

ANÁLISE DE EXAMES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM EQUINOS (*Equus caballus*) DA RAÇA QUARTO DE MILHA SUBMETIDOS À PROVA SIMULADA DE TRÊS TAMBORES

COELHO, Heloisa Salvadori¹
GOMIERO, Rennê Leonardo Sant Ana²

RESUMO

O bem-estar e o aumento do desempenho atlético dos equinos vêm sendo de extrema importância nos dias de hoje e a busca por exames laboratoriais na medicina esportiva equina vem aumentando cada vez mais. A utilização de testes para a avaliação do condicionamento físico juntamente com as respostas fisiológicas obtidas pela ação do exercício e do treinamento pode ser uma valiosa ferramenta para estimar os resultados obtidos em competições. O organismo dos animais atletas sofre alterações adaptativas relacionadas com o tipo de esforço, prolongado curta duração, com isso, deve-se respeitar a individualidade inerente aos diferentes animais, cada atleta responde ao exercício de modo único e específico, o qual pode ser avaliado. A fisiologia do exercício é fundamental para avaliação de programas de treinamento, os quais contribuem para adaptação de equinos aos fatores estressantes presentes numa atividade esportiva específica. O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento de dados para observação da diferença de concentração dos parâmetros que foram avaliados, que são hemograma completo, enzima sérica AST, CK e Lactato sanguíneo entre os cavalos submetidos à prova simulada de três tambores. Foram avaliados 12 animais, todos equinos da raça quarto de milha, independente do sexo e idade e realizadas três coletas de sangue, com animais em repouso, 10 minutos após a prova simulada com exercício intenso e 10 horas após o exercício.

PALAVRAS-CHAVE: Equinos, enzimas musculares, condicionamento físico, exercício, bioquímico.

1. INTRODUÇÃO

A medicina esportiva equina é uma área relativamente nova surgida no momento em que o homem modificou a função zootécnica do animal, mudando-o de animal de trabalho ao nível esportista no final de 1950 (MELO *et al*, 2015).

Os equinos são corredores natos, considerados os principais atletas dentre os mamíferos, Hinchcliff, Geor e Kaneps (2008) descrevem tal atribuição em relação à grande capacidade de O₂ em relação à sua massa muscular, a qual é composta por até 55% do peso corpóreo e juntamente com coordenação neuromuscular apurada, um cavalo Quarto de milha pode chegar a velocidade de até 88km/h por sua resistência e força, possibilitando locomoção por longas distâncias e alta velocidade. Além de possuir baço e coração proporcionalmente maior quando comparados a outros mamíferos de grande porte, tais características acarretam na capacidade de colocar grande quantidade de células vermelhas na circulação.

O exercício causa efeitos variáveis no metabolismo dos animais e cada um responde de maneira distinta sobre nível e intensidade de treinamento e duração. É importante ressaltar que o

¹ Acadêmica do curso de medicina veterinária do Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz (FAG-PR). E-mail: helosalvadori@hotmail.com

² Médico veterinário com especialização em Medicina esportiva equina. Mestrado em Saúde animal, professor da disciplina de Clínica médica e cirúrgica de unicavitários do Centro Universitário FAG-PR. E-mail: renne@fag.edu.br

condicionamento físico, raça, idade, sexo e alimentação fornecida para cada animal na rotina pode influenciar na resposta fisiológica perante o esforço físico, acarretando em diferentes resultados nos exames laboratoriais. (MATTOSINHO *et al*, 2017).

Com base nisso, a busca de um bom condicionamento físico e a manutenção destes com base em exames complementares rotineiros ou terapias são mencionadas pela autora Melo *et al*. (2015), afirmando ser de fundamental importância para todos os animais que possuem performance atlética, podendo assim fazer a adaptação fisiológica necessária além de corrigir déficits nutricionais ou fadiga devido ao esforço físico para diminuir risco de lesões e buscar bom rendimento em pista.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A raça Quarto de Milha é uma das principais raças dentro do rebanho brasileiro de equinos. O autor Donofre *et al* (2014) classifica essa raça como o cavalo mais versátil do mundo, possuindo uma fácil adaptação em várias modalidades esportivas, mas principalmente destacando provas de velocidade e agilidade, como por exemplo, a prova de três tambores. Para isso, é necessário apresentar boa conformação corporal, simetria e equilíbrio das partes do animal, pois a avaliação morfométrica é muito utilizada na escolha de um animal, tais parâmetros podem definir a capacidade e os limites de realizar certos movimentos.

Nos últimos anos, de acordo com Sales *et al* (2013), os equinos atletas vêm tendo uma crescente demanda, dessa forma, conseqüentemente, o alto desempenho dos cavalos quarto de milha vêm sendo exigido, fazendo com que haja maior interesse pelo estudo de afecções relacionadas com a fisiopatologia de numerosas enfermidades dos equinos. Mattosinho *et al* (2017) afirma que a compreensão dos processos biológicos do animal é imprescindível para o auxílio do seu desempenho e para o treinamento ocorrer da forma correta, com isso, a fisiologia do exercício é fundamental na avaliação dos atletas e monitoramento da intensidade dos exercícios, sempre respeitando a fisiologia e realizando o correto tratamento de doenças relacionadas ou acarretadas devido às atividades físicas, além de que, Araújo (2014) cita que o desempenho eficiente durante a realização dos exercícios físicos requer um correto funcionamento do sistema nervoso central, sistema cardiovascular, respiratório e musculoesquelético, para assim, manter a homeostasia do organismo durante o exercício físico.

A fisiologia do exercício começou a ser estudada em 1920 e posteriormente em 1960, quando começaram os estudos das respostas cardiovasculares dos equinos referente ao exercício físico, utilizando esteiras rolantes. Além de que, durante o exercício ocorre um aumento das funções de

bioenergia muscular, acarretando em algumas reações necessárias em resposta ao aumento das trocas gasosas, assim, possibilitando o aumento do fluxo de oxigênio para os tecidos e a consequente remoção do gás carbônico (ARAÚJO, 2014).

Com base nisso, quando se refere à contração muscular, tanto de movimentos pequenos e mais delicados ou movimentos grandes e mais poderosos, Colville e Bassert (2010) afirmam que é necessário um impulso nervoso, além de exigirem oxigênio e energia para abastecer o deslizamento dos filamentos de actina e miosina. A fonte de energia é composta por creatina fosfato, a qual reage com adenosina difosfato (ADP) e forma a adenosina trifosfato (ATP), produzida pelas mitocôndrias no interior das células das fibras musculares e obtida através de nutrientes como glucose, aminoácidos e ácidos gordos livres na circulação. A energia é utilizada para contração e relaxamento das fibras musculares de exercício, distribuição dos íons sódio e potássio no organismo e manutenção da temperatura corporal. Os autores Secani e Léga (2009) corroboram que quando há esforço adicional, recorre-se às reservas primárias de glicose do músculo, que são armazenadas sob forma de glicogênio, a qual afirma-se que há 95% acondicionado no músculo e 5% no fígado, órgão que recebe a glicose absorvida pelo trato gastrointestinal, a mesma é convertida em glicogênio, sendo armazenada no fígado ou vai para o músculo, sendo metabolizada em energia ou armazenada para sua utilização futuramente.

Para que a respiração celular ocorra, Machado (2011) cita algumas etapas que resultam em energia, como a glicólise, ocorre no citosol das células e é resultante da quebra da glicose em porções menores, liberando energia. O ciclo de Krebs, onde cada piruvato produzido na etapa da glicólise dão origem a uma sequência de reações mitocondriais das células que resulta em mais ATP e a fosforilação oxidativa, onde ocorre a transferência de elétrons a partir dos hidrogênios, ATP e água, que são os produtos finais dessa etapa.

A intensidade e a duração do treinamento/exercício determinam a via de obtenção de energia adequada assim como as necessidades metabólicas musculares. Um dos métodos para produção de energia ocorre na presença de oxigênio (O_2), denominando-se metabolismo aeróbico, ou na ausência de O_2 , que é o metabolismo anaeróbico. A rápida necessidade energética no início do exercício requer a busca das reservas musculares de ATP, porém, as mesmas são muito reduzidas, não permitindo a sua rápida regeneração por via aeróbica, tornando-se essencial o recurso à via anaeróbica (COLVILLE e BASSERT, 2010).

Secani e Léga (2009) relatam através de seus estudos que a respiração anaeróbica predomina na distribuição rápida de energia durante períodos breves de exercício intenso, a qual ocorre no citoplasma das células e se trata de uma série de reações de quebra de açúcar para obter energia sem utilizar O_2 , essa reação gera pouca energia, porém de forma mais rápida, sendo assim, 1 mol de

glicose, gera somente 2 mols de ATP. Em comparação, a via aeróbica ocorre dentro da mitocôndria e utiliza 1 mol de glicose para gerar 38 mols de ATP, tal reação é mais lenta, porém mais eficiente. Metaboliza o piruvato via ATP, formando água e dióxido de carbono, que são removidos do músculo via corrente sanguínea, o dióxido de carbono é expelido pelos pulmões e a água pelos rins.

Em exercícios que possuem alta intensidade e curta duração, como por exemplo, a prova de três tambores, Gomide *et al* (2006) cita que a principal via para distribuição de ATP é a anaeróbica, pois os cavalos possuem capacidade limitada para a produção de energia por via aeróbica por ventura à deficiência de aporte do oxigênio no trabalho muscular em exercícios intensos. Com isso, ocorre o recrutamento de fibras de contração rápida, acarretando em um desvio metabólico, onde se inicia a formação de ATP pela respiração anaeróbica, onde a conversão do piruvato resulta na formação de ácido láctico, que, por uma reação catalisada por lactato desidrogenase, é convertido em lactato, que pode vir a acumular-se, por exceder a taxa de remoção para o plasma sanguíneo, podendo desencadear acidose metabólica.

Caso o animal não seja devidamente preparado e condicionado para o treinamento, pode prejudicar a capacidade respiratória da mitocôndria, a glicólise (gera energia e ácido láctico), levando à falha em manter a homeostase do organismo, não mantendo o ATP no sítio de ligação actina-miosina, consequentemente não promovendo a correta contração muscular, causando fadiga e perda de performance, assim, impedindo a continuidade da rotina de treinamento (GOMIDE *et al*, 2006).

Segundo Silva (2016) o sangue, o qual é considerado um tecido fluido, circula no interior dos vasos sanguíneos, tais como veias, vênulas, artérias e arteríolas, e é formado por uma parte líquida e outra celular. Lopes *et al* (2008) afirma que a parte celular do sangue possui três tipos celulares, as hemácias, os leucócitos e as plaquetas, já a parte líquida é denominada de plasma quando há presença de anticoagulante e soro quando não há anticoagulante. Soares (2004) menciona que plasma equino é normalmente amarelo (ictérico) e contém fibrinogênio, já o soro contém variados solutos orgânicos, tais como enzimas, hormônios, minerais, entre outros. Ainda de acordo com Silva (2016), as análises clínicas, medicina laboratorial ou também conhecida como patologia clínica são especialidades da patologia que utilizam os métodos de diagnóstico laboratoriais para permitir auxílio posteriormente no tratamento, progresso e prognóstico de grande número de doenças, porém, não se deve desprezar a anamnese e exame físico do paciente animal, os quais são essenciais para a interpretação dos exames laboratoriais que podem refletir em disfunções.

O hemograma é o nome dado a um dos exames laboratoriais solicitados na rotina, Rose *et al* (1983) admite ser um conjunto de avaliações que tem como objetivo analisar células sanguíneas, incluindo dados quantitativos e qualitativos, além de ser acessível financeiramente, prático e útil. É dividido em três partes, o eritrograma (avaliação da série vermelha), leucograma (série branca) e

plaquetograma (série plaquetária). Thrall *et al* (2015) menciona que uma das características mais importantes no hemograma dos equídeos é sobre a estabilidade do VCM (volume corpuscular médio), o qual sempre se mantem dentro dos limites rígidos da espécie, mesmo na presença de doenças. Nos equinos, a eritropoiese (formação de glóbulos vermelhos) ocorre na medula óssea, e há uma tendência de formação de eritrócitos em “rouleaux” (alinhamento/empilhamento como pilha de moedas), fazendo com que as células se separem rapidamente do plasma sanguíneo, com isso, é necessário cuidadosa mistura do sangue no frasco da amostra antes da análise.

O eritrograma é caracterizado por avaliar em contagens globais, ou seja, determina-se a quantidade de hemácias em certo volume sanguíneo, portanto, avalia-se a contagem de eritrócitos (CE), dosagem de hemoglobina (Hb), determinação do hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM). O hematócrito é um exame o qual faz parte do eritrograma, que permite saber o percentual sangue que é ocupado pelas hemácias. A concentração de hemoglobina determina a quantidade da mesma em um volume de sangue.

Naoum e Naoum (2008) afirma que o leucograma é utilizado para avaliar os leucócitos, composto por contagem global, que determina a quantidade de leucócitos por volume de sangue e a contagem diferencial, que quantifica cada tipo leucocitário em valores absolutos ou relativos (%). No plaquetograma, as plaquetas são observadas quantitativamente, funcionam como um tampão que ativam a coagulação sanguínea, sua contagem e morfologia são importantes.

Equinos são, geralmente, sensíveis a mudanças de temperatura e ambientais, Mattosinho *et al* (2017) constata que tais mudanças podem refletir em respostas fisiológicas e sanguíneas, consequentemente alterando as taxas nos exames laboratoriais. Estresse térmico pode acarretar em aumento da contagem de leucócitos e eritrócitos, teor de hemoglobina e no hematócrito, pois ocorre sudorese, reduzindo volume plasmático sanguíneo. Os exames laboratoriais são indispensáveis em equinos atletas e requerem conhecimento baseado nas alterações que podem ocorrer relacionadas ao esforço físico de alta intensidade, que levam à fadiga muscular.

Através da interpretação e das análises da composição bioquímica do plasma sanguíneo é possível avaliar distúrbios fisiológicos, metabólicos e nutricionais, além de transtornos e lesões teciduais, podendo assim obter maiores informações sobre a condição muscular durante os treinamentos e investigar doenças hepáticas ou alterações em miocárdio (MATTOSINHO *et al*, 2017). Os exames bioquímicos são muito requisitados na rotina clínica e existem exames específicos que são utilizados para a avaliação de função muscular, os quais Walton (2014) informa que mensuram a atividade sérica de proteínas e enzimas que são extravasadas das células musculares lesionadas, além de ser possível a dosagem de mioglobina das concentrações urinárias, a qual é

filtrada pelo glomérulo e excretada pela urina. Dentre os principais exames realizados, Sales *et al* (2013) destaca a aspartato aminotransferase ou transaminase glutâmico oxalacética (AST/TGO), a creatina-quinase (CK) e o Lactato sanguíneo, se realizada a mensuração das três enzimas, é possível determinar o estágio da lesão, instituindo um diagnóstico e prognóstico para o caso clínico.

Cruz (2011) relata que a AST/TGO catalisa a transaminação reversível de aspartato e 2-cetoglutarato em oxaloacetato e glutamato. Possui duas isoformas, no citosol e na mitocôndria, é mais abundante em tecidos como fígado, eritrócitos, músculo esquelético e cardíaco. Por ser uma enzima citosólica e mitocondrial é necessária uma grande lesão para ser liberada na corrente sanguínea, diferente do CK, a qual é pequena e citosólica, ultrapassa a membrana celular mesmo com um pequeno dano tecidual, com isso, é possível notar que em casos de lesão muscular, a CK aumenta de forma mais rápida do que quando comparada com a AST, a qual inclusive apresenta os valores máximos no sangue de 24 a 36 horas após lesão muscular e meia vida de aproximadamente 8 dias (MATTOSSINHO *et al*, 2017). Segundo Franciscato *et al* (2006), a elevação da AST/TGO indica injúrias e comprometimento celular mais profundo, como em infecções ou toxinas que resultam em perda de componentes citoplasmáticos e mitocondriais para o plasma ou lesão em membrana celular, doenças hepáticas (congestão, drogas hepatotóxicas), doenças musculoesqueléticas (injeções intramusculares, infarto agudo do miocárdio), pancreatite aguda, anemias hemolíticas, queimaduras, infarto cerebral, pulmonar, entre outros. Encontra-se diminuída em casos de azotemia e diálise renal crônica. Ainda de acordo com Cruz (2011), para diferenciar se o aumento da enzima é devido a lesão muscular ou devido a permeabilidade hepatocelular, deve-se realizar o exame bioquímico em conjunto com dosagem de CK, o aumento em conjunto de AST e CK indica lesão muscular, se apenas AST estiver em nível aumentado, indica distúrbio hepatocelular.

Para a fisiologia do exercício, Nogueira *et al* (2014) menciona a importância da Creatina Quinase (CK), a qual é uma enzima músculo esquelética específica, também denominada de enzima de extravasamento. Cruz (2011) diz que tal enzima consiste um dímero, composto por subunidades B e M, as quais são separadas em três diferentes formas moleculares, a CK-BB ou CK-1, que está presente principalmente em cérebro; CK-MB ou CK-2 na forma híbrida, está principalmente no miocárdio e a CK-MM ou CK-3 que se faz presente principalmente no músculo esquelético.

Walton (2014) corrobora que a CK possui como principal função o consumo de trifosfato de adenosina (ATP) para fosforilar, de forma reversível, a creatina, com a formação de creatina fosfato, a qual é produzida durante os períodos de repouso. Tal processo é uma forma adicional para armazenamento de energia para a contração muscular. Michima, Mirandola e Fernandes (2010) cita sobre fluxo dessa enzima, que pode chegar a altos índices no sangue devido à esforço muscular intenso ou lesão muscular aguda, ou seja, danos aos tecidos ricos de CK, como em casos de infarto

agudo do miocárdio ou em tecidos musculares, como na isquemia muscular por decúbito prolongado, tremores, convulsões, miosite, exercícios intensos, necrose, cirurgias, choque, miopatias do exercício e miopatias nutricionais. Além de que, os níveis de CK também podem aumentar com aplicação de injeção por via intramuscular, devido à irritação tecidual.

Cruz (2011) frisa que, quando realizada a mensuração da enzima CK juntamente com AST, a CK aumenta antes, conseqüentemente desaparecendo primeiramente também, pois a elevação de CK total ocorre de 4 a 8 horas após a lesão, seu pico máximo atinge em 12 a 24 horas e retorna aos valores normais em até 96 horas. Afirma-se que CK aumentada com baixa AST, indica lesão recente, no entanto o aumento das duas indica lesão continuada.

Para o acompanhamento de parâmetros clínicos e obtenção de informações adicionais sobre a performance atlética do animal, a concentração de lactato sanguíneo ou sérico vem sendo utilizada com frequência na rotina clínica, empregada para determinação de diagnóstico da capacidade aeróbia que está correlacionada com a resistência. Nos treinamentos, muitas vezes o objetivo é aumentar a intensidade do exercício para aumentar o potencial aeróbico do músculo esquelético e da capacidade cardiorrespiratória através de exercícios repetitivos (GOMIDE *et al*, 2006). O ácido láctico resultante da respiração anaeróbica é convertido em lactato pela enzima lactato desidrogenase, acumulando-se nas células musculares mais ativas e encaminhadas posteriormente para a circulação, onde liga-se aos glóbulos vermelhos. A espécie equina, por ventura, possui uma excelente capacidade de tolerar concentrações elevadas de lactato no sangue devido à sua capacidade atlética, que encontra-se superior à outras espécies (MACHADO, 2011).

Pereira *et al* (2018) alega que o aumento da concentração de lactato sérico é bem utilizado para indicar desempenho atlético e a intensidade do exercício. Em todas as intensidades de exercício há produção de lactato, contudo, animais que apresentam grande capacidade aeróbica, normalmente não apresentam elevadas concentrações de lactato em resposta ao exercício, diferente de animais não bem condicionados, onde ocorre aumento da produção de ATP por via da glicólise anaeróbica, com conversão de piruvato a lactato, pois as enzimas musculares oxidativas são em quantidade insuficiente para a produção necessária de ATP para manter o exercício. Castro (2011) afirma que é indispensável exame bioquímico para determinação do limiar de lactato, tanto para a avaliação da eficácia do treinamento quanto para a definição do condicionamento físico do animal atleta, pois a produção e utilização satisfatória de energia são essenciais e possuem função crítica para um desempenho ótimo nos esportes equestres.

Exercícios repetitivos induzem a adaptação fisiológica dos cavalos e a resposta adaptativa reduz o estresse fisiológico associado ao exercício. Com o treinamento adequado e condicionamento físico as membranas celulares se tornam menos sensíveis às agressões do

exercício. A atividade enzimática relacionada à função muscular indica a intensidade das lesões em animais expostos a atividades físicas intensas (MATTOSINHO *et al*, 2017, p. 254).

O objetivo desta pesquisa é investigar e avaliar o hemograma completo, o qual pode resultar em alterações na contagem de leucócitos quando há um elevado nível de cortisol resultante de estresse, além da contagem de células circulantes que pode aumentar entre 10 a 30% devido a atividade física e dependendo da intensidade e duração do exercício, tais fatores podem ocorrer devido à idade dos animais e condicionamento físico (MIRANDA *et al*, 2011). Importante frisar que também serão observadas a diferença de concentrações das enzimas AST, CK e Lactato sanguíneo entre os cavalos selecionados praticantes do esporte de três tambores.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi elaborado através de um levantamento de dados, baseados nos resultados dos hemogramas e bioquímicos que foram efetuados a partir da coleta de sangue de 10 equinos que permanecem no Rancho Rabele, localizado na BR 467 km 140.

Os animais submetidos ao estudo são da raça Quarto de Milha, são de alto custo e alta performance, possuem diferentes idades, contudo, mesma rotina de treinamento e o mesmo manejo referente à alimentação.

Foram analisados dados referentes ao hemograma completo e aos exames bioquímicos Aspartato Aminotransferase ou Transaminase Glutâmica Oxalacética (AST/TGO), Creatina Quinase (CK) e Lactato sanguíneo. Apenas a hematimetria, hematócrito e leucócitos serão tabuladas no presente trabalho.

Com a autorização dos proprietários/tutores, 12 animais selecionados foram fornecidos para a realização do estudo, totalizando em 3 coletas de sangue por animal, para cada coleta foi realizada a contenção física do animal pelo treinador ou cuidador rotineiro, ou seja, segurar o animal pelo cabresto a fim de evitar que se assuste, se estresse e faça movimentos bruscos os quais podem dificultar a coleta e possivelmente provocar uma alteração no resultado dos exames. Logo em seguida foi feita a assepsia do local com álcool 70% e gaze para evitar contaminação sistêmica, coletado o sangue puncionando a veia jugular utilizando uma agulha 40x12 e uma seringa de 10ml, o sangue foi fracionado, destinando-se 3ml em um tubo de exame complementar com EDTA (tampa roxa), para ser realizado o hemograma, 4ml em outro tubo sem EDTA com ativador de coágulo + gel (tampa amarela) para avaliação bioquímica de AST e CK e 3ml em um tubo com fluoreto de potássio + EDTA K3 (tampa cinza), para o exame bioquímico de lactato sanguíneo.

A primeira coleta foi realizada com todos os animais em repouso para avaliar todos os exames (hemograma completo, AST, CK e lactato sanguíneo), a segunda coleta foi feita 10 minutos após a prova simulada de três tambores, analisando somente hemograma completo e lactato sanguíneo e a terceira coleta de sangue foi obtida 10 horas após a prova simulada para avaliação de AST e CK pois os níveis de tais enzimas atingem o pico horas após o exercício intenso.

Sabendo que todos os procedimentos foram padrão para todos os animais, todas as coletas foram realizadas durante o período da manhã em 2 dias consecutivos, importante frisar que nenhum dos animais havia praticado exercício intenso até 48 horas antes. No primeiro dia foram realizadas as 3 coletas por animal, de 6 animais e o segundo dia para fazer as 3 coletas nos animais restantes.

Os exames foram processados no laboratório do Hospital Veterinário FAG, situado na Avenida das Torres, nº 500, Cascavel – Paraná – Brasil. Os métodos utilizados para avaliação da enzima sérica Creatina-quinase (CK), Aspartato aminotransferase (AST) e Lactato sanguíneo estão de acordo com a Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) e Sociedade Alemã de Química Clínica (DGKC), utilizando o Analisador Bioquímico BS120 da marca Mindray. Assim como o equipamento de hemograma, que também está de acordo com a IFCC e foi utilizado o equipamento pocH-100iV Diff da marca Sysmex.

Os dados foram avaliados por um único examinador e tabulados com o auxílio do *software* Microsoft® Excel e *software* R versão 3.25 PAST (*Paleontological Statistics Version*) 2019.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário FAG, parecer nº 018/2019.

4. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

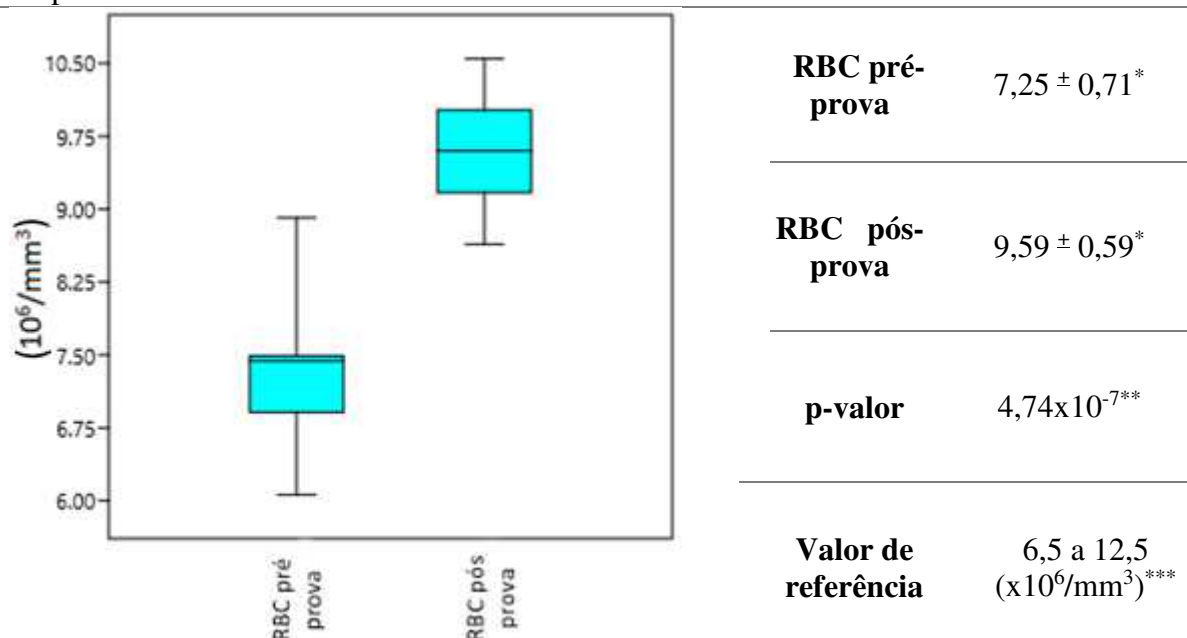
Mattosinho *et al* (2017) relata que o exercício pode causar vários efeitos no eritrograma, assim como no leucograma, levando isso em consideração, testou-se a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($\alpha = 5\%$), onde os dados mostraram ser normais e o teste usado para análise estatística foi o teste t-student pareado.

O coeficiente de variação é uma medida de dispersão, utilizada para estimar a precisão de experimentos e representa o desvio-padrão expresso como porcentagem da média. Considera-se os coeficientes de variação como muito altos se superiores a 30%, médios quando são entre 10 e 20% e baixos quando inferiores a 10% (MOHALLEM *et al*, 2008).

Conforme os resultados dos exames pode-se observar que houve diferença significativa entre período pré-prova e pós-prova ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), com relação aos parâmetros

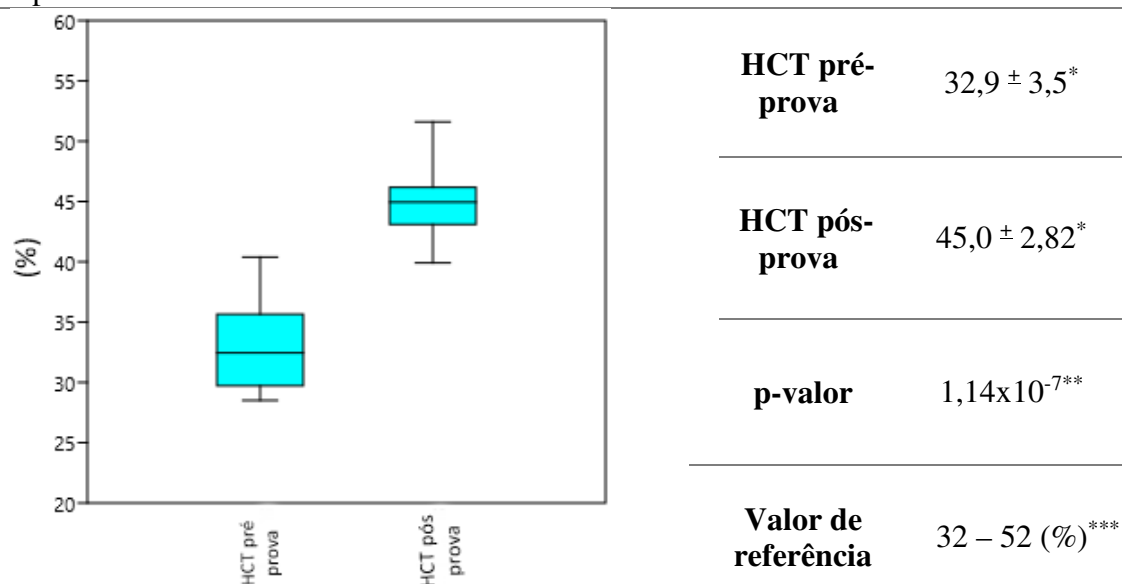
do hemograma: hematimetria, hematócrito e leucócitos, que estão apresentados nos Gráficos 1, 2 e 3, respectivamente.

Gráfico 1 – *Box-plot*, média $\pm$ desvio padrão para os níveis da hematimetria e p-valor do teste de t-student pareado.



Fonte: Arquivo pessoal (2019). *Valores médios ($\pm$ Desvio padrão). **Nível de significância de 5% de confiabilidade (houve diferença significativa). ***Valores de referência Thrall; Weiser; Allison; *et al* (2015).

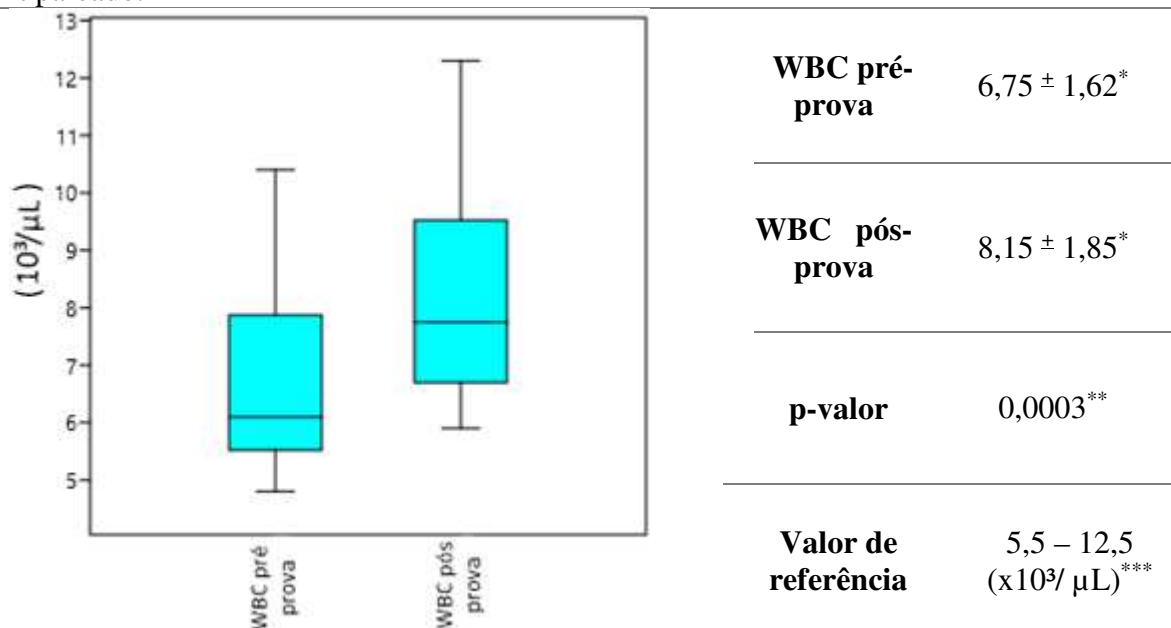
Gráfico 2 – *Box-plot*, média $\pm$ desvio padrão para os níveis do hematócrito e p-valor do teste de t-student pareado.



Fonte: Arquivo pessoal (2019).

*Valores médios ($\pm$ Desvio padrão); **Nível de significância de 5% de confiabilidade (houve diferença significativa). Coeficiente de variação (C.V) possui baixa dispersão no gráfico de hematimetria.; ***Valores de referência Thrall; Weiser; Allison; *et al* (2015).

Gráfico 3 – *Box-plot*, média $\pm$ desvio padrão para os níveis de leucócitos e p-valor do teste de t-student pareado.



Fonte: Arquivo pessoal (2019).

*Valores médios ($\pm$ Desvio padrão); **Nível de significância de 5% de confiabilidade (houve diferença significativa).;

***Valores de referência Thrall; Weiser; Allison; *et al* (2015).

As alterações eritrocitárias e leucocitárias encontradas no perfil hematológico de equinos após exercícios dependem muito do tempo de duração e intensidade, que estima a amplitude da liberação das catecolaminas, que promovem esplenomegalia (MATTOSINHO *et al*, 2017). Considerando tal fato, Soares (2004) descreve que no baço há uma reserva muito grande de hemácias e também promove mobilização de linfócitos. O órgão possui grande capacidade de armazenamento, de 6 a 12 litros de sangue e se contrai em resposta a liberação de catecolaminas durante a atividade física e também sob influências individuais como medo, estresse, e também a partir de atividade muscular. Tendo isso em vista, ocorre rápida liberação de grande quantidade de eritrócitos na circulação sistêmica. Com isso, a quantidade de hemácias torna-se muito instável, podendo aumentar a contagem e o hematócrito em até 30% em questão de minutos (WALTON, 2014).

Em relação às enzimas dos exames bioquímicos, também foi utilizado teste de Shapiro-Wilk, constatando que são dados normais, experimentais e dependentes, com isso, o teste T pareado foi o de escolha para avaliação de CK e AST, possuindo 2 amostras por animal, contudo, para cálculo de Lactato sanguíneo, o qual possui 3 amostras por animal foi utilizado o teste ANOVA e posteriormente o teste de Tukey para analisar quais amostras se diferem.

Observa-se que a enzima sérica CK não apresentou importante diferença estatística ($p=0,27$) quando comparados antes e após a prova simulada, ou seja, manteve-se dentro dos valores de referência descritos para a espécie ($p>0,05$). Mattosinho *et al* (2017) frisa que caso seus níveis

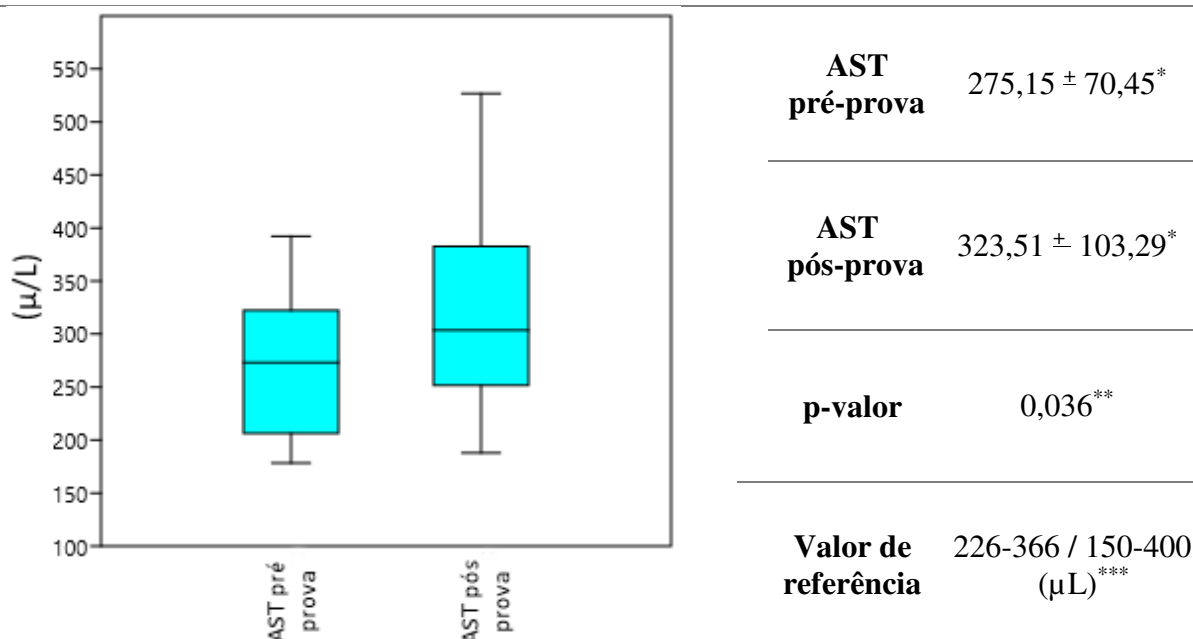
estivessem elevados, indicaria possível lesão muscular, podendo refletir em doenças musculares subclínicas. Conforme Thomassian (2005) a CK é uma enzima citoplasmática e músculo-específica, sendo sujeita a ser liberada rapidamente na circulação em até mesmo em casos de pequenas lesões, como por exemplo, em administração de fármacos via intramuscular, além de também ser observada em condições clínicas associadas a esforço muscular intenso ou lesão aguda da musculatura.

O fato de que a enzima CK não apresentou diferença significativa concorda com os resultados de Ribeiro *et al* (2004), o qual não encontrou diferença estatística nos valores de CK em equinos que foram submetidos a prova de resistência. Tal fato se justifica pelo programa de treinamento adequado desses animais juntamente com o condicionamento físico, pois os efeitos do exercício sobre a concentração da enzima dependem muito da intensidade e duração do exercício além do estado de saúde dos animais e o ambiente em que estão alojados. Equinos com baixo preparo físico manifestam aumento de CK. Com isso, é possível dizer que os animais são adaptados ao programa de treinamento e provas que os mesmos são submetidos (FRANCISCATO *et al*, 2006).

Em casos de injúrias como toxinas ou infecções, levam à perda de componentes mitocondriais e citoplasmáticos para o plasma, devido a lesão da membrana celular (CRUZ, 2011). Tendo isso em vista, pode-se observar aumento nos níveis da enzima AST (Gráfico 4), os quais apresentaram diferença estatística significativa, Thomassian (2005) discute que as elevações dessa enzima muscular no pós-exercício não é exatamente devido a uma lesão nas células musculares, mas consequente das alterações na permeabilidade da membrana celular. Sua mensuração, avaliação do tempo de curso e a magnitude das alterações auxiliam na identificação dos efeitos maléficos de exercícios em equinos não adaptados, podendo assim diagnosticar o tipo de lesão.

Ainda de acordo com Cruz (2011), corrobora que para avaliar se o aumento da enzima AST é em consequência de lesão muscular, como por exemplo, na miopatia do exercício, ou da permeabilidade hepatocelular, associa-se à dosagem de CK. Se o aumento for mútuo, a lesão muscular, se manifestar aumento apenas de AST, indica um possível distúrbio hepatocelular. Cardinet (1997) constata valores entre 226-366 μL , por outro lado Rose e Hodgson (1994) apresentam valores entre 150-400 μL .

Gráfico 4 – *Box-plot*, média $\pm$ desvio padrão para os níveis de AST e p-valor do teste de t-student pareado.



Fonte: Arquivo pessoal (2019).

*Valores médios ($\pm$ Desvio padrão); **Nível de significância de 5% de confiabilidade (houve diferença significativa).;

***Valores de referência Cardinet (1997); Rose e Hodgson (1994), respectivamente.

Com relação ao lactato sanguíneo, após o teste ANOVA verificou-se que existe diferença significativa ao nível de 5% ($p < 0,05$) (Gráfico 5).

Tabela 1. Tabela ANOVA utilizada para obter resultado do Lactato sanguíneo.

Causas de Variação	GL	Soma dos Quadrados (SQ)	Soma dos Quadrados Médios (SQM)	F _(calculado)	P _{valor}
Tratamentos	2	916,035	458,018	126,9*	3,20 x 10 ⁻¹⁶ *
Resíduos	33	5119,119	3,60966		
Total	35	1035,15			

Fonte: Arquivo pessoal (2019). *Significativo ao nível de 5%.

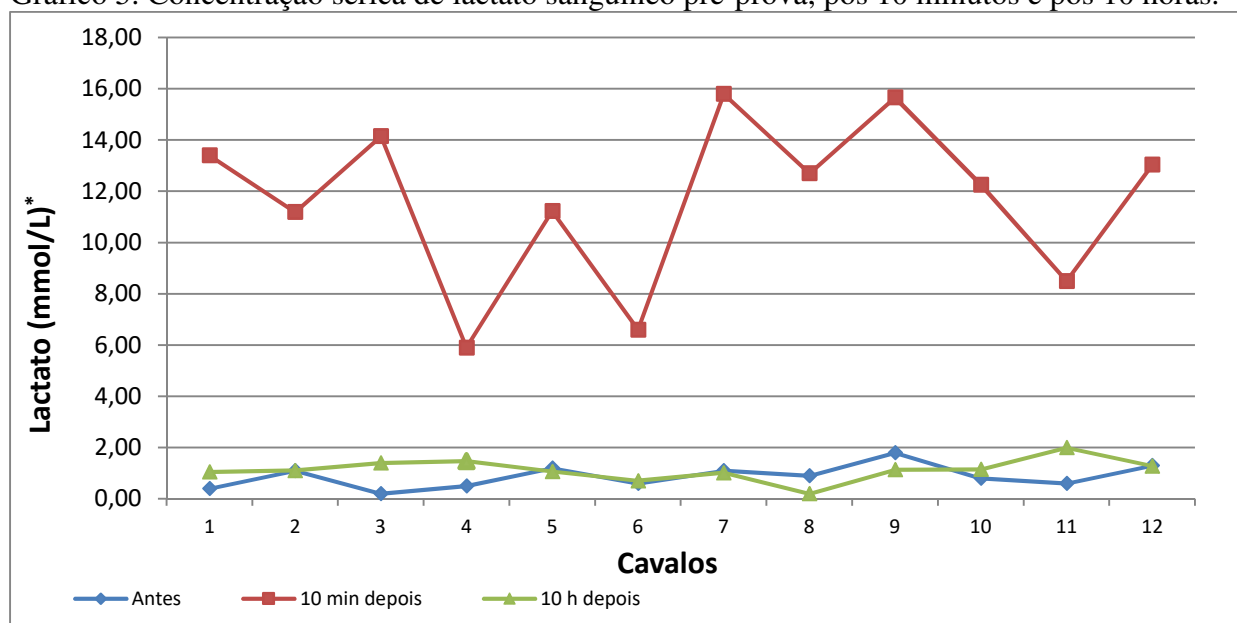
O principal motivo para a dosagem de lactato sanguíneo é em razão da síntese por metabolismo anaeróbico, que Mattosinho *et al* (2017) afirma ser o motivo mais frequente do aumento dessa enzima, pois sabe-se que, por mais que o lactato sanguíneo seja produzido em todo exercício, independente da sua intensidade, só começa a se acumular em intensidades altas, devido a taxa de produção, a qual que excede a taxa de remoção para o plasma. Tendo isso em vista, entende-se que quanto mais intenso o exercício, maior será a quantidade de íons de hidrogênio e de lactato, que reflete em perfusão periférica dos tecidos principalmente musculatura esquelética. Assim como a elevação do lactato

sanguíneo ocorre imediatamente após o exercício, o declínio dos níveis também ocorre rapidamente após o exercício ser cessado (SOARES, 2004).

A musculatura dos equinos possui uma grande capacidade adaptativa, principalmente quando são submetidos a uma rotina de treinamento, pois assim a capacidade de carrear oxigênio para o músculo em atividade é maior, consequentemente aumentando a capacidade aeróbica e tornando o animal mais tolerante à atividade física (Mattosinho *et al*, 2017).

McGowan (2008) descreve sobre os valores basais de lactato plasmático, em cavalos de corrida os valores com o animal em repouso oscilam entre 0,5-1,0 mmol/L, e logo após o exercício intenso de treinamento ou corridas, as concentrações séricas podem atingir até 25-30 mmol/L.

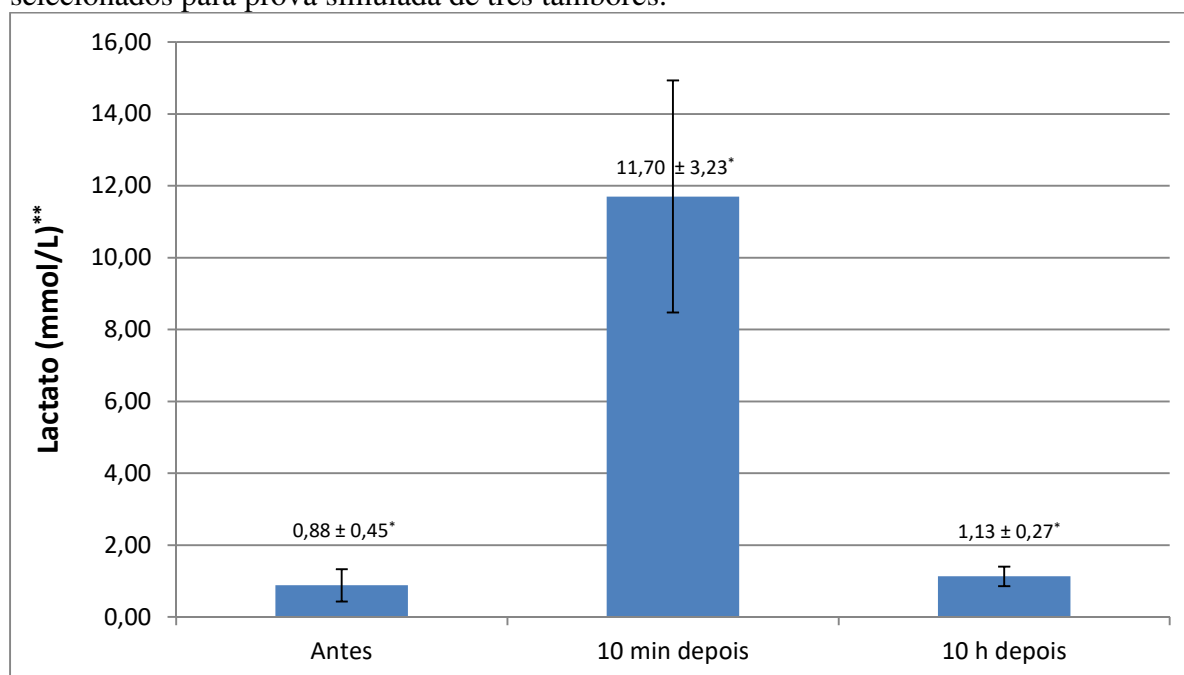
Gráfico 5. Concentração sérica de lactato sanguíneo pré-prova, pós 10 minutos e pós 10 horas.



Fonte: Arquivo pessoal (2019). *Valores de referência McGowan (2008).

Para fazer análise de quais resultados se diferem utilizou-se o teste de Tukey e observou-se que o pré-exercício se difere do pós 10 minutos de exercício, que se difere do pós 10 horas de exercício. Contudo, o pré-exercício não se difere do pós 10 horas de exercício (Gráfico 6). Com base nisso, os animais condicionados voltaram ao nível basal de lactato sanguíneo após o pico plasmático.

Gráfico 6. Resultado da análise da enzima lactato sanguíneo pré e pós-prova dos 12 equinos selecionados para prova simulada de três tambores.



Fonte: Arquivo pessoal (2019).

*Valores médios (± Desvio padrão).

**Valores de referência McGowan (2008).

Caso os níveis de lactato continuem altos, horas pós-exercício, Gomide *et al* (2006) demonstraram que se deve ao fato de taxa elevada no metabolismo anaeróbico, pois há necessidade de suprir as demandas energéticas durante o esforço físico, consequentemente gerando acúmulo de lactato, podendo provocar acidose metabólica ou, segundo Catherine *et al* (1999), um *overtraining*, acarretado devido ao aumento da intensidade do treinamento em animais não adaptados, provocando dificuldade na manutenção da homeostase.

Os dados deste trabalho corroboram com a avaliação feita por Gomide *et al.* (2006), o qual realizou uma pesquisa com 13 animais, que foram submetidos a esforço físico em diferentes modalidades e os únicos a terminarem a prova dentro do tempo permitido foram os que apresentaram valores aumentados de lactato sanguíneo mesmo 10 minutos após a prova, ou seja, os animais que tiveram exercício físico mais intenso. A redução das concentrações de lactato é essencial para a dissipação da enzima acumulada e também para a recuperação cardiovascular.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em virtude do potencial da raça Quarto de Milha perante as atividades físicas e a partir dos resultados do presente trabalho, conclui-se que através avaliação dos resultados do hemograma e das concentrações de AST, CK e Lactato sanguíneo, no período pré e pós-prova, as alterações foram significativas, porém, há uma correta adaptação dos animais submetidos à prova devido ao treinamento rotineiramente realizado no local do alojamento. Afirma-se tal fato devido as concentrações séricas apresentadas no hemograma no exame bioquímico não se manterem em altas quantidades após o pico referente a cada uma, além da capacidade do organismo desses animais em manter a homeostase, permitindo os animais a realizarem o esforço físico necessário condizente com a prova de três tambores, não resultando em prejuízo para o animal.

Diversos autores citaram a ocorrência de lesões teciduais e grande acúmulo de ácido láctico no organismo através de seus estudos, contudo foram utilizados animais não preparados e não adaptados, e como já apresentado, animais desqualificados podem apresentar aumento das enzimas e variação alta das células vermelhas, sendo decorrente da demanda do animal para o exercício físico.

É imprescindível um correto entendimento sobre tais parâmetros para poder minimizar as alterações tanto hematológicas quanto da bioquímica sérica que podem vir a ser encontradas durante a prática desportiva. Com isso, a bibliografia consultada auxiliou na compreensão de todo o processo de avaliação, assim como enriqueceu o conhecimento sobre os equinos no meio do esporte, os quais devem ser tratados como verdadeiros atletas, tendo sempre o treino e acompanhamento correto, para favorecer na adaptação ao exercício e diminuir lesões causadas pelo mesmo.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. M. S'A. Treinamento e desempenho atlético em equinos (Revisão). **PUBVET**. Londrina, v.8, n.18, ed. 267, setembro de 2014.

CARDINET, G. H. Skeletal Muscle Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Org). **United States of America: Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed.; 1997. Chapter 15, p.459-484.

CASTRO, T. F. **Indicadores de performance esportivo em equinos**. Disponível em <https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/tiane_indicad_perform_esport_equin.pdf> Acesso em: 10 de outubro de 2019.

CATHERINE, M.; MCGOWAN, T.; GOLLAND, L. C.; EVANS, D. L.; HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Haematological and biochemical responses to training and overtraining. **Equine veterinary journal**. Australia, n. 30, p. 621-625, 1999.

COLVILLE, T.; BASSERT, J. M. **Anatomia e fisiologia clínica para medicina veterinária**. 2.ed.; Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

CRUZ, J. K. **Indicadores bioquímicos da função muscular**. Disponível em <https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/joana_fun_ao_muscular.pdf> Acesso em: 04 de outubro de 2019.

DONOFRE, A. C.; FILHO, J. N. P. P.; FERREIRA, I. E. P.; MOTA, M. D. S.; NETO, M. C. Equilíbrio de cavalos da raça Quarto de Milha participantes da modalidade de três tambores por meio de proporções corporais. **Ciência Rural, Santa Maria**. Santa Maria – Rio Grande do Sul, v.44, n.2, p.327-332, fevereiro de 2014.

FRANCISCATO, C.; LOPES, S. T. A.; VEIGA, A. P. M.; MARTINS, D. B.; EMANUELLI, M. P.; OLIVEIRA, L. S. S. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT em cavalos Crioulos. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v.41, n.10, p.1561-1565, outubro de 2006.

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

HINCHCLIFF, K. W.; GEOR, R. J.; KANEPS, A. J. **Equine Exercise Physiology: The Science of exercise in the athletic horse**. v.1.; [S.l.]: Saunders Elsevier, v. 1, 2008.

LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. Hematologia clínica. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. (Org). **Brasil: Patologia clínica veterinária: texto introdutório: Texto de apoio ao curso de especialização em análises clínicas veterinárias**. Porto Alegre – Rio Grande do Sul. cap 1, p.1-57.

MACHADO, J. P. D. R. G. **Fisiologia do exercício em cavalos – determinação do limiar anaeróbico e sua relação com a condição física e desempenho desportivo**. 2011. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

MATTOSINHO, R. O.; SAMPAIO, A. J. S. A.; BALARIN, M. R. S.; FIORATO, C. A.; VASQUES, G. M. B.; MARCUSSO, P. F.; *et al.* Alterações hematológicas e bioquímica sérica de equinos atletas. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**. [S.l.], v.4, n.1, p.082-091, junho de 2017.

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

MELO, I. H. S.; PEREIRA, L. F.; CASAS, V. F.; JUNIOR, D. P. Achados eletrocardiográficos e níveis de lactato sanguíneo em equinos submetidos ao exercício. **Investigação**. São Paulo, 14(2):104-112, 2015.

MICHIMA, L. E. S.; MIRANDOLA, R. M. S. Estudo da isoenzima creatina quinase CKMB sérica em equinos de enduro após exercício físico prolongado. **Brazilian journal of veterinary research and animal science**. São Paulo, v. 47. n.1, p. 23-30, 2010.

MIRANDA, R.L.; MUNDIM, A. V.; SAQUY, A. C. S.; COSTA, A. S.; GUIMARÃES, E. C.; GONÇALVES, F. C.; *et al.* Perfil hematológico de equinos submetidos à prova de Team Penning. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v.31, n.1, janeiro de 2011.

MOHALLEM, D. F.; TAVARES, M.; SILVA, P. L.; GUIMARÃES, E. C.; FREITAS, R.F. Avaliação do coeficiente de variação como medida da precisão em experimentos com frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Uberlândia – Minas Gerais, v.60, n.2, p.449-453, janeiro de 2008.

NAOUM, P.C.; NAOUM, F.A. **Hematologia Laboratorial - Eritrócitos**. 2.ed.; Academia de Ciência e Tecnologia (AC&T), São José do Rio Preto – São Paulo, 2008.

NOGUEIRA, F. R. D.; MIKAHIL, M. P. T. C.; VECHIN, F. C.; BERTON, R. P. B.; CAVAGLIERI, C. R.; LIBARDI, C. A. Dor muscular e atividade de creatina quinase após ações excêntricas: Uma análise de cluster. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. Campinas – São Paulo, v. 20, n.4, julho-agosto de 2014.

PEREIRA, M. S.; GERARDI, B.; DENADAI, D. S.; CHAVES, A. A.; BARBOSA, J. P. B.; ZANON, J. E. O.; *et al.* Avaliação da lactatemia e das enzimas musculares de equinos Quarto de Milha submetidos à prova de laço em dupla com diferentes tipos de treinamento. **Brazilian Journal of Veterinary Research**. Rio de Janeiro, v.38, n.9, p.1856-1862, setembro de 2018.

RIBEIRO, C. R.; MARTINS, E.A.N.; RIBAS, J.A.S.; GERMINARO, A. Avaliação de constituintes séricos em equinos e muares submetidos à prova de resistência de 76km, no Pantanal do Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.1081-1086, julho-agosto de 2004.

ROSE, R.J.; ALLEN, J.R.; HODGSON, D.R.; STEWART, J.H.; CHAN, W. Responses to submaximal treadmill exercise and training in the horse: changes in haematology, arterial blood gas and acid base measure-ments, plasma biochemical values and heart rate. **Veterinary Record**. [S.l] 113, 612-618, 1983.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**: Philadelphia: Saunders, 1994.

SALES, J. V. F.; DUMONT, C. B. S.; LEITE, C. R.; MORAES, J. M.; GODOY, R. F.; LIMA, E. M. M. Expressão do Mg^{+2} , CK, AST e LDH em equinos finalistas de provas de endure. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Brasília, 33(1), p. 105-110, janeiro de 2013.

SANTOS, V. P. **Variações hemato-bioquímicas em equinos de salto submetidos a diferentes protocolos de exercício físico**. 2006. Dissertação (Mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias), Universidade federal do rio grande do sul, Porto Alegre – Rio Grande do Sul.

SECANI, A.; LÉGA, E. Fisiologia do exercício em equinos. **Nucleus Animalium**. [S.l], v.1, n.2, novembro de 2009.

SILVA, M. N. **Hematologia veterinária**. *Produção de material didático*: EditAEDI-UFPA, 2016.

SOARES, E. C. Indicadores hematológicos e bioquímicos na avaliação da performance de equinos atletas. Disponível em <https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/performance_cavalos.pdf> soares 2004> Acesso em: 16 de setembro de 2019

THOMASSIAN, A.; *Enfermidades dos cavalos*. 4.ed.; São Paulo: Varela, 2005.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed.; Rio de Janeiro: Roca, 2015.

WALTON, R. M. **Equine Clinical Pathology**. 1.ed.; New York – United States of America: John Wiley & Sons INC, 2014.