exercício, em comparação com pré-exercício, no ensaio de alta intensidade e houve um aumento significativo na atividade plasma GPX imediatamente após o exercício no julgamento de média intensidade. Esse fato não ocorreu neste estudo, que apresentou seus maiores valores no M4 64,18 mmol/mL (Tabela 03), apresentando diferenças significativas quando comparado com o repouso ($P= 0,0420$). Este comportamento foi relatado por Avellini et al. 1995 que retratou que a atividade da enzima GPx se altera após 24 horas de treinamento e não por causa do exercício físico intenso. A atividade de GPx que catalisa a oxidação da glutatona reduzida GSH se alterou indicando que houve ativação do sistema antioxidante celular. A GSH é abundante e alterações em seus níveis refletem modificações musculares recentes, porém como respondem ao treinamento seus níveis celulares aumentam manifestando poucas alterações após o exercício (WILLIAMS et al., 2004).

6. CONCLUSÃO

O exercício físico anaeróbico mesmo sendo rápido promoveu peroxidação lipídica e estresse oxidativo, que foi comprovado com a avaliação de MDA. Apesar da alteração nas enzimas musculares, não houve lesão muscular significativa fato que foi comprovado com a bioquímica CK, AST e LDH. O dano oxidativo foi controlado pelo sistema antioxidante.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Imunologia Celular e Molecular**. 4. ed. Rio de Janeiro : Revinter, 2003.

ABQM. Associação Brasileira dos Criadores de Cavalo Quarto de Milha. A Raça. Disponível em: <http://www.abqm.com.br>. Acesso em junho de 2012.

ABQM. Associação Brasileira dos Criadores de Cavalo Quarto de Milha. Disponível em: <http://www.abqm.com.br>. Acesso em junho de 2012.

ALLEN, D. G.; LAMB, G. D.; WESTERBLAD, H. Skeletal Muscle fatigue: cellular mechanisms. **Physiology Review**, v.88, p.287-332, 2008.

AL-QUADAH, KM.; AL-MAJALI, AM. Higher lipid peroxidation indices in horses eliminated from endurance race because of synchronous diaphragmatic flutter (Thumps). **Journal of Veterinary Science**, v.28, p.573-578, 2008.

ANDERSON, M.G. The Influence of Exercise on Serum Enzyme Levels in the Horse, **Equine Veterinary Journal**, v.7, n.3, p.160-165, 1975.

ARABADJIS, P. G.; TULLSON, P. C.; TERJUNG, R. L. Purine nucleoside formation in rat skeletal muscle fiber types. **American Journal Physiology**, Baltimore, v. 264, p.1246-1251, 1993.

ARENT, S.M.; DAVITTD, P.; D.L.GOLEM; C.A. WILLIANSW; K.H. MCKEEVER; JAOUHARI. C. The effects of a post-workout nutraceutical drink on body composition, performance, and hormonal and biochemical responses in Division 1 college football players. **Comp. Exercise Physiology**, v.6, p.73-80, 2009.

ARENT, S.M; J.K. PELLEGRINO, C.A; WILLIAND, D; DI FABIO; J.C. GREENWOO. Nutritional supplementation, performance, and oxidative stress in college soccer players. **Journal Strength Conditional Research**, 2010.

ART, T.; AMORY, H.; DESMECHT, D.; LEKEUX, P. Effect of show jumping on heart rate, blood lactate and other plasma biochemical values. **Equine Veterinary Journal Supplement**, v.9, p.78-82, 1990.

AVELLINI, L.; SILVESTRELLI M.; GAITI A. Training-induced modification in some biochemical defences against free radicals in equine erythrocytes. **Veterinary Research Communication**, v.19, p.179-184, 1995.

BALARIN, M.R.S.; LOPES, R.S.; KOHAYAGAWA, A. et al . Avaliação da glicemia e da atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gama-glutamyltransferase e lactato desidrogenase em equinos puro sangue inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Seminário Ciências Agrárias**, v.26, p.211–218, 2005.

BALOGH, N. et al. Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of Pentathlon horses before and after exercise. **Veterinary Clinical Pathology**, v.30, p.214-218, 2001.

BAPTISTELLA, M.F. Atividade Sérica das Enzimas Aspartato Aminotransferase, Creatinoquinase e Lactato Desidrogenase em Equinos Submetidos a Diferentes Intensidades de Exercício. **Anuário de Produção de Iniciação Científica Discente**, Anhanguera Educacional S.A., v.12, n.13, 2009.

BASSETT, Jr.; D.R.; NAGLE P.W.M.; AGRE, F.J.; NAGLE, J.C.; SAMPEDRO, R. Rate of decline in blood lactate after cycling exercise in endurance-trained and untrained subjects. **Journal of Applied Physiology**, v.70, p.1816-1820, 1991.

BECKMAN, K. B.; AMES, B. N. Detection and quantification of oxidative adducts of mitochondrial DNA. **Methods Enzymology**, v.264 p.442–453, 1996.

BENETTI, M. et al. Cinética do lactato em diferentes intensidades de exercícios e de concentração de O₂. **Revista Brasileira Medicina Esporte**, v.6, n.2, 2000.

BLACK, J.B. The Western Performance Horse: How to Select the Right One for the Job. **American Association Equine Practitioners**. Disponível em: www.aaep.org.

BONEN, A. The expression of lactate transporters (MCT1 and MCT4) in heart and muscle. **European Journal of Applied Physiology**, v.86, p.6–11, 2001.

BORELLA, M.L.L.; VARELA, Q. D. Antioxidantes enzimáticos. In: SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: Ulbra, p. 14-33, 2004.

BRAUGHLER, J. M. Calcium and lipid peroxidation in: HALLIWELL, B. (Ed.) Oxygen radicals and tissue injury, **Federation of American Societies for Experimental Biology**, Bethesda, p.94-104, 1988.

BROOKS, G. A.; McCLELLAND, G. B. Changes in MCT 1, MCT 4, and LDH expression are tissue specific in rats after long-term hypobaric hypoxia. **Journal of Applied Physiology**, v.92, p.1573-1584, 2002.

BROOKS, G.A.; FAREY, T.D. **Exercise physiology: Human Bioenergetics and its Applications** N.Y, Macmillan, p.189-215,701-712, 1984.

BROOKS, G.A.; STANLEY, W.C.; GERTZ E.W.; WISNESKI J.A.; NEESE R.A.; MORRIS D.L. Lactate extraction during net lactate release in legs of humans during exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.60, n.4, p.1116-1120, 1986.

BUHL, R. Cardiac response to exercise – the athlete’s heart. Proceedings of the 12th International Congress of the World Equine Veterinary Association – **WEVA**, Hyderabad, India, 2011.

CÂMARA E SILVA, L.A.; DIAS, R.V.C.; SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em equinos de diferentes categorias de atividade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n.1, p.250-252, 2007.

CARDINET III, G. H.; FOWLER, M. E.; TYLER, W. S. The effect of training exercise and tying up on serum transaminase activities in the horse. **American Journal Veterinary Research**, Chicago, v. 24, p. 980-984, 1963.

CARDINET, G.H.; LITTRELL, J.F.; FREELAND, R.A.; Comparative Investigations of Serum Creatine Phosphokinase and Glutamic-Oxaloacetic Transaminase Activities in Equine Paralytic Myoglobinuria, **Research Veterinary Science**, v.8 p.219-226, 1967.

- CARDINET, G.H. Skeletal muscle function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W. BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of domestic animals**. 5th ed. London: Academic Press, p.407-440, 1997.
- CARLSON, G.P. Hematology and body fluids in the equine athlete: a review. In: GILLESPIE J.R.; ROBINSON N.E. (eds.) **Equine Exercise Physiology 2**. Davis: ICEEP Publications, p. 393-425, 1987.
- CAYADO, P.; MUÑOZ-ESCASSI, B.; DOMÁ-NGUEZ, C. et al. Hormone response to training and competition in athletic horses. **Equine Veterinary Journal**, v.36, p.274-278, 2006.
- CHIARADIA, E.; AVELLINI, L.; RUECA, F.; SPATERNA, A.; PORCIELLO, F.; ANTONIONI, MT et al. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses, **Comp Biochemical Physiology**, v.119, p.833-836, 1998.
- CHIN, E.R.; LINDINGER, M.I.; HEIGENHAUSER, G.J. Lactate metabolism in inactive skeletal muscle during lactacidosis. **American Journal Physiology**, v.261, p.98-105, 1991.
- CHUNG, Y.L.; WASSIF, W.S.; BELL, J.D.; HURLEY, M.; SCOTT, D.L. Urinary levels of creatine and other metabolites in the assessment of polymyositis and dermatomyositis. **Rheumatology**, (Oxford), v.42, n.2, p. 298-303, 2003.
- CLARKSON, P. M.; EBBELING, C. Investigation of serum creatine kinase variability after muscle damaging exercise. **Clinical Science**, London, v.75, p.275-261, 1988.
- COGGAN, A. R. Plasma glucose metabolism during exercise in humans. **Sports Medicine**, Auckland, v.11, p.102-124, 1991.
- CONNETT, R.J; GAUESKI, T.E.J.; HONIG, G.R. Lactate accumulation in fully aerobic working dog gracilis muscle. **American Journal of Physiology**, v.246, p.120-128, 1984.
- CORNELIUS, C. E.; BURNHAM, L. G.; HILL, H. E. Serum transaminase activities of equine thoroughbred racehorses in training. **Journal American Veterinary Medical Association**, p.142- 639, 1963.

CORREA, K.S.; MATTOSO, C.R.S.; TEIXEIRA DA SILVA, C.F.G.K.; LAGOS, M.S.; TAKAHIRA, R.K.; LOPES, R.S. Enzimas musculares e eletrólitos em equinos submetidos a esforço físico prolongado, suplementados com acetato de tocoferol e selênio. **Veterinaria e Zootecnia**, v.1, n.17, p.85-93, 2010.

COUROUCÉ, A. Endurance and sprint training. In: CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE, 1998, Cordoba, Espanha. **Anais...** The Netherlands: Wageningen Pers, p.190-202, 1998.

COSTAGLIOLA, C., T.; LIBONDI, M.; MENZIONE, E.; RINALDI, G. AURICCHIO . **Vitamin E and red blood cell glutathione Metabolism**, v.34, p.712-714, 1985.

DA CÁ, E.L.; ROSAURO, A.C.; SILVA, C.A.M.; BRASS, K.E. Concentração sérica das enzimas creatinoquinase, aspartato aminotransferase e dehidrogenase láctica em equinos da raça Crioula. **Ciência Rural**, v.30, p.625-629, 2000.

DALLE-DONE, I.; ROSSI, R.; COLOMB, R.; GIUSTARINI, D.; MILZANI, A. Biomarkers of Oxidative Damage in Humam Disease. **Clinical Chemistry**, v.52, n.4, p. 601-623, 2006.

DAVIE, A.J.; EVANS, D.L. Blood Lactate responses to submaximal field exercise tests in thoroughbred horses. **Veterinary Journal**, v.159, p.252-258, 2000.

DEATON, C. M.; MARLIN, D. J.; ROBERTS, C. A. SMITH, N.; HARRIS, P.A.; KELLY F.J.; SCHROTER, R. C. Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. **Equine Veterinay Journal**, New Market, v.34, p.58-62, 2002.

DEATON, C. M.; MARLIN, D. J. Exercise-associated oxidative stress. **Clinical Technique Equine Practice**, Santa Barbara, v.2, n.3, p.278-291, 2003.

DEATON, C. M.; MARLIN, D. J. Exercise-associated oxidative stress. **Clinical Technique Equine Practice**, Santa Barbara, v.2, n.3, p.278-291, 2003.

DE MOFFARTS, B.; KIRSCHVINK, N.; ART, T.; PINCEMAIL, J.; MICHAUX, J.; CAYEUX, K.; DEFRAIGNE, J.O. and LEKEUX, P. Impact of training and exercise intensity on blood antioxidant markers in health standarbred horses. **Equine and Comparative Physiology**, v.1, p.211-220, 2004.

DEL MAESTRO, R.F. An approach to free radicals in medicine and biology. **Acta Physiology Scand**, v.492, p.153-168, 1980.

DENADAI, B.S. Limiar anaeróbico: Considerações Fisiológicas e Metodológicas. **Revista Brasileira de Atividade Física e saúde**, v.2, p.74-88, 1995.

DESMECHT, D.; LINDEN, A.; AMORY, H.; ART, T.; LEKEUX, P. Relationship of plasma lactate production to cortisol release following completion of different types of sport events in horses. **Veterinary Res. Commun**, v.20, p.371-379, 1996.

DONAVAM, C.M; BROOKS, G.A. Training affects lactate clearance, not lactate production. **American Journal Physiology**, v.244, p.83-92, 1983.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiology Review**, v.82, n.1, p.47-95, 2002.

DUNCAN, J. R.; PRASE, K. W. Veterinary medicine clinical pathology. 2. ed., Iowa: Iowa State University Press, p.175-179, 1986.

DURFINOVÁ, M.; BRECHTLOVÁ, M.; LISKA, B.; BAROSKÁ, Z. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determination of lipid peroxidation products in rat brain tissues. **Chemical Papers**, v.61, n.4, p.321-325, 2007.

EADES, SC.; BOUNOUS. DI. **Laboratory profiles of equine diseases**. St. Louis: Mosby, p.7-11, 1997.

EATON, M.D. Energetics and performance. In: HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia: Saunders, p.49-62, 1994.

EL-DEEB W.M; EL-BAHR S.M. Investigations of selected biochemical indicators of equine rhabdomyolysis in Arabian horses: Pro inflammatory cytokines and oxidative stress markers. **Veterinary Res Commum**, v.8, n.34, p.677-89, 2010.

ERICKSN, H.H.; POOLE; FRANCISCATO, C.; LOPES, S.T.A.; VEIGA, A.P.M.; MARTINS, D.B.; EMANUELI, M.P.; OLIVEIRA, L.S.S. Atividade sérica das enzimas AST,

CK e GGT em cavalos Crioulos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.10, p.1561-1565, 2006.

ESTEBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products. Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in enzymology**, v.186, n.42, p. 407-421, 1990.

EVANS, D.L.; GOLLAND L.C. Accuracy of accusport for measurement of lactate concentrations in equine blood plasma. **Equine Veterinary Journal**, v.28, n.5, p.398-402, 1996.

EVANS, D. L. Overview of Equine Exercise Physiology and Biochemistry. In: EVANS, D. L. (Ed.) Training and Fitness in Athletic Horses. **Rural Industries Research and Development Corporation**, cap.2, p.10-32, 2000.

FERNANDES, W. R. Alterações dos Parâmetros do Eletrocardiograma e da Crase Sanguínea em Equinos das Raças Árabe e Mangalarga, bem como Mestiços, submetidos à Prova de Enduro. 73f. **Tese (Doutorado)**- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

FERRAZ, G. C.; D'ANGELIS, F. H. F.; TEIXEIRANETO, A. R.; FREITAS, E. V. V.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Blood lactate threshold reflects glucose responses in horses submitted to incremental exercise test. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.256-259, 2008.

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA NETO, A. R.; LACERDA NETO, J. C.; PEREIRA, M. C.; QUEIROZ-NETO, A. Respostas ao exercício de intensidade crescente em equinos: alterações na glicose, insulina e lactato. **Ciência Animal Brasileira (UFG)**, v.10, p.1334-1340, 2009.

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; PEREIRA, M. C.; LINARDI, R. L.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Influencia do treinamento aerobico sobre o cortisol e glicose plasmaticos em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v.62, n.1, p.23-29, 2010.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres; Conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.43, n.1, p.61-68, 1997.

FINCO, D. R. Kidney function. In: Kaneko, J. J. Ed. Clinical biochemistry of domestic animals 4th ed. San Diego: **Academic Press**, p.496-542, 1989.

FITTS, R. H. Cellular mechanisms of muscle fatigue. **Physiology Reviews**, Baltimore, v.74, p.49-94, 1994.

FLOHÉ, L, GÜNZLER, WA: **Métods Enzymology**, n.105, p.114-121, 1989.

FOREMAN, J. H.; FERLAZZO, A. **Physiological responses to stress in the horse**. Pfrdeheilkunde, v.12, n.4, p.401-404, 1996.

FRANCISCATO, C.; LOPES, S.T.A.; VEIGA, A.P.M.; MARTINS, D.B.; EMANUELI, M.P.; OLIVEIRA, L.S.S. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT 36 em cavalos Crioulos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.10, p.1561-1565, 2006.

FREI, B. Molecular and biological mechanisms of antioxidant action. **FASEB Journal**, v. 9, n.13, p. 963-964. 1999.

FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutases. **Annal Review of Biochemistry**, v.44, p.147-157, 1975.

GARCEZ, M.; BORDIN, D.; PERES. W.; SALVADOR, M. Radicais Livres e Espécies Reativas. In: SALVADOR, M.; HENRIQUES, J.A. **Radicais Livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: Ulbra, p.14-33, 2004.

GASTELL, P.; ALEJO, J. Métodos para medir el daño oxidativo. **Revista Cubana Medica Militar**, v.3, n.29, p.192-198, 2000.

GEOR, R.J.; HINCHCLIFF, K.W.; SAMS, R.A. β -Adrenergic blockade augments glucose utilization in horses during graded exercise. **Journal Applied Physiological**, v.89, p.1086-1098, 2000.

GLADDEN, L.B. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. **Journal Physiology**, v.558, p.5-30, 2004.

GOMEZ-CABRERA, M.; MARTÍNEZ, A.; SANTANGELO, G.; PALLARDÓ, F.V.; SASTRE, J; VINÃ, J. Oxidative stress in Marathon runners: Interest of antioxidant supplementation. **British Journal Nutricional**, v.96, n.1, p.31-33, 2006.

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

GONDIM, F. J. Determinação do limiar metabólico individual de lactato e estudo do estresse oxidativo em equinos de enduro. **Tese (mestrado)** – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 1999.

GONDIM, F.J.; ZOPPI, C.C.; SILVEIRA, L.R.; PEREIRA DA SILVA, L.; MACEDO, D.V. Possible relationship between performance and oxidative stress. **Clinical Tech. Equine Practice**, v.2, n.3, p.278-291, 2003.

GONZÁLES, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 198p., 2003.

GORDON, M. E.; MCKEEVER, K. H.; BETROS, C. L.; MANSO FILHO, H. C. Exercise-induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin and cortisol in horses. **The Veterinary Journal**, v.173, n.3, p.532-540, 2007.

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. **The Veterinary Quartely**, v.29, p.82-101, 2007.

GREEN, H.J.; JONES, S.; BALL-BOURNET, M.; FARRANCE, B.; RANNEY, D. Adaptations in muscle metabolism to prolonged voluntary exercise and training. **Journal Applied Physiology**, Bethesda, v.78, p.138-145, 1995.

GUERRERO, N.; RUIZ, M.; BARBERENA, E.; DEHESA, A.; FAINSTEIN, M.; Daño ADN y niveles de radicales libres en fibroblastos de ratones jóvenes y viejos. **Revista Cubana Investig Biomedical**, v.2, p.109-116, 2003.

GÜVEN, M.; ÖZTÜRK, B.; SAYAL, A.; ÖZET, A. Lipid Peroxidation and Antioxidant System in the Blood of Patients with Hodgkin's Disease. **Clinical Biochemistry**, v.33, n.3, p.209-212, 2000.

HALESTRAP, A.P.; PRICE, N. T. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. **Biochemical Journal**, v.343, p.281-299, 1999.

HALESTRAP, A.P.; MEREDITH, D. The SLC16 gene family from monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond. **Pflugers Archive**, v.447, p.619-628, 2004.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. Iron toxicity and oxygen radicals. In: Clarendon Press, **Free radicals in biology and medicine**. 2^a ed., Oxford, p.86-123, 1989.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.C In: Oxford University Press, **Free radicals in biology and medicine**, 3^a ed., New York, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M. **Free Radicals in Biology and Medicine**. New York: Oxford University Press, 851p., 2007.

HARGREAVES, B.J.; KRONFELD D.S; WALDRON J.N; GAY, L.S; SAKER, K.E; COOPER W.L.; SKLAN D.J.; HARRIS P.A. Antioxidant status of horses during two 80 Km endurance races. **Journal Nutrition**, n.132, p.1781-1783, 2002.

HARRIS, E.D. Regulation of antioxidant enzymes. **FASEB Journal**, v. 6 p. 2675-2683, 1992.

HARRIS, P.A.; HARRIS, R.C. Nutritional ergogenic aids in the horse – uses and abuses. In: CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE, Cordoba, Espanha. **Anais...** The Netherlands: Wageningen Pers, p.203-218, 1998.

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

- HARRIS, A. Enfermidades Musculoesquelética,. In: REED, S. M. **Medicina interna equina**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan. p.320-367, 2000.
- HARVEY, J.W. The erythrocyte: physiology, metabolism, and biochemical disorders. In: KANEKO, J.J. et al. Clinical biochemistry of domestic animals. San Diego: **Academic Press**, Cap.7, p.157-203, 1997.
- HARVEY, J.W. et al. Methemoglobinemia and eccentrocytosis in equine erythrocyte flavin adenine dinucleotide deficiency. **Veterinary Pathology**, Washington, v.40, p.632-642, 2003.
- HENRY, D. H. Guidelines and recommendations for the management of anaemia in patients with lymphoid malignancies. **Drugs**, v. 67, n.2. P. 175-194, 2007.
- HIGGINS, A. J.; SNYDER, J. R. The equine manual. **Elsevier Saunders**, London, UK, 2006.
- HINCHCLIFF, K. W.; McKEEVER, K. H.; MUIR, W. W.; SAMS, S. Furosemide reduces accumulated oxygen deficit in horses during brief intense exertion. **Journal Applied Physiology**, Bethesda, v. 81, p.1550-1554, 1996.
- HINES M. T. Clinical assessment to poor performance. In: REED, S.; BAYLY, W.; McEACHERN, R. B.; SELLON, D. **Equine Internal Medicine**. 3.ed. St. Louis: Saunders, 2nd ed., p.163-168, 2003.
- HODGSON, D.R., ROSE, R.J. Hematology and biochemistry. In: HODGSON, D.R.;ROSE, R.J. The Athletic Horse: **Principle and Practice of Equine Sports Medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, p.63-78, 1994.
- HOKAMA, N.K.; MATSUBARA, L.S.; MACHADO, P.E.A. Fisiologia eritrocitária e hemólise. **Jornal Brasileiro de Medicina**, Rio de Janeiro, v.72, p.19-32, 1997.
- HOPPER, M. K.; PIESCHI Jr, R. L.; PELLETIER, N. G.; ERICKSON, H. H. Cardiopulmonary effects of acute blood volume alteration prior to exercise. In: PERRSON, S. G. B.; LINDHOLM, A.; JEFFCOTT, L. B., **Equine exercise physiology** (3.ed.), Davis, ICEEP Publications, p.9-16, 1991.

HYYPPÄ, S.; PÖSÖ, A. R. Fluid, electrolyte, and acid-base responses to exercise in racehorses. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, v.14, p.121-136, 1998.

JACOB, H.S.; JANDL, J.H. Effect of sulfhydryl inhibition on red blood cells. *The Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v.241, p.4243- 4250, 1966.

JAMES, J.H. et al. Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis. *Lancet*, v.354, p.505-508, 1999.

JANIAK, M; SUSKA, M; DUDZINSKA, W; STOTNICKA, E. Blood glutathione status and activity of glutathione-metabolizing antioxidant enzymes in erythrocytes of young trotters in basic training. *Journal Animal Physiology Animal Nutritional*, v.94, p.137- 145, 2009.

JENKINS, R. R. Free radical chemistry: Relationship to exercise. *Sports Medicine*, Auckland, v.5, p.156-170, 1988.

JI L. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. *Exercise Sport Science*, v.23, p.135-166, 1995.

JI, L. L. Exercise and oxidative stress: Role of the cellular antioxidant systems. In: HOLLOSZY, J. O., (Ed.) *Exercise sport science reviews*. Baltimore, MD: Williams; Wilkins, p.135-166, 1995.

JI, L.L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, v.222, p.283-292, 1999.

JOHNSON, P.J.; GOETZ, T.E.; FOREMAN, J.H.; ZACHARY, J.F. *Journal American Veterinary Medical Association*, v.206, p.837-841, 1995.

KANEKO, J.J. Appendixes. In: KANEKO, J.J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4.ed. San Diego: Academic Press, p.877-901, 1989.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.) *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5. ed. San Diego: Academic Press, p.932, 1997.

KARIHTALA, P.; SOINI, Y. Reactive Oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. **APMIS**, v.155, n.2, p.81-103, 2007.

KEARNS, CF.; McKEEVER, KH.; JOHN-ALDER, H. et al. Relationship between body composition, blood volume and maximal oxygen uptake. **Equine Veterinary Journal**, v.34, p.485-490, 2002.

KEDZIERSKI, W.; BERGEERO, D.; ASSENZA, A. Trends of hematological and biochemical values in the blood of young race horses during standardized field exercise tests, **Acta Veterinaria**, Belgrade, v.59, p.457-466, 2009.

KERBER, C. E.; TRINDADE, A.A. Faça a Coisa Certa! **Manual Prático para Interpretação de Exames Laboratoriais**. São Paulo: Paddock Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, n.1, p.22, 2003.

KERKSICK, C.; WILLOUGHBY, D. The antioxidant role of glutathione and n-acetylcysteine supplements and exercise induced oxidative stress. **Journal International Society Sports Nutrition**, v.2, n.2, p.38-44, 2005.

KINNUNEN, S.; ATALAY, M.; HYYPÄ, S.; LEHMUSKERO, A.; HÄNNINEN, O.; OKSALA, N. Effect of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horses. **Journal Sports Science Medical**, v.4, p.415-421, 2005.

KITAOKA, Y.; WAKASUGI, Y.; HOSHINO, D.; MUKAI, K.; HIRAGA, A.; HATTA, H. Effects of high-intensity training on monocarboxylate transporters in Thoroughbred horses. **Comparative Exercise Physiology**, v.6, p.171-175, 2010.

KNIGHT, P. K.; RAY, S. P.; ROSE, R. J. Effects of phlebotomy and autologous blood transfusion on oxygen transport in the racehorse. **Equine Veterinary Journal**, New Market, v.30, p.143-147, 1999.

KNOEPFLI, A.B. External rhabdomyolysis in a 4-year-old standard-bred filly. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.43, p.293-295, 2002.

KOBAYASHI, M. Simple lactate measurement in horses using a portable lactate analyzer with lancet skin punctures under field conditions, **Journal Equine Science**, v.18, n.1, p.5-11, 2007.

KOWAL, R.J.; ALMOSNY, N.R.P.; CASCARDO, B.; SUMM, R.P.; CURY, L.J. Avaliação dos valores de lactato e da atividade sérica da enzima creatina quinase (2.7.3.2) em cavalos (*Equus caballus*) da raça Puro-Sangue-Inglês (PSI) submetidos a teste de esforço em esteira ergométrica. **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v.13, n.1, p.13-19, 2006.

KRAMER, J.W.; HOFFMANN, W.E. Clinical Enzymology. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th ed. London: Academic Press, p.303-325, 1997.

KURATA, M.; SUZUKI, M.; AGAR, N.S. Glutathione regeneration in mammalian erythrocytes. **Comparative Haematology International**, London, v.10, p.59-67, 2000.

KUROSAWA, Y.; HAMAOKA, T.; KATSUMURA, T.; KUWAMORI, M.; KIMURA, N.; SAKO, T., et al. Creatine supplementation enhances anaerobic ATP synthesis during a single 10 sec maximal handgrip exercise. **Molecular & Cellular Biochemistry**, v.244, n.1-2, p. 105-112, 2003.

LACOMBE, V.A.; HINCHCLIFF, K.W.; TAYLOR, L.E. Interactions of substrate availability, exercise performance and nutrition with muscle glycogen metabolism in horses. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 223, n.11, p.1576-1585, 2003.

LAMPRECHT, E.D. Inflammatory and oxidative stress responses and antioxidant status of horses undergoing intense exercise and nutritional supplementation. **Doctoral Thesis**. Rutgers, the State University of New Jersey. New Brunswick, NJ., 2009.

LARA, A. L.; SERAFIM, I. M. R.; RIEGEL, R. E. Alguns fatores de influência nos níveis fisiológicos de ureia e creatinina em ovinos e bovinos submetidos a regime extensivo de criação. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v.6, n.2, p.223-229, 1976.

LAUZON, K.; ZHAO, X.; LACASSE, P. Deferoxamine reduces tissue damage during endotoxin-induced mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.89, n.10, p.3846-3857, 2006

LEKEUX, P.; ART, T.; LINDEN, A.; DESMECHT, D.; AMORY, H. Heart rate, hematological and serum biochemical responses to show jumping. **Equine Exercise Physiology**, v.3, p.385-390, 1991.

LINDHOLM, A.; BJERNELD, H. and SALTIN, B. Glycogen depletion pattern in muscle fibres of trotting horses. **Acta Physiology Scandinava**, n.90, p.475-484, 1974.

LINDINGER M.I. Lactate: Metabolic fuel or poison for racehorses? **Exp. Physiology**, v.96, p.261, 2011.

LINDSAY, W. A.; MCDONELL, W.; BIGNELL, W. Equine postanesthetic forelimb lameness: Intracompartmental muscle pressure changes and biochemical patterns. **American Journal Veterinary Research**, v.41, p.1919-1924, 1980.

LOCATELLI, F.; CANAUD, B.; ECKARD, K. U.; STENVINKEL, P.; WANNER, C.; ZOCCALI, C. Oxidative stress in end-stage renal disease: An emerging threat to patient outcome. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v.18, n.7, p. 1271-1280, 2003.

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

LUNA, S. P. L. Equine opioid, endocrine and metabolic responses to anesthesia, exercise, transport and acupuncture. **Doctoral thesis**, Cambridge University, Cambridge, 1993.

LUNA, S. P. L. Equilíbrio Ácido-Básico. In: Apostila da Disciplina de Anestesiologia Veterinária do Curso de Medicina Veterinária da FMVZUNESP- Botucatu, p.1- 22, 2002.

LYKKESFELD, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease : Oxidative stress in farm animals. **Veterinary Journal**, v.173, p. 502-511, 2007.

MACHADO, P.E.A. Fisiologia eritrocitária e hemólise. **Jornal Brasileiro de Medicina**, Rio de Janeiro, v.72, p.19-32, 1997.

MACLEAY, J. M. Diseases of the musculoskeletal system. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M; SELLON, D. C. **Equine Internal Medicine**. 3. ed., St. Louis: W. B. Saunders Company, p.461- 522, 2004.

MALIS, C. D.; BOVENTRE, J. V. Susceptibility of mitochondrial membranes to calcium and reactive oxygen species: implications for ischemic and toxic tissue damage. **Progress Clinical Biological Research**, v.282, p.235-259, 1988.

MANDELKER, M.; Introduction to Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.38, n.1, p.1-30, 2008.

MARAÑÓN, G.; MUÑOZ-ESCASSI, B.; MANLEY, W.; GARCÍA, C.; CAYADO, P.; MUELA, M.S.; OLÁBARRI, B.; LEÓN, R.; VARA, E. The effect of methyl sulphonyl methane supplementation on biomarkers of oxidative stress in sport horses following jumping exercise. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.50, n.45, p.01-09, 2008.

MARLIN, D.J., FENN, K.; SMITH, N.; DEATON, C.D.; ROBERTS, C.A.; HARRIS, P.A.; DUNSTER, C.; KELLY, F.J. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. *Journal Nutritional*, v.132, n.6, p.1622-1627, 2002.

MARLIN, D.; NANKERVIS, K. J. *Equine Exercise Physiology*. Wiley-Blackwell, 2002.

MARTINS, C.B.; OROZCO, C. A. G.; D'ANGELIS, F. H. F.; FREITAS, E. V. V.; CHRISTOVAO, F. G.; QUEIROZ NETO, A.; LACERDA NETO, J. C. de. Determinacao de variáveis bioquímicas em equinos antes e apos a participacao em provas de enduro. *Revista Brasileira de Ciencia Veterinaria*, v.12, n.1/3, p.62-65, 2005.

MARTINS, C.B.; OROZCO, C.A.G.; D'Angelis, F.H.F.; FREITAS, E.V.V.; CHRISTOVÃO, F.G.; QUEIROZ NETO, A.; LACERDA NETO, J.C.; Determinação de variáveis bioquímicas em equinos antes e após a participação em prova de enduro. *Revista brasileira de Ciências Veterinária*, v.12, n.1/3, p.62-65, 2008.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. *Bioquímica Básica*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 360 p., 1999.

MASAKI et al. Effects of different intensities of endurance exercise on oxidative stress and antioxidant capacity. *Journal Physiology Fitness Sports Medicine*, v.1, n.1, p.183-189, 2012.

MASTALOUDIS A, LEONARD SW, TRABER MG. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology Medicine*, v.31, n.7, p.911-22, 2001.

McEWEN, S. A.; HULLAND, T. J. Histochemical and morphometric evaluation of skeletal muscle from horses with exertional rhabdomyolysis (tying up). *Veterinary Pathology*, Washington, v.23, p.400-40, 1986.

McGOWAN, C. Clinical pathology in the racing horse: The role of clinical pathology in assessing fitness and performance in the racehorse. *Veterinary Clinical North America, Equine Practice*, v.24, p.405-421, 2008.

McKEEVER, HH.; HINCHCLIFF, KW.; REED, SM. et al. Role of decreased plasma volume in hematocrit alterations during incremental treadmill exercise in horses. *American Journal Physiology*, v.265, p.404-408, 1993.

MENDES, R. R.; PIRES, I.; OLIVEIRA, A.; TIRAPEGUI, J. Effects of creatine supplementation on the performance and body composition of competitive swimmers. *Journal Nutricional Biochemistry*, v.15, p.473-478, 2004.

MEREZHINSKAYA, N.; FISHBEIN, W. N. Monocarboxylate transporters: Past, present, and future. *Histology and Histopathology*, v.24, p.243-264, 2009.

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

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

MICHIMA, L.E.S.; YONEZAWA, L.A.; MIRANDOLA, R.M.S.; FERNANDES, W.R. Viability of different conservation methods of samples for malondialdehyde determination in racing standardbred horses. Proc. XI Congress of the International Society of Animal. *Clinical Biochemistry*, Chile, p.11, 2004.

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

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

MILNE, D.W. Effects of Training on Biochemical Values in Standardbred Horses. **American Journal of Veterinary Research**, v.37, n.3, p.285- 290, 1976.

MILNE, D. W. Biochemical Parameters for Assessment of Conditioning in the Horse. Proceedings of the Twenty Eighth Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (**AAEP**). Atlanta, Georgia, p.49-53, 1982.

MOREL, Y.; BAROUKI, K. Repression of gene expression by oxidative stress. **Biochemistry Journal**, v.342 p.481-496, 1999.

MOTA, M. P.; FIGUEIREDO, P.; DUARTE, J.A. Teorias biológicas do envelhecimento. **Revista Portuguesa Ciência Desporto**, v.1, n.4, p.81-110, 2004.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o laboratório** – Princípios e interpretação. 4. ed. Porto Alegre. Editora Médica Missau, p.419, 2003.

MUÑOZ, A.; SANTISTEBAN, R.; RUBIO, MD. et al. Locomotor, cardiocirculatory and metabolic adaptations to training in Andalusian and Anglo-Arabian horses. **Research Veterinary Science**, v.66, p.25-31, 1999.

MUÑOZ-ESCASSI, B.; MARAÑÓN, G.; MANLEY, W.; SÁNCHEZ DE LA MUELA, M.; RIBER, C.; CASTEJON, F.; LEÓN, R.; GARCIA, C.; VARA, E. Exercise-induced changes on lipid peroxides and antioxidant enzyme level changes in plasma of show jumping and dressage horses. In: **Internacional Conference on Equine Exercise Physiology**, p.68-74, 2006.

MURAKAMI, M.; TAKAGI, S. Effects of continuous long distane running exercise on plasma enzyme levels in horses. **Experimental Reports of Equine Health Laboratory**, Tokyo, v.11, p.106-118, 1974.

NADEAU, J. A.; FRANK, N.; VALIPE, S. R.; ELLIOT, S. B. Blood lipid, glucose, and insulin concentrations in Morgan horses and Thoroughbreds. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.26, n.9, p.401-405, 2006.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**, W. H. Freeman and Company, New York, NY, 2005.

- NELSON, D. L.; COX, M. M. Lipid biosynthesis. In: Lehninger: **Principles of Biochemistry**. 5. ed., New York: W.H Freeman and Company, p.805-850, 2008.
- NIELS, B.J.; VOLLAARD, J.; SHEARMAN, P. Exercise-Induced oxidants Stress, **Sports medicine**, v.35, p.1045-1062, 2005.
- ONO, K.; INUI, K.; HASEGAWA, T. et al. The changes of antioxidative enzyme activities in equine erythrocytes following exercise. **Nippon Juigaku Zasshi**, v.52, p.759-765, 1990.
- ORTOLANI, E. L.; GONZÁLEZ, F. H. D.; BARROS, L.; CAMPOS, R. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina). In: CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, Rio Grande do Sul. **Anais do curso realizado no 29º Congresso Nacional de Medicina Veterinária**. Gramado – Rio Grande do Sul, Brasil. Gramado: UFRGS, p.48, 2002.
- PADALINO, B. et al. Training versus overtraining: Evaluation of two protocols. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.27, n.1, 2007.
- PARINANDI, N. L.; ZWIZINSKI, C. W.; SCHMID, H. H. O. Free radical induced alteration of Myocardial membrane proteins. **Archive Biochemistry Biophysics**, v.289, p. 118- 123, 1991.
- PATTWELL, D. M.; JACKSON, M.J. Concentration-induced oxidants as mediators of adaptation and damage in skeletal muscle. **Exercise and sport sciences reviews**, v.32, p.14-18, 2004.
- PERSSON, S. G. B. On blood volume and working capacity in horses. **Acta Physiology Scandinavica**, v.19, p.1-189, 1967.
- PICCIONE, G.; GIANNETTO, C.; FAZIO, F. CASELLA, S.; CAOLA, G.A, Comparision of daily rhythm of creatine and creatine kinase in the sedentary and athlete horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v.29, n.7, p.575-580, 2009.
- PICCIONE, G. et al. Haematological and haematochemical responses to training. **Comparative Clinical Pathology**, v.19, p.95-101, 2010.

POOLE, D.C.; ERICKSON, H.H. (Cardiovascular function and oxygen transport: responses to exercise and training. In K.W. Hinchcliff, R.J. Geor & A.J. Kaneps, *Equine Exercise Philosophy: The Science of Exercise in the Athletic Horse*, Philadelphia: Saunders Elsevier, p.212-245, 2008.

POOLE, R.C.Ç HALESTRAP, A.P. Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. *American Journal of Physiology*, v.264, n.4, p.761-782, 1993.

PÖSÖ, A.R. Monocarboxylate transporters and lactate metabolism in equine athletes: a review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.43, n.2, p.63-74, 2002.

PÖSÖ, A. R., HYYPPÄ, S., GEOR, R. J. Metabolic response to exercise and training. In : HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. *Equine Sports Medicine and Surgery*. Philadelphia: Saunders Elsevier, p.771-792, 2004.

POWERS, S. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in ratskeletal muscle. *American Journal Physiology*, Baltimore, v.266, p.375-380, 1994.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. *Fisiologia do exercício*. 3. ed. São Paulo: Manole, 527p.,2000.

PRITCHARD, J.C.; BURN, C.C.; BARR, A.R.S.; WHAY, H.R. Haematological and serum biochemical reference values for apparently healthy working horses in Pakistan. *Research in Veterinary Science*, v.87, p.389-395, 2009.

PRYOR, W. Oxy-Radicals and Related Species: Their Formation, Lifetimes, and Reactions. *Ann Review Physiology*, n.48, p.657-667, 1986.

RADAK, Z.; CHUNG, H; GOTO S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 44, p.153-159, 2008.

RADAK, Z.; K. ASANO; M. INOUE; T. KIZAKIi; S. OH-ISHI; K. SUZUKI; N. TANIGUCHI; H. OHNO. Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. *Journal Applied Physiology*, v.79, p.129-135, 1995.

RADOSTITS, M. et al. **Clinica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**, 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1187-1189, 2002.

RÄISÄNEN, S.; LEHENKARI, P.; TASANEN, M.; RAHKILA, P.; HÄRKÖNEN, P.; VÄÄNÄNEN. Chronic anhydrase III protects cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis. **FASEB Journal**. n.13, p. 513-522, 1999.

RICHARDSON, R. SEAMAN, J. Maximum oxygen transport and utilization before and after splenectomy. **Equine Veterinary Journal**, New Market, v.18, p.82-89, 1995.

ROBERGS, R.A.; GHIASVAND, F.; PARKER, D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. **American Journal Physiology**. Regul. Integr. Comp. Physiol., v.287, p.287-516, 2004.

ROBINSON, E. N. **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 960 p., 2003.

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

ROSE, R.J.; HODGSON D.R. Haematology and biochemistry in: Hodgson DR; Rose RJ (eds) The athletic horse. Principles and practice of equine sport medicine. **Saunders**, USA, p. 63-78, 1994.

SALES, J.V.F. Equinos finalistas de endure – expressão do Mg, CK, AST e LDH. 46p. **Monografia de Graduação**, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – FAV, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, 2011.

SANTOS, V.P. Variações hemato-bioquímicas em equinos de salto submetidos a diferentes tipos de protocolos de exercício. 94p. **Dissertação em Mestrado**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

SCHIMID, M.; VONFORSTNER D. **Laboratory testing in veterinary medicine and clinical monitoring**. Boehringer: Mannheim, 235 p., 1986.

SCHOTT, H. C. O sistema urinário. In: REED, S.M.; BAYLY, W. M. **Medicina interna equina**. Philadelphia: Saunders, p.701-702, 2000.

SEJERSTED, O. M. Electrolyte imbalance in body fluids as a mechanism of fatigue during exercise In: LAMB D.; GISOLFI, C. V. (Ed.) Perspectives in exercise science and sports medicine 5. **Energy metabolism in exercise and sport**, Dubuque, p.149- 206, 1992.

SEN, C.K. Oxidants and antioxidants in exercise. **Journal Applied Physiology**, v.3, n.79, p. 675-686, 1995.

SEN, C.K. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v.8, p.660-672, 1997.

SEPPA, G. S.; HESS, T. M.; KOWAL , R.J.; SANTOS, O. J. Comparison of plasma biochemical parameters of exhausted and no exhausted horses participating in 1000 to 2000 m races. **Abstracts**, v.29, n.5, 2009.

SEEHERMAN, H.J.; MORRIS, E.A. Application of a Standardised Treadmill Exercise Test for Clinical Evaluation of Fitness in 10 Thoroughbred Racehorses. **Equine Veterinary Journal**, n.9, p.26-34, 1990.

SHAN, X.Q.A.W. T.Y; JONES DP. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. **Pharmacology Therapeutics**, v.1, n.47, p.61-71, 1989.

SHAN, X.Q.A.W.T.Y.;SHAPIRA, R.; JONES, P. D. **Oxygen dependence of glutathione synthesis in hepatocytes Toxicology and Applied Pharmacology**, v.101, n.2, p. 261-270, 1989.

SHOTT, H.C.; MARLIN, D.J.; GEOR, R.J.; HOLBROOK, T.D.; DEATON, C.M.; VINCENT, T.; DRAKE, K.; SCHROTER, R.C.; JOSE-CUNILLERAS, E.; CORNELISSE, C.J. Changes in selected physiological and laboratory measurements in elite horses competing in a 160 Km endurance ride. **Equine Veterinary Journal**, London, v.38, n.36, p.37-42, 2006.

SICILIANO, P.D.; PARKER, A.L.; LAWRENCE, L.M. Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. **Journal of Animal Science**, v.75, n.6, p.1553-1560, 1997.

SIES H. Physiological society symposium: impaired endothelial and smooth muscle cell function in oxidative stress. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. **Exemplar Physiology**, v.82, p.291-195, 1997.

SIGHIERI, C.; LONGA, A.; MARIANI, A. P. Preliminary observations on the creatine kinase isoenzymes in equine blood serum by polyacrylamide – gel isoelectro focusing. Influence of Physical exercise. **Archive Veterinary Italian**, v.36, p.45, 1985.

SILVA, I.A.C.; DIAS R.V.C.; SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em eqüinos de diferentes categorias de atividade. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.250-252, 2007.

SILVEIRA, V.F. Malondialdeído, vitamina E, cortisol, hemograma e enzimas musculares em eqüinos da raça Árabe submetidos ao exercício em esteira de alta velocidade. 92p. **Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária)** - Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, 2005.

SJODIN, B.; WESTING, Y. H.; APPLE, F. S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. **Sports Medicine**, Auckland, v.10, p.236-254, 1990.

SNOW, D. H.; MacKENZIE, G. Some metabolic effects of maximal exercise in the horse and adaptations with training. **Equine Veterinary Journal**, New Market, v.9, p.134-140, 1977.

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

SNOW, D.H. Physiological factors affecting resting haematology. In: SNOW, D.H.; PERSSON, S.G.B.; ROSE, R.J. (eds.) **Equine Exercise Physiology**, Cambridge: Granta Editions, p.318 – 323, 1983.

SPEARS, J. W.; WEISS, W. P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. **Veterinary Journal**, v.176, n.1, p.70-76, 2008.

SPINHA DE TOLEDO, P.; DOMINGUES JÚNIOR, M.; FERNANDES. W. R.; MAGONE, M. Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gama-glutamil transferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça PSI submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v.8, n.2, p.73-77, 2001.

STANLEY, W.C.; GERTZ, E.W.; WISNEKI, J.A.; MORRIS, D.L.; NEESE, R.A.; BROOKS, G.A. Systemic lactate kinetics during graded exercise in man. **American Journal Physiology**, v.249, p.595-602, 1985.

STANLEY, W.C.; GERTZ, E.W.; WISNESKI, J.A.; MORRIS, D.L.; NEESE, R.A.; BROOKS, G.A. Systemic lactate kinetics during graded exercise in man. **American Journal Physiology**, v.249, p.595-602, 1985. supplements. **Molecular Celular Biochemistry**, Hague, v.196, p.31-42, 1999.

STOCKHAM, S. L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. *Veterinary Clinics of North America: Equine practice*, v.11, n.3, p.393-408, 1995.

SUN, L.; SHEN, W.; ZHONGBO, L.; GUAN, S.; LIU, J.; DING, S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: Effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. **Life Sciences**, v.86, p.39-44, 2010.

TADICH, N.M.V.; MENDEZ, G. M.V.; WITWTER, F.M.V.; MEYER, K. Valores bioquímicos sanguíneos de equinos que tiran carretones en la ciudad de Valdivia (Chile). **Archivos de Medicina Veterinaria**, Chile, v.29, n.1, 1997.

TAES, YEC.; DELANGHE, JR.; WUYTS, B.; VAN DE VOORDE, J.; LAMEIRE, N.H. Creatine supplementation does not affect kidney function in animal model with pre-existing renal failure. **Nephrology Dialysis Transplant**, v.18, p.258-264, 2003.

TATEO, A.; VALLE, E.; PALADINO, B.; CENTODUCATI, P.; BERGERO, D. Change in some physiologic variables induced by Italian Traditional Conditioning in Standardbred Yearling. **Journal Equine Veterinary Science**, v.28, n.12, p.743-750, 2008.

TEIXEIRA, P. P.; PÁDUA, J. T. Avaliação dos níveis de cortisol, tiroxina, triiodotironina e glicose como indicativos de estresse em cavalos puro sangue inglês de corrida, antes e após a competição. **Ciência Animal Brasileira**, v.3, n.1, p. 39-48, 2002.

THARL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1.ed. São Paulo: ROCA, 58p., 2006.

THOMASSIAN, A.; WATANABE, M.J.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J.L.M.; FONSECA, B.P. Concentrações de lactato sanguíneo e determinação do V4 de cavalos da raça Árabe durante teste de exercício progressivo em esteira de alta velocidade. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.1, p.63-68, 2005.

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

THRALL, M.A.; CAMPBELL, T.; DEBUCIKA, D.; FETTMAN, M, J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 582p., 2007.

TIIDUS, P.M.; PUSHKARENKO, J.; HOUSTON, M.E. Lack of antioxidant adaptation to shortterm aerobic training in human muscle. **American Journal Physiology**, v.271, n.4, p.832-6, 1996.

TISDALE, M. J.; MAHMOUD, M. B. Activities of free radical metabolizing enzymes in tumours. **British Journal of Cancer**, v.47, p.809-812, 1983.

TOLEDO, P. S.; JÚNIOR, M.D.; FERNANDES, W.R.; MAGONE, M. Atividade Sérica de Aspartato Aminotranferase, Creatina Quinase, Gama-Glutamiltranferase, Lactato Desidrogenase e Glicemia de Cavalos da Raça P.S.I. Submetidos a Exercícios de Diferentes Intensidades. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.8, n.2, p.73-77, 2001.

TOYOKUNI, S.; OKAMOTO, K.; UODOI, J.; HIAI, H. Persistent oxidative stress in cancer **FEBS letters**, v.358, p.1-3, 1995.

TURGUT, G.; KAPTANOGLU, B.; TURGUT, S.; GENÇ, O.; TEKINYÜRK, S. Influence of acute exercise on urinary protein, creatinine, insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3 concentration in children. **Tohoku J Exp Medicine**, v.3, n.201, p. 165- 170, 2003.

TYLER-McGOWAN, C. M.; GOLLAND, L. C., EVANS, D. L.; HODGSON, D. R.; ROSE, R.J. Haematological and Biochemical Responses to Training and Overtraining. Equine Exercise Physiology 5. **Equine Veterinary Journal**, v.30, p.621-625, 1999.

URSO ML; CLARKSON PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v.189, n.1-2, p.41-54. 2003.

VALBERG, S.; JOHNSON, L.; LINDHOLM, A.; HOLMGREN, N. Muscle histopathology and plasma aspartate aminotransferase, creatino kinase and myoglobin changes with exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. **Equine Veterinary Journal**, New Market, v.25, p.11-16, 1993.

VALBERG, S.J. Muscular causes of exercise intolerance in horses. *Vet. Clin. N. Am.:* **Equine Practice**, v.12, p.495-515, 1996.

VALBERG, S.J. A Review of the Diagnosis and Treatment of Rhabdomyolysis in Foals. Proceedings **AAEP**, v.48, p.117-121, 2002.

VALBERG, S. J. Skeletal muscle function, In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6. ed. London: **Academic Press**, p.459-484, 2008.

VALDIVIA, A.; PÉREZ-ÁLVAREZ, S.; AROCA-AGUILAR, J. D.; IKUTA, I.; JORDÁN, J. Superoxide dismutase: a physiopharmacological update. **Journal of physiology and biochemistry**, v.65, n.2, p.195-208, 2009.

VAZQUEZ-ANON, M. et al. Effects of Feeding a Dietary Antioxidant in Diets with Oxidized Fat on Lactation Performance and Antioxidant Status of the Cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.91, n.8, p.3165-3172, 2008.

VERHEYEN, KLP; WOOD, JLN. Descriptive epidemiology of fractures occurring in British Thoroughbred racehorses in training. **Equine Veterinary Journal**, v.36, n.2, p. 167-173, 2004.

VOLEK, J.S.; RATAMESS, N.A.; RUBIN, M.R.; GÓMEZ, A.L.; FRENCH, D.N.; McGUIGAN, M.M., et al. The effects of creatine supplementation on muscular performance and body composition responses to short-term resistance training overreaching. **European Journal Applied Physiology**, v.91, p.628-637, 2004.

VOLFINGER, L.; LASSOURD, V.; MICHAUX, J. M.; BRAUN, J. P.; TOUTAIN, P.L. Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of the amount of creatine kinase released. **American Journal Physiology**, v.266, p.434-441, 1994.

VOLLAARD N.; SHEARMAN J.; COOPER C. Exercise induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. **Sports Medicine**, n.35, v.12, p.1045-1062, 2005.

WAGNER, P.; ERICKSON, B. K.; KUBO, K.; HIRAGA, A.; KAI, M.; YAMAYA, Y.;WEBER, J.M.; PARKHOUSE, W.S.; DOBSON, G.P.; HARMAN, J.C.; SNOW, D.H.; HOCHACHKA, P.W. Lactate kinetics in exercising Thoroughbred horses: regulation of turnover rate in plasma. **American Journal Physiology**, v.253 p.896-903, 1987.

WEISS, W. P.; HOGAN, J. S. Effect of Selenium Source on Selenium Status, Neutrophil Function, and Response to Intramammary Endotoxin Challenge of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science, Champaign**, v.88, p.4366-4374, 2005.

WHITE, A.; ESTRADA, M.; WALKER, K.; WISNIA, P.; FILGUEIRA, G.; VALDÉS, F. et al. Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horses, **Complement Biochemistry Physiology**, v.128, p.99-104, 2001.

WILLIAM, C.A.; D.S.; KRONFELD, T.M. HESS, J.N.; WALDRON,, K.M.; CRANDELL, K.E.; SAKE, R.M.; HOFFMAN,; P.A.HARRIS. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. **Journal Animal Science**, v.82, p.588-594, 2004.

WILLIAMS, C.A. et al. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. **Journal of Animal Science, Champaign**, v.82, p.588-594, 2004.

WILLS, E.D. Mechanism of lipid peroxide formation in animal tissues. **Biochemistry Journal**, Calgary, v. 99, n. 5, p. 667-676, 1966.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiology Reviews**, v.74, n.1, p.139-162, 1994.

ZHAO, K.; ZHAO, G.; WU, Z. Cel permeable Peptide Atioxidants Target to Inner Mitochondrial Membrane Inhibit Mitochondrial Swelling, Oxidative Cell Death, and Reperfusion injury. **Journal of biological chemistry**, v.279, p.682-690, 2004.