

UFRRJ

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

DISSERTAÇÃO

Perfil bioquímico e capacidade antioxidante total em
cavalos de polo suplementados com selênio e
vitamina E

Waldsylvio da Silva Vieira

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA**

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

**Perfil bioquímico e capacidade antioxidante total em
cavalos de polo suplementados com selênio e vitamina E**

WALDSYLVIO DA SILVA VIEIRA

Sob orientação do Professor
Paulo de Tarso Landgraf Botteon

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

Seropédica, RJ

2011

658xx

Bxxxr Vieira, Waldsylvio da Silva, 2011-
Perfil bioquímico e capacidade antioxidante total em cavalos de polo
suplementados com selênio e vitamina E /
Waldsylvio da Silva Vieira. - 2011.
53f. : figs., tabs.

Orientador: Paulo de Tarso Landgraf Botteon .
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Instituto de Veterinária.
Bibliografia: f. 53 - 60.

1. Cavalo – Estresse Oxidativo – Selênio e Vitamina E – Teses. 2. Medicina
Desportiva – Brasil – Teses. I. Vieira, Waldsylvio da Silva. II. Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. III. Título

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

WALDSYLVIO DA SILVA VIEIRA

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/01/2011

Paulo de Tarso Landgraf Botteon Dr. UFRRJ
(Orientador)

Daniel Augusto Barroso Lessa Dr. UFF

Cristiane Divan Baldani Dra. UFRRJ

BIOGRAFIA

WALDSYLVIO DA SILVA VIEIRA – Nascido na cidade do Rio de Janeiro-RJ, em 19 de Março de 1972, portador do RG n° 01353238748 Detran-RJ. Médico Veterinário graduado pela Universidade Federal de Fluminense, concluindo o curso em 28 de Setembro de 2000, CRMV-RJ 6161. Atuou como Médico Veterinário Autônomo no Rio de Janeiro - RJ em 2001 e 2004, realizando o curso de Equitação e Manejo Técnico de Cavalos em Kill, Kildare County, Irlanda em 2002; posteriormente atuou como assistente veterinário em Middleham, North Yorkshire, Reino Unido em (2002-2003) e realizou estágio em clínica e cirurgia de equinos em Meslay Du Maine, Pays de La Loire, participando como auxiliar no CCI Mondial Du Lion França em 2003. É Oficial Veterinário Temporário do Exército Brasileiro desde 2005 lotado no 2º Regimento de Cavalaria de Guarda, Rio de Janeiro-RJ. Ingressou no programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, nível Mestrado com área de concentração em Ciências Clínicas no Instituto de Veterinária da Universidade Rural do Rio de Janeiro, em Agosto de 2008, e ora pleiteia o título de mestre sob a orientação do Prof. Dr. Paulo de Tarso Landgraf Botteon com a dissertação intitulada “Perfil bioquímico e capacidade antioxidante total de cavalos suplementados com selênio e vitamina E.

DEDICATÓRIA

Agradeço a Deus por guiar meus passos pela jornada da vida, sempre na direção certa, com muita saúde e iluminação nesse caminho que hei de percorrer ainda por muito tempo

Aos meus pais Orlando Vieira e Maria Liria da Silva Vieira por todo o esforço em dar-me o melhor que puderam, em todos os planos e termos, além de todo o carinho e atenção. Os amarei para sempre!

As minha irmãs Christiany e Slayne, pelo carinho e por toda ajuda que sempre esteve a meu alcance, nos momentos mais difíceis.

A minha esposa Fabiana, agradeço pelo amor e companheirismo. A Malu e Laura, pela tempestade de esperança que propõem ao meu coração todos os dias.

A minha eterna Sacha, Puppy, Sally, Ibirapuitã e ao meu cavalo Classic, pela inspiração e perseverança em trilhar o caminho da medicina veterinária.

Ao nobre amigo, “O cavalo”, por tornar este trabalho possível e pelo aguçamento do desejo em conhecê-lo melhor sob o ponto de vista científico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo de Tarso Landgraf Botteon por acreditar em mim, confiar na idéia do projeto, além da amizade, boa vontade incessante, pelo exemplo de conduta ética e pela orientação que me proporcionou conhecimento, mas sobretudo amadurecimento.

Ao Prof Dr. Orlei Justen dos Santos por acreditar em minha capacidade.

A Prof. Dra. Rita de Cássia Campbel Botteon , então coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária quando ingressei, por ter implementado espírito de corpo na turma de mestrado e também pelas observações pertinentes, que me auxiliaram em muito, nesta jornada.

Ao Prof. Dr. João Telhado, pela amizade, orientação e ampliação de conhecimentos.

Ao amigo, MV. Msc. Maurilo Rosa por toda ajuda e crédito que confiara em minha pessoa, antes, durante e sempre.

A Anthony Vincent Cosgriff M.R.C.V.S, pela oportunidade e ensinamentos sobre o cavalo atleta .

Aos amigos François e Patrick Monfort pela acolhida e inestimável apoio.

Aos Vétérinaires Richard Corveller e Yve Dutertre, pelo incentivo a mim dispensado.

Ao Cel Cav Fernando José S`antanna Soares e Silva por ter me trazido para o Regimento Andrade Neves e sempre incentivado meus estudos, além da oportunidade em ter exercido a função de veterinário da equipe do RAN e do departamento de Polo.

Ao Cap Cav Leandro Vieira Chelminsky por nos ter cedido os animais para a realização do experimento, além de seu prestimoso apoio na organização do evento e orientação técnica como praticante e entusiasta do esporte.

À colega veterinária Isabela Syllós por sua amizade e por sua indispensável ajuda na preparação e execução do experimento.

À colega zootecnista Chiara Oliveira Sirotsky pelo solícito apoio a nós dispensado, no Laboratório de Desempenho Atlético de Equinos (LADEQ).

À colega veterinária Natália Frade por sua prestimosa ajuda na execução do experimento.

À colega veterinária Cristiane Santos de Faria por sua intensa cooperação no planejamento do experimento.

Ao amigo 3º Sgt QE Denílson Gomes Figueira pelo fundamental apoio na condução dos animais para a retirada das amostras, durante o jogo de Polo.

Aos militares Erick, Ronaldo, Pablo, Neto, Lucas, Oliveira Silva, Ronan, Felipe Silva, Thiago Souza, Adriano, Sales e Da Costa, pelo apoio na organização e execução da suplementação dos animais e coleta das amostras.

RESUMO

VIEIRA, W.S. **Perfil bioquímico e capacidade antioxidante total em cavalos de suplementados com selênio e vitamina E.** 2011 68 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Os cavalos apresentam grande capacidade de transporte de oxigênio, no entanto, situações de esforço físico excessivo em atividades esportivas, levam a condições de estresse oxidativo com potencial para o desenvolvimento de lesões, que afetarão principalmente os músculos destes animais. Com o intuito de avaliar as alterações bioquímicas e oxidativas induzidas pelo exercício no plasma de cavalos atletas e o efeito da suplementação de selênio (Se) e vitamina E sobre estes parâmetros, 16 equinos foram divididos em dois grupos, sendo um suplementado por 20 dias com Se e vitamina E e o segundo grupo testemunha. Estes animais participaram de um jogo de polo de modo a reproduzir as condições de competição. Não foram evidenciadas diferenças significativas entre os grupos, porém o grupo tratado apresentou menor variação nos níveis séricos de creatinina após o jogo, a atividade sérica da enzima AST apresentou variação significativa nos animais do grupo controle e permaneceu estável para o grupo tratado, a enzima CK elevou-se em ambos os grupos, mas permaneceu elevada até 72 h no grupo controle. A maior variação de lactato plasmático foi observada no grupo controle diferindo do valor basal já após o primeiro tempo de jogo. A capacidade antioxidante total reduziu-se logo após o primeiro tempo de jogo, retornando aos valores basais após 24 horas. Não se observou diferença entre os grupos. Concluímos que a suplementação com Se e Vitamina E promoveu maior resistência ao dano muscular nos animais tratados, porém não alterou a capacidade antioxidante total do grupo tratado comparado ao grupo controle.

Palavras chave: cavalos, capacidade antioxidante, estresse oxidativo, vitamina E.

ABSTRACT

Vieira, Walds. **Biochemical Profile and total antioxidant capacity in polo horses supplemented with selenium and vitamin E.** 2011 68f. Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine, Clinical Science) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010

Horses have great ability to transport oxygen, however, situations of excessive physical effort in sports activities, leading to conditions of oxidative stress with potential for developing injuries that affect primarily the muscles of these animals. With the aim of evaluating biochemical and oxidative changes and exercise-induced in plasma of horses and the effect of supplementation of selenium (Se) and vitamin E on these parameters, 16 horses were divided into two groups, one being supplemented by 20 days and vitamin E and the second control group. They attended a polo game so to reproduce the conditions of competition. Have not been highlighted significant differences between groups, but the treated group showed less variation in serum creatinine levels after the game, the enzyme activity of serum AST presented significant variation in animals and control group remained stable for the treated group, the enzyme CK amounted in both groups, but remained high within 72 h in the tracking group. The largest plasma lactate variation was observed in the tracking group differing basal value already after the first game time. The total antioxidant capacity fell shortly after the first game time, returning to basal value after 24 hours. Not observed difference between groups. We conclude that supplementation with selenium and vitamin E promoted a increased resistance to muscular injury in the treated animals, but did not affect the total antioxidant capacity in the treated group compared with the control group..

Key words: horses, antioxidant capacity, oxidative stress, vitamin E and Selenium

LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

(ERO)	Espcie reativa de oxigênio
(IAT)	Termo limiar anaeróbio individual
(LAI)	Limiar anaeróbio individual
(VFc)	Velocidade observada durante a frequência cardíaca máxima
(VFc)	Velocidade observada durante a frequência cardíaca máxima
(Vmx)	Velocidade máxima
1° T	Primeiro tempo jogado
2° T	Segundo tempo jogado
AD	Ausculata digestiva
ADP	Adenosina difosfato
AP	Ausculata pulmonar
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
bpm	Batidas por minuto
CAnT	Capacidade antioxidante
CAT	Catalase
CCE	Concurso Completo de Equitao
CK	Creatinina quinase
DP	Desvio padrão
EDTA	cido etilenodiaminotetracético
EO	Estresse oxidativo
FC	Frequência cardíaca
FR	Frequência respiratória
G	Gramma
GC	Grupo controle
GPx	Glutathiona Peroxidase
GSH	Glutathiona reduzida
GSSG	Glutathiona oxidada
GT	Grupo teste
H	Hidrognio
Kg	Kilograma
L	Litro

LDH	Lactato desidrogenase
LT	Limiar do lactato
mmol	Milimol
MSSLac	Máximo balanço entre produção e a remoção do lactato
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotideo
OPLA	Início da acumulação de lactato plasmático
PC	Fosfocreatina
pH	Potencial de hidrogênio
Se	Selênio
SOD	Superóxido dismutase
T	Temperatura corporal
TC	Turgor cutâneo
TEC	Tempo de enchimento capilar
UI/L	Unidade internacional por litro
V	Velocidade
V 160	Velocidade máxima quando a frequência cardíaca atinge 160 batimentos por minuto
V 180	Velocidade máxima quando a frequência cardíaca atinge 180 batimentos por minuto
V 200	Velocidade máxima quando a frequência cardíaca atinge 200 batimentos por minuto
Vit E	Vitamina E
VO2 max	Velocidade máxima de oxigênio

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Valores médios e desvio padrão de creatinina em mg/dl de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.....	23
Tabela 2 Valores médios e desvio padrão de Aspartato aminotransferase (AST) em UI/L de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.	25
Tabela 3 Valores médios e desvio padrão de Lactato desidrogenase (LDH) em UI/L de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.	27
Tabela 4 Valores médios e desvio padrão de Creatinina Kinase (CK) em UI/L de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.	29
Tabela 5 Valores médios e desvio padrão de Glicose, expressos em mg/dL, de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.	31
Tabela 6 Valores médios e desvio padrão de Lactato plasmático expressos em mmol/L de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.	33
Tabela 7 Valores médios e desvio padrão de Capacidade antioxidante total (CANt) expressos em mM/L equivalentes a Trolox de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.	36

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** Valores séricos representativos das médias e erros-padrão de creatinina, expressos em mg/dl, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro *chukka*, 2ºT, após o segundo *chukka*, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor P = 0.2951 para os tratamentos, Valor P = 0,0006 para o fator tempo..... 23
- Figura 2** Valores séricos representativos das médias e erros-padrão de , aspartato aminotransferase expressos em mg/dl, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro *chukka*, 2ºT, após o segundo *chukka*, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor p =0,3717 para os tratamentos e Valor p = 0.0097 para os tempos..... 25
- Figura 3** Valores séricos representativos das médias e erros-padrão de lactato desidrogenase, expressos em mg/dl, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro *chukka*, 2ºT, após o segundo *chukka*, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor p =0,5383 para os tratamentos e Valor p = 0.0002 para os tempos. 27
- Figura 4** Valores séricos representativos das médias e erros-padrão de creatinina kinase, expressos em UI/L, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro *chukka*, 2ºT, após o segundo *chukka*, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor p =0,3023 para os tratamentos e Valor p = 0.9770 para os tempos..... 29
- Figura 5** Valores plasmáticos representativos das médias e erros-padrão de Glicose, expressos em mg/dL, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro *chukke*, 2ºT, após o segundo *chukke*, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor p =0,4431 para os tratamentos e Valor p = 0,0681 para os tempos..... 32
- Figura 6** Valores plasmáticos representativos das médias e erros-padrão de Lactato, expressos em mmoles/L, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro *chukka*, 2ºT, após o segundo *chukke*, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa entre os tempos. Valor p =0,1250 para os tratamentos e Valor P= 0,0002 para os tempos. 34
- Figura 7** Valores séricos representativos das médias e erros-padrão da Capacidade Antioxidante Total (CAnT), expressos em mM equivalentes Trolox, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro *chukka*, 2ºT, após o segundo *chukka*, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos

valores basais. Valor p =0,767 para os tratamentos e Valor p = 2.90^{-25} para os
tempos..... 36

INDICE DE QUADROS

Quadro 1 Origem (endógena o exógena), localização (intracelular ou extracelular) e mecanismos de ação (prevenção, interceptação ou reparação) dos principais antioxidantes orgânicos.	10
Quadro 2 Parametros clínicos de equinos obtidos antes do início de jogo de Polo.	19
Quadro 3 Parametros clínicos de equinos obtidos após o primeiro tempo de jogo de Polo.	20
Quadro 4 Parametros clínicos de equinos obtidos após o segundo tempo de jogo de Polo.	21

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	OBJETIVOS	2
2.1.	Gerais:.....	2
2.2.	Específicos:	2
2.2.1.	Analisar as alterações bioquímicas de equinos durante prova de Polo.....	2
2.2.2.	Verificar a atividades de enzimas séricas de equinos durante prova de Polo.	2
2.2.3.	Determinar o perfil de capacidade antioxidante total de equinos durante prova de Polo e no período de recuperação.	2
2.2.4.	Avaliar o efeito da suplementação com selênio e vitamina E sobre os parâmetros biológicos e bioquímicos de equinos decorrentes da pratica de Polo.	2
3.	REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1.	O Cavalo e sua importância no Brasil.....	3
3.2.	O polo como atividade esportiva	3
3.3.	3.3 Selênio e Vitamina E.....	4
3.4.	Condicionamento da resposta biológica pelo treinamento.....	5
3.5.	Produção de energia	6
3.5.1.	Sistema ATP-Fosfocreatina:.....	7
3.5.2.	Glicólise Anaeróbia ou Sistema do Lactato:	7
3.5.3.	Sistema do oxigênio ou metabolismo oxidativo:	7
3.6.	Estresse oxidativo.....	8
3.7.	Metabolismo do lactato	11
3.8.	VO2 max:	13
3.9.	OPLA (onset of plasma lactate accumulation)	13
3.10.	Frequência cardíaca	15
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1.	Local e animais	16
4.2.	Coletas de sangue e processamento das amostras:	16
4.3.	Avaliação clínica:	17
4.4.	Análises laboratoriais	17
4.5.	Análise estatística	18
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5.1.	Avaliação clínica.	19
5.2.	Avaliação bioquímica.....	21

5.2.1. Creatinina	22
5.2.2. Aspartato aminotransferase (AST)	24
5.2.3. Lactato desidrogenase (LDH).....	26
5.2.4. Creatinina Kinase (CK)	28
5.2.5. Glicose	31
5.2.6. Lactato.....	33
5.3. Capacidade antioxidante total (CAnt).....	35
6. CONCLUSÃO	38
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. INTRODUÇÃO

O exercício físico induz uma série de adaptações fisiológicas e bioquímicas ao cavalo. O incremento do metabolismo e captação de oxigênio pode induzir estresse oxidativo em vários órgãos. Durante o treinamento, o organismo será submetido à quebra da homeostase celular, e no processo de recuperação o organismo adapta-se a um novo patamar, suportando uma carga de trabalho superior a que estava adaptado anteriormente. Quando uma nova carga de trabalho é executada sem uma prévia recuperação do organismo, o animal entra em processo de “overtraining”, com subsequente queda de desempenho (GONDIM, F. J, 1999). Dentre os fatores que levam a esta queda de performance, o estresse oxidativo é um dos mais importantes.

O alto consumo de oxigênio durante esforço extenuante promove vantagens metabólicas na produção de energia, mas ao mesmo tempo causa lesão oxidativa às células musculares (HARGREAVES et al. 2002). O consumo de oxigênio pode aumentar 10 a 20 vezes no homem e 30 vezes no cavalo (BUTLER et al. 1993). Isto faz do cavalo ótimo modelo para se estudar o estresse oxidativo (WILLIAMS, 2003). Segundo Powers e Lennon (1999), o exercício revela-se excelente estímulo para a produção de Eros e evidências sugerem que esta produção, pode contribuir para distúrbios induzidos pelo exercício, na homeostase muscular, bem como para a fadiga e lesões musculares.

O estresse oxidativo irá ocorrer no momento que a produção de Eros torna-se superior às defesas antioxidantes. De acordo com Sen e Packer (2000) citado por (TEIXEIRA-NETO, 2006) o estresse oxidativo induzido pelo exercício contribui para a intolerância ao esforço e mau desempenho, por meio da aceleração do processo de fadiga e de lesões de fibras musculares.

Embora o cavalo apresente grande capacidade de transporte de oxigênio, em situações de grande esforço físico em atividades esportivas, estarão submetidos a situações de estresse oxidativo com potencial para o desenvolvimento de lesões, que afetarão principalmente os músculos do animal. O confinamento, o mau condicionamento e a competições podem levar os cavalos a situações de estresse que não ocorreriam na vida selvagem, favorecendo a ocorrência de injúrias oxidativas.

A proposta deste trabalho é avaliar as alterações bioquímicas e oxidativas induzidas pelo exercício em cavalos praticantes de Polo.

2. OBJETIVOS

2.1. Gerais:

Avaliar a capacidade antioxidante, através do perfil bioquímico e os níveis de estresse oxidativo de equinos submetidos a prova de polo, sendo estes animais suplementados ou não com vitamina E e selênio.

2.2. Específicos:

2.2.1. Analisar as alterações bioquímicas de equinos durante prova de Polo.

2.2.2. Verificar a atividades de enzimas séricas de equinos durante prova de Polo.

2.2.3. Determinar o perfil de capacidade antioxidante total de equinos durante prova de Polo e no período de recuperação.

2.2.4. Avaliar o efeito da suplementação com selênio e vitamina E sobre os parâmetros biológicos e bioquímicos de equinos decorrentes da pratica de Polo.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. O Cavalo e sua importância no Brasil

O Brasil tem o terceiro maior rebanho equino do mundo, com cerca de 5,9 milhões de animais. O complexo do agronegócio equino movimenta cerca de R\$ 7,5 bilhões no Brasil e gera cerca de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (IBGE, 2006). Neste complexo agropecuário, o segmento de equinos utilizados em diversas atividades esportivas movimenta valores de R\$ 704,9 milhões e emprega cerca de 20.500 trabalhadores, com a participação estimada de 50 mil atletas (LIMA et al., 2006).

As equipes brasileiras de hipismo destacam-se no cenário internacional, com participação ativa em vários eventos. No entanto, o treinamento é feito de forma empírica no Brasil e no exterior, reduzindo as possibilidades de ganhos técnicos e científicos no país, que possibilitem o desenvolvimento de técnicas adequadas de treinamento, um melhor desempenho do conjunto cavalo-cavaleiro e a manutenção do bem estar dos animais.

3.2. O polo como atividade esportiva

O polo é um jogo realizado a cavalo, originário da região de Manipur na Índia (GUINNESS WORLD BOOK RECORDS, 2008) trazido para o ocidente pelos então colonizadores daquele país, os ingleses, no século XIX.

O primeiro clube de polo no ocidente foi fundado no Reino Unido em 1869, hoje constituindo-se num esporte praticado nos cinco continentes, tendo sido inclusive disputado anteriormente, por diversas vezes, em Olimpíadas (EEE, 2008).

O polo é jogado a galope, porém no decorrer do jogo observam-se visualmente paradas bruscas e transições dos andamentos para o cânter, trote e passo, além de variações de direção e de velocidade dos animais no decorrer do jogo.

A disputa dura aproximadamente uma hora, podendo ser dividida em até 8 tempos com intervalo de 3 minutos, tendo como objetivo realizar mais gols que seu time oponente, sendo realizado num campo plano gramado que mede 275x180m (EEE/CBH, 2001). Geralmente a altura de um cavalo de polo deve ser entre 1,52 e 1,60m, e quando estes animais não ultrapassam 1,55m são chamados de pôneis, porém não há regras quanto este fator. O tamanho do cavalo irá determinar o número do taco a ser utilizado pelo jogador. Cada time possui 4 jogadores, cada jogador dispendo normalmente de 4 cavalos, normalmente utilizando

1 a cada “*chukka*” ou tempo de jogo, que tem duração de sete minutos e meio, sendo permitido no máximo utilizar no jogo, duas vezes o mesmo animal (EEE/CBH, 2001). No Brasil a maior concentração de cavalos de polo encontra-se na região de Indaiatuba no estado de São Paulo, tendo também como regulares praticantes deste esporte os militares (EEE/CBH, 2001).

3.3. 3.3 Selênio e Vitamina E

A vitamina E é o mais importante antioxidante lipossolúvel. Está inserida nas membranas lipídicas e as protege contra o ataque de radicais superóxido (COMBS & COMBS, 1986). Níveis farmacológicos usualmente utilizados de vitamina E, de acordo com a literatura, funcionam como moduladores da resposta imunológica e aumentam a proteção contra infecções bacterianas e virais (HEINZERLING et al., 1974). Os equinos não sintetizam a vitamina E, sendo sua aquisição feita por meio da dieta. Lewis (2000), afirma ainda que alimentos volumosos comumente empregados na alimentação dos cavalos, como feno e concentrados como o rolão de milho, contém baixos níveis de alfa-tocoferol. Segundo Kolb (2000), equinos que recebem pouca ou nenhuma quantidade de forragem verde, devem ser suplementados com 1 a 2 g de Vitamina E, para cada 500kg de peso vivo. Este mesmo autor, indica também este tratamento para cavalos sujeitos a estresse ou claudicações. A suplementação com vitamina E como forma de prevenir danos oxidativos em animais submetidos ao exercício foi recomendada por Takanami (2000), todavia Beech (1997), não evidenciou a carência de vitamina E, como causa de miopatias.

Micronutriente essencial, o selênio, está presente nos tecidos do corpo, sendo parte integrante da enzima glutathione peroxidase que atua no citosol celular convertendo peróxido de hidrogênio em compostos atóxicos (COMBS & COMBS, 1986). A atividade catalítica do selênio é reforçada na presença da vitamina E, que é também indispensável na redução dos radicais livres. Sua associação aparece como sendo fundamentalmente necessária às células na prevenção de seu sofrimento e de sua degeneração. Segundo Allaway (1973) as doenças causadas pela deficiência de selênio nos animais domésticos ocorrem em todas as partes do mundo. De acordo com o National Research Council (1989), os animais ingerem o selênio por meio de pastagens e rações que o contenham em sua formulação. Estudos promovidos por esta mesma instituição relatam que a quantidade diária necessária para a ingestão em equinos esta estimada em 0,1mg/kg da dieta. A indicação de administração deste mineral foi defendida em estudos desenvolvidos por diversos autores que estudaram a suplementação de selênio e a sua relação com o selênio plasmático e a GPX em cavalos árabes e seus cruzamentos,

submetidos a programas de condicionamento físico, observando uma elevação dos níveis eritrocitários de GPX, sugerindo que quanto maior a intensidade do exercício maior as necessidades de selênio (PAGAN et al., 1999).

De fato atribuem-se muitos efeitos positivos da suplementação com selênio e vitamina E, no entanto, poucos trabalhos confirmam que esta prática é benéfica para cavalos de esporte, sendo a relação entre nutrição e miopatias não muito bem compreendida (LEWIS, 2000).

3.4. Condicionamento da resposta biológica pelo treinamento.

O treinamento do atleta humano ocorre de forma cíclica através de repetições e aumento da carga de esforços de maneira progressiva visando-se o aumento da performance (WEINECK, 1989). Os equinos de esporte são exercitados de maneira involuntária, elevando-se a importância do monitoramento de seu desempenho e das respostas adaptativas ao exercício (GONDIM, F. J., 1999).

Segundo Weineck (1989), a quantidade de ciclos de treinamento durante um ano competitivo pode variar de acordo com a modalidade praticada ou o número de competições das quais se deseja participar. No início do ciclo há predominância de atividades aeróbicas de menor intensidade e maior duração, e à medida que se aproxima o período de competições este perfil se altera, contendo atividades de maior intensidade e menor duração, com predomínio nesta fase do metabolismo anaeróbio como promotor de ATP, durante o período de exercício (DENADAI, 1995). Neste tipo de treinamento intermitente, os exercícios são intercalados com uma pausa curta, onde predomina o metabolismo aeróbio, o que permite reposição de reservas musculares, especialmente de fosfocreatina.

Este treinamento acaba por simular uma condição de isquemia/reperfusão para as células musculares (HESS & MANSON, 1984; SJODIN et al., 1990).

De acordo com o tipo de desporto praticado determina-se a porcentagem de treinamento contínuo ou intermitente, como por exemplo no polo equestre, onde observa-se grandes arranques em alta velocidade, deve se ter um percentual maior de treinamentos intermitentes comparado a uma atividade requerente de maior resistência, como no enduro equestre, onde haverá um percentual maior de treinamentos contínuos. Quando se chega ao final de um ciclo de treinamento, supõe-se que o atleta tenha atingido o pico de sua forma física, podendo render seu máximo na competição (DENADAI, 1995).

O treinamento é um processo desestabilizador da homeostase intracelular, e o estresse induzido pelo exercício parece ser o principal responsável pelo desencadeamento das respostas bioquímicas e fisiológicas que restabelecem uma nova homeostase celular (VIRU, 1984). No entanto, o processo de recuperação orgânica somente estará completo, com uma supercompensação do organismo, ou seja, quando a homeostase pós adquirida apresentar capacidade de suportar novos estímulos de ainda maior intensidade comparada a homeostase pré adquirida. O momento ideal para uma nova carga de treino seria quando a supercompensação atingisse seu ponto mais alto (GONDIM, F. J., 1999).

Caso o organismo seja submetido a uma nova carga de esforço sem estar devidamente recuperado, desencadeia-se um processo patológico denominado de “overtraining”. Dado o exposto, fica claro que existe uma divisão tênue entre um estado de adaptação positiva e um estado de ruptura do processo adaptativo, que necessariamente induz queda no rendimento físico e performance.

No entanto, a existência de um “claro” de respostas ao processo adaptativo do treinamento nos equinos atletas, constitui-se em substancial problema na medicina veterinária desportiva, havendo uma persistente lacuna na atuação do profissional veterinário junto ao treinamento e preparação física dos cavalos nas diversas disciplinas equestres, favorecendo o empirismo e frequentes ocorrências de patologias devido ao excesso de exercício, tais como: injúrias do aparelho locomotor, rabdomiólise, laminite, choques, podendo ter como consequência final, o óbito .

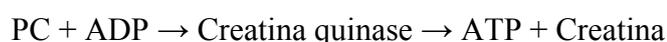
Portanto, reafirma-se a necessidade na obtenção de um perfil de parâmetros bioquímicos e fisiológicos que possibilitem uma interpretação mais consistente, sendo para isso fundamental, um melhor entendimento dos parâmetros biológicos no condicionamento físico equino.

3.5. Produção de energia

A disponibilidade de ATP é exigência obrigatória para a sustentação da intensidade e duração do exercício (LINDHOLM. et al. 1974). O ATP é a única fonte energética utilizada pelo tecido muscular, contudo estas reservas intracelulares de ATP são muito reduzidas, tendo o músculo que realizar síntese do ATP para progressão do movimento ou esforço (GONDIM, F. J. 1999). A necessidade de energia durante o exercício intenso pode ser até 200 vezes maior do que em repouso, e a taxa de utilização de ATP está intimamente ligada a sua produção (MOTA et al., 2004). Esta ressíntese é realizada por três vias metabólicas, que são:

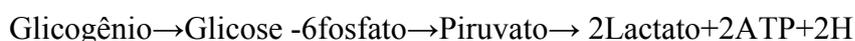
3.5.1. Sistema ATP-Fosfocreatina:

Nesta modalidade a ressíntese do ATP se origina da reserva muscular fosfocreatina (PC). Como esta via envolve apenas uma reação, catalisada pela enzima creatina quinase, tem capacidade de ressintetizar ATP de forma muito rápida, embora não tenha capacidade de produzir uma grande quantidade de energia, a PC pode ser rapidamente utilizada ou rearmazenada para posterior utilização, tendo a função de um tampão energético, extremamente sensível às concentrações de ADP e ATP (JONES et al. ,1985).



3.5.2. Glicólise Anaeróbia ou Sistema do Lactato:

Consiste numa outra via de produção de ATP onde não se utiliza O₂. Envolve dez reações químicas, onde a quebra parcial de glicose ou do glicogênio muscular proporciona a formação de ATP de forma rápida, produzindo também o lactato.



Desta maneira, esta via fornece ATP rapidamente com baixa energia. É utilizada eficazmente nos exercícios de alta intensidade e duração curta, como nos arranques em alta velocidade em distância variável de 400 a 800m. Possui capacidade energética menor que a via anterior ATP-PC (3mmol ATP/ mmol unidade glicosil contra 38 mmol ATP/mmol unidade glicosil da via aeróbia). Especula-se que o aumento da concentração de lactato no músculo e, secundariamente, no sangue, durante o exercício, deve-se principalmente à insuficiência da taxa de oxigênio na mitocôndria, impedindo a combustão aeróbica de carboidratos (EVANS, 2000). Isso apesar de evidências de que as células musculares normais e mitocôndrias sempre apresentam mais oxigênio do que o necessário, para o seu adequado funcionamento, independentemente da velocidade e duração do exercício (JOHNSON et al., 1996).

3.5.3. Sistema do oxigênio ou metabolismo oxidativo:

Gondim (1999), cita que por meio da oxidação dos carboidratos (principalmente pela degradação do oxigênio) ou pela degradação dos ácidos graxos (provenientes de triglicerídeos) é realizada a ressíntese do ATP nesta via. Sabemos que a produção aeróbia de ATP acontece nas mitocôndrias, mais precisamente pelo acoplamento do ciclo de Krebs no caso dos carboidratos, e do ciclo de Lynen, nos casos dos ácidos graxos à cadeia respiratória.

A produção de ATP está intimamente ligada à formação de um gradiente eletroquímico de prótons na membrana mitocondrial interna, conhecida como força próton-motriz.

Esta via é recrutada principalmente em atividades de longa duração e também durante as pausas, na recuperação de esforços intensos. Embora seja mais lenta que as anteriores, fornece uma grande quantidade de energia, proporcionando um maior rendimento, sem acúmulos de metabólitos sendo a via privilegiada nos esforços das provas de enduro por exemplo, onde a capacidade orgânica de fornecer oxigênio para a oxidação total da molécula de substrato, é o principal fator limitante. Ocorre formação de lactato muscular ao longo de um exercício de longa duração, porém o organismo é capaz de remover e metabolizar este lactato formado, reutilizando-o como fonte energética (CONNETT, 1984).

3.6. Estresse oxidativo

O Estresse oxidativo (EO) desencadeia-se quando existe um desequilíbrio entre a ação dos agentes oxidantes e dos antioxidantes, a favor dos primeiros (FREI, 1999, GASTELL; ALEJO, 2000, GUERRERO, et al., 2003, MOREL; BAROUKI, 1999, PRYOR, 1986, RÄISÄNEN et al., 1999, SHAN et al., 1989, SIES, 1997, VOLLAARD et al., 2005). Em termos gerais, o estado de EO orgânico parece variar com a concentração de oxigênio envolvente, com o tipo de tecido analisado e com o seu estado fisiológico (incluindo aqui as situações de repouso e de exercício físico agudo).

Além de fatores como a dieta e a idade do indivíduo, a ingestão de fármacos, a exposição a condições ambientais impróprias, tais como radiação ultravioleta, a poluição, umidade relativa e a temperatura ambiente e com o stress emocional (LIU et al., 2000). Esta situação de EO traduz-se, de forma imediata, na incapacidade de impedir ou reparar as repercussões nefastas das espécies reativas de oxigênio (ERO) sobre as estruturas celulares e é assumido que ocorra em todos os seres biológicos, mesmo em situações de funcionalidade basal, isto é, em repouso (MOTA et al., 2004). Aumentos do EO podem dever-se não só a um

aumento da taxa de produção das ERO, mas também a uma redução da capacidade antioxidante ou ainda, à conjugação destes dois fatores (BEJMA; JI, 1999 ; RÄISÄNEN et al., 1999).

Ocorre desintegração da membrana e de funções celulares pela peroxidação de lipídeos pelos radicais livres de oxigênio (PARINANDI et al., 1991; ARABADJIS et al., 1993), seguido de uma inativação de enzimas e aumento do cálcio ionizado, que por sua vez pode ativar vários processos degradativos na célula muscular durante o trabalho (BRAUGHLER, 1988; MALIS & BOVENTRE, 1988).

Os principais antioxidantes não enzimáticos são vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (α - tocoferol), glutathiona e ácido úrico (DEATON et al., 2002). Os danos consequentes às membranas celulares contribuem para lesão muscular, fadiga ou desenvolvimento de diversas condições patológicas (SJODIN et al., 1990; SEN, 1999). Esforços promovidos por exercícios de alta duração irão elevar a produção de radicais livres e (ERO) e poderão suprimir as defesas antioxidantes, resultando em EO. Se os sistemas de defesa antioxidante extenuassem durante a sessão de exercícios, a susceptibilidade das células e tecidos aos danos das ERO aumentam. No equino atleta, o estresse oxidativo foi dependente da intensidade, duração e variações térmicas ambientais que ocorrem durante o esforço (MILLS et al., 1996).

Os oxidantes são capazes de lesar DNA, lipídeos e proteínas, entretanto existem complexos sistemas de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos para proteger o organismo contra injúria oxidativa, (Quadro 1). Os principais antioxidantes não enzimáticos são vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (α - tocoferol), glutathiona e ácido úrico (DEATON et al., 2002).

Quadro 1 Origem (endógena o exógena), localização (intracelular ou extracelular) e mecanismos de ação (prevenção, interceptação ou reparação) dos principais antioxidantes orgânicos.

Antioxidantes Exógenos	Antioxidantes Endógenos	
	<i>Extracelular</i>	<i>Intracelular</i>
Prevenção	Prevenção	Prevenção
Zinco	Albumina	Glutaciona Peroxidase
Selênio	Bilirrubina	Superoxido Dismutase
	Ceruloplasmina	Catalase
Interceptação	Ferritina	Glutaciona Redutase
Ácido Ascórbico	Mioglobina	
Alfa - Tocoferol	Metalotioneina	Interceptação
Carotenóides	Haptoglobina	Glutaciona
		Ácido Úrico
		Coenzima Q
		Reparação
		Metaloenzimas

Ferreira et al., 2008

A linha primária de proteção enzimática promovida pelo organismo durante os esforços, ocorre pela atuação das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutaciona peroxidase (GPx) , e a atividade destas enzimas aumenta em resposta ao exercício tanto em animais quanto no homem (JENKINS, 1988; JI, 1995; SEN, 1995). A superóxido dismutase (SOD) dismuta o O₂, enquanto a catalase (CAT) e a glutaciona peroxidase (GPX) consomem o H₂O₂. A CAT amplamente distribuída nas células em altas concentrações são verificadas tanto nos peroxissomos como nas mitocôndrias (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989) e também removem peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Requerendo o ferro como co-fator (DEATON; MARLIN, 2003) a CAT e, similarmente a outras enzimas antioxidantes primárias (GPx e SOD), é maior nas fibras musculares com elevada capacidade oxidativa e menor em fibras musculares com baixa atividade oxidativa (POWERS, 1994).

Embora marcadores utilizados nem sempre revelem alterações significativas após exercícios leves (SEN, 1995; 2001, VOLLARD et al., 2005), a grande maioria dos trabalhos

efetuados tem relatado um incremento dos indicadores de estresse e de lesão oxidativa no músculo esquelético durante ou após o exercício físico intenso, quer em animais (O'NEILL, 1996), quer em humanos (BAILEY et al., 2007), estando esta ocorrência intimamente dependente das características do exercício efetuado (SEN, 1995).

Relativo ao músculo esquelético, considerando que este parece ser muito mais dependente da GSH para a neutralização das ERO do que o fígado e o rim (ASAYAMA; KATO, 1990), a medição das concentrações de GSH e GSSG e/ou da atividade das enzimas relacionadas com a sua homeostasia, é considerada o melhor meio de quantificação indireta do EO neste tecido (JI, 1995, 1999; SHAN et al., 1989).

3.7. Metabolismo do lactato

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. Desta forma, 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.

O lactato é contínua e frequentemente formado e eliminado em alta velocidade, mesmo em repouso, em músculos adequadamente oxigenados (CONNETT, 1984). Portanto, um aumento da lactatemia significa apenas que o índice de sua entrada no sangue excedeu seu índice de remoção. No repouso, o lactato é formado em diversos tecidos como: intestinos, músculos esqueléticos, fígado e nas hemácias, formado através da glicólise, indicando ser sua maior fonte de produção. A remoção se dá em locais como coração, rins, fígado e fibras musculares.

Segundo McDermott (1993), a remoção ocorre devido a oxidação mitocondrial até CO₂ e H₂O ou na síntese da glicose através da gliconeogênese, via reversa da glicólise.

Os níveis de lactato no sangue se elevam muito durante um exercício extenuante. Com o início do exercício, há uma enorme aceleração na velocidade de quebra do glicogênio muscular (glicogenólise) e na absorção e catabolismo da glicose (glicólise) (BROOKS, 1984). O aumento da glicólise no músculo leva a um aumento na produção de lactato e com isso, elevação de sua concentração no sangue. Embora o nível de lactato durante o exercício seja dependente de diversos fatores, a duração e intensidade do exercício se constituem nas determinantes principais. Com isso, grande parte do aumento da demanda por energia no

início do exercício, será suprida pela quebra incompleta da molécula de glicose basicamente através da glicogenólise e glicólise anaeróbia.

Uma vez que uma pequena quantidade de energia (ATP) é produzida para cada molécula de glicose. Nesse processo, a velocidade da glicólise anaeróbia deverá ser mais alta do que a capacidade da mitocôndria, relativamente ativa do músculo, de oxidar o lactato em H₂O e CO₂. Desta forma, ocorre um aumento do lactato plasmático porque o lactato muscular é liberado intensamente para o sangue. Caso o exercício seja submáximo, a fosforilação oxidativa da mitocôndrias musculares oxidarão o lactato proporcionando maior rendimento energético e reduzirá a solicitação da via glicolítica anaeróbia. Assim, a velocidade de aumento da concentração de lactato no sangue diminuirá (BROOKS, 1986).

A conversão do lactato em glicose no fígado e nos rins, parece ser responsável por aproximadamente 25% de sua remoção durante o exercício evitando-se que o sistema acumule quantidade elevada de lactato no sangue. A gliconeogênese hepática a partir do lactato parece ser o principal meio de manter a quantidade adequada e glicose sanguínea durante o exercício prolongado (GLEESON,1996).

Ahlborg et al. (1986), demonstraram que o transporte vascular de lactato dos músculos inativos para o fígado, e finalmente para os músculos em recuperação, pode auxiliar a reposição do glicogênio muscular, gasto em exercício extenuante.

De acordo com Gondim (1999), o lactato diferente de compostos energéticos ou combustíveis como a glicose, é um substrato menor e facilmente disponibilizável, sendo transportado sem dificuldade através da membrana da célula, pois acaba por não exigir a presença de co-fatores, como por exemplo, a insulina. Além disso, pode ser produzido em grandes quantidades nos músculos e despejado na circulação sanguínea. Em contrapartida, não há como as fibras musculares com grandes reservas de glicogênio liberar na corrente circulatória, quantidades significativas destas reservas de glicose desfosforilada, devido a ausência de glicogênio fosfatase, sendo importante ressaltar que, o sistema lactato/ácido láctico é um sistema tampão constituído de um ácido fraco (ácido láctico) e sua base conjugada, o lactato.

Em pH fisiológico a constante de dissociação do ácido láctico, (pka) favorece a formação da sua base conjugada, o lactato, liberando próton – íon H⁺. Segundo Juel (1996), o pH intramuscular é mais alcalino do que o seria se o transporte de H⁺ pelo sarcolema fosse apenas passivo. De fato foi descrito um carreador lactato/H⁺ em todos os tipos de células, e atribui-se a este co-transporte (1:1) a função de regulação do pH intracelular no músculo em

atividade (JUEL, 1996). Esta regulação confere ao lactato uma importante função metabólica em condições de exercício. Além disso, o lactato parece ser efetor alostérico negativo da mioglobina (GIARDINA et al., 1996), favorecendo a disponibilização de oxigênio no tecido muscular.

3.8. VO₂ max:

O consumo máximo de oxigênio (VO₂ máx), ou a potência aeróbia máxima, varia individualmente e corresponde ao ponto onde o metabolismo aeróbio chega ao seu limite. Ultrapassado este limiar aeróbio, a energia extra provém apenas do metabolismo anaeróbio, promotor de lactato. Há variações individuais neste ponto de transição, considerado pelos fisiologistas como sendo o limiar anaeróbio ou aero/anaeróbio. Desta maneira, a melhora da potência aeróbia traduz uma adaptação do sistema oxidativo, com aumento da produção de ATP via fosforilação oxidativa (GONDIM, F. J, 1999).

3.9. OPLA (onset of plasma lactate accumulation)

O termo OPLA proposto por Farrel et. al.,(1979) refere-se a intensidade de exercício anterior ao aumento exponencial do lactato no sangue. Este referencial é chamado também por outros autores como limiar do lactato (LT) ou lactate threshold (IVY et al.,1980, TANAKA et al., 1984, WELTMAN et al.,1990).

O termo LT pode ser determinado de outra maneira. Coyle et al., (1983) definiram o LT como a intensidade de exercício que aumenta de 1mM no lactato plasmático acima dos valores da base. De acordo com estes autores, as intensidades dos exercícios são 5% maiores que as determinadas pelo teste OPLA , resultando em depleção do glicogênio, num tempo de fadiga muito similar entre os indivíduos de cerca de 3 horas (COGGAN; COYLE, 1991, COYLE 1995). Cientistas alemães, propuseram o termo limiar anaeróbio (KINDERMAN et. al., 1979) ou limiar aeróbio-anaeróbio (MADER et.al., 1976) valor a que se refere o OPLA a 4mM de lactato no sangue. A justificativa para a escolha desta concentração fixa se dá em função da maioria dos indivíduos apresentarem, nesta intensidade de exercício, o máximo balanço entre produção e a remoção do lactato (MSSLac) (HECK et al.,1985). Contudo, Stergmann et al.,(1981) mostraram que, embora a concentração de lactato no MSSLac seja aproximadamente 4mM, ocorre grande variação individual, propondo o termo limiar

anaeróbio individual (IAT) para uma metodologia que identifique a MSSLac de maneira individualizada (STERGMANN et al., 1981).

Existem diferentes formas de determinação deste limiar, atualmente sendo intensamente empregados na fisiologia do exercício em humanos, fornecendo parâmetros que podem ser utilizados na seleção de atletas, capacidade de desempenho, modulação do treinamento de acordo com o objetivo a ser alcançado e monitoramento dos efeitos provocados ou adaptações induzidas pelo treinamento.

É fato que, dosagens bioquímicas de lactato ainda são pouco utilizadas para o monitoramento e condicionamento físico no desporto equestre brasileiro. Comumente, dosagens bioquímicas são utilizadas somente em grandes centros hípicas para diagnosticar disfunções ou má performance (COTTA; FERREIRA, 1995). No entanto, a exata determinação do limiar aero/anaeróbio é extremamente importante em cavalos atletas. De acordo com Hodgson e Rose, (1994), os parâmetros mais utilizados internacionalmente em equinos são:

- O limiar aeróbio, definido como a intensidade de esforço correspondente à concentração de 2.5 mmol de lactato / L de sangue.
- O limiar anaeróbio, OPLA, definido como a intensidade de esforço correspondente à concentração de 4.0 mmol de lactato/ L de sangue.
- O limiar anaeróbio individual (LAI) (SIMÕES et al., 1999), é o ponto estacionário entre a produção e remoção de Lacmin, testes incrementais precedidos de um exercício intenso para indução de hiperlactatemia (GONDIM et al., 2007) são protocolos que usam a [Lac-]s para avaliar a capacidade aeróbia.

Segundo Lindner (2000), a análise da concentração do lactato presente no sangue, vem sendo utilizada com tanta frequência quanto os parâmetros clínicos e acaba por fornecer informações adicionais sobre o condicionamento atual do atleta. Testes de performance a campo são mais específicos e realistas, principalmente se forem similares às condições de competição (MARLIN; NANKERVIS, 2002).

A concentração de lactato sanguíneo é uma variável de fácil aferição, mesmo em condições de campo (COUROUCÉ, 1998) e está relacionada à intensidade do exercício, possibilitando avaliar o sistema de produção energética mais utilizado (DESMECHT et al., 1996). É a variável que apresenta melhor correlação com a performance competitiva do animal (LINDNER, 2000).

3.10. Frequência cardíaca

A mensuração do lactato presente no sangue como meio de avaliação da intensidade do esforço físico é bem aceita em humanos e equinos (HINCHCLIFF, 1997). O lactato plasmático começa a aumentar quando a frequência cardíaca ultrapassa valores de 150 a 160 batimentos por minuto. Isto porque, a intensidade do exercício que produz frequências nestes valores caracteriza um trabalho quase anaeróbio na maioria dos equinos (JONES, 1989). Aponta-se como um dos efeitos do treinamento do cavalo atleta, o aumento da intensidade do exercício no qual o lactato começa a se acumular (limiar anaeróbio), além da ocorrência de melhora na capacidade respiratória do animal (EATON et al., 1999; COUROUCÉ, 1998).

Um importante indicador de saúde do cavalo seria a frequência cardíaca no momento do repouso. A frequência cardíaca (FC) do cavalo varia de 25 a 40 batimentos por minuto (bpm), acima de 60 bpm em condições de repouso, se constitui como indicador de estresse, que pode ser originário de uma excessiva sessão de treinamento do dia anterior, uma lesão que ainda não se manifesta clinicamente (CRAIG; NUNAN, 1998). De acordo com Hodgson e Rose (1994), uma outra forma de se avaliar o nível de condicionamento de um equino, seria por meio da (FC) pós-exercício, ou seja, no período de recuperação, quando mais rápido o retorno à normalidade, melhor seria sua condição física ao longo de um treinamento.

Diversos estudos têm utilizado as variações da frequência cardíaca, com fins de avaliação do sistema nervoso autônomo, já que esta prática não invasiva reflete as interações entre os componentes simpáticos e parassimpáticos sobre o nodo sinusal (MOHR et al., 2000, NEVES et al., 2006). A análise da variação da frequência cardíaca torna possível a observação e compreensão dos mecanismos extrínsecos do controle do ritmo cardíaco em situações fisiológicas e patológicas (PUMPRLA et al., 2002).

Uma alta variabilidade da (FC), é um satisfatório sinal de adaptabilidade, indicando um bom funcionamento do controle autonômico cardíaco e normalmente é causada pelo aumento do tônus vagal associado a uma redução do tônus simpático. Do contrário, uma baixa variabilidade da (FC) indica um maior risco de desenvolvimento de doenças cardíacas (PUMPRLA et al., 2002). Desta forma, a aferição da frequência cardíaca nos diferentes momentos do treinamento, adquire relevante importância na detecção do condicionamento físico do animais, bem como, das consequências dos exercícios que lhe são impostos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Local e animais

Utilizou-se 16 equinos pertencentes ao Exército Brasileiro, sendo estes, machos castrados e fêmeas não prenhes, todos sem raça definida, dentro da faixa etária de 4 a 11 anos. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, grupo controle e o segundo grupo, que recebeu suplementação com vitamina E e selênio, em dose de 20ml por via oral, obedecendo-se dose e via de administração recomendada pelo fabricante, por 20 dias consecutivos. Ambos os grupos participaram de um jogo de Polo simulado, sendo que cada animal jogou dois tempos com um tempo de intervalo.

A realização dos ensaios experimentais deu-se no campo de polo, pertencente ao 2º RCG, REGIMENTO ANDRADE NEVES, Rio de Janeiro/RJ. Todos os animais submetidos aos experimentos, foram previamente pesados e submetidos a avaliação clínica.

4.2. Coletas de sangue e processamento das amostras:

Após a inspeção veterinária (“*vetchek*”), com duração estimada em 10 minutos realizou-se a primeira coleta 15 minutos antes do início da prova, sendo considerado este o momento zero, ou basal, com os animais já encilhados. As amostras (2), (3), (4) e (5) foram colhidas após cada “*chukka*” ou tempo de jogo, que durou aproximadamente 8 minutos. Realizou-se colheitas adicionais 24 (6), 48 (7) e 72 horas (8), após o término das provas, com o objetivo de monitorar a recuperação dos animais.

As coletas ocorreram por meio da punção da veia jugular, em cada momento, com tubos Vacuette® (4,0ml), contendo ou não anticoagulante (ácido etilenodiaminotetracético - EDTA, heparina ou fluoreto de sódio + EDTA) e ativador de coágulo. Logo após, executou-se o resfriamento dos tubos em recipiente isotérmico com gelo seco.

O sangue foi colhido e acondicionado em tubos sem anticoagulante ou com fluoreto de sódio, em seguida foram centrifugados (5000rpm/3min) para obtenção de soro e plasma, respectivamente, e novamente resfriados até a análise laboratorial. Para a determinação de biomarcadores de radicais livres as amostras colhidas em tubos com heparina foram imediatamente submetidos à centrifugação (5000rpm/3minutos), com o objetivo de separar a

fração sólida (papa de células), e congeladas em nitrogênio líquido sendo posteriormente estocadas em freezer a - 80° C.

Amostras colhidas com fluoreto de sódio, foram empregadas na determinação das concentrações plasmáticas de Lactato, Glicose e Capacidade Antioxidante Total.

Nas amostras de sangue contendo EDTA utilizou-se para a determinação do hemograma e da concentração de proteínas plasmáticas totais dos animais, o contador automático de células sanguíneas¹

4.3. Avaliação clínica:

Após cada “*chukka*” ou tempo de jogo, os animais foram examinados clinicamente, onde pôde observar-se à inspeção, sinais de claudicação; à palpação, sinais de lesões musculares ou lombares; e medidos os parâmetros vitais (coloração de mucosas, tempo de enchimento capilar (TEC), turgor cutâneo (TC), temperatura retal (T), frequência cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR) e ausculta pulmonar(AP) e digestiva(AD).

4.4. Análises laboratoriais

As amostras colhidas foram processadas preliminarmente no Laboratório de Avaliação do Desempenho de Equinos (EsEqEx/UFRRJ) e em seguida transportadas sob refrigeração para o Laboratório de Pesquisas em Saúde Equina–EQUILAB (UFRRJ).

A determinação da concentração de glicose foi realizada a partir das amostras plasmáticas contendo fluoreto de sódio + EDTA empregando-se Kit comercial² (Método enzimático colorimétrico). Nas amostras de soro, foram realizadas as determinações das concentrações de creatinina (método de ponto final), atividade sérica das enzimas aspartato amino transferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e creatinoquinase (CK). A atividade destas enzimas foi determinada através de ensaio cinético em ultravioleta em analisador bioquímico automatizado³.

Para as análises da concentração de lactato, as amostras de sangue foram colhidas em tubos com fluoreto de sódio/oxalato de potássio e acondicionadas em isopor com gelo e

¹ Analisador Hematológico Veterinário poch-100iV Diff da Sysmex

² Kit para determinação de Lactato - Katal Biotecnológica Indústria e Comércio Ltda – Belo Horizonte – BR.

³ A15: Biosystems

transportadas imediatamente para o laboratório onde foram centrifugadas e o plasma colhido e acondicionado em frascos de 1,5 ml tipo eppendorf, os quais foram rotulados, identificados e armazenados em freezer -80° C até o momento das análises.

A avaliação da capacidade antioxidante total (CAnT) foi medida em amostras de plasma, através de kit comercial⁴, conforme as recomendações do fabricante, e as leituras foram efetuadas em leitor de microplacas.⁵

4.5. Análise estatística

Os dados paramétricos serão analisados pelo teste ANOVA para medidas repetidas. No pós-teste para comparação múltipla de médias foi aplicado o teste de Bonferroni.

⁴ Antioxidant Assay Kit - SIGMA – referência CS0790

⁵ Thermo Plate modelo TP Reader

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação clínica.

Os animais participantes do experimento apresentaram todos os parâmetros vitais antes, durante e após o jogo, dentro da normalidade e não foram constatadas lesões macroscópicas. Os dados aferidos estão demonstrados nos quadros 2, 3 e 4 a seguir:

Quadro 2 Parametros clínicos de equinos obtidos antes do início de jogo de Polo.

ANIMAIS	MUCOSA	TEC	TC	T	FC	FR	AP	AD
EQUINO1	N	<2 seg	N	37,6°C	24	10	N	POSITIVA
EQUINO2	N	2 seg	N	37,5°C	24	10	N	POSITIVA
EQUINO3	N	2 seg	N	37,7°C	24	12	N	POSITIVA
EQUINO4	N	<2 seg	N	37,5°C	28	12	N	POSITIVA
EQUINO5	N	2 seg	N	37,8°C	25	10	N	POSITIVA
EQUINO6	N	2 seg	N	37,6°C	24	10	N	POSITIVA
EQUINO7	N	<2 seg	N	37,8°C	25	12	N	POSITIVA
EQUINO8	N	<2 seg	N	37,5°C	25	10	N	POSITIVA
EQUINO9	N	2 seg	N	37,5°C	24	10	N	POSITIVA
EQUINO10	N	2 seg	N	37,6°C	24	12	N	POSITIVA
EQUINO11	N	<2 seg	N	37,6°C	24	10	N	POSITIVA
EQUINO12	N	<2 seg	N	38,1°C	28	12	N	POSITIVA
EQUINO13	N	<2 seg	N	38,0°C	25	10	N	POSITIVA
EQUINO14	N	<2 seg	N	37,5°C	28	12	N	POSITIVA
EQUINO15	N	<2 seg	N	37,6°C	25	12	N	POSITIVA
EQUINO16	N	2 seg	N	38,0°C	24	12	N	POSITIVA

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

Quadro 3 Parametros clínicos de equinos obtidos após o primeiro tempo de jogo de Polo.

ANIMAIS	MUCOSA	TEC	TC	T	FC	FR	AP	AD
EQUINO1	N	2 seg	N	38,8°C	72	28	N	POSITIVA
EQUINO2	N	<2 seg	N	38,7°C	64	28	N	POSITIVA
EQUINO3	N	2 seg	N	38,7°C	88	32	N	POSITIVA
EQUINO4	N	2 seg	N	38,7°C	72	32	N	POSITIVA
EQUINO5	N	<2 seg	N	38,8°C	112	32	N	POSITIVA
EQUINO6	N	2 seg	N	38,9°C	120	36	N	POSITIVA
EQUINO7	N	<2 seg	N	38,8°C	64	28	N	POSITIVA
EQUINO8	N	2 seg	N	38,7°C	92	28	N	POSITIVA
EQUINO9	N	<2 seg	N	38,7°C	64	28	N	POSITIVA
EQUINO10	N	<2 seg	N	38,8°C	112	32	N	POSITIVA
EQUINO11	N	<2 seg	N	38,8°C	112	32	N	POSITIVA
EQUINO12	N	2 seg	N	38,7°C	72	32	N	POSITIVA
EQUINO13	N	2 seg	N	38,7°C	92	28	N	POSITIVA
EQUINO14	N	2 seg	N	38,7°C	72	32	N	POSITIVA
EQUINO15	N	<2 seg	N	38,8°C	64	28	N	POSITIVA
EQUINO16	N	2 seg	N	38,7°C	92	28	N	POSITIVA

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

Quadro 4 Parametros clínicos de equinos obtidos após o segundo tempo de jogo de Polo.

ANIMAIS	MUCOSA	TEC	TC	T	FC	FR	AP	AD
EQUINO1	N	2 seg	N	38,6°C	64	28	N	POSITIVA
EQUINO2	N	2 seg	N	38,5°C	80	28	N	POSITIVA
EQUINO3	N	2 seg	N	38,5°C	76	32	N	POSITIVA
EQUINO4	N	2 seg	N	38,7°C	64	28	N	POSITIVA
EQUINO5	N	2 seg	N	38,8°C	88	28	N	POSITIVA
EQUINO6	N	2 seg	N	38,7°C	84	28	N	POSITIVA
EQUINO7	N	2 seg	N	38,7°C	72	36	N	POSITIVA
EQUINO8	N	2 seg	N	38,5°C	108	32	N	POSITIVA
EQUINO9	N	2 seg	N	38,7°C	72	36	N	POSITIVA
EQUINO10	N	2 seg	N	38,5°C	80	28	N	POSITIVA
EQUINO11	N	2 seg	N	38,5°C	80	28	N	POSITIVA
EQUINO12	N	2 seg	N	38,5°C	76	32	N	POSITIVA
EQUINO13	N	2 seg	N	38,7°C	84	28	N	POSITIVA
EQUINO14	N	2 seg	N	38,6°C	64	28	N	POSITIVA
EQUINO15	N	2 seg	N	38,8°C	88	28	N	POSITIVA
EQUINO16	N	2 seg	N	38,7°C	80	28	N	POSITIVA

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. As análises incidem sobre a composição iônica do meio interno, a quantidade dos metabolitos energéticos circulantes e as enzimas, revelando certas lesões celulares. O resultado global do conjunto leva ao que se denomina de “perfil metabólico”, cujas variações são características das modificações fisiológicas ou patológicas.

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 (EROs) 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).

5.2.1. Creatinina

Kaneko (1989) cita que 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. Houve aumento dos valores de creatinina após o exercício como constatado por (HODGSON & ROSE 1994; PICCIONE et al. 2008) assim como, ocorreu em cavalos árabes acometidos por rabiomiólise (W.M. EL-DEEB & S. M. EL-BAHR 2010).

No presente estudo, o grupo suplementado com vitamina E e selênio, apresentou elevações significativas dos valores de creatinina no plasma (Valor $P = 0,0006$), após o segundo chukka ou tempo de jogo, indicando relação com o aumento da carga de trabalho (Tabela 1, figura 1). No entanto, retornaram aos níveis basais em ambos os grupos no período de 24 horas.

Antes do exercício, os níveis basais de creatinina dos animais suplementados apresentaram-se maiores que os dos animais não suplementados sugerindo correlação positiva desta suplementação nos níveis de creatinina, além de que, ocorreu significativa diferença da elevação destes níveis após o primeiro tempo de jogo, em relação ao basal, observada no grupo controle. No grupo suplementado esta diferença em relação ao basal só manifestou-se

após o segundo tempo de jogo, porém não foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Valor P = 0,2951) ; houve diferença entre os tempos (Valor p = 0.0006).

Tabela 1 Valores médios e desvio padrão de creatinina em mg/dl de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.

		MOMENTOS DE COLETA DE AMOSTRAS					
		Zero	1º T	2º T	24	48	72
Controle	Média	1.7 a	2.5 b	2.2 ab	1.5 a	1.7 a	1.8 a
	±	±	±	±	±	±	±
	DP	0.4	0.5	0.4	0.8	0.4	0.4
Se/Vit E	Média	1.9 ab	1.9 ab	2.1 b	1.7 ab	1.5 a	1.6 ab
	±	±	±	±	±	±	±
	DP	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.6

Medias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas ou sem elas não diferem estatisticamente entre si. Valor P = 0.2951 para os tratamentos, Valor P = 0,0006 para o fator tempo.

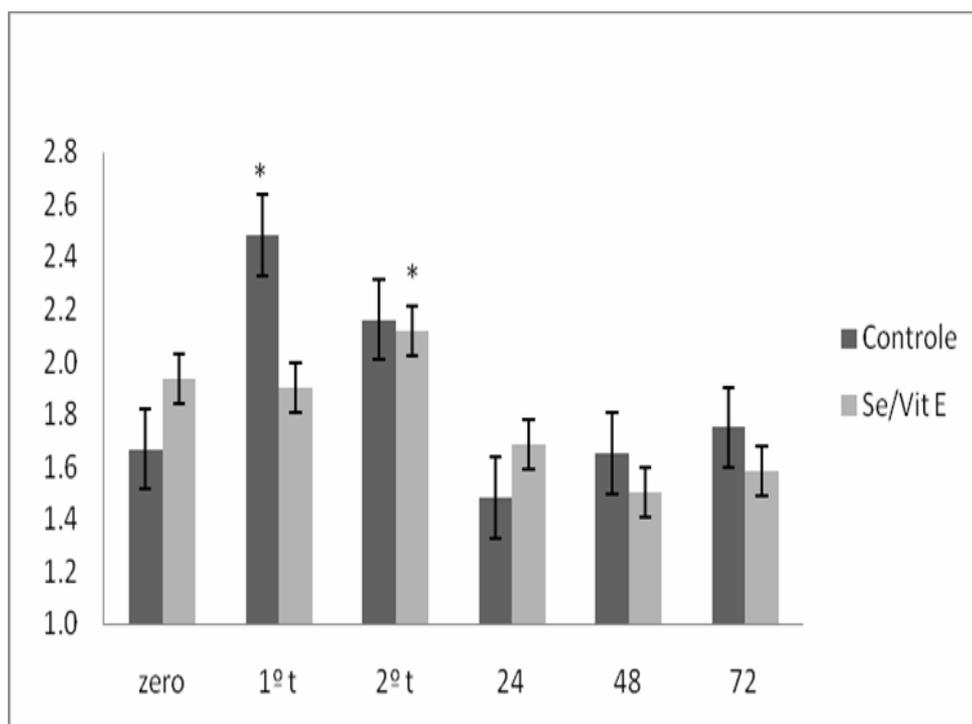


Figura 1 Valores séricos representativos das médias e erros-padrão de creatinina, expressos em mg/dl, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor P = 0.2951 para os tratamentos, Valor P = 0,0006 para o fator tempo.

5.2.2. Aspartato aminotransferase (AST)

Conforme pode ser observado na tabela 2 e figura 2 abaixo, somente o grupo controle apresentou alteração significativa em relação ao momento zero, após o primeiro e segundo tempos de jogo (Valor P = 0,0097) . O pico de atividade sérica de AST ocorreu após o primeiro tempo de jogo para o grupo controle (254,7 UI/L). No grupo tratado não se observou elevação significativa nos valores de AST, que apresentou valores relativamente estáveis durante a avaliação, apesar de já no momento zero, apresentar valores mais elevados que o grupo controle, o que foi observado ao longo de toda avaliação. O pico da atividade sérica de AST foi de 273,9 UI/L, observado após o segundo tempo de jogo.

Os valores de referência da atividade sérica de AST variam de 226 a 366 UI/L, segundo Kaneko et al. (1997), já Rose e Hodgson (1994) relatam valores variando entre 150 e 400 UI/L. Assim, presume-se que a atividade desenvolvida pelos equinos neste estudo não foi capaz de promover danos musculares significativos, em nenhum dos animais avaliados.

A AST catalisa a transaminação da L-aspartato a 2-oxiglutarato em oxaloacetato e glutamato. São encontradas duas isoenzimas, uma citossólica e outra mitocondrial, que podem ser encontradas no fígado, músculos, coração, eritrócitos e células da mucosa intestinal (KRAMER, 1989). Portanto, a AST aumenta em caso de maior exercício muscular, devendo ser estudada junto com a creatina quinase. Valores elevados podem significar danos musculares. A elevação de AST e CK é típica do músculo afetado (miosite, mioglobinúria) é um sinal de disfunção muscular, se não de distress (CORNELIUS C.E. et al. 1963). Foram encontrados maiores níveis de AST em cavalos supertreinados comparados aos cavalos controlados (TYLER-MCGOWAN, GOLAND LC, EVANS DL et al. 1999). O exercício determinou aumento dos valores de CK e AST em ambos os grupos possivelmente pelo mecanismo de aumento da permeabilidade das paredes celulares em função do exercício (SICILIANO et al. 1997) .

Tabela 2 Valores médios e desvio padrão de Aspartato aminotransferase (AST) em UI/L de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.

		MOMENTOS DE COLETA DE AMOSTRAS					
		Zero	1º T	2º T	24	48	72
Controle	Média	211.9 a	254.7 b	250.8 b	236.6 ab	247.1 ab	219.3 ab
	±	±	±	±	±	±	±
	DP	46.7	36.6	30.8	23.3	38.9	39.3
Se/Vit E	Média	243.9 a	272.1 a	273.9 a	251.0 a	251.3 a	230.7 a
	±	±	±	±	±	±	±
	DP	48.7	26.2	27.0	46.2	35.7	49.4

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas ou sem elas não diferem estatisticamente entre si. Valor P = 0.3517 para os tratamentos, Valor P = 0,0097 para o fator tempo

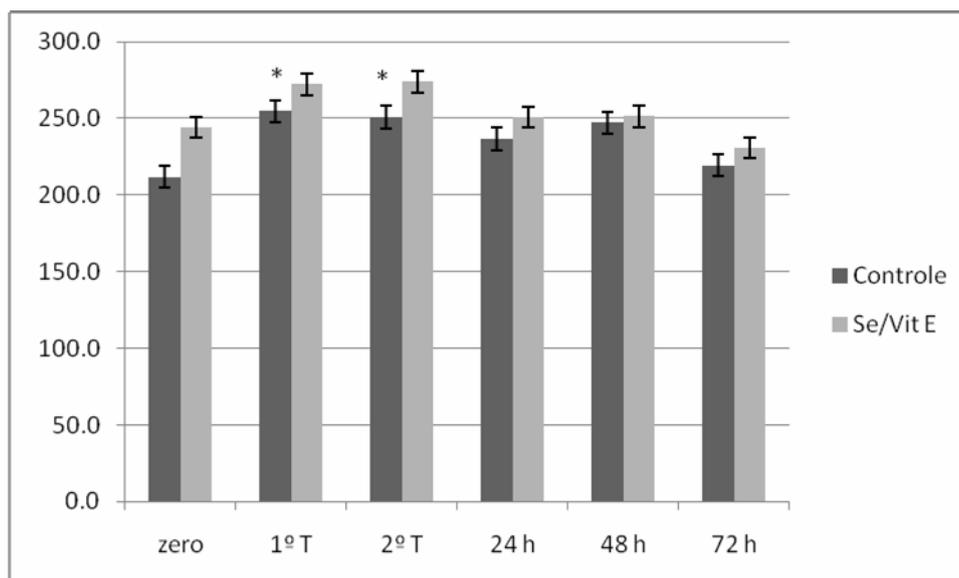


Figura 2 Valores séricos representativos das médias e erros-padrão de , aspartato aminotransferase expressos em mg/dl, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor p =0,3717 para os tratamentos e Valor p = 0.0097 para os tempos

O retorno aos níveis basais de AST ocorreram entre 48 e 72 horas após o exercício no GT e após as 72 horas no GC, apesar de não ter sido observado aumento significativo

estatisticamente das médias da AST no grupo suplementado, não ocorrendo com o grupo controle onde houve aumento significativo relativo ao nível basal após os primeiro e segundo tempos de jogo, indicando efeito da suplementação.

Diferente do estudo em cavalos de salto suplementados com vitamina E e Selênio realizado por Dias D.C.R. et al. (2009) onde na avaliação da AST, o valor da médias entre os grupos, seis horas após a realização do exercício, o GT retornou ao valor basal. Siciliano et al. (1997) relatam o pico de AST ocorrendo 6 a 24 h após o exercício, e retorno aos níveis basais 72 horas após o exercício. No entanto, foi observado resultado semelhante em relação ao retorno mais rápido aos níveis basais dos animais suplementados comparados ao grupo controle.

5.2.3. Lactato desidrogenase (LDH)

Segundo Kramer (1989), a LDH catalisa a reação reversível de oxidação do piruvato em L-lactato com o cofator NAD e é encontrada no coração, fígado, musculatura esquelética, rins e glóbulos vermelhos.

A LDH juntamente com a AST e CK foram utilizadas por Garcia citado por Scheffer (2004), para monitorar a intensidade do exercício em cavalos crioulos.

Neste estudo, a atividade sérica de LDH nos animais suplementados com vitamina E e Selênio antes do exercício foi de 341,8 e 308,8 para o grupo controle, com o pico de atividade ocorrendo após o segundo tempo de jogo para o grupo tratado (471,3 UI/L), retornando a valores semelhantes ao basal às 24 h. Para o grupo controle, o pico ocorreu 24 h após o jogo (433,2 UI/L), evidenciando uma demora na remissão da atividade sérica de LDH nos animais não tratados.. Resultados semelhantes foram obtidos por Correa et al. (2010), que observaram valores significativamente maiores de LDH após o exercício para animais não tratados com selênio e Vitamina E em relação ao grupo tratado. Dias D.C.R. et al. (2009) em seu estudo com cavalos de salto, observam valores inferiores aos evidenciados neste trabalho. O valor mais elevado pode estar relacionado ao grupo de animais utilizados e suas respectivas características que podem interferir na atividade das enzimas musculares, uma vez que a LDH mensurada refere-se à soma de cinco isoenzimas localizadas no fígado, nos músculos, eritrócitos, células intestinais e tecido renal, sendo que alterações nesses tecidos podem ter influenciado os níveis séricos encontrados (THOMASSIAN et al. 2007)

Observou-se ainda, aumento estatisticamente significativo dos níveis de LDH com início e progressão da intensidade do exercício (tabela 3), em relação aos níveis basais em ambos os grupos, permanecendo esta elevação dos níveis de LDH 24 horas após o exercício,

neste momento atingindo seu pico, somente no grupo controle (figura 3). O que conclui-se que houve um melhor aproveitamento energético devido a um aumento superior da atividade de LDH durante o exercício e uma maior proteção antioxidativa no grupo suplementado.

Tabela 3 Valores médios e desvio padrão de Lactato desidrogenase (LDH) em UI/L de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.

		MOMENTOS DE COLETA DE AMOSTRAS					
		Zero	1º T	2º T	24	48	72
Controle	Média	308.8 a	382.0 b	382.6 b	433.2 b	380.8 b	297.8 a
	±	±	±	±	±	±	±
	DP	115.9	135.5	48.4	61.3	81.1	85.8
Se/Vit E	Média	341.8 a	409.5 b	471.3 b	425.3 ab	396.7 a	329.2 a
	±	±	±	±	±	±	±
	DP	98.6	55.7	75.3	72.0	66.3	51.4

Medias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas ou sem elas não diferem estatisticamente entre si. Valor P = 0.5383 para os tratamentos, Valor P = 0,0002 para o fator tempo

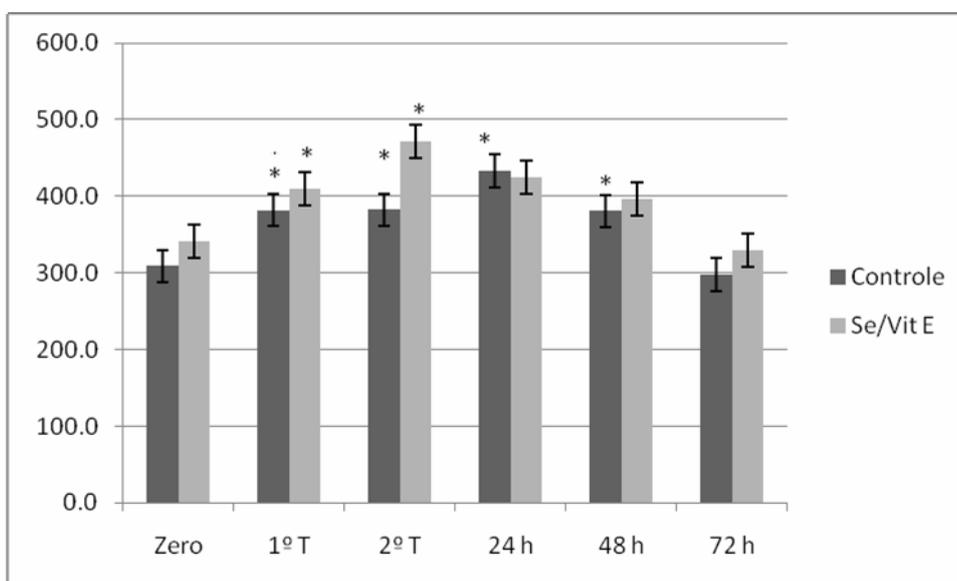


Figura 3 Valores séricos representativos das médias e erros-padrão de lactato desidrogenase, expressos em mg/dl, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor p =0,5383 para os tratamentos e Valor p = 0.0002 para os tempos.

A LDH pode se apresentar na forma H, isoenzimas atuantes no coração, ou na forma M, isoenzimas atuantes no músculo; estas, por sua vez, apresentam sua atividade mantida mesmo quando as concentrações de piruvato são elevadas, o que favorece a redução anaeróbica do piruvato. A atividade total desta enzima e a LDH músculo-específica são mais elevadas nas fibras de contração rápida do que nas fibras de contração lenta. Como as fibras de contração rápida obtêm a maior parte de sua energia na via anaeróbica, é esperado que apresentem maior concentração da enzima. São considerados valores normais os valores inferiores a 350UI/L para cavalos em treinamento (CORREA, K.S. et al. 2010).

A produção de ácido láctico no músculo é um importante fator que induz à fadiga; assim, suas concentrações no exercício apresentam importante papel na função muscular. Segundo Poso (2002), o músculo e o sangue dos equinos apresentam propriedades que aumentam sua tolerância ao ácido láctico, necessária para a manutenção do desempenho. Quando no exercício leve, a energia é suprida com o metabolismo aeróbico, através da fosforilação oxidativa, porém, com o aumento da intensidade do exercício, boa parte da energia produzida provém do metabolismo anaeróbico. Todas as fibras apresentam lactato desidrogenase, porém esta enzima apresenta maior atividade nas fibras que apresentam menor volume mitocondrial e menor capilarização, ou seja, fibras do tipo 2B. A lactato desidrogenase também tem a capacidade de transformar lactato em piruvato. Recentes estudos demonstraram que no interior da mitocôndria também existe atividade da lactato desidrogenase, sugerindo que parte da oxidação do lactato possa ocorrer no interior da mitocôndria (BROOKS citado por POSO, 2002).

5.2.4. Creatinina Kinase (CK)

A liberação de enzimas citoplasmáticas, incluindo CK, AST e LDH, foi considerada um parâmetro de avaliação para a lesão muscular durante o exercício (LINDSAY et al., 1980). Dentre estas, a atividade da CK foi considerada por Duncan e Prase (1986) o indicador mais específico e sensível para detectar e monitorar a lesão muscular em equinos. No equino a CK é encontrada no músculo esquelético, miocárdio e cérebro. Parece haver pouca ou nenhuma troca entre o líquido cerebrospinal e o plasma. Um aumento significativo na concentração da CK plasmática total deverá estar associada a lesão muscular cardíaca ou esquelética. Isoladamente a concentração plasmática da CK não poderá ser usada

para diferenciar lesão cardíaca de lesão muscular esquelética. Segundo Hortobagyt et al. (1989) e Bruin et al. (1994) a CK plasmática é um marcador de overtraining.

Tabela 4 Valores médios e desvio padrão de Creatinina Kinase (CK) em UI/L de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.

		MOMENTOS DE COLETA DE AMOSTRAS					
		Zero	1º T	2º T	24	48	72
Controle	Média	196.5 ±	209.3 ±	221.5 ±	210.3 ±	295.8 ±	288.2 ±
	DP	246.1	72.5	47.4	84.2	219.0	53.2
Se/Vit E	Média	230.3 ±	238.0 ±	240.0 ±	302.2 ±	170.5 ±	189.2 ±
	DP	47.2	281.9	53.2	40.7	51.0	53.2

Medias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas ou sem elas não diferem estatisticamente entre si. Valor P = 0.3023 para os tratamentos, Valor P = 0.9770 para o fator tempo.

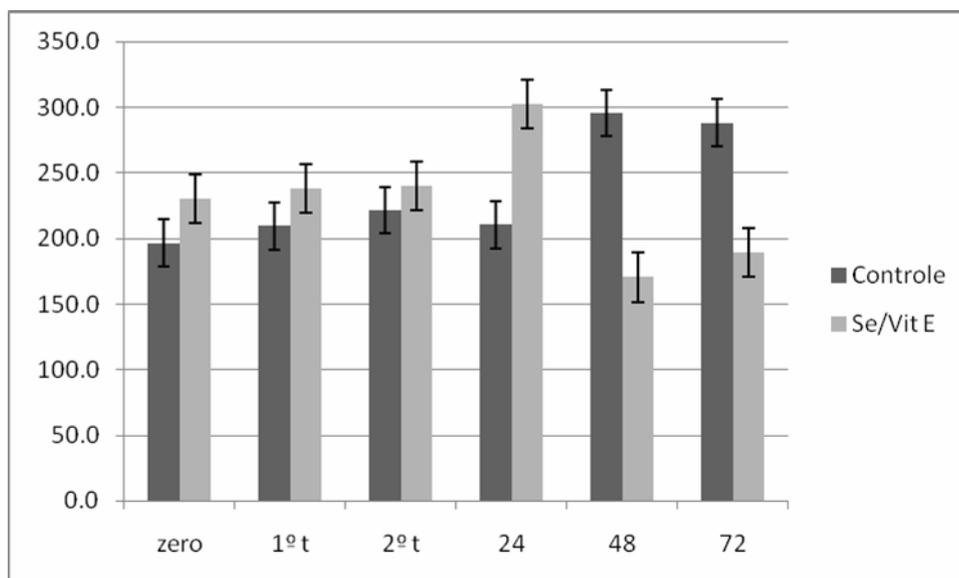


Figura 4 Valores séricos representativos das médias e erros-padrão de creatinina kinase, expressos em UI/L, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor p = 0,3023 para os tratamentos e Valor p = 0.9770 para os tempos.

Em recente estudo, após o exercício, verificou-se aumento de CK somente 24 horas após o exercício, com retorno dos níveis sérios de CK para valores semelhantes aos observados antes do exercício já às 36 horas para o grupo tratado e somente às 72 horas para o grupo controle, sugerindo uma melhor proteção muscular para o grupo tratado. Porém não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e entre os tempos. No entanto, os animais retornaram aos valores do pré-exercício em 24 horas, indicando suficiente recuperação de todos os cavalos (LINDNER et al. 2009).

As médias de CK elevaram-se apenas nos animais que não receberam suplementação com vitamina E e Selênio, embora não tenha havido significância estatística destes resultados entre os grupos.

A atividade da CK não apresentou diferenças ($p > 0,05$) entre os grupos como também na avaliação do efeito do tempo dentro de cada grupo ao se avaliar a influência da suplementação da dieta de vitamina E e Selênio (DIAS D.C.R. et al. 2009).

Houve aumento das médias de CK em ambos os grupos, embora as concentrações antes do exercício foram maiores no grupo suplementado e estes animais retornaram aos valores basais entre 24 e 48 horas, não ocorrendo o mesmo no grupo controle em até 72 horas, apesar de não ter havido significância estatística destes resultados entre os grupos. Outro fato foi que houve picos dos níveis de CK 24 horas após o exercício no grupo que recebeu suplementação, isto só ocorrendo no grupo controle 48 horas após o esforço, sugerindo que nos animais suplementados houve uma menor propagação do estresse oxidativo imposto pelo exercício.

A resposta de atividade sérica de CK foi anteriormente observada em cavalos de salto (LEKEUX et al., 1991); no entanto, a suplementação com Vitamina E e Selênio não produziu efeito sobre a atividade dessa enzima. Resultado semelhante foi obtido em outros experimentos utilizando equinos de outras atividades esportivas (SICILIANO et al., 1997; CHIARADIA et al., 1998; KINNUNEN et al., 2005), assim como em experimento que utilizou como antioxidante o ascorbato (WHITE et al., 2001), além de pesquisas realizadas no Brasil, em cavalos da raça Árabe, submetidos a exercício em esteira progressiva (MACHADO, 2006).

5.2.5. Glicose

Durante o exercício prolongado, a glicose sanguínea é um substrato importante que contribui com mais de 25% do total de energia produzida, especialmente quando as concentrações de glicogênio muscular estiverem baixas (LINDHOLM et al., 1974).

Padalino B. et al. (2007) testando cavalos de corrida submetidos a overtraining não detectaram alterações nos níveis de glicose entre os animais saudáveis e os hipoteticamente acometidos. O fator limitante das reservas extramusculares de glicose para o esforço muscular é a reposição de glicose nas miofibras. A concentração de glicogênio no músculo cai constantemente durante o exercício submáximo, porém esta queda é atenuada pela presença de ácidos graxos livres e glicose sanguínea disponíveis para o metabolismo (VALBERG et al., 1993). A velocidade e a duração do exercício parecem ser os fatores mais importantes que influenciam a glicose sanguínea, visto que após prova de enduro de 160km de distância, a glicemia se relacionou negativamente com a velocidade (ROSE et al., 1983).

Tabela 5 Valores médios e desvio padrão de Glicose, expressos em mg/dL, de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.

		MOMENTOS DE COLETA DE AMOSTRAS					
		Zero	1º T	2º T	24	48	72
Controle	Média	95,3	98,8	95,6	86,3	90,0	93,0
	DP	14,4	10,9	7,9	5,5	5,8	7,4
Se/Vit E	Média	89,5	83,8	89,0	83,5	85,7	93,3
	DP	4,5	10,5	4,2	8,9	9,7	5,3

Medias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas, ou sem elas, não diferem estatisticamente entre si. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas, ou sem elas, não diferem estatisticamente entre si. Valor P = 0.7693 para os tratamentos, Valor P = 0.1788 para o fator tempo.

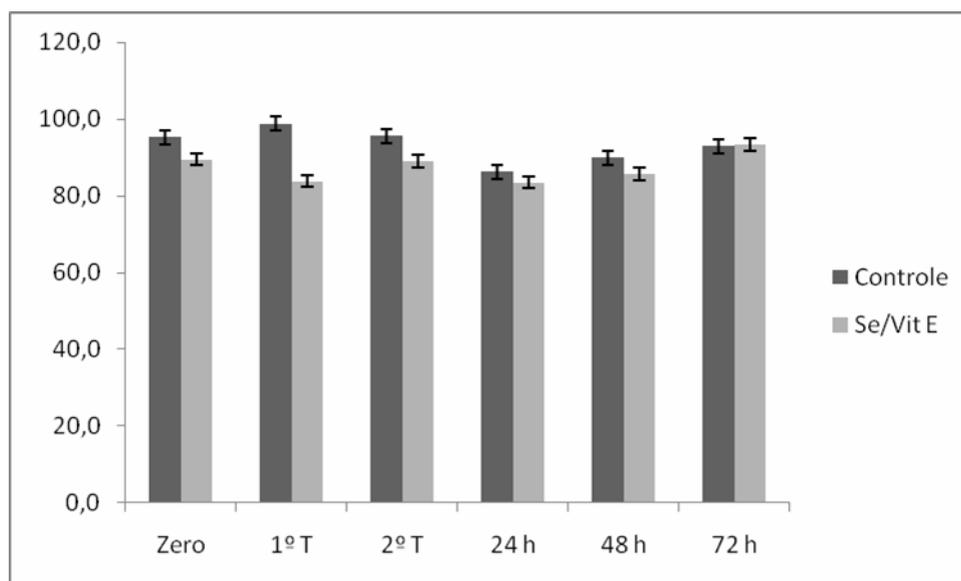


Figura 5 Valores plasmáticos representativos das médias e erros-padrão de Glicose, expressos em mg/dL, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro chukke, 2ºT, após o segundo chukke, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor $p = 0,4431$ para os tratamentos e Valor $p = 0,0681$ para os tempos.

As mudanças nas concentrações de glicose plasmática indicam estímulo para a glicogênese hepática (ROSE & HODGSON, 1994). Fatores que influenciam a glicose sanguínea são bastante complexos e dependentes das taxas de glicogenólise e gliconeogênese (ROSE et al., 1983). A elevação das concentrações de glicose ocorrem de maneira geral, após exercícios máximo e sub-máximo de curta distância (SNOW & MaCKENZIE, 1977; ROSE et al., 1983) e não se alteram após esforço de enduro (ROSE et al., 1977; SNOW et al., 1982).

Grosskopf & Van Rensburg (1983), bem como Van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al. (1991) e Teixeira-Neto (2006) testando animais de enduro, revelaram aumento significativo da glicemia aos 30 e 50 Km iniciais e decréscimo significativo aos 70 Km de distância, com o retorno aos valores basais no final das provas. De acordo com Teixeira-Neto (2006), durante o período de recuperação os valores de glicose permaneceram similares aos de pré-provas, nas primeiras 24 horas, decrescendo significativamente 48 e 72 horas após.

Segundo Coogan (1991) a glicogenólise é dominante na maioria dos exercícios, e é maior no começo e durante esforço de alta intensidade. A taxa de gliconeogênese é maior com o prolongamento do esforço.

No estudo em tela a glicose comportou-se de maneira similar em ambos os grupos retornando aos valores basais após o 2º tempo de jogo, ou seja, com término do esforço, e atingindo valores praticamente idênticos 72 horas após o exercício com valores aumentados, apesar de no momento do repouso os valores basais do grupo suplementado terem se apresentado menores que os do grupo controle.

5.2.6. Lactato

Segundo Snow (1985), o ácido láctico acumulado na musculatura pode desencadear a fadiga. O aumento da concentração no músculo provoca um aumento da pressão osmótica da célula muscular, permitindo o influxo de água e aumentando, assim, o volume da célula, que irá atuar inibindo a quebra do glicogênio

A determinação das concentrações de lactato pode ser utilizada para distinguir diferentes tipos de exercício e melhor compreender a fisiologia dos equinos durante o exercício, conforme citado por Desmecht et al. (1996). O acúmulo de lactato é um dos fatores mais importantes na limitação de performance (SNOW; VALBERG, 1994). Poso (2002), relata que o ácido láctico irá então se dissociar e atuar sobre o metabolismo. A acidificação da célula atuará sobre o metabolismo do cálcio muscular, aumentando o tempo de relaxamento da musculatura, e os prótons irão atuar na miosina ATP-ase, minimizando sua atividade. A produção de energia será diminuída, pois os prótons reduzem a atividade das enzimas da glicólise, como a fosfofrutoquinase, além de inibirem a fosforilação do glicogênio.

Tabela 6 Valores médios e desvio padrão de Lactato plasmático expressos em mmol/L de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.

		MOMENTOS DE COLETA DE AMOSTRAS					
		Zero	1º T	2º T	24	48	72
Controle	Média	0.6 a	8.2 b	6.5 c	0.6a	0.7a	0.5a
	DP	0.2	4.2	3.8	0.1	0.2	0.1
Se/Vit E	Média	0.7 a	4.5 b	6.0 b	0.5a	0.5a	0.5a
	DP	0.1	1.9	2.9	0.2	0.2	0.1

Medias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas ou sem elas não diferem estatisticamente entre si. Valor P = 0.1215 para os tratamentos, Valor P < 0.0002 para o fator tempo.

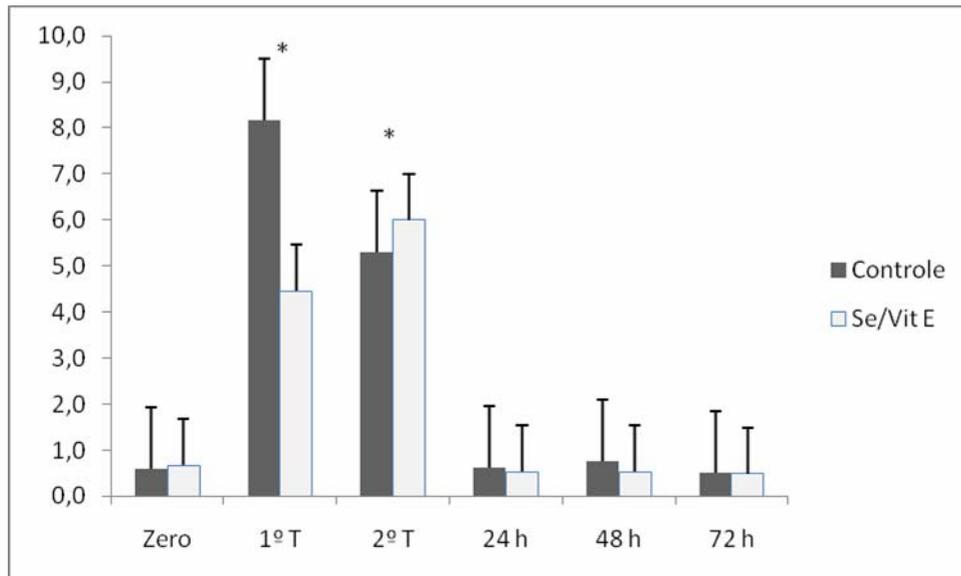


Figura 6 Valores plasmáticos representativos das médias e erros-padrão de Lactato, expressos em mmoles/L, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa entre os tempos. Valor p =0,1250 para os tratamentos e Valor P= 0,0002 para os tempos.

Os cavalos treinados apresentam maiores números de transportadores de ácido láctico segundo Baker, citado por Poso (2000), desta forma, o condicionamento físico leva à diminuição da atividade da enzima e da produção de ácido láctico.

Segundo Bradi R.A. et al. (2005) em exercício de grande intensidade como o polo, o animal tem a atividade tanto do metabolismo aeróbico quanto do metabolismo anaeróbico. Assim a participação das fibras glicolíticas (2B) contribuem para a presença de maiores concentrações de ácido láctico.

Apesar da variedade de raças e seus cruzamentos utilizados em provas de CCE, Prince et al. (2002) demonstraram que, mesmo com as diferenças metabólicas entre as raças Puro Sangue Inglês e Puro Sangue Árabe, quando submetidos ao mesmo teste, os animais não apresentaram diferenças significativas nas concentrações de lactato plasmático após o exercício.

O lactato sanguíneo é regularmente mensurado e utilizado para se saber o nível de forma física do cavalo de esporte (LINDNER et al. 2009).

Tennent-Brown et. al. (2010) sugere que a mensuração do lactato sequencial dentro de um determinado grupo num hospital é uma técnica de monitoramento útil que pode ser usada para identificar cavalos que necessitem de um tratamento mais agressivo ou terapia intensiva.

Houve contínua elevação dos níveis de lactato no grupo suplementado após o 2º tempo de jogo, tendo ambos os grupos, decréscimo dos valores que foram semelhantes de 24 a 72 horas após a partida. No entanto, ocorreu significativa diferença na elevação dos níveis de lactato no grupo controle, comparado ao grupo suplementado após o 1º tempo de jogo como ocorreu no estudo de El-Deeb e El-Bahr (2010) comparando grupo de cavalos árabes saudáveis com acometidos por rabdomiólise.

No momento do repouso em ambos os grupos os valores de lactato assemelharam-se aos descritos por Kingston e Bayly, (1998) quando em equinos em repouso, a concentração plasmática de lactato está em torno de 1mmol/L.

Camargos et al. (2006) testando cavalos de corrida revelaram que duas horas após o páreo, os equinos apresentavam concentrações sanguíneas de lactato similares às determinadas no período pré-corrida. Estes autores afirmaram que este achado caracteriza que os equinos apresentaram um bom condicionamento físico. Em cavalos treinados, a diminuição dos valores de lactato após o exercício é mais rápida, o que ocorreu na avaliação duas horas após o páreo. No presente estudo houve redução acentuada dos níveis de lactato reveladas pela análise 24 horas após o jogo com valores similares aos basais no grupo suplementado e idênticos no grupo controle.

5.3. Capacidade antioxidante total (CA_nT)

Na espécie equina, o desequilíbrio em favor dos agentes oxidantes tem sido descritos em vários estudos experimentais com o exercício induzido (MILLS et al., 1997; ART et al. 1999; DEATON et al. 2002; KIRSCHVINK et al. 2002) assim como em investigações a campo (BALOGH et al. 2001; WHITE et al. 2001; HARGREAVES et al. 2002; MARLIN et al. 2002). Em recente estudo desenvolvido com cavalos árabes, ocorreu acentuada diminuição da capacidade antioxidante no grupo de cavalos acometidos por rabdomiólise, atribuídos pela depleção do sistema antioxidante na contenção do estresse oxidativo e espécies reativas ao oxigênio. No entanto, neste estudo não foram encontradas diferenças significativas dos níveis de vitamina E e Selênio entre o grupo controle de animais saudáveis e o grupo de animais doentes, sendo descartada a deficiência de vitamina E e Selênio como causadores da rabdomiólise equina nos cavalos acometidos. A associação com doenças musculares levou a recomendação do uso da vitamina E e Selênio como suplemento. Embora a deficiência de Selênio possa não ser a causa primária da rabdomiólise equina, muitos praticantes equestres

reportam diminuição da severidade da miosite quando os animais recebem a suplementação com vitamina E e Selênio. Isto pode ser devido ao fato que cavalos com a síndrome da rabdomiólise equina produzirem mais radicais livres tóxicos e portanto, tenham uma maior necessidade de suplementação. Outra possibilidade seria a atividade antioxidante enzimática ser maior nos cavalos protegendo o sistema não enzimático da depleção (EL-DEEB; EL-BAHR 2010).

Tabela 7 Valores médios e desvio padrão de Capacidade antioxidante total (CAnT) expressos em mM/L equivalentes a Trolox de equinos jogadores de polo, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo.

		MOMENTOS DE COLETA DE AMOSTRAS					
		Zero	1º T	2º T	24	48	72
Controle	Média	665.2 ac	635.0 b	644.6 b	658.2 c	654.4 bc	676.1 d
	DP	14.0	15.6	18.0	19.7	19.5	18.9
Se/Vit E	Média	664.9 a	629.4 b	634.3 b	660.5 ac	656.5 bc	673.3 d
	DP	16.9	21.6	14.3	15.3	20.8	23.0

Medias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas ou sem elas não diferem estatisticamente entre si. Valor P = 0.7693 para os tratamentos, Valor P = 2.9×10^{-25} para o fator tempo.

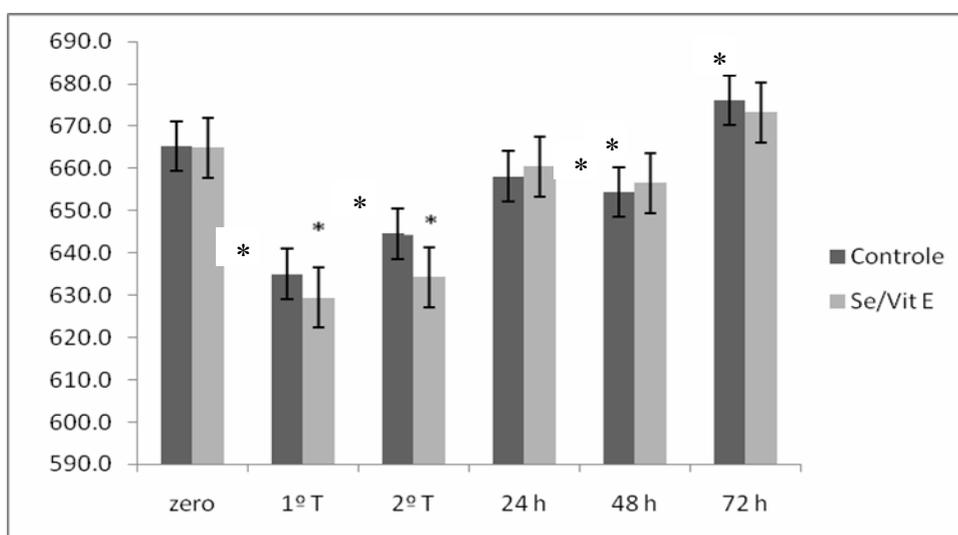


Figura 7 Valores séricos representativos das médias e erros-padrão da Capacidade Antioxidante Total (CAnT), expressos em mM equivalentes Trolox, nos momentos zero, imediatamente antes do início do jogo de polo, 1ºT, após o primeiro chukka, 2ºT, após o segundo chukka, 24 h, 48 h e 72 h após o início do jogo de polo. “*” Representa diferença significativa quando comparados aos valores basais. Valor p = 0,767 para os tratamentos e Valor p = 2.90×10^{-25} para os tempos.

Em ambos os grupos houve diminuição da capacidade antioxidante em decorrência do exercício em todos os tempos de jogo, sem diferença da CAnT entre os grupos ou mesmo variação significativa destes valores entre os chukkas, indicando que os cavalos mesmo jogando dois chukkas, exerceram esforço submáximo. Observou-se ainda, uma maior alteração da capacidade antioxidante no grupo que não recebeu a suplementação com selênio e vitamina E.

6. CONCLUSÃO

A suplementação com vitamina E e selênio considerando-se a dose empregada e o tempo de suplementação promoveu diminuição da atividade sérica das enzimas musculares AST e CK , porém não alterou significativamente a capacidade antioxidante total do grupo total.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLBORG, G.; WAHREN, J. e FELIG P. Splanchnic and peripheral glucose and lactate metabolism during and after prolonged arm exercise *Journal of Clinical Investigation*. v 77, p. 690-699. 1986.
- ALLAWAY, W.H. Selenium in the food chain. *Cornell Veterinarian*, v. 63, n. 2, p. 151.1973.
- ARABADJIS, P. G.; TULLSON, P. C.; TERJUNG, R. L. Purine nucleoside formation in rat skeletal muscle fiber types. *Am. J. Physiol.*, Baltimore, v. 264, p. 1246-1251. 1993.
- ASAYAMA, K.; KATO, K. Oxidative muscular injury and its relevance to hyperthyroidism *Free Rad Biol Med* , v.8, p.293-303. 1990.
- BAILEY, D.M.; LAWRENSEN, L.; MCENENY, J.; YOUNG, I.S.; JAMES, P.E.; JACKSON, S.K.; HENRY, R.R.; MATHIEU-COSTELLO, O.; MCCORD J.M.; RICHARDSON, R.S. Electron paramagnetic spectroscopic evidence of exercise-induced free radical accumulation in human skeletal muscle. *Free Radic Res*. n.41, v.2, p. 182-190. 2007.
- BAKER, S.K.; MCCULLAGH, K.J.A.; BONEN, A: Training intensity-dependent and tissue-specific increases in lactate uptake and MCT-1 in heart and muscle. *J. appl. Physiol*. v. 84, p. 987-994. 1988.
- BALOGH, N. ;GAÁL, T.; RIBICZEYNÉ, S.Z.;PETRI, Á. Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses and after exercise.*Vet Clin.Pathol*. n.30, v.4, p. 204-218. 2001.
- BEECH, J. Chronic exertional rhabdomyolysis. *Veterinary Clinics of North American Equine Practice*, v.13, n. 1, p. 145-168, 1997.
- BEJMA, J. AND JI, L. L. Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle *J Appl Physiol* v. 87, p. 465-470, 1999.
- BRADI, R.A.; FREITAS LIMA J.A.; MURGAS, L.S.D.;VAN CLEEF E.C.B. Atividade da lactato desidrogenase em cavalos de pólo suplementados com óleo de girassol. *Anais do ZOOTEC 2005- 24 a 27 de Maio de 2005- Campo Grande-MS*. 2005.
- 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.; FAREY, T.D. *Exercise physiology: Human Bioenergetics and its Applications* N.Y, Macmillan, p.189-215, p.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.
- BRUIN, G.; KUIPERS, H.; KEIZER, H. A.; VANDERVUSSE, G. Adaptation and overtraining in horses subjected to increasing training loads. *J Appl Physiol* v.76, p.1908-1913. 1994.

- BUTLER, P. J.; WOAKES, A. J.; SMALE, K; ROBERTS, C. A.; HILLIDGE, C. J.; SNOW, D. H.; MARLIN, D. J. Respiratory and cardiovascular adjustments during exercise of increasing intensity and during recovery in Thoroughbred racehorses. *J. Expt. Biol.*, Kawasaki, v. 179, p.159-180.1993.
- CAMARGOS, A.S.; COSTA, A.P.D.; CARVALHO, C.B.; PINHEIRO, A.C.M.; GUIDI, R.C.; SOUZA, D.R. Alterações nos valores de lactato sanguíneo em cavalos de corrida induzidas por páreos de 1300 metros.*Rev. Univ. Rural, Sér. Ci. Vida. Seropédica, RJ, EDUR, v. 26, suplemento, 2006.*
- CHIARADIA, E.; AVELLINI, L.; RUECA, F.; SPATERNA, A.; PORCIELLO, F. ANTONIONI, M.T.; GAITI, A. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology, Vancouver, v. 119, n. 4, p. 833-836.1998.*
- COGGAN, A.R. e COYLE, E.F. Carbohydrate ingestion during prolonged exercise. Effects on metabolism and performance. *Exercise and Sport Sciences Reviews. v.19, p. 1-40. 1991.*
- COMBS, JR. G. F.; COMBS, S.B. The role of selenium in nutrition. London: Academic Press, p. 180. 1986.
- CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE HIPISMO, <http://www.cbh-hipismo.com.br/> acessado em 21/11/2008.
- CONFEDERAÇÃO NACIONAL DE AGRICULTURA, <http://www.openlibrary.org/> acessado em 21/11/2008.
- 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 thoroughbred horses in training. Stuttgart, Germany. *J Am Vet Med Assoc v.142, p. 639-642. 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. *Vet e Zootec. 0 mar.; n. 17, v.1, p.85-93. 2010.*
- COTTA, T.; FERREIRA, M.I.C. Lactatemia, frequência cardíaca e hematócrito de cavalos durante as provas de concurso completo de equitação. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia. n.47, p.315-327. 1995.*
- COUROUCÉ, A. Field exercise testing for assessing fitness in French Standardbred Trotters. *The Veterinary Journal. v.157, p.112-122.1999.*
- COYLE, E.F.; HAGBERG, J.M.; HURLEY, B.F.; MARTIN III; EHSANI, A.A.; HOLLOSZY, J.O. Carbohydrate feeding during prolonged strenuous exercise can delay fatigue. *Journal of Applied Physiology. n.55, p.230-235. 1983.*
- COYLE, E.F. Integration of the physiological factors determining endurance performance ability. *Exercise and Sports Sciences Reviews n.23, p. 25-63. 1995.*
- CRAIG, N., NUNAN, M. Entrenamiento del ritmo cardiaco para caballos. *Performance Matters, Pty L.T.D., Adelaide, Australia. 1998.*

- DE MOFFARTS, B.; KIRSCHVINK, N.; ART, T.; PINCEMAIL, J. and LEKEUX, P. Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidant status in trained thoroughbred antioxidant horses. *The Veterinary Journal* n.169, p.65-74. 2005.
- DE MOFFARTS, B.; PORTIER, K.; KIRSCHVINK, N.; COUDERT, J.; FELLMANN, N.; VAN ERCK E.; LETELLIER, C.; MOTTA, C.; PINCEMAIL, J.; ART, T. and LEKEUX, P. Effects of exercises and oral antioxidant supplemented enriched in (n-3) fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membranes fluidity in horses. *The Veterinary Journal* n.174, p.113-121. 2007.
- 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 standardbred horses. *Equine and Comparative Physiology* v.1, p.211-220. 2004.
- DEATON, C. M.; MARLIN, D. J.; SMITH, N. C.; ROBERTS, C. A.; HARRIS, P. A.; KELLY, F. J. & SCHROTER, R. C. Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. *Equine Vet. J. Suppl.* v.34, p. 58–65. 2002.
- DEATON, C.H.M. AND MARLIN, D.J. Exercise associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice* v.2, p.278-291. 2003.
- 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. and LEKEUX, P. Relationship of plasma lactate production to cortisol release following completion of different types of sporting events in horses. *Veterinary Research Communications*, v.20, n.4, p.371-379.1996.
- DIAS, D.C.R.; ROCHA, J.S.; GUSMÃO, A.L.; EL-BACHÁ, R.S. e AYRES, M.C.C. Efeito da suplementação com vitamina E e selênio sobre o quadro hematológico, enzimas marcadoras de lesão muscular e índice de peroxidação de biomoléculas em equinos submetidos à atividade de salto. *Ciência Animal Brasileira* v.10, n.3, p. 790-801 Jul/Set. 2009.
- DUNCAN, J. R.; PRASE, K. W. *Veterinary medicine clinical pathology*. 2. ed., Iowa: Iowa State University Press, p. 175-179. 1986.
- EATON, M.D. et al. Effects of low- and moderate-intensity training on metabolic responses to exercise in Thoroughbreds. *Equine Veterinary Journal, Supl.* v.30, p.521-527. 1999.
- 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. *Vet Res Commun* n.34, v.8, p. 677-89. 2010.
- ESCOLA DE EQUITAÇÃO DO EXÉRCITO, <http://www.esqex.ensino.eb.br/> em 23/12/2008.
- EVANS, D.L.; GOLLAND L.C. Accuracy of accusport for measurement of lactate concentrations in equine blood plasma. *Equine Veterinary Journal*. 28(5): 398-402. 1996.
- FARREL, P.A. et al. Plasma lactate accumulation and distance running performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. v.11, p.338-44. 1979.
- FERRAZ, G. C. Respostas endócrinas, metabólicas, cardíacas e hematológicas de equinos submetidos ao exercício intenso e à administração de cafeína, aminofilina e clenbuterol.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2006.

- FERRAZ, G. C., TEIXEIRA-NETO, R.A.; D'ANGELIS, F.H.F.; LACERDA-NETO J.C.; QUEIRÓZ-NETO, A. Effect of acute administration of clenbuterol on athletic performance in horses. *Journal of Equine Veterinary Science* v. 27, n. 10. 2007.
- FERREIRA, F.; FERREIRA, R.; DUARTE, J.A. Stress oxidativo e dano oxidativo muscular esquelético: influência do exercício agudo inabitual e do treino físico *Rev Port Cien Desp* v.7, n.2, p. 257–275. 2008.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, www.fao.org/forestry/fra2005, acessado em Out 2008.
- FREI, B. Molecular and biological mechanisms of antioxidant action. *FASEB J.* n.13 v.9, p. 963-964. 1999.
- GARCIA, M.; GUZMAN, R.; CABEZAS, I. Evaluación del entrenamiento tradicional del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguíneas. *Archivos de Medicina Veterinária, Valdivia*, n.31, v.2, p. 212-228. 2000.
- GASTELL, P.; ALEJO, J. Métodos para medir el daño oxidativo. *Rev Cub Med Militar.* n.29 v.3, p.192-198. 2000
- GIARDINA, B., ASCENZI P., CLEMENTI, M.E.; DE SANCTIS G.;RIZZI M.; COLETTA, M. Functional Modulation by lactate of Myoglobin. *The Journal of Biological Chemistry*, n.271 v.29, p.16999-17001. 1996.
- GLEESON, T. Post-exercise lactate metabolism: A comparative review of sites, pathways, and regulation. *Annals of review physiology.* v.58, p. 565-581. 1996.
- 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.; PEREIRA-DA-SILVA, L.; MACEDO, D. V. Determination of the anaerobic threshold and maximal lactate steady state speed in equines using the lactate minimum speed protocol. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v.142, p.375-378. 2007.
- GRAMKOW, H. L.; EVANS, D. L. Correlation of race earnings with velocity at maximal heart rate during a field exercise test in thoroughbred racehorses. *Equine Veterinary Journal, Supplement*, v. 36, p. 118-122. 2006.
- GROSSKOPFT, J. F. W.; VAN RENSBURG, J. J. Haematology and blood biochemistry of horses during a 210 km endurance rides. IN: SNOW, D. H.; PERSSON, S. G. B.; ROSE, R. J. (Ed). *Equine exercise physiology*. Cambridge: Granta Editions, b, p. 416-424. 1983.
- GROSSKOPFT, J. F. W.; VAN RENSBURG, J. J. Some observations on the haematology and blood biochemistry of horses competing in 80 km endurance rides. IN: SNOW, D. H.; PERSSON, S. G. B.; ROSE, R. J. (Ed.): *Equine exercise physiology I*. Cambridge, Granta Editions, a, p. 425-431. 1983.
- GUERRERO, N.; RUIZ, M.; BARBERENA, E.; DEHESA, A.; FAINSTEIN, M.; Daño al ADN y niveles de radicales libres en fibroblastos de ratones jóvenes y viejos. *Rev Cub Investig Biomed.* n.22 v.2, p.109-116. 2003.

- GUINNESS WORLD BOOK RECORDS, <http://www.guinnessworldrecords.com/> em 23/11/2008.
- HADA, T.; OHMURA, H.; MUKAI, K.; ETO, D.; TAKAHASHI, T.; HIRAGA, A. Utilisation of the time constant calculated from heart rate recovery after exercise for evaluation of autonomic activity in horses. *Equine Veterinary Journal. Supplement*, v. 36, p. 141-145. 2006.
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. *Free radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press, p.543. 1989.
- 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. *J. Nutr.* n.132, p.1781S-1783S. 2002.
- HECK, H.A.; MADER, G.; HESS, S.; MUCKE, R.; MULLER and W. HOFFMANN. Justification of the 4mmol/L lactate threshold. *International. Journal of Sports Medicine*. v.6, p.117-130. 1985.
- HEINZERLING R.H.; NOCKELS C.F., QUARTERS C.L. and TENGERDY R.P. Protection of chicks against *E. Coli* infection by dietary supplementation with vitamin E. *Proc. Soc.Exp.Biol.Med.* p. 146-279. 1974
- HESS, M..L. & MANSON, N.H. Molecular oxygen : Friend and foe. The role of oxygen free radical system in the calcium paradox and ischemia/reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*.v.16, p. 969-985. 1984.
- HINCHCLIFF KENNETH, W.; RAYMOND, J. GEOR ; ANDRIS, J. KANEPS. *Equine Exercise Physiology: The Science of Exercise in the Athletic Horse* cap 2.2 .Saunders, Sidney. 2008.
- HODGSON, D.R. and ROSE, R.J. *The Athletic Horse*. Saunders. Sidney. 1994.
- HODGSON, D.R. Blood lactate: Does Accusport equal accuracy? *Equine Veterinary Journal*. n.28, v.5, p.337-338. 1996.
- HORTOBAGYI, T.; DENAHAN, T. Variability in creatine kinase: methodological, exercise, and clinically related factors. *Int J Sports Med* v.10, p. 69–80. 1989.
- IULIANO, L.; VIOLI, F.; PEDERSEN, J. & Z.; PRATICÒ, G.R.; BALSANO, F. Free radical-mediated platelet activation by hemoglobin released from red blood cells.*Archieve of Biochemistry and Byophysic.* n.299, p.220-224. 1992.
- IVI, J.L.; WITHERS, R.T.; VAN HANDEL P.J.; ELGER D.H.; COSTILL,D.L. Muscle respiratory capacity and fiber type as determinants of the lactate threshold. *J Appl Physiol* 1980; v.48, p523-527.1980.
- JENKINS, D.E.; SCHULTZ; J.E. AND MATIN, A. Starvation-induced cross protection against heat or H2O2 challenge in *Escherichia coli* J. *Bacteriol.* n.170, p.3910-3914. 1988.
- Jl, L. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. *Exerc Sport Sci Rev.* 23, p.135-166. 1995.
- Jl, L. *Antioxidants and oxidative stress in exercise*. 1999.
- JONES N.L.; MacCARTNEY N.; GRAHAM T.; SPRIET L.L.; KOWATCHUK J.M.; HEIGENHAUSER G.J.F.; SUTTON J.R. Muscle performance and metabolism in

- maximal isokinetic cycling at slow and fast speeds. *Journal of Applied physiology*. n.59, p. 132-136. 1985.
- JUEL, C. Lactate/proton co-transport in skeletal muscle: regulation and importance for pH homeostasis. *Acta Physiologica Scandinavica*. n.156, p.369-374. 1996.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M. *Clinical biochemistry of domestic animals*. s.ed. San Diego Academic Press 932p. 1997.
- KANEKO, J.J. Appendixes. In: KANEKO, J.J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4.ed. San Diego: Academic Press, p.877-901. 1989.
- KINDERMAN, W.; SIMON, G. AND KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. *European Journal of Applied Physiology* n.42, p.25-34. 1979.
- KINGSTON, J.K.; BAYLY, W.M. *The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice – Fluids and Electrolytes in Athletic Horses*. Philadelphia, n.14, v.1, p.121-136. 1998.
- KINNUNEN, S.; ATALAY, M.; HYYPPÄ, S.; LEHMUSKERO, A.; HÄNNINEN, O. and OKSALA, N. Effects of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horse. *Journal of Sports Science and Medicine*. Bursa v.4, n.4, p 415-421. 2005.
- KIRSCHVINK, N.; ART, T.; DE MOFFARTS, B.; SMITH, N.; MARLIN, D.; ROBERTS, C. and LEKEUX, P. Relationship between markers of blood oxidant status and physiological variables in trained and heaves-affected horses after exercises. *Equine Vet J* n.34, p.159-164. 2002.
- KOBAYASHI, M. Simple lactate measurement in horses using a portable lactate analyzer with lancet skin punctures under field conditions, *J. Equine Science* Vol. 18, nº 1, p. 5-11. 2007.
- KOLB, E.; SEEHAWER, J. The effect of exercise on the immune system, and compensation by administration of vitamins in horses. *Tierärztlich Umschau*, v.55, n.5, p. 256-264. 2000.
- KRAMER, J.W. *Clinical enzymology*. In: KANEKO, J.J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4.ed. San Diego: Academic Press, p.338-363. 1989.
- KUIPERS, H. Training and overtraining: an introduction. *Medicine & science in sports & exercise*. n.30, v.7, p.1137-1139. 1997.
- LEKEUX, P.; ART, T.; LINDEN, A.; DESMECHT, D. and AMORY, H. Heart rate, hematological and serum biochemical responses to show jumping. In: *International Conference Equine Exercise physiology*.3 Uppsala.Proceedings p.2 385-390.1991.
- LELEU, C.; COTREL, C.; COUROUCE-MALBLANC, A. Relationships between physiological variables and race performance in French standardbred trotters. *The Veterinary Record*, London, v. 156, nº 11, p. 339-342. 2005.
- LEWIS, L.D. *Nutrição Clínica Equina: Alimentação e cuidados*. Editora Rocca , p. 710. 2000.
- LIMA, R.A.S.; SHIROTA, R. and BARROS, G.S.C. “Estudo do Complexo Agronegócio Cavalos” Relatório Final, Piracicaba, São Paulo, 2006. Disponível em <<http://www.cna.org.br/cna/publicação/down/anexo.wsp?tmp.arquivo=E211526estudocavalos.pdf>> acessado em Nov 2010.
- LINDHOLM, A.; BJERNELD, H. and SALTIN, B. Glycogen depletion pattern in

- muscle fibres of trotting horses. *Acta Physiol. Scand.* n. 90, p. 475–484. 1974.
- LINDNER, A. Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of sports horses in practice. *Revue Médecine Vétérinaire*, v. 151, n°7, p 611-618. 2000.
- LINDNER, A.; LÓPEZ, R.A.; DURANTE, E.; HERNANDEZ, H.; BOTTA, V.; SADABA, S.; BOFFI, F.M. Conditioning horses at v10 3 times per week does not enhance v4. *Journal of Equine Veterinary Science* v.29, n.12, p. 828-832. 2009.
- LINDNER, A. Measurement of plasma lactate concentration with Accusport. *Equine Veterinary Journal* n.28, v.5, p.403-405. 1996.
- LINDNER, A.; SIGNORINI, R.; BRERO, L.; ARN, E.; MANCINI, R.; ENRIQUE, A. Effect conditioning horses with short intervals at high speed on biochemical variables in blood. *Equine veterinary journal. Supplement*, v. 36, p. 88-92. 2006.
- LINDSAY, W.A.; MCDONELL, W.; BIGNELL, W. Equine postanesthetic forelimb lameness: Intracompartmental muscle pressure changes and biochemical patterns. *Am. J. Vet. Res.*, v. 41, p. 1919-1924.1980.
- LIU, J.; YEO, H.C.; OVERVIK-DOUKI E.; HAGEN T.; DONIGER, S.J.C.H.U.D.W; BROOKS G.A.; AMES, B.N. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol.* n.89, p. 21-28. 2000.
- MACHADO, L.P. Eritrograma, glutationa reduzida e superóxido dismutase eritrocitários e meta-hemoglobina em eqüinos da raça árabe submetidos ao exercício em esteira: efeito da suplementação com vitamina E (dl-alfa-tocoferol 98 F.Dissertação(mestrado)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP,Botucatu. 2006.
- MALIS, C. D.; BOVENTRE, J. V. Susceptibility of mitochondrial membranes to calcium and reactive oxygen species: implications for ischemic and toxic tissue damage. *Progress Clin. Biol. Res.*, v. 282, p. 235-259.1988.
- 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 American Society for Nutritional Sciences. In: WALTHAM INTERNATIONAL SYMPOSIUM: PET NUTRITION COMING OF AGE, Proceedings...2000.
- Mc DERMOTT, J.C. and BONEN, A. Endurance training increases skeletal muscle lactate transport. *Acta Physiologica Scandinave*.147, 323-327. 1993.
- MILLS, P.C; SMITH, N.C.; HARRIS, R.C. and HARRIS, P. Effect of allopurinol on the formation of reactive oxygen species during intense exercise in the horse. *Res Vet. Sci* n.62, p. 11-16. 1997.
- MILLS, P. C. & MARLIN, D. J. Plasma iron in elite horses at rest and after transport. *Vet. Rec.* n.139, p. 215–217. 1996.
- MOHR, E.; WHITE, E.; VOSS, B. Heart rate variability as stress indicator. *Archiv fur tierzuchtarchives of animal breeding.* V.43,p. 171-176. 2000.
- MOREL, Y.; BAROUKI, K. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.* v. 342 p. 481-496. 1999.
- MOTA, M. P.; FIGUEIREDO, P.; DUARTE, J.A. Teorias biológicas do envelhecimento. *Rev Port Ciênc Desp.* n.4, v.1, p. 81-110. 2004.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. Nutrient Requirement of Horses. National Washington, D.C.: National Academy Press, p.100. 1989.
- NEVES, V.F.C.; PERPÉTUO, N.M.; SAKABE, D.I.; CATAI, A.M.; GALLO, JR. L., SILVA DE SÁ, M.F.; MARTINS, L.E.B.; SILVA, E. Analysis of spectral indexes for heart rate variability in middle-aged men and postmenopausal women. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, São Carlos, v.10-4. 2006.
- O'NEILL, C.; STEBBINS, C.; BONIGUT, S.; HALLIWELL, B.; LONGHURST, J. Production of hydroxyl radicals in contracting skeletal muscle of cats. *J Appl Physiol*. n. 81, v.3, p. 1197-1206. 1996.
- PADALINO, B. et al. Training versus overtraining: Evaluation of two protocols. *Journal of Equine Veterinary Science* Jan, n.1, v.27. 2007.
- PAGAN, J.D.; KARNEZOS, P.; KENNEDY, M.A.P.; CURRIER, T.; HOEKSTRA, K.E. Effect of selenium source on selenium digestibility and retention in exercised thoroughbreds. *Proceedings in 16th Equine Nutrition and Physiology Society*, p. 1-4. 1999.
- PARINANDI, N. L.; ZWIZINSKI, C. W.; SCHMID, H. H. O. Free radical induced alteration of Myocardial membrane proteins. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 289, p. 118- 123. 1991.
- PICCIONE, G.; CASELLA, S.; GIANNETTO, C.; MESSINA, V.; MONTEVERDE, V.; CAOLA, G.; GUTTADAURO, S. Haematological and haematochemical responses to training and competition in Standardbred horses. *Comp. Clin. Pathol*. n.19, p.95-101. 2010.
- PICCIONE, G.; VAZZANA, I.; GIANNETTO, C.; GIANESELLA, M.; FERRANTELLI, V. Modification of some haematological and haematochemical parameters in horses during long distance rides. *Res J Vet Sci* n.1, v.1, p. 37-63. 2008.
- POWERS, S.; CRISWELL, D.; LAWLER J.; JI, L.; MARTIN, D.; HERB, R.; DUDLEY, G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol*. 266: R375-R380. 1994.
- POWERS, S.K.; LENNON S.L. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Soc Exp Biol Med*. n.222, p. 283-292. 1999.
- PRYOR, W. Oxy-Radicals and Related Species: Their Formation, Lifetimes, and Reactions. *Ann Rev Physiol*. n.48, p. 657-667. 1986.
- PUMPRLA, J.; HOWORKA, K.; GROVES, D.; CHESTER, M.; NOLAN, J. Functional assessment of heart rate variability physiological basis and practical applications. *International Journal of Cardiology*, v.84, P 1-14. 2002.
- RÄISÄNEN, S.; LEHENKARI, P.; TASANEN, M.; RAHKILA, P.; HÄRKÖNEN, P.; VÄÄNÄNEN. Chronic anhydrase III protects cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis. *FASEB J*. n.13, p. 513-522. 1999.
- ROSE, R.J. The effects of intensity and duration of training on blood lactate concentrations during and after exercise. *Equine Veterinary Journal*. n.28, v.5, p. 398-402. 1996.
- 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.

- ROSE, R.J.; HODGSON D.R.; SAMPSON, W.; CHAN, W. Changes in plasma biochemistry in horses in a 160 km endurance ride. *Aus. Vet. J.* v.24, p. 30-37. 1983.
- ROSE, R.J.; PURDUE, R.A.; HENSLEY, W. Plasma biochemistry alterations in horses during an endurance ride. *EQUINE VET J.*, New Market, v.9 p. 122-126. 1977.
- SCHEFFER, J. F.; GONZALES, F. H. D. Enzimologia clinica em medicina veterinária. Disponível em: < http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/pdf/rev_jfss.pdf > Acesso em: nov. 2010.
- SEN, C.K. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol.* n.79, v.3, p. 675-686. 1995.
- SEN, C.K. Antioxidants in Exercise Nutrition. *Sports Med.* n.31, v.13, p. 891-908. 2001.
- SEN, C.K. Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Mol. Cell. Biochem.*, The Hague, v. 196, p. 31-42. 2001.
- 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.
- SHAN, X.Q.A.W. T.Y; JONES DP. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol Ther.* n.47, v.1, p. 61-71. 1989.
- SICILIANO, P.D.; PARKER, A.L.; LAWRENCE, L.M. Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. *J. Anim. Sci.*, n.75, v.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. Exp Physiol.* v.82, p. 291-295. 1997.
- SIMÕES, H.G.; CAMPBELL, C.S.G.; KOKUBUM, E. et al. Blood glucose responses in humans mirror lactate responses for individual anaerobic threshold and for lactate minimum in track tests. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, v.80, p.34 40. 1999.
- SJÖDIN, B.; WESLING, H. E.; APPLE, S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Medicine.* n.10, p.236-254. 1990.
- SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M. M.; WENSING T. H.; BARNEVELD, A.; BREUKING, H. J. Heart rate, blood biochemistry and performance of horses competing in a 100 km endurance ride. *Vet. Rec.*, London, v. 128, p. 175-179. 1991.
- SNOW, D.H.; MACKENZIE, G. Some metabolic effects of maximal exercise in the horse and adaptations with training. *Equine Vet J*, New Market, v.9, p. 134-140. 1977.
- SNOW, D.H.; KERR, M.G.; NIMO, M.A. and ABBOTT, E.A. Alterations in blood, sweat, urine, muscle composition during prolonged exercise in the horse. *Vet Record*, London, v.110, p 377-384. 1982.
- SNOW, D.H.; HARRIS, R. C.; GASH, S. P. Metabolic response of equine muscle to intermittent maximal exercise. *J. appl. Physiol.* v. 58, p. 1689-1697. 1985.
- SNOW, D.H.; VALBERG, S. J. Muscle anatomy, physiology, and adaptations to exercise. In: ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. *The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine.* Philadelphia: W. B. Saunders Company, p. 49-62. 1994.

- STERGMANN, H. et al. Lactate Kinetics and individual anaerobic threshold. *International Journal of Sports Medicine*. n.2, p. 160:165. 1981.
- TAKANAMI, Y.; IWANE, H., KAWAI, Y.; SHIMOMITSU, T. Vitamin E supplementation and endurance exercise. Are there benefits? *Sports Medicine*, v.9, n.2, p. 73-83. 2000.
- TANAKA, K., MATSUURA, Y.; MATZUSAKA, A.; HI-RAXOBA, K. and ASANO, K. A longitudinal assessment of anaerobic threshold and distance running performance. *Medicine and science in sports and exercise*. v.16, p.278-282. 1984.
- TEIXEIRA-NETO R. A. Variáveis fisiológicas e estresse oxidativo de equinos durante prova de enduro. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/cmv/d/1475.pdf>, acessado em Nov 2010.
- TENNENT-BROWN, B. S.; P. A. WILKINS; S. LINDBORG; G. RUSSELL and R.C. BOSTO. Sequential Plasma Lactate Concentrations as Prognostic Indicators in Adult Equine Emergencies. *J Vet Intern Med* n.24, p.198–205. 2010.
- THOMASSIAN, A.; CARVALHO, F.; WATANABE, M.J.; SILVEIRA, V.F.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI C.A.; NICOLETTI, J.L.M. Atividades séricas da spartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v. 44, n.3, p. 183-190. 2007.
- TRILK, J. L.; LINDNER, A. J.; GREENE, H. M.; ALBERGHINA, D. e WICKLER, S. J. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. *Equine Veterinary Journal. Supplement*, n.34, p.122-5. 2002.
- UNITED STATES POLO ASSOCIATION, <http://www.us-polo.org/>, acessado em 23/11/2008.
- VALBERG, S.; GUSTAVSSON, B.E.; LINDHOLM, A.; PERSSON, S.G.B. Blood chemistry and skeletal muscle metabolic responses during end after different speeds and duration of trotting. *Equine Vet J. New Market*, v 21, p. 91-95. 1989.
- 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 Vet. J.*, New Market, v. 25, p. 11-16, 1993.
- VALBERG, S.; CARDINET III, G.H.; CARLSON, G.P. and DIMAURO, S. Exertional Rhabdomyolysis and polysaccharide storage miopathy in horses. *Compendium on continuous education for the practical veterinarian* v.19, p. 1077-1085. 1997.
- VIRU, A. The mechanism of training effects: A hypothesis. *International Journal of Sports Medicine* v.5, p.219-27. 1984.
- VOLLAARD N.; SHEARMAN J.; COOPER C. Exercise induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med*. n.35, v.12, p. 1045-1062. 2005.
- WEINECK, J. *Manual do treinamento esportivo*. São Paulo: editora Manole, Edição nº2. 1989.
- WELTMAN, A.; SNEAD, D.; STEIM, P.; SCHURRER, R.; RUTT, R. and WELTMANN, J. Reliabilty and validity of continuous incremental treadmill protocol for the determination of lactate threshold, fixed blood concentration, and VO2 max. *International Journal of Sports Medicine*. n.11, p. 26-32. 1990.

- WHITE, A.; ESTRADA, M.; WALKER, K.; WISNIA, P.; FILGUEIRA, G.; VALDES, F.; ARANEDA, O.; BEHN, C and MARTINEZ, R. Role of exercises and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horses. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* v.128, p. 99-104. 2001.
- WILLIAMS, C.A.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. M.; WALDRON, J. E.; SAKER, K. E.; HOFFMAN, R. M.; HARRIS, P. A. Oxidative stress in horses in three 80 km races. *Equine Nutr. Phys. Soc. Proc.* 18, p. 47-52. 2003.
- WILLS, E.D. Mechanism of lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochem. J.*, Calgary, v. 99, n. 5, p. 667-676. 1966.