

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

**Efeitos Gastrointestinais e Sistêmicos em Equinos Submetidos
à Sobrecarga Dietética com Amido**

Tiago Marques dos Santos

2007



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**EFEITOS GASTROINTESTINAIS E SISTÊMICOS
EM EQÜINOS SUBMETIDOS À SOBRECARGA
DIETÉTICA COM AMIDO**

TIAGO MARQUES DOS SANTOS

Sob a Orientação do Professor
Fernando Queiroz de Almeida

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Mestre em Ciências** no
Curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias, Área de
Concentração em Sanidade Animal

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2007

636.1089633

S237e

T

Santos, Tiago Marques dos, 1979-
Efeitos gastrointestinais e sistêmicos em
eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com
amido / Tiago Marques dos Santos. - 2007.
68 f.

Orientador: Fernando Queiroz de Almeida.
Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de
Veterinária.

Bibliografia: f. 50-54.

1. Eqüino - Doenças - Teses. 2. Mucosa
gástrica - Avaliação - Teses. 3. Abdômen
agudo - Doenças - Teses. 4. Dieta de alto
carboidrato - Teses. I. Almeida, Fernando
Queiroz de, 1959- 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 CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

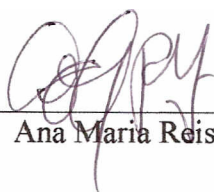
TIAGO MARQUES DOS SANTOS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Sanidade Animal.


DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26 / 02 / 2007



Fernando Queiroz de Almeida. *DSc.* UFRRJ
(Orientador)



Ana Maria Reis Ferreira. *Dr.* UFF



Marco Aurélio Ferreira Lopes. *PhD.* UFV

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra

À Deus, que me proporcionou a vida;

Aos meus pais, Luis Antônio dos Santos e Eva Marques Pedrosa dos Santos, pela dedicação, amor, carinho, apoio e atenção que tiveram comigo em todos os momentos da minha vida;

Aos meus irmãos, André Marques dos Santos e Luiz Antônio dos Santos Junior;

A minha namorada, Eliana Silva de Souza, pelo seu amor e carinho em todos os momentos;

E demais parentes e amigos, que de muitas formas, contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado em Ciências Veterinária.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos, que foi fundamental nesta jornada.

Ao Professor Dr. Fernando Queiroz de Almeida, pelos ensinamentos, apoio, incentivos, conselhos e pela convivência.

Aos Professores desta Universidade que contribuíram para minha formação tanto profissional quanto de cidadão.

Ao Dr. Walter Leira Teixeira Filho, do Laboratório de Coccídeos e Coccidioses da UFRRJ, pelo total apoio na confecção das lâminas para avaliação histopatológica e pela agradável convivência.

Aos Professores Dra. Marilene de Farias Brito e Dr. Carlos Maria Antônio Hubinger Tokarnia, pelo apoio prestado na execução do experimento, na avaliação histopatológica e pela ótima convivência.

A Professora Dra. Ana Maria Reis Ferreira e Juliana Leite, pelo apoio prestado na execução do experimento, nas análises de imunohistoquímica e pela total atenção prestada.

A Dra. Ticiania do Nascimento França e a Doutoranda Josilene Nascimento Seixas, pela ajuda na execução das necropsias.

Ao José Oliveira, funcionário do Projeto de Sanidade Animal EMBRAPA-UFRRJ, pela excelente convivência.

Aos companheiros da equipe de trabalho, Marcus Sandes Pires, Fernanda Nascimento de Godoi, Almira Biazon França, Liziana Maria Rodrigues, Yzabella Alves Campos Nogueira, Daniel Guedes Junior, Henrique Torres Ventura, Róbson Ricardo Moreira Pimentel, Lucas Santiago Brasileiro, Juliano Santiago, Érica Cristina Rocha Roier, Vinícius Pimentel Silva, Carol Spitz, Juliana Ferreira de Azevedo, João Gabriel, Theylla Oliveira Pinheiro, Irineu Fernandes dos Santos Neto e Eliane da Silva Morgado, pelo precioso tempo de convivência e dedicação na realização deste trabalho.

Aos amigos do Curso e aos companheiros do Alojamento da Pós-Graduação da UFRRJ, pelos bons tempos de convivência e de aprendizado.

Às pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Tiago Marques dos Santos, natural de Ituiutaba, MG, e residente em Pontes e Lacerda, MT, nascido em 09 de julho de 1979. Concluiu a graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em 2005.

Durante a graduação, foi bolsista de Iniciação Científica da FAPERJ e do CNPq, participando de projetos de pesquisa e publicações do Grupo de Pesquisa/CNPq Produção e Saúde dos Equinos.

Cursou o Mestrado em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no período de março de 2005 a fevereiro de 2007, publicando quatro artigos em periódicos especializados, um resumo em periódico, 25 trabalhos em anais de eventos, um trabalho técnico e três trabalhos apresentados em eventos. Atua na área de Sanidade Animal, com ênfase na espécie eqüina.

RESUMO

SANTOS, Tiago Marques dos. **Efeitos Gastrointestinais e Sistêmicos em Equinos Submetidos a Sobrecarga Dietética com Amido**. 2007. 68p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

Este trabalho teve como objetivo avaliar as alterações sistêmicas, da mucosa e conteúdo do trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido. Foram utilizados oito equinos adultos castrados, com peso vivo médio de 364 kg, adaptados a dieta composta por feno de *Coastcross* e concentrado, na proporção de 60:40. Foi utilizado um delineamento experimental com três tratamentos: Tratamento I (Controle) (n=2), eutanásia dos animais sem sobrecarga com amido; Tratamentos II (n=3) e III (n=3), animais submetidos à sobrecarga com amido, com infusão gástrica de 17,6 g amido/kg de peso corporal e eutanásia após 24 e 36 horas, respectivamente. Os equinos foram submetidos a avaliações clínicas, hematológicas e físico-químicas das fezes antes da sobrecarga e 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 e 36 horas pós-sobrecarga. Os animais apresentaram-se apáticos quatro horas após a sobrecarga permanecendo assim até o final da avaliação e apenas um animal apresentou claudicação, 36 horas pós-sobrecarga. Não houve diferença ($P>0,05$) na frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura corporal e temperatura dos cascos. Houve aumento ($P<0,05$) no volume globular e proteína plasmática total, 24 horas pós-sobrecarga, variando de 26,7 a 32,0% e de 7,1 e 8,1 g/dL, respectivamente. Houve diferença ($P<0,05$) na concentração plasmática de lactato no tempo zero, 20 e 28 horas pós-sobrecarga, com valores de 0,7, 1,04 e 1,22 mmol/L, respectivamente. A concentração plasmática de endotoxinas não ultrapassou 0,1000 EU/mL, podendo estar até mesmo ausente. O conteúdo do intestino grosso nos equinos submetidos à sobrecarga apresentou cor verde esbranquiçada, aspecto leitoso, com bolhas de gás e odor ácido. Não houve diferença ($P>0,05$) no teor de água das fezes e do conteúdo da digesta, no entanto, o pH fecal reduziu ao longo de 36 horas pós-sobrecarga ($P<0,01$), variando de 6,09 a 4,46. Houve redução na capacidade de tamponamento das fezes nos equinos submetidos à sobrecarga e, de forma similar, ocorreu no conteúdo do ceco-cólon. O cólon dorsal direito, cólon transversal e cólon descendente foram os segmentos, com exceção do estômago, que apresentaram a digesta com menores valores de pH, variando de 4,49 a 4,56. À histopatologia, a infiltração de eosinófilos esteve presente na mucosa e submucosa de todos os equinos, no entanto, somente em dois equinos submetidos à sobrecarga, observou-se leucocitoestase de neutrófilos e eosinófilos, com predominância de neutrófilos no intestino grosso. As alterações circulatórias observadas no trato gastrointestinal foram congestão, edema e dilatação de vasos linfáticos, sendo mais evidentes na submucosa, local de maior infiltração de células inflamatórias nos equinos submetidos à sobrecarga. A mucosa dos segmentos do trato gastrointestinal dos equinos eutanasiados 36 horas pós-sobrecarga apresentou maior grau de imunorreatividade anti-mieloperoxidase, seguido dos equinos avaliados 24 horas pós-sobrecarga e dos equinos do tratamento controle, variando de 2,7 a 4,0, 1,0 a 3,7 e 1,0 a 2,5, respectivamente. A sobrecarga dietética com amido em equinos promove fermentação intensa no ceco-cólon, predispondo ao aparecimento de distúrbios clínicos, alterações do conteúdo da digesta e lesões de leve a moderada na mucosa e submucosa do trato gastrointestinal dos equinos, após 36 horas da sobrecarga.

Palavras chave: abdômen agudo, equinos, gastroenterologia.

ABSTRACT

SANTOS, Tiago Marques dos. **Gastrointestinal and Systemic Effects in Horses subject to Overload Carbohydrate**. 2007. 68p. Dissertation (Master Science in Veterinary Science). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

This work aimed to evaluate gastrointestinal and systemic disturbances, and mucosa and gut contents of gastrointestinal tract of horses subjected to overload carbohydrate. Eight crossbreed mature horses were used with body weight (BW) average of 364kg, geldings, adapted to diet composed by grass hay and concentrate, in a 60:40 proportion. A complete randomized design was used with horses allocated in three treatments. Treatment I: (Control) (n=2) horses were slaughtered without overload carbohydrate; Treatment II (n=3) and III (n=3), horses subjected to overload carbohydrate, with gastric infusion of 17.6 g starch/kg BW, and slaughtered after 24 and 36 hours, respectively. Horses were subjected to clinical, hematological and fecal evaluations before the overload and 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 and 36 hours after overload. Four hours after overload horses became depressed and keeping until the end of evaluation, and one horse presented lameness 36 hours after overload. Any difference ($P>0.05$) were observed in heart rate, respiratory rate, body temperature and hoof temperature. Increase in packed cell volume and plasma protein concentration were observed 24 hours after overload, varying from 26.7 to 32.0% and 7.1 to 8.1 g/dL, respectively ($P<0.05$). Differences were observed ($P<0.05$) in plasmatic lactate concentration in zero, 20 and 28 hours after overload, with values of 0.7, 1.04 and 1.22 mmol/L, respectively. Plasma endotoxin concentration didn't cross 0.1000 EU/mL and may be not present. There were any difference ($P>0.05$) in fecal and digesta water content, however, fecal pH reduced along 36 hours post-overload ($P<0.01$), varying from 6.09 to 4.46. Content of large intestine in horses subjected to overload presented whitish-green color, milk aspect, with gas bubbles and acid odor. There weren't difference ($P>0.05$) in water content of feces and digesta, however, fecal pH reduced along 36 hours post-overload ($P<0.01$), varying from 6.09 to 4.46. Buffering capacity of ceco-colon digesta and feces were reduced in horses subjected to overload. Right dorsal colon, transverse colon and descendent colon were segments, except stomach, that presented lower pH values, varying from 4.49 to 4.56. Eosinophils infiltration were presented in mucosa and submucosa of all horses, however, only horses submitted to overload presented neutrophils and eosinophils leucocitoestase with neutrophils predominance restricted to large intestine. Tract gastrointestinal circulatory alterations observed were congestion, edema and lymphatic vessels dilatation, more evident in submucosa, with larger inflammatory cells infiltration in horses subjected to overload. Intestinal mucosa 36 hours after overload presented larger degree of imunoreactivity anti-myeloperoxidase, followed by horses evaluated at 24 hours after overload and control horses, varying from 2.7 to 4.0, 1.0 to 3.7 and 1.0 to 2.5, respectively. Overload carbohydrate in horses promoted intensive fermentation in ceco-colon, predisposing clinical disturbances, digesta alterations and mucosa and submucosa lesions at gastrointestinal tract of horses with light to moderate degree, 36 hours after overload.

Key words: acute abdomen, equine, gastroenterology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição bromatológica, expressa na base da matéria seca, do feno de capim <i>Coastcross</i> e ração comercial.....	10
Tabela 2. Valores médios e desvio padrão da frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal e tempo de preenchimento capilar de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.....	18
Tabela 3. Valores médios e desvio padrão da temperatura superficial dos cascos dos equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.....	18
Tabela 4. Valores médios e desvio padrão do volume globular (VG), hematimetria (He), hemoglobina (Hb), volume globular médio (VGM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), proteína plasmática total (PPT) e fibrinogênio (FIB) em equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido...	19
Tabela 5. Valores médios e desvio padrão da leucometria global, eosinófilos, bastonetes, neutrófilos, linfócitos e monócitos de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.....	20
Tabela 6. Valores médios e desvio padrão da concentração plasmática de lactato e glicose de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.....	21
Tabela 7. Valores médios e desvio padrão do pH e capacidade tampão (CT ₁ e CT ₂) das fezes de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.....	26
Tabela 8. Valores médios e desvio padrão do pH do conteúdo da digesta nos segmentos do trato gastrointestinal e nas fezes dos equinos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga.....	31
Tabela 9. Valores médios e desvio padrão da capacidade tampão (CT ₂) no trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e eutanasiados no tempo zero, 24 e 36 horas após a sobrecarga.....	35
Tabela 10. Valores médios e desvio padrão da capacidade tampão (CT ₁) no trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados após zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga.....	36
Tabela 11. Distribuição e intensidade da infiltração de células inflamatórias na mucosa dos segmentos do trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga com carboidratos e avaliados através de exame histológico.....	37
Tabela 12. Distribuição e intensidade da infiltração de células inflamatórias na submucosa dos segmentos do trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga com carboidratos e avaliados através de exame histológico.....	38
Tabela 13. Distribuição e intensidade das alterações circulatórias na mucosa dos segmentos do trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga com carboidratos e avaliados através de exame histológico.....	39
Tabela 14. Distribuição e intensidade das alterações circulatórias na submucosa dos segmentos do trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga com carboidratos e avaliados através de exame histológico.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sobrecarga por carboidratos utilizando amido administrado através de sonda nasogástrica (a) e animal com a sonda ao final da indução (b).....	11
Figura 2. Aferição da temperatura superficial do casco utilizando termômetro a laser.....	12
Figura 3. Coleta de fragmento do trato gastrointestinal (a) e do conteúdo intestinal (b).....	13
Figura 4. Motilidade intestinal e o tempo de preenchimento capilar (segundos) em equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.....	16
Figura 5. Valores médios da concentração plasmática de lactato em equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.....	22
Figura 6. Valores médios da concentração plasmática de glicose em equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.....	23
Figura 7. Valores médios do teor de água das fezes de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.....	24
Figura 8. Valores médios do teor de água no conteúdo da digesta nos segmentos do trato gastrointestinal de equinos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga.....	25
Figura 9. Regressão linear entre os valores médios do pH das fezes de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido em função do tempo.....	26
Figura 10. Regressão linear da capacidade tampão (CT ₂) das fezes de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido em função do tempo.....	28
Figura 11. Regressão linear da capacidade tampão (CT ₁) das fezes de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido em função do tempo.....	28
Figura 12. Presença de amido aderido à mucosa estomacal do equino 06 submetido à sobrecarga dietética com amido e avaliado após 32 horas, momento que veio ao óbito.....	29
Figura 13. Presença de amido no jejuno (a) e íleo (b) do equino 03 submetido à sobrecarga dietética com amido e avaliado após 24 horas.....	29
Figura 14. Conteúdo cecal dos equinos 05 (a) e 08 (a) submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados após 24 e 36 horas.....	30
Figura 15. Conteúdo cor verde-oliva no cólon dorsal direito (a) e verde esbranquiçada no cólon ventral direito (b) do equino 05, 24 horas após sobrecarga dietética com amido.....	30
Figura 16. Valores médios do pH do conteúdo da digesta dos segmentos do trato gastrointestinal de equinos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga.....	31
Figura 17. (a) mucosa do cólon ventral direito com infiltração por eosinófilos no equino 02 (250x); (b) submucosa do cólon ventral esquerdo com infiltração por eosinófilos e células mononucleares no equino 06 (250x), 36 horas pós-sobrecarga; equino 06 com infiltração por PMNs na superfície epitelial do cólon ventral direito (c) (160x) e (d) (250x), 36 horas pós-sobrecarga; (e) equino 06 com leucocitoestase em vasos da submucosa (160x) e da mucosa (f) (400x) do cólon ventral direito, 36 horas pós-sobrecarga. (a – f) corado com H – E.....	43

- Figura 18. (a – d) eqüino 06; (a) mucosa do cólon dorsal direito com vasos congestos (160x); (b) submucosa do cólon ventral direito com vasos congestos (400x); (c) mucosa do cólon ventral esquerdo com vasos congestos e leucocitoestase (250x); (d) submucosa do cólon dorsal direito com vasos congestos (250x), 36 horas pós-sobrecarga; (e) eqüino 03, 24 horas pós-sobrecarga, com edema da base da mucosa do jejuno (250x) e (f) edema da base da mucosa e dilatação dos vasos linfáticos do jejuno (100x); (a – f) corado com H – E..... 44
- Figura 19. Imunorreatividade para o anticorpo anti-MPO classificada em graus de 1 a 4 de acordo com o número de granulócitos marcados, objetiva de 20x. Grau 1 – de 1 a 10 células por campo no duodeno do eqüino 01 (a); 2 – de 11 a 50 células por campo no duodeno do eqüino 03 (b); 3 - de 51 a 100 células por campo no cólon descendente do eqüino 01 (c); 4 – >100 células por campo no cólon transversal do eqüino 06 (d)..... 59
- Figura 20. Grau de imunorreatividade para o anticorpo anti-MPO baseado no número de células marcadas nos segmentos do TGI em eqüinos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga. Grau (0) - ausência de marcação, (1) - 1 a 10 células marcadas (2) - 11 a 50 células marcadas (3) - 51 a 100 células marcadas (4) - >100 células marcadas, em campo de 200x..... 46

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Particularidades Anatômicas e Fisiológicas do Processo de Digestão nos Equinos....	3
2.2 Etiologia da Sobrecarga Dietética com Carboidratos em Equinos.....	3
2.3 Distúrbios Sistêmicos em Equinos Submetidos à Sobrecarga Dietética por Carboidratos.....	5
2.4 Processo Inflamatório no Trato Gastrointestinal de Equinos.....	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Animais e Manejo Alimentar.....	10
3.2 Tratamentos e Delineamento Experimental	10
3.3 Sobrecarga Dietética com Amido.....	11
3.4 Avaliação Clínica e Coleta de Amostras de Sangue e Fezes.....	11
3.5 Eutanásia e Necropsia.....	12
3.6 Análises Laboratoriais.....	13
3.6.1 Análises Sangüíneas.....	13
3.6.2 Avaliação do pH, da Capacidade Tampão e do Teor de Matéria Seca da Digesta e das Fezes.....	14
3.6.3 Avaliação Histopatológica do Trato Gastrointestinal.....	14
3.6.4 Avaliação Imuno-histoquímica do Trato Gastrointestinal.....	14
3.7 Análises Estatísticas.....	15
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1 Alterações Clínicas e Hematológicas.....	16
4.2 Alterações Físico-químicas no Trato Gastrointestinal.....	24
4.3 Alterações Histológicas e Histoquímicas na Mucosa Intestinal.....	36
5 CONCLUSÕES	49
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
7 GLOSSÁRIO	55
ANEXOS	56
A – Identificação dos equinos utilizados no experimento.....	57
B – Procedimentos para emblocamento em parafina dos fragmentos do trato gastrointestinal para análise histopatológica.....	58
C – Tabelas de análise de variância.....	59

1 INTRODUÇÃO

A pastagem sempre constituiu a alimentação natural dos eqüinos, mas com a manutenção desses animais em regime estabulado sem a disponibilidade de fontes de forragem em quantidades suficientes, fez com que muitos animais recebessem uma oferta maior de alimentos ricos em energia na dieta, resultando em risco de distúrbios gastrointestinais. Isto ocorre freqüentemente em cavalos atletas, os quais possuem uma demanda energética muito alta para o melhor desempenho das atividades esportivas. Nessas condições, a ração concentrada pode chegar a contribuir com 70% da dieta, complementada com 30% de alimento volumoso.

Eqüinos alimentados com dietas ricas em carboidratos hidrolisáveis e, quando manejados de forma incorreta, se tornam mais predispostos a desenvolverem uma série de distúrbios gastrointestinais como cólicas, úlceras gástricas, impactações, torção de alças intestinais, alterações na mucosa intestinal, diarreia e distúrbios sistêmicos como acidose e endotoxemia podendo levar a quadros de laminite.

Os carboidratos hidrolisáveis consumidos em grande quantidade ultrapassam a capacidade de digestão no intestino delgado, que é de cerca de 0,4% do peso corporal por refeição (POTTER et al., 1992) e, grande parte desses carboidratos hidrolisáveis alcançam o intestino grosso onde são fermentados.

O processo fermentativo intenso dos carboidratos hidrolisáveis no intestino grosso dos eqüinos, ao nível, principalmente de ceco e cólon, afeta a microbiota intestinal e, conseqüentemente a concentração de produtos da fermentação microbiana como ácidos graxos voláteis (AGVs) (acético, propiônico e butírico) e lactato levando a alteração do pH. As condições ácidas no intestino grosso também podem iniciar vários efeitos secundários como irritação e dano na mucosa intestinal. Além disso, a queda do pH causa lise bacteriana e, associado a isto, uma liberação de endotoxinas que podem ser absorvidas levando a quadros de endotoxemia.

As endotoxinas consistem em complexos de lipopolissacarídeos (LPS) e proteínas, oriundos da membrana externa de bactérias gram-negativas (VALADÃO, 2005). As condições de acidez no intestino grosso podem também levar o animal a um quadro de acidose metabólica. Qualquer um destes fatores, ou todos, podem conduzir a um quadro de laminite.

Outro mecanismo implicado em mediar lesões na mucosa do trato gastrointestinal em desordens digestivas é a infiltração de granulócitos, particularmente neutrófilos e eosinófilos juntamente com o estresse oxidativo com excessiva liberação de metabólitos de oxigênio reativo (ROMs). Associado à infiltração dessas células na mucosa e à liberação dos ROMs, a mensuração da atividade da mieloperoxidase (MPO), enzima liberada da degranulação de neutrófilos e eosinófilos, tem sido usada como excelente marcador inflamatório em várias espécies animais.

A sobrecarga dietética com amido é uma metodologia utilizada nos estudos sobre laminite, o que não é objeto do presente estudo e sim, as alterações que ocorrem antes do desenvolvimento desta patologia a fim de conhecer melhor os possíveis fatores desencadeadores da laminite e, desta forma ser possível sua prevenção. Os eqüinos utilizados no presente estudo foram adaptados à dieta com níveis elevados de carboidratos hidrolisáveis e somado a isto, a avaliação dos valores de pH, da capacidade de tamponamento do conteúdo intestinal e avaliação imuno-histoquímica da mucosa em todos os segmentos do trato gastrointestinal, torna o presente estudo pioneiro.

Este experimento teve como objetivo avaliar as alterações clínicas, hematológicas, bioquímicas e físico-química das fezes e conteúdo do trato gastrointestinal de eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido. Além disso, objetiva-se avaliar a integridade da mucosa e submucosa, por meio de avaliação histopatológica e imuno-histoquímica, nos segmentos do trato gastrointestinal de eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e, avaliados durante 36 horas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Particularidades Anatômicas e Fisiológicas do Processo de Digestão nos Equinos

A anatomia do trato gastrointestinal dos equinos apresenta diversas particularidades morfológicas que são importantes no entendimento dos processos fisiológicos e patológicos desses animais. Os equinos apresentam o estômago pequeno com 8 a 20 litros, o intestino delgado de tamanho moderado e o intestino grosso desenvolvido. O ceco do equino tem capacidade variando entre 16 e 68 litros (WHITE, 1990).

O processo de digestão nos equinos ocorre no estômago, no intestino delgado e no intestino grosso. A digestão gástrica consiste na ação de ácidos e da pepsina que iniciam a digestão das proteínas. A digestão no intestino delgado é constituída de uma fase luminal e uma fase mucosa. A ação das enzimas pancreáticas e sais biliares propiciam a quebra inicial dos carboidratos, lipídios e proteínas. Os carboidratos e as proteínas sofrem, ainda, a ação das enzimas localizadas na borda escova dos enterócitos na fase mucosa, transformando-se em hexoses, aminoácidos e peptídeos que são absorvidos pelas células por transporte ativo. A digestão no intestino grosso é, exclusivamente, resultado da ação de enzimas microbianas, e resulta na formação de AGVs, sendo eles ácido acético, propiônico e butírico, e amônia que são absorvidos por difusão passiva.

Os AGVs constituem uma importante fonte de energia para os herbívoros não ruminantes (WHITE, 1990). A digestão microbiana difere da digestão enzimática já que as fontes por carboidratos fibrosos têm polímeros de glicose com as ligações beta, as quais não são desdobradas pelas enzimas dos mamíferos, mas são rapidamente atacadas pelas enzimas microbianas. Além disso, os produtos finais da digestão microbiana dos carboidratos não são as hexoses, mas os AGVs. Isso é necessário porque o cólon do equino adulto é incapaz de absorver hexoses, mas pode facilmente absorver os AGVs, sendo utilizados como fonte de energia pelo epitélio e tecidos corporais (DUKES, 1996).

O processo de digestão do equino ocorre em duas etapas, uma enzimática, no intestino delgado, denominada pré-cecal e uma microbiana, no intestino grosso, denominada pós-ileal, o consumo excessivo por carboidratos solúveis pode ultrapassar a capacidade digestiva da porção enzimática, disponibilizando-os para a digestão microbiana no ceco e cólon, onde são rapidamente fermentados (ROBERTS, 1975). Esse processo de fermentação resulta na produção de altos níveis de AGVs levando a uma queda no pH, caracterizada pela presença de ácido lático (ROWE et al., 1995).

2.2 Etiologia da Sobrecarga Dietética com Carboidratos em Equinos

A acidose pode ocorrer em duas situações. Pode haver um aumento na quantidade de grãos na alimentação de animais já adaptados à ingestão por carboidratos solúveis. Neste caso a taxa de produção de AGVs supera o sistema-tampão e diminui o pH do lúmen. Quando isso ocorre, as bactérias que normalmente produzem AGVs são eliminadas e há um aumento das bactérias produtoras de ácido lático que se desenvolvem em pH baixo. O ácido lático é pobremente absorvido a partir do conteúdo do cólon e sua taxa de produção aumentada provoca aumento na pressão osmótica causando lesão à mucosa e resultando no fluxo osmótico de água do sangue para o lúmen (DUKES, 1996).

Pode ocorrer também a introdução brusca de grãos na alimentação de animais não adaptados. Neste caso a produção de ácido lático aumenta imediatamente porque as bactérias que metabolizam o ácido lático em AGVs ainda não estão presentes. Como o ácido lático é

um ácido muito mais forte, ele doa seu íon hidrogênio para os AGVs levando a uma taxa maior de absorção desses ácidos, o que vai promover a acidificação do interstício e lesão da mucosa. Experimentalmente, conclui-se que um pH de 5,0 ou menos começa a causar lesão à mucosa do cólon (DUKES, 1996).

A acidose pode ocorrer primeiramente no estômago e intestino delgado, sendo similar à acidose nos bovinos. No entanto, o conteúdo cecal e colônico dos eqüinos não entra em contato com a saliva como acontece com o conteúdo ruminal, o que torna os eqüinos mais suscetíveis ao acúmulo de ácidos produzidos pela rápida fermentação por carboidratos solúveis. Esse quadro de acidose, tanto estomacal quanto intestinal, pode resultar em morte devido à distensão gástrica e ao choque (WHITE, 1990).

A regulação do pH luminal, pelos sistemas-tampão, é um dos mais importantes mecanismos na preservação da função normal do intestino grosso. Os principais sistemas-tampão que operam no intestino grosso são os tampões bicarbonato (HCO_3) e fosfato (PO_4). Em relação ao HCO_3 , uma substancial quantidade é liberada pelo pâncreas no duodeno e, no eqüino, uma parte contribui para a capacidade de neutralização dos conteúdos do intestino grosso. Além disso, o íleo é capaz de secretar HCO_3 de modo que o conteúdo liberado para o ceco possui uma grande quantidade desse tampão. Além da neutralização pelo conteúdo do íleo, o intestino grosso também é capaz de secretar HCO_3 , porém em menor quantidade (DUKES, 1996).

Além dos tampões HCO_3 , o PO_4 também pode contribuir para a neutralização dos conteúdos intestinais. No ruminante, grandes quantidades de PO_4 são secretadas na saliva, mas em não-ruminantes a origem do PO_4 intestinal é primariamente a dieta. O fosfato é fracamente absorvido pelo intestino, portanto, à medida que o líquido é progressivamente absorvido, a concentração de PO_4 aumenta nos conteúdos do lúmen (DUKES, 1996).

Vários estudos têm sido conduzidos para avaliar os efeitos da ingestão de grãos na microbiota do trato gastrointestinal de eqüinos. Em um estudo utilizando cavalos fistulados no ceco alimentados duas vezes ao dia, os efeitos de uma dieta com 100% de grão foram comparados aos efeitos de uma dieta composta exclusivamente de feno após um período de três dias para adaptação a dieta. O pH do conteúdo cecal diminuiu 4, 5 e 6 horas após a ingestão de 6 kg de ração concentrada com pH médio variando de 6,12 a 6,43 comparado a cavalos alimentados com 8 kg de feno de gramínea misturado à leguminosa com pH médio variando de 6,87 a 6,92. O melaço também produziu uma diminuição na percentagem molar de acetato e um aumento na percentagem molar de propionato e lactato no conteúdo cecal. As variações produzidas pela dieta foram interpretadas como o resultado das variações no número e atividade dos microorganismos gastrointestinais (WILLARD et al., 1977).

Em outro estudo, Garner et al. (1978) utilizando cavalos com fístula cecal, 17,6 g/kg de peso corporal de uma dieta rica em carboidratos hidrolisáveis, com 85% de amido de milho e 15% de farinha de celulose administrada via sonda nasogástrica, produziu alterações significativas na microbiota e pH cecal. Houve um aumento significativo no número de *Lactobacillus* sp. e uma significativa diminuição nas *Enterobacteriaceae* sp., e *Streptococcus* sp. e, no pH, oito horas após a administração por carboidratos. Às 24 horas após a administração de carboidratos, o número de *Lactobacillus* sp. aumentou ainda mais enquanto que o número de *Enterobacteriaceae* sp. e o pH do conteúdo cecal continuaram diminuindo.

Nesse mesmo estudo os autores observaram um aumento na concentração de endotoxinas livre no conteúdo cecal dentro de 3 horas que permaneceu até as 12 horas após a sobrecarga por carboidratos. Esta alteração na concentração de endotoxinas livre no conteúdo cecal está em acordo com a diminuição significativa na população de bactérias gram-negativas de 8 a 24 horas após a sobrecarga por carboidratos.

As endotoxinas permanecem intimamente associadas à membrana externa das bactérias e são liberadas quando ocorre replicação bacteriana rápida, lise ou morte dos

microrganismos sendo os componentes principais do choque séptico/endotóxico. Suspeita-se que as endotoxinas têm sido importantes nas características patofisiológicas dos principais problemas eqüinos incluindo cólica, diarreia, trauma e doenças hepáticas (MOORE et al., 1979).

Estudos realizados por De Fombelle et al. (2001) com pôneis fistulados no ceco e cólon ventral direito objetivou a comparação de uma dieta exclusiva de feno com uma dieta composta por feno e cevada, na proporção de 70:30 e 50:50, fornecida duas vezes ao dia, revelou que a incorporação abrupta de cevada produziu um aumento no número de bactérias anaeróbicas como *Lactobacillus* sp. e *Streptococcus* sp. 29 horas após a alimentação. Um aumento na concentração de lactato e diminuição na relação acetato+butirato/propionato foi também observado, a qual não foi seguida por uma variação significativa no pH. Algumas dessas variações já estavam presentes 5 horas após a incorporação de cevada à dieta. Neste estudo, a quantidade de amido fornecido por refeição não excedeu 2,3 g/kg de peso corporal, abaixo do limite de 4 g/kg de peso corporal recomendado para prevenir distúrbios digestivos.

Julliard et al. (2001) utilizaram os mesmos animais e dietas do experimento anterior e observaram variações na microbiota do intestino grosso produzida por ingestão de grãos também após um período de 14 dias de adaptação às dietas. O número de bactérias que utilizam lactato, *Lactobacillus* sp. e *Streptococcus* sp. no ceco e cólon aumentou enquanto o número de bactérias celulolíticas diminuiu. Apesar da concentração de AGVs não ter alterado, a relação (acetato+butirato)/propionato e pH diminuiu quando o grão foi fornecido.

Em cavalos que pastejam, o pH do intestino grosso varia de 6,4 a 6,7 e sua queda está associado às condições clínicas como diarreia osmótica, crescimento exagerado de população bacteriana indesejável e lise de população bacteriana desejável, aumentando o risco de endotoxemia e laminites (BAILEY et al., 2003).

2.3 Distúrbios Sistêmicos em Eqüinos Submetidos à Sobrecarga Dietética por Carboidratos

Animais submetidos a uma sobrecarga por carboidratos apresentam uma série de distúrbios sistêmicos resultantes das alterações na microbiota intestinal, levando a uma diminuição do pH ao nível de ceco e cólon e, conseqüentemente acidose metabólica, cólica, diarreia, desidratação, taquicardia, taquipnéia, endotoxemia e até quadro de laminite.

Em um estudo realizado por Garner et al. (1975), 12 eqüinos foram submetidos a 17,6 g de Amido de aveia/kg de peso corporal administrada via sonda nasogástrica e desenvolveram diversos distúrbios sistêmicos e quadro de laminite em 11 dos 12 animais experimentais. O volume globular, contagem global de leucócitos e proteína plasmática total aumentaram significativamente em 24 e 40 horas após a administração da sopa de aveia. Houve também um aumento na pressão arterial sistólica e diastólica, diminuição na pressão venosa central, aumento na frequência cardíaca e temperatura retal dentro das 56 horas do período experimental.

Moore et al. (1979) utilizaram cavalos fistulados no ceco, infundiram 17,6 g/kg de peso corporal de uma dieta rica em carboidratos hidrolisáveis (85% de amido de milho e 15% de farinha de celulose) administrada via sonda nasogástrica e observaram uma diminuição do pH cecal três horas após a sobrecarga por carboidratos alcançando menor valor 12 horas após um aumento na concentração sanguínea de lactato, 6 e 18 horas após a sobrecarga por carboidratos. Houve também alterações no ambiente intracecal, alcalose metabólica seguida por uma tendência à acidose metabólica. A acidose foi devido primariamente ao acúmulo de ácido láctico.

Existem dois isômeros de ácido láctico produzidos em iguais proporções pelas bactérias intestinais, o L-Lactato e o D-Lactato, no entanto, somente o L-Lactato é produzido pelos

tecidos e pode ser encontrado em níveis elevados no sangue durante exercícios ou em resposta à dor ou ao estresse. Não existe D-Lactato no sangue, a menos que haja um acúmulo significativo de ácido láctico no intestino. Por essa razão, a presença de D-Lactato no sangue é um ótimo indicador de um processo anormal de digestão/fermentação e de condições muito ácidas no intestino grosso, devendo ser controlado durante a fermentação dos carboidratos como forma de prevenção de acidez excessiva (ROWE et al., 1995).

Pollitt & Davies (1998) utilizaram eqüinos induzidos à sobrecarga por farinha de trigo via sonda nasogástrica na proporção de 17,5 g/kg de peso corporal e observaram uma série de alterações clínicas. Nos cavalos positivos para laminite o aumento e diminuição na temperatura dos cascos foram sincronizados. Antes da indução, as temperaturas dos cascos foram próximas à temperatura ambiente, mas aumentou em todos os cascos de 4 a 15 horas após a administração por carboidratos. As temperaturas dos cascos permaneceram elevadas em todo o período experimental, exceto por um período de baixa temperatura que correspondeu ao aumento inicial na temperatura central. Durante as primeiras 24 horas, as temperaturas dos cascos aumentaram gradualmente, de $13,63 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ para $24,97 \pm 1,62^{\circ}\text{C}$, seguida de nítida diminuição. A temperatura média dos cascos dos animais negativos a laminite foi de $16,36 \pm 0,87^{\circ}\text{C}$, o que diferiu significativamente dos animais do grupo controle com $12,23 \pm 0,41^{\circ}\text{C}$ 28 horas após a sobrecarga por carboidratos. Com relação à temperatura corporal, os animais do grupo controle apresentaram temperatura corporal média de $37,27 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$, e permaneceu na normalidade durante as 48 horas do período experimental. Já os animais positivos e negativos a laminites, ambos submetidos a sobrecarga, houve uma rápida elevação na temperatura corporal entre 8 e 20 horas após a sobrecarga por carboidratos.

Os eqüinos com dor devido a uma obstrução ou deslocamento apresentam, freqüentemente, uma elevação ligeira na temperatura devido ao esforço físico. Esta elevação, geralmente, não ultrapassa os $38,6^{\circ}\text{C}$, mas pode estar mais elevada nos casos de desidratação que dificulta a perda de calor. Nos casos de endotoxemia ou quando há envolvimento de agente infeccioso, a temperatura encontra-se acima de 39°C (WHITE, 1990).

Ainda em relação ao estudo de Pollitt & Davies (1998), a freqüência cardíaca dos animais do grupo controle permaneceu normal durante as 48 horas do período experimental, diferentemente dos animais positivos a laminite, os quais todos tiveram aumento na freqüência cardíaca enquanto que somente quatro dos animais negativos para laminite tiveram aumento. O eqüino normalmente apresenta freqüência cardíaca inferior a 40 batimentos por minuto (bpm) de acordo com Radostits (2002), mas é alterada em casos de dor, variações no volume vascular e na resposta cardiovascular à endotoxemia. Segundo Mair et al. (2003) independentemente da dor, a desidratação e o choque hipovolêmico tendem a aumentar a freqüência cardíaca, e animais com freqüência acima de 80 bpm apresentam severo comprometimento cardiovascular.

Segundo Pollitt & Davies (1998) não houve alterações clínicas em qualquer um dos animais positivos e negativos a laminite de 8 a 16 horas após a sobrecarga por carboidratos. O primeiro sinal clínico de alteração observado foi na motilidade intestinal, na freqüência e no volume dos sons ileocecais. Às 8 horas, a maioria dos animais teve sons fortes e muito freqüentes, porém entre 16 e 24 horas os sons ileocecais desapareceram e na maioria dos cavalos os sons permaneceram ausentes até por volta de 40 horas. Todos os animais submetidos à sobrecarga por carboidratos tiveram ausência de sons intestinais durante algum estágio das 48 horas do período experimental. Além de uma diminuição no apetite e na ingestão de água, todos os animais submetidos à sobrecarga também tiveram depressão, aumento no tempo de preenchimento capilar (TPC) e diarreia. O pulso digital pronunciado foi detectado na maioria dos animais entre 24 e 32 horas, desaparecendo usualmente após este tempo.

De modo geral, eqüinos desidratados apresentam mucosas secas embora o TPC e a coloração sejam normais. Já animais com alteração na função cardiovascular apresentam mucosas pálidas e ressecadas, com o TPC retardado (> 2 segundos). Os eqüinos com quadros de endotoxemia freqüentemente apresentam mucosas de coloração vermelho brilhante com TPC normal ou retardado de acordo com Radostits (2002), resultado de uma hipotensão vascular sistêmica (MEYERS, 1982) e à medida que a enfermidade se agrava, a mucosa desenvolve uma tonalidade azulada apresentando a chamada linha tóxica.

A avaliação dos parâmetros sanguíneos e bioquímicos em eqüinos com alterações gastrointestinais é uma ferramenta que complementa a avaliação clínica na identificação de casos de desidratação, septicemia, infecções e podem sugerir um diagnóstico e o prognóstico.

Segundo Radostits (2002) em casos de desidratação, a avaliação do volume globular e a concentração de proteína plasmática total são fundamentais, juntamente com a avaliação das mucosas oral e ocular e do grau de elasticidade da pele, para confirmação do quadro clínico.

A avaliação do leucograma (leucometria global, análise diferencial e morfologia leucocitária) fornece dados laboratoriais extremamente úteis, quando considerados em conjunto com a história clínica e achados físicos. Segundo Mair et al. (2003) a leucopenia com valores menores que $6 \times 10^9/l$, em especial devido à neutropenia é uma característica de enfermidades hiperagudas/agudas, como por exemplo, a isquemia intestinal, peritonite e salmonelose. Em casos de endotoxemia observa-se leucopenia com desvio à esquerda (RADOSTITS, 2002), podendo o número de leucócitos reduzir para 2 a $3 \times 10^9/L$, com neutropenia bem pronunciada. No caso de processos inflamatórios agudos pode-se observar um quadro de leucocitose. A leucocitose reativa, em geral, se caracteriza por neutrofilia com desvio à esquerda nos casos agudos e monocitose nos casos crônicos.

A tensão e dor da cólica grave aguda em cavalos freqüentemente resultam em hiperglicemia com elevações da glicemia superiores a 250 mg/dL e, estão associadas a prognóstico sombrio, em tais casos. Em casos iniciais de endotoxemia, os valores de glicose sanguínea resultam em hiperglicemia transitória que pode ser seguida por uma marcante hipoglicemia (SMITH, 1993).

2.4 Processo Inflamatório no Trato Gastrointestinal de Eqüinos

Os eqüinos que são submetidos a uma sobrecarga por carboidratos, desenvolvem, com freqüência, um processo inflamatório na mucosa cecal e também do cólon. Um dos principais mecanismos de destruição tecidual é o estresse oxidativo com excessiva liberação de ROMs (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989; McCORD, 2000). Os ROMs são o mesmo que espécies de oxigênio reduzidas, podendo ter um papel importante na mediação de injúrias celulares associadas com doença gastrintestinal. Embora todas as células possuam enzimas antioxidantes e varredores para proteger contra esses metabólitos, a taxa de produção de ROMs pode exceder a capacidade das defesas antioxidantes, resultando assim em substancial dano tecidual. O intestino delgado e grosso possuem capacidade de produzir grande quantidade de ROMs e oxidantes clorados. As oxidases encontradas em células fagocíticas residentes, endotélio microvascular, mucosa epitelial parece ser a principal fonte de ROMs nos intestinos (GRISHAM & GRANGER, 1988).

Muitas reações biológicas envolvem a oxidação de substratos em que o elétron aceptor é a molécula de oxigênio (O_2). Esses tipos de reações são catalisados por um grupo de metaloproteinases chamadas oxidases. Aproximadamente 90% de todo o O_2 consumido por células de mamíferos é cataliticamente reduzido por quatro elétrons para formar duas moléculas de H_2O por citocromo oxidase. O oxigênio também pode ser reduzido por menos que quatro elétrons por certas oxidases para formar particularmente espécies de O_2 reduzido também chamados radicais de oxigênio ou ROMs (GRISHAM & McCORD, 1986).

Segundo Grisham & Granger (1988), a redução univalente do O_2 produz o radical ânion superóxido (O_2^-). Se conhece várias enzimas que produzem O_2^- diretamente ou indiretamente como um produto de reações. Estas incluem xantina oxidase (XO), aldeído oxidase (AO), e NADPH oxidase. Os leucócitos fagocíticos, neutrófilos, eosinófilos e macrófagos contêm a NADPH oxidase que permite a produção de grande quantidade de O_2^- , considerando que certos tecidos tais como a mucosa gastrintestinal contém grande quantidade de outras oxidases (GRISHAM & GRANGER, 1988). De acordo com Klebanoff (1992), a toxicidade celular de O_2^- é usualmente atribuída ao seu papel como precursor de mais espécies de oxigênio reativo, dentre eles H_2O_2 e OH^- . Devido à formação de O_2^- ser sempre acompanhada pela produção de H_2O_2 , há sempre uma possibilidade para formação de OH^- catalisada por metal. Muitas investigações têm atribuído a toxicidade combinada de O_2^- e H_2O_2 para a formação de OH^- .

Numerosos estudos *in vitro* e *in vivo* têm mostrado convincentemente que ROMs são capazes de causar, diretamente, danos reversíveis e irreversíveis para qualquer biomolécula oxidável. Conseqüentemente, eles estão sendo implicados em danos teciduais e celulares de praticamente todas as doenças (VLESSIS et al., 1995; ROBBERECHT, 2000).

Células inflamatórias, particularmente granulócitos fagocíticos, representam um papel importante na patofisiologia de mucosas em casos de colites (GRANGER & RUTILI, 1988; WEISS, 1989; VERSPAGET et al., 1991; WARDLE et al., 1993). Grandes números dessas células são observados em exames histopatológicos de humanos e animais em casos de colites (CORDES et al., 1986; ROONEY et al., 1966).

A ativação de leucócitos PMN por estímulos endógenos (fragmentos complementares, citocinas, etc) ou por microrganismos patogênicos é seguida pela ativação de NADPH oxidase. A atividade desta enzima de membrana lidera o aumento do consumo de oxigênio (uma explosão respiratória) e é responsável pela produção de O_2^- , o radical livre precursor de uma série de formas ativadas de oxigênio. A estimulação de PMN também leva a degranulação, onde os conteúdos dos grânulos são liberados no meio extracelular. Estes produtos incluem a enzima MPO, liberada dos grânulos primários (CLARK, 1983).

A MPO possui dois tipos de atividades enzimáticas: uma atividade de peroxidase usando H_2O_2 e atividade de cloração usando Cl^- . Por estas atividades, a MPO catalisa a produção de ácido hipoclorito (HOCl) um potente oxidante. HOCl e outras espécies ativadas de oxigênio contribuem para destruição bacteriana dentro do fagolisossoma (KLEBANOFF & HAMON, 1972; CLARK, 1983), mas também pode levar a danos celulares e teciduais quando estas substâncias são liberadas no meio extracelular seguido da ativação massiva de PMN, como pode ser visto durante certos processos patológicos caracterizados por uma reação inflamatória aguda (WEISS, 1989; FUJISHIMA & AIKAWA, 1995).

Segundo Teather & Cuthbert (1997), produtos de ativação celular, em particular ROMs, estimulam direta ou indiretamente respostas secretórias em tecidos e células intestinais. Então, esses produtos podem aumentar o sinal inflamatório ou ter efeito em outras células designadas no intestino, como em enterócitos e células de músculo liso.

O quadro histológico de colite aguda em muitas espécies é marcado pela presença de células inflamatórias, particularmente neutrófilos e eosinófilos em colites associada a condições alérgicas ou associada a helmintos de acordo com (LABO et al., 1983).

Eosinófilos são comumente observados na mucosa e submucosa intestinal de eqüinos sob condições normal e inflamatória (MESCHTER et al., 1986). Pode ser que produtos liberados após a ativação de eosinófilos, em particular, substâncias quimiotáxicas para neutrófilos, como ROMs e leucotrienos, sejam responsáveis pela infiltração neutrofílica observada em pôneis tratados com óleo de rícino (ROBERTS et al., 1989; JOHNSON et al., 1993).

De acordo com McConnico et al. (1999), alterações histopatológicas são mais severas em pôneis apresentando grande número de células inflamatórias infiltradas na mucosa e submucosa, principalmente eosinófilos, nas primeiras 24 horas em um modelo de colite aguda induzida por óleo de rícino. Tal estudo demonstra uma correlação positiva entre a atividade da MPO e a infiltração de granulócitos na mucosa e submucosa do intestino. A atividade da MPO é maior em tecido inflamado comparado a um tecido normal. Isto está de acordo com estudos de colite induzida por ácido acético em ratos em que há um aumento na atividade da MPO nas primeiras 12 horas, embora o granulócito predominante no tecido fosse o neutrófilo (KIM & BERSTAD, 1992).

Segundo Grisham et al. (1990), a MPO foi mensurada como um índice quantitativo de infiltração de granulócitos nos tecidos, predominantemente eosinófilos, sendo também reportado por (McCONNICO et al., 1999), que observaram maior atividade da MPO em tecido do intestino grosso de pôneis com colite aguda induzida por óleo de rícino comparado com animais do grupo controle.

McConnico et al. (2002), em experimento com óleo de rícino induziu colite aguda em eqüino e observou que houve o aumento gradual da atividade da MPO até 12 horas após a administração intracecal de óleo de rícino com a diminuição dos valores até 24 horas após. Este período de aumento da atividade intestinal da MPO correspondeu com a apresentação de sinais clínicos adversos, incluindo hemoconcentração, diarreia aquosa profusa e outros sinais compatíveis com endotoxemia intestinal, sendo consistente com o padrão clínico reportado por ROBERTS et al. (1989).

A determinação da atividade da MPO têm sido usada extensivamente em outras espécies, além de eqüinos, para indicar ou sugerir o envolvimento de fagócitos em respostas secretórias de tecidos inflamados, liberação de ROMs e de eicosanóides (BERSCHNEIDER & POWELL, 1992; PERDUE & MCKAY, 1994).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e Manejo Alimentar

O experimento foi conduzido no Projeto Sanidade Animal EMBRAPA/UFRRJ, no período de outubro a dezembro de 2006. Foram utilizados oito eqüinos mestiços adultos, com peso vivo variando de 335 a 393 kg, castrados e idade variando de 17 a 27 anos.

No período pré-experimental, os eqüinos foram submetidos à imunização contra raiva, vermifugação, pulverização contra ectoparasitos. Os animais foram mantidos à pasto, recebendo uma dieta composta por ração concentrada comercial em quantidade equivalente a 0,5% do peso vivo e, feno de capim *Coastcross*, em quantidade equivalente a 1% do peso vivo, fornecida duas vezes ao dia, às 07:00 e 17:00 horas, acrescidas de sal mineral e água *ad libitum*, por um período de 60 dias, para recuperação do escore corporal dos eqüinos.

Durante o período experimental, os eqüinos foram mantidos exclusivamente em baias de 3m x 3m de alvenaria, com cochos separados para ração e água. A média das temperaturas mínima e máxima nos dias experimentais foi de 21,6 e 31,2°C. Os animais foram alimentados durante 15 dias com dieta experimental composta por feno de capim *Coastcross* e ração concentrada comercial, na proporção de 60:40, equivalente a 2,5% do peso vivo, baseado na matéria seca, segundo recomendações do *National Research Council* (1989). A dieta foi dividida em quatro refeições diárias, intercaladas com o alimento volumoso e a ração concentrada, às 6:00, 11:00, 16:00 e 21:00 horas.

A composição bromatológica do feno de capim *Coastcross* e da ração concentrada comercial com os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), estrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), energia bruta (EB) e carboidratos hidrolisáveis (CHO_H) está citada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição bromatológica, expressa na base da matéria seca, do feno de capim *Coastcross* e ração comercial.

Alimento	MS (%)	MO (%)	PB (%)	EE (%)	FDN (%)	FDA (%)	LIG (%)	EB Mcal/Kg	CHO _H (%)
Feno de <i>Coastcross</i>	88,4	93,8	11,9	1,26	67,21	31,44	2,43	3,49	1,96
Ração Comercial	88,7	82,8	11,1	3,73	44,77	18,44	1,57	3,45	37,34

3.2 Tratamentos e Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e oito eqüinos, sendo o animal a unidade experimental. Os tratamentos foram: Tratamento I (n = 2), animais alimentados com dieta controle composta por ração concentrada e feno de *Coastcross* e eutanásia sem sobrecarga com amido; Tratamento II (n = 3), animais alimentados com dieta controle submetidos à sobrecarga dietética com amido e eutanásia após 24 horas; Tratamento III (n = 3) animais alimentados com dieta controle submetidos à sobrecarga dietética com amido e eutanásia após 36 horas.

3.3 Sobrecarga Dietética com Amido

A sobrecarga dietética com amido foi realizada nos animais em jejum de 12 horas, dos tratamentos II e III, utilizando amido de milho¹ na proporção de 17,6 g amido/kg de peso corporal diluído em água e, administrado através de sonda nasogástrica conforme metodologia descrita por Garner et al. (1975), Garner et al. (1977), Krueger et al. (1986) e Weiss et al. (1994). A diluição do amido de milho foi na proporção de 757g de amido por litro de água. A indução ocorreu durante uma hora, em três etapas, com a administração de 1/3 do amido de milho diluído em água em cada etapa. A sonda nasogástrica foi previamente lubrificada e a infusão gástrica do amido realizada por gravidade, de forma lenta, para evitar estresse ao animal. A infusão do amido, via sonda nasogástrica, está ilustrada na Figura 1.

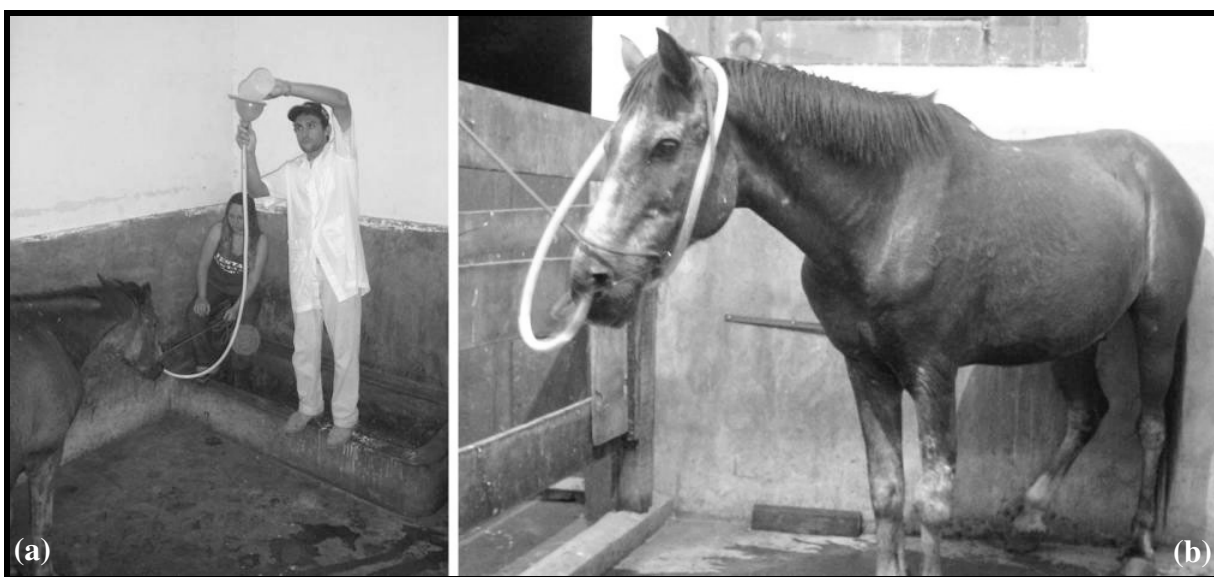


Figura 1. Sobrecarga por carboidratos utilizando amido administrado através de sonda nasogástrica (a) e animal com a sonda ao final da indução (b).

3.4 Avaliação Clínica e Coleta de Amostras de Sangue e Fezes

Durante o período experimental, os animais dos tratamentos II e II foram acompanhados por avaliações clínicas, hematológicas e bioquímicas antes da indução e 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 e 36 horas após a sobrecarga dietética com amido, até a eutanásia. O acompanhamento clínico dos animais foi realizado através da auscultação da frequência cardíaca, da frequência respiratória e da motilidade intestinal, aferição da temperatura retal, do tempo de preenchimento capilar, avaliação do aspecto das mucosas oral e ocular, pulso da artéria digital superficial, aspecto das fezes, comportamento do animal, apetite (ausente ou presente) e estado de hidratação. O quadro de hidratação foi avaliado através da elasticidade da prega cutânea, aspectos das mucosas oral e ocular e acompanhamento hematológico. A aferição da temperatura dos cascos foi feita utilizando termômetro a laser² (Figura 2).

¹ Maizena - Duryea®

² MiniTemp MT4 Raytek



Figura 2. Aferição da temperatura superficial do casco utilizando termômetro a laser.

As amostras de sangue para hematologia foram coletadas, da veia jugular, nos momentos de avaliação clínica mencionados anteriormente, em tubos *vacutainer* com anticoagulante (EDTA) e refrigeradas à 4 a 8°C. Para avaliação da bioquímica sanguínea, as amostras de sangue foram coletadas em tubos *vacutainer* contendo fluoreto de sódio, centrifugadas a 1500 rpm por 5 minutos. O plasma foi retirado usando pipeta automática de 1 mL, armazenado em *Eppendorfs* de 1,5 mL devidamente identificados e armazenados à -20°C. Para quantificação de endotoxinas, amostras com cerca de 9 mL de sangue foram coletadas da veia jugular, em tubos *vacutainer* sem anticoagulante, centrifugadas a 1500 rpm por 15 minutos, e o soro acondicionado em *Eppendorfs*, identificados e armazenados à -20°C.

Durantes as avaliações clínicas, amostras de fezes foram coletadas da ampola retal de cada animal, em sacos plásticos, para avaliação imediata do pH e da capacidade tampão. Para análise do teor de matéria seca nas fezes, as amostras fecais foram armazenadas a -20 °C.

3.5 Eutanásia e Necropsia

O procedimento de eutanásia dos animais foi realizado com sedação prévia com acepromazina 1% (Aceprom[®]), na dose de 0,2 mg/kg de peso vivo, seguida de administração intravenosa rápida de tiopental sódico, na dose de 8,2 mg/kg de peso vivo, até anestesia geral profunda e, por fim, administração intravenosa de solução de cloreto de potássio a 30% até a parada cardíaco-respiratória, metodologia adaptada da descrita por Oliveira et al. (2002). As eutanásias ocorreram após 24 ou 36 horas da sobrecarga dietética com amido, dos animais dos tratamentos II e III, respectivamente. Imediatamente após a eutanásia, os segmentos intestinais foram separados e amostras do conteúdo de cada segmento foram coletadas em sacos plásticos para determinação imediata do pH e da capacidade tampão. As amostras do conteúdo intestinal foram armazenadas a -20 °C, para estimativa do teor de água.

Em cada segmento do trato gastrointestinal foram coletados dois fragmentos, sendo um imediatamente armazenado em solução de formol 20%, tamponado com carbonato de cálcio, para avaliação histopatológica e o outro, previamente lavado em água corrente para retirar o excesso de conteúdo, armazenado em solução de formol 10% tamponado, para

avaliação imuno-histoquímica. As coletas dos fragmentos do trato gastrointestinal e da digesta podem ser observadas na Figura 3.



Figura 3. Coleta de fragmento do trato gastrointestinal (a) e do conteúdo intestinal (b).

3.6 Análises Laboratoriais

As análises sanguíneas, da digesta e das fezes foram procedidas no Laboratório de Pesquisas em Saúde Equina do Instituto de Veterinária da UFRRJ. A confecção das lâminas para avaliação histopatológica foi realizada no Laboratório de Coccídios e Coccidioses e os exames histopatológicos foram realizados no Laboratório de Patologia no Projeto Sanidade Animal - EMBRAPA/UFRRJ. As análises imuno-histoquímicas nas amostras da mucosa do trato gastrointestinal foram realizadas no Laboratório de Patologia da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

3.6.1 Análises Sanguíneas

Nas amostras de sangue foram procedidas as análises do volume globular (VG) pelo método de microhematócrito, proteína plasmática total (PPT) e fibrinogênio (FIB) através de refratometria, hemoglobina (Hb) por espectrofotometria, hematimetria (He) e leucometria global através da contagem em câmara de Neubauer, e leucometria específica através da avaliação de esfregaço sanguíneo em microscopia óptica, segundo Coles (1984).

A análise da concentração plasmática de lactato³ e de glicose⁴ foi feita através do método enzimático colorimétrico, utilizando kits comerciais. A análise da concentração plasmática de endotoxinas foi procedida usando o sistema *Limulus Amebocyte Lysate* cromogênico quantitativo (LAL) segundo a metodologia descrita por Meyers et al. (1982), utilizando o kit comercial⁵ e dosagem através de espectrofotometria⁶.

³ KATAL®.

⁴ BIOCLIN®

⁵ QCL-1000®, Cambrex.

⁶ Biotek Reader

3.6.2 Avaliação do pH, da Capacidade Tampão e do Teor de Matéria Seca da Digesta e das Fezes.

Após a coleta fecal, em cada tempo de observação, foi feita a avaliação imediata do pH utilizando-se o medidor de pH⁷. Em seguida, 50g de fezes foram misturados com água destilada na relação 1:1 peso/volume, enquanto as amostras da digesta de cada segmento intestinal foram filtradas para determinação da capacidade tampão segundo metodologia descrita por Zeyner et al. (2004).

A capacidade tampão das fezes e da digesta foi determinada por titulação com ácido acético 0,25 M de 80 mL de fezes misturadas a água e 100 mL do filtrado da digesta, respectivamente. A capacidade tampão I (CT₁) refere-se ao volume gasto de ácido acético do pH observado na amostra para o pH = 5 e, a capacidade tampão II (CT₂) refere-se ao volume gasto de ácido acético do pH observado para o pH = 6. O volume de ácido acético utilizado para determinar a capacidade tampão das fezes e da digesta foi expresso em mmol/L de fezes misturadas à água ou mmol/L de conteúdo de digesta.

Na determinação do teor da matéria seca nas amostras de digesta e fezes utilizou-se metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002) e posterior estimativa do teor de água nas amostras.

3.6.3 Avaliação Histopatológica do Trato Gastrointestinal

Os fragmentos do trato gastrointestinal foram clivados, submetidos a uma bateria para emblocamento em parafina (Anexo B) e, em seguida foram feitos cortes transversais de 5 µ de espessura em micrótomo manual⁸ e corados pela hematoxilina e eosina (H – E) para avaliação histológica, segundo metodologia descrita por Behmer et al. (1976). A infiltração de granulócitos e células mononucleares foram avaliadas subjetivamente, conforme a intensidade, como descrito a seguir: +++ Lesão acentuada, ++(+) moderada a acentuada, ++ moderada, +(+) leve a moderada, + leve, (+) discreta, - ausente e NE = Não examinado.

3.6.4 Avaliação Imuno-histoquímica do Trato Gastrointestinal

As secções de tecido do trato gastrointestinal foram desparafinizadas, re-hidratadas e tratadas com solução de peróxido de hidrogênio a 6% por 30 minutos (para inibição da peroxidase endógena), antes da recuperação antigênica induzida pelo calor em banho-maria à 96°C por 30 minutos, em solução de recuperação (Target Retrieval Solution 10X concentrated - (DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA). Após a recuperação antigênica, as secções foram incubadas em solução de leite e albumina bovina, à 37°C por 30 minutos, para inibição de ligações inespecíficas, seguido por tratamento com anticorpo policlonal de coelho anti-Mieloperoxidase humana, em diluição de 1:500 por 30 minutos (anticorpo primário). As secções foram lavadas com salina tritamponada (TBS), antes do tratamento com Envision + System, HRP anti-coelho, code nº K4003 (DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA) por 30 minutos à temperatura ambiente (anticorpo secundário). Depois de nova lavagem com tampão TBS, as secções foram tratadas com solução de Diaminobenzidine (DAB) (DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA) para a marcação castanha das células (etapa de revelação). Todas as secções foram contra-coradas com hematoxilina. Secções histológicas de medula óssea humana foram usadas como controles positivos para a técnica de imuno-histoquímica e para controles negativos, o anticorpo primário foi omitido.

⁷ Tecnopon, PA 2000.

⁸ Leitz® - Modelo 15-12.

A imunorreatividade foi classificada em graus de 0 a 4 de acordo com o número de granulócitos marcados. Foi feita contagem de células marcadas em cinco campos aleatórios em aumento de 200x para a classificação: 0 – ausência de células marcadas; 1 – de 1 a 10 células marcadas por campo; 2 – de 11 a 50 células marcadas por campo; 3 - de 51 a 100 células marcadas por campo; 4 – >100 células marcadas por campo, através de adaptação do sistema Sidney (DIXON et al., 1996).

3.7 Análises Estatísticas

Os valores referentes aos parâmetros clínicos e hematológicos, concentração de lactato e glicose, pH e capacidade tampão do conteúdo intestinal, teor de água das fezes e da digesta nos segmentos do trato gastrointestinal foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste t de Student, adotando o nível de 5% de probabilidade. Os valores referentes ao pH e capacidade tampão das fezes em função do tempo após a sobrecarga dietética com amido foram submetidos à análise de regressão adotando um nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram procedidas utilizando o programa Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG 8.0 (UFV, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Alterações Clínicas e Hematológicas

Os parâmetros clínicos avaliados variaram entre os equinos experimentais, porém, na maioria dos animais avaliados, mesmo que de forma menos intensa, houve sintomas já descritos anteriormente em estudos utilizando modelo semelhante de sobrecarga dietética com amido (GARNER et al., 1978; MOORE et al., 1979; POLLITT & DAVIES, 1998) ou dietas com níveis elevados de carboidratos hidrolisáveis (GOODSON et al., 1988; MOORE-COLYER et al., 2000; DE FOMBELLE et al., 2001; JULLIAND et al., 2001; BAILEY et al., 2002; LOPES et al., 2004).

Em seis animais submetidos à sobrecarga, cinco manifestaram apetite, mesmo que reduzido, durante o período de observação, enquanto o animal 06 não apresentou apetite, quatro horas após a sobrecarga permanecendo inapetente até 32 horas, momento em que veio a óbito.

Todos os animais submetidos à sobrecarga dietética com amido apresentaram-se apáticos quatro horas após a sobrecarga permanecendo com este comportamento até o fim do período de avaliação. Da mesma forma, o consumo de água esteve reduzido e até mesmo ausente, na maioria dos animais, com apenas o animal 04 e 07 consumindo água, em média 11 litros, durante o período experimental.

Em relação ao pulso da artéria digital superficial, somente o equino 08 apresentou alteração 20 horas após a sobrecarga dietética com amido, com pulso digital nos membros posteriores levemente aumentado, em todos os membros, 36 horas após a sobrecarga. Este animal apresentou claudicação evidente no membro posterior esquerdo quando movimentado ao trote e foi classificada de grau I segundo Obel (1948).

Dos seis equinos avaliados, os animais 03, 06, 07 e 08 apresentaram redução na elasticidade da prega cutânea, os animais 04 e 08 apresentaram mucosa oral com aspecto pálido e o animal 06 mucosa congesta em média, 24 horas após a sobrecarga, enquanto os animais 03, 05 e 07 apresentaram mucosas rosadas durante todo período de avaliação.

A motilidade intestinal e o tempo de preenchimento capilar nos equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido estão apresentados na Figura 4.

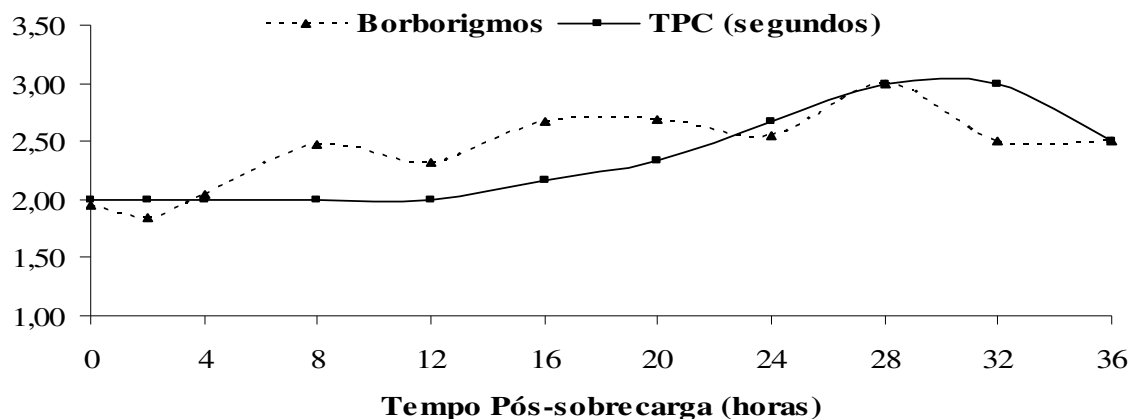


Figura 4. Motilidade intestinal e o tempo de preenchimento capilar (segundos) em equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Em relação à motilidade intestinal, todos os animais submetidos à sobrecarga apresentaram alterações, sendo uns com aumento e outros com redução nos sons intestinais. Os valores de motilidade intestinal observados nos animais submetidos a sobrecarga durante 36 horas de avaliação variaram de 1,9 a 3,0 em intensidade, às duas e às 28 horas após a sobrecarga.

O tempo de preenchimento capilar permaneceu constante até 16 horas após a sobrecarga, com valores médios de 2 segundos, seguido de aumento até 28 horas e posterior redução às 36 horas pós-sobrecarga, com valores de 3 e 2 segundos, respectivamente.

Em um estudo realizado por Pollitt & Davies (1998) utilizando eqüinos submetidos à sobrecarga com amido de farinha de trigo via sonda nasogástrica, na proporção de 17,5 g de amido/kg de peso corporal, observaram várias alterações clínicas como redução do apetite e do consumo de água, depressão, prolongamento do tempo de preenchimento capilar, amolecimento das fezes seguido de quadros de diarreia e alterações na motilidade intestinal, sendo este último o primeiro sinal clínico observado. Observaram também cólica intermitente, com intensidade de moderada a média, e alguns animais com laminite.

No presente estudo, cinco dos seis animais submetidos à sobrecarga, não desenvolveram sintomatologia de cólica, mas por outro lado, a maioria dos animais apresentou flatulência cerca de 20 horas após a sobrecarga que, associada à presença de motilidade intestinal aumentada, não houve acúmulo de gases e dilatação do intestino grosso não propiciando a sintomatologia de dor abdominal.

Lopes et al. (2004) avaliando eqüinos alimentados com dieta exclusiva de feno com alteração abrupta para uma dieta composta de feno e concentrado não observaram alterações clínicas como cólica, diarreia, desidratação, endotoxemia ou laminite. No presente estudo, o quadro clínico de desidratação, amolecimento das fezes e diarreia apresentado pelos eqüinos submetidos à sobrecarga, se justifica pela quantidade de carboidratos hidrolisáveis ingeridos na forma de amido de milho, através da sobrecarga, ser de 1,58% do peso vivo, 2,40 vezes mais a quantidade consumida na dieta utilizada na literatura citada, de 0,66% do peso vivo/dia.

Os eqüinos não submetidos à sobrecarga dietética com amido, no presente estudo, mas que consumiram dieta com níveis elevados de carboidratos hidrolisáveis na proporção volumoso:concentrado de 60:40 não apresentaram alterações clínicas, hematológicas, bioquímicas e nas características das fezes e do conteúdo da digesta no trato gastrointestinal. Isto pode ser explicado pelo período de adaptação prévio à dieta e, também pelo fracionamento no fornecimento da dieta em quatro refeições diárias. Segundo Vervuert & Coenen (2003), eqüinos idosos devem ser alimentados em pequenas quantidades e intervalos relativamente frequentes, três ou quatro vezes por dia, para minimizar alterações metabólicas pós-prandial, maximizar a digestão e absorção e evitar a ocorrência de distúrbios digestivos.

Os valores médios da frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura corporal e tempo de preenchimento capilar nos eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido estão apresentados na Tabela 2.

Não houve diferença ($P>0,05$) entre os valores de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal durante o período de avaliação. As pequenas variações observadas nas variáveis estão dentro dos parâmetros clínicos normais para espécie eqüina.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão da frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal e tempo de preenchimento capilar de equínos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Parâmetros clínicos	Tempo Pós-sobrecarga (horas)					Valores Normais*
	0 (n = 6)	12 (n = 6)	24 (n = 6)	36 (n = 2)	CV (%)	
Frequência cardíaca (bpm)	36,0±2,5	40,0±3,6	40,8±7,8	38,0±8,5	3,52	26 a 50
Frequência respiratória (mpm)	18,0±2,2	20,0±3,6	22,0±7,5	14,0±2,8	22,73	8 a 15
Temperatura retal (°C)	37,5±0,2	37,5±0,4	37,7±0,5	37,3±0,9	1,21	37,5 a 38,5
Tempo de preenchimento Capilar (segundos)	2,0±0,0	2,0±0,0	2,67±0,5	2,5±0,7	15,06	

Médias, nas linhas, seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste t de Student (P<0,05).

* (Smith, 1993).

Em um estudo conduzido com o mesmo modelo de sobrecarga por carboidratos Garner et al. (1975) observaram aumento (P<0,05) na frequência cardíaca, de 41 bpm, antes da sobrecarga para 58 e 73 bpm e, na temperatura retal, de 37,7°C antes da sobrecarga para 39,2 e 39,8°C, às 24 e 40 horas após a sobrecarga, respectivamente. Estes valores estão acima dos observados no presente estudo, provavelmente porque os equínos utilizados naquele estudo não estavam adaptados à dieta com altos teores de carboidratos hidrolisáveis como os utilizados nesse estudo e, também pelo fato de o período de avaliação se restringir a 36 horas após a sobrecarga, não sendo objetivo do presente estudo induzir o quadro clínico de laminite.

Segundo Pollitt & Davies (1998), os equínos com laminite após a sobrecarga por carboidratos apresentaram aumento gradual da frequência cardíaca, de 31,4 para 94,0 bpm, enquanto nos animais submetidos à sobrecarga e sem a laminite, a frequência cardíaca aumentou em menor intensidade, com valores médios de 55,5 bpm. Também observaram aumento significativo (P<0,05) na temperatura central dos equínos com laminite, oito e 36 horas após a sobrecarga, com valores médios de 38,1 e 40,17°C, respectivamente, quando comparado aos animais controle, com valores médios de 37,27°C, durante todo período experimental.

Os valores médios da temperatura dos cascos de equínos submetidos à sobrecarga dietética com amido estão apresentados abaixo na Tabela 3.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão da temperatura superficial dos cascos dos equínos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Temperatura superficial dos cascos (°C)	Tempo Pós-sobrecarga (horas)				CV (%)
	0 (n = 5)	12 (n = 5)	24 (n = 5)	36 (n = 2)	
Anterior Direito	31,7±0,3	31,4±1,8	30,1±2,7	30,8±1,9	5,11
Anterior Esquerdo	31,8±0,9	32,0±1,8	30,5±1,9	30,0±2,5	5,47
Posterior Direito	31,6±0,7	31,6±2,2	30,0±2,3	29,9±2,9	5,81
Posterior Esquerdo	31,9±0,5	32,2±1,8	30,2±2,4	30,8±3,7	6,10

Em todos os animais submetidos à sobrecarga não houve diferença ($P>0,05$) na temperatura dos cascos, com valores médios variando de 30,0 a 32,2°C. No entanto, o animal que desenvolveu claudicação grau I, 36 horas após a sobrecarga apresentou temperatura superficial do casco posterior esquerdo acima dos valores médios, de 33,4°C, no membro que claudicava ao trote.

Pollitt & Davies (1998) observaram que nos eqüinos antes da indução da sobrecarga com carboidratos, as temperaturas dos cascos estavam próximas da temperatura ambiente, de 13,63°C, mas aumentaram em todos os cascos de 4 a 15 horas após a sobrecarga. Durante as primeiras 24 horas, as temperaturas médias dos cascos dos animais com laminite aumentaram gradualmente, de 13,6 para 24,9°C, enquanto nos animais sem a laminite a temperatura superficial média dos cascos foi de 16,4°C, diferindo ($P<0,05$) dos animais sem sobrecarga, 12,2°C, 28 horas após a sobrecarga. A temperatura ambiente na qual foi realizado o estudo foi muito baixa, em torno de 10°C. Estes valores estão bem abaixo dos observados no presente estudo, de 30,0 a 32,2°C com a média da temperatura ambiente variando de 21,6 a 31,2°C.

As variáveis hematológicas da série vermelha como volume globular, proteína plasmática total, fibrinogênio, hemoglobina, volume globular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, hematimetria e da série branca como leucometria global, eosinófilos, bastonetes, neutrófilos, linfócitos e monócitos também foram avaliados e os valores médios estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão do volume globular (VG), hematimetria (He), hemoglobina (Hb), volume globular médio (VGM), concentração de hemoglobina corpuscular médio (CHCM), proteína plasmática total (PPT) e fibrinogênio (FIB) em eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Série Vermelha	Tempo Pós-sobrecarga (horas)				CV (%)	Valores normais*
	0 (n= 6)	12 (n= 6)	24 (n= 6)	36 (n= 2)		
VG (%)	26,7±2,2 ^b	27,3±1,6 ^b	32,7±4,6 ^a	32,0±5,6 ^a	3,21	32 a 53
He (x10 ⁶ /L)	4,9±0,5	5,1±0,7	5,27±0,5	5,4±8,8	6,70	6,8 a 12,9
Hb (g/dL)	8,9±0,6	8,6±0,8	9,9±1,4	9,3±0,1	10,58	11 a 19
VGM (fl)	54,8±4,7	54,8±5,8	62,6±11,8	60,1±1,1	11,17	37 a 58,5
CHGM (g/dL)	33,7±2,1	31,6±3,6	30,8±5,4	29,9±12,9	9,72	31 a 38,6
PPT (g/dL)	7,1±0,7 ^d	7,5±1,1 ^c	8,1±1,3 ^b	8,7±0,1 ^a	5,27	5,2 a 7,9
FIB (g/dL)	433,3±225,1	433,3±196,6	500,0±244,9	700,0±141,4	7,92	200 a 400

Médias, nas linhas, seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste t de Student ($P<0,05$).

*(Smith, 1993).

Em relação à série vermelha, houve aumento significativo ($P<0,05$) nos valores referentes ao volume globular e proteína plasmática total, 24 horas após a sobrecarga, enquanto as demais variáveis não apresentaram diferença ($P>0,05$). O volume globular antes da sobrecarga foi de 26,7% seguido de aumento até 24 horas após a sobrecarga, e permaneceu constante até o fim da avaliação, com valores médios de 32,7 e 32,0%, respectivamente. Resposta semelhante também foi observada com os valores de proteína plasmática total, os quais apresentaram aumento desde os valores basais até 36 horas após a sobrecarga, com valores médios de 7,1 e 8,7 g/dL, respectivamente.

Mesmo não havendo diferença ($P>0,05$), os valores referentes ao fibrinogênio apresentaram-se constantes até 12 horas após a sobrecarga seguidos de aumento às 24 e 36 horas, com valores médios de 433,3, 500,0 e 700,0 g/dL, respectivamente. Não houve diferença entre os valores de fibrinogênio, provavelmente devido à grande variação entre os equínos.

Tabela 5. Valores médios e desvio padrão da leucometria global, eosinófilos, bastonetes, neutrófilos, linfócitos e monócitos de equínos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Série Branca	Tempo Pós-sobrecarga (horas)					Valores Normais*
	0 (n = 6)	12 (n = 6)	24 (n = 6)	36 (n = 2)	CV (%)	
Leucometria Global ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	9,6 \pm 1,5	8,9 \pm 4,9	13,7 \pm 3,6	9,8 \pm 0,0	35,24	5,4 a 14,3
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	4,9 \pm 1,1	4,7 \pm 2,7	7,4 \pm 2,9	4,8 \pm 0,0	43,23	2,3 a 8,6
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3,8 \pm 0,9	3,3 \pm 2,1	4,8 \pm 1,4	3,9 \pm 1,7	39,70	1,5 a 7,7
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,4 \pm 0,1	0,2 \pm 0,2	0,3 \pm 0,1	0,1 \pm 0,8	36,17	0 a 1
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,2	0,5 \pm 0,3	0,4 \pm 2,5	41,01	0 a 1
Bastonetes ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,1 \pm 0,1 ^b	0,2 \pm 0,2 ^b	0,7 \pm 0,7 ^a	0,5 \pm 0,2 ^a	31,94	0 a 1

Médias, nas linhas, seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste t de Student ($P<0,05$).

* (Smith, 1993).

Em relação aos valores referentes à série branca, apenas os bastonetes apresentaram diferença ($P<0,05$) durante o período de avaliação, com valores variando de 0,1 a $0,7 \times 10^3/\mu\text{L}$ antes da sobrecarga e 24 horas após, seguidos por uma pequena redução ao final do período experimental, com valor médio de $0,5 \times 10^3/\mu\text{L}$, respectivamente. As demais variáveis apresentaram variações durante o período experimental, porém dentro dos valores normais para espécie equina.

Garner et al. (1975) utilizou a sobrecarga dietética com amido para reproduzir experimentalmente o quadro clínico de laminite e observaram aumento significativo ($P<0,05$) no volume globular, proteína plasmática total e leucócitos global 24 horas após a sobrecarga, cujos valores médios foram 36,3%, 8,3 g/dL e $17,5 \times 10^3/\mu\text{L}$, respectivamente, quando comparado aos valores basais, de 32,7%, 7,4 g/dL e $11,93 \times 10^3/\mu\text{L}$, respectivamente. Em relação ao volume globular e proteína plasmática total, os valores encontrados no presente estudo apresentaram o mesmo comportamento observado naquele estudo, enquanto que os valores observados para leucometria global, não houve alteração até 36 horas após a sobrecarga.

O aumento observado nos valores médios do volume globular e proteína plasmática total ao longo de 36 horas de avaliação representa um quadro de hemoconcentração, característico do processo de desidratação. Este quadro pode ser explicado pelo aumento da produção de ácido lático no intestino grosso, o qual promove um aumento na pressão osmótica do lúmen resultando em fluxo osmótico de água do sangue para o lúmen intestinal (DUKES, 1996). Por outro lado, Guntheroth & Felsenfeld (1971) relataram possível efeito indireto de endotoxinas em cães ser responsável pelo quadro de desidratação. Segundo estes autores, a hemoconcentração observada nesses animais foi resultado principalmente da contração esplênica associado com aumento da atividade do sistema nervoso simpático. Esta hipótese, portanto, não estaria em acordo com o ocorrido nos equínos do presente estudo, pois não apresentaram quadro característico de endotoxemia até 36 horas após a sobrecarga dietética com amido.

Hurley et al. (2006) avaliaram leucócitos circulantes em eqüinos submetidos à administração do extrato de *Juglans nigra*, via oral, como modelo experimental de laminite aguda e observaram redução no número de leucócitos durante três a quatro horas após a indução, no entanto, somente nos eqüinos que desenvolveram laminite a redução no número de leucócitos foi significativa. Neste mesmo estudo, os leucócitos em eqüinos que desenvolveram laminite tiveram aproximadamente 60% mais capacidade de produzir ROMs quando comparado com eqüinos que foram tratados e não desenvolveram laminite e, este aumento na produção de ROMs foi correlacionado com o desenvolvimento de leucopenia, sugerindo que a resposta inflamatória sistêmica a administração de extrato de *J. nigran* precede o desenvolvimento dos sintomas na patogênese da laminite.

Não houve alteração significativa ($P>0,05$) nos valores médios de leucócitos circulantes no presente estudo, nem mesmo no eqüino que desenvolveu claudicação grau I, 36 horas após a sobrecarga. Isso pode ser justificado pelo fato da maioria dos eqüinos não desenvolverem quadro de laminite até 36 horas, ou até mesmo devido ao modelo experimental de laminite ser diferente do modelo baseado na sobrecarga dietética com amido (GARNER et al., 1975; SPROUSE et al. 1987; POLLITT & DAVIES, 1998), no qual a ocorrência de laminite variou de 32 a 48 horas após a sobrecarga.

Os valores médios da concentração plasmática de lactato e glicose durante o período experimental foram avaliados nos eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e estão apresentados na Tabela 6 e Figura 5.

Tabela 6. Valores médios e desvio padrão da concentração plasmática de lactato e glicose de eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Tempo Pós-sobrecarga (horas)	n	Lactato (mmol/L)	Glicose (mg/dL)
0	6	0,70±0,15 ^d	78,33±10,62 ^d
2	6	0,76±0,12 ^{cd}	126,33±38,25 ^a
4	6	0,85±0,14 ^{cd}	118,67±45,35 ^{ab}
8	6	0,97±0,26 ^{bc}	92,50±14,21 ^{cd}
12	6	0,68±0,14 ^d	87,33±12,86 ^{cd}
16	6	0,93±0,17 ^{bc}	80,58±12,52 ^{cd}
20	6	1,04±0,25 ^b	86,58±9,95 ^{cd}
24	6	0,90±0,31 ^{bcd}	89,58±7,00 ^{cd}
28	3	1,22±0,30 ^a	101,67±9,07 ^{bc}
32	2	0,88±0,29 ^{bcd}	85,00±16,97 ^{cd}
36	2	0,96±0,35 ^{bc}	84,00±8,49 ^{cd}
CV (%)		23,45	21,46

Médias, nas colunas, seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste t de Student ($P<0,05$).

A concentração plasmática de lactato apresentou uma tendência de aumento desde zero até 36 horas após a sobrecarga correspondendo ao período experimental, com valores médios variando de 0,68 e 1,22 mmol/L, respectivamente. Até oito horas após a sobrecarga, a concentração plasmática de lactato apresentou um leve aumento, diferindo dos níveis basais ($P<0,05$). Houve diferença ($P<0,05$) na concentração plasmática de lactato antes da sobrecarga, 20 e 28 horas após, com valores médios de 0,7, 1,04 e 1,22 mmol/L, respectivamente.

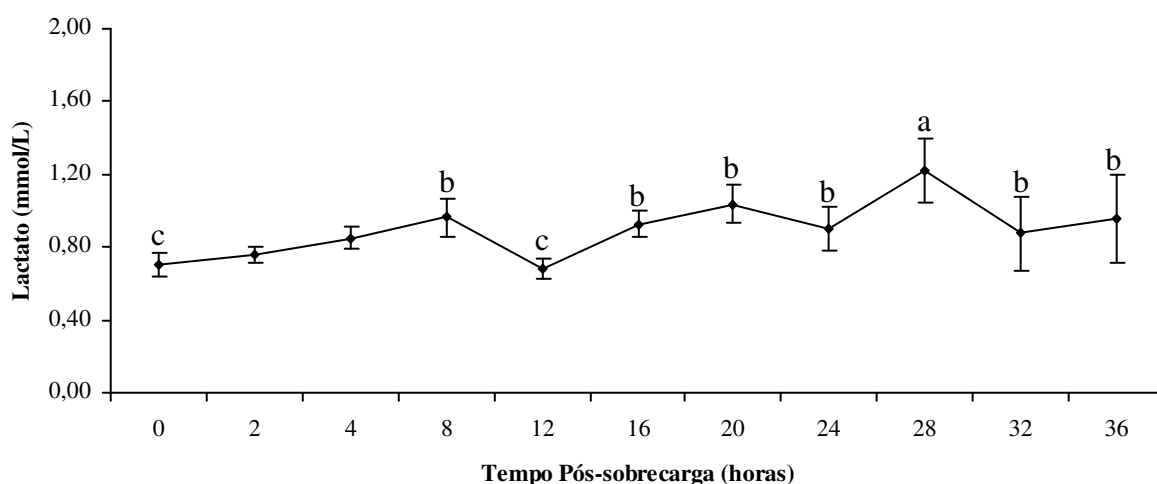


Figura 5. Valores médios da concentração plasmática de lactato em eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

O aumento na concentração plasmática de lactato observado no presente estudo, pode ser explicado pelo excesso de carboidratos hidrolisáveis disponibilizados para fermentação microbiana no ceco-cólon resultando em produção excessiva de AGVs e ácido láctico conforme descrito por Rowe et al. (1995). Os valores de pH do cólon abaixo de 6,0, juntamente com aumento da concentração plasmática de lactato, justificam o processo fermentativo alterado no intestino grosso dos eqüinos submetidos a sobrecarga dietética com amido. Por outro lado, a concentração plasmática de lactato variou apenas de 0,68 a 1,22 mmol/L, e pode ser justificado pelo fato dos eqüinos utilizados neste estudo estarem adaptados a dieta rica em carboidratos hidrolisáveis na proporção de 60:40 em relação a volumoso:concentrado e, desta forma já existirem bactérias capazes de metabolizar o ácido láctico em AGVs, impedindo seu acúmulo (DUKES, 1996). O leve aumento na concentração plasmática de lactato também pode ser justificado pelo quadro de desidratação representado pela fluidificação da digesta do intestino grosso e pela hemoconcentração observada pelo aumento do volume globular e proteína plasmática total, resultando em concentração do lactato na corrente sanguínea devido à perda de líquidos.

A concentração plasmática de glicose em eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados até 36 horas após a sobrecarga está apresentada na Figura 6.

Houve um aumento súbito na concentração plasmática de glicose duas horas após a sobrecarga por carboidratos seguida de redução até oito horas e permanecendo constante até o término do período experimental, com valores médios de 126,33, 92,50 e 84,00 mg/dL, respectivamente. A diferença ($P < 0,05$) observada na concentração plasmática de glicose antes da sobrecarga e duas horas após o início do período experimental, com valores médios de 78,33 e 126,33 mg/dL, respectivamente, provavelmente é resultado da digestão do amido no intestino delgado.

Não houve hiperglicemia com valores superiores a 250 mg/dL, como ocorre em casos de dor aguda, nem hiperglicemia transitória seguida por uma marcante hipoglicemia observado em casos de endotoxemia (SMITH, 1993). Desta forma, a concentração plasmática de glicose nos eqüinos do presente estudo teve um comportamento pós-prandial normal.

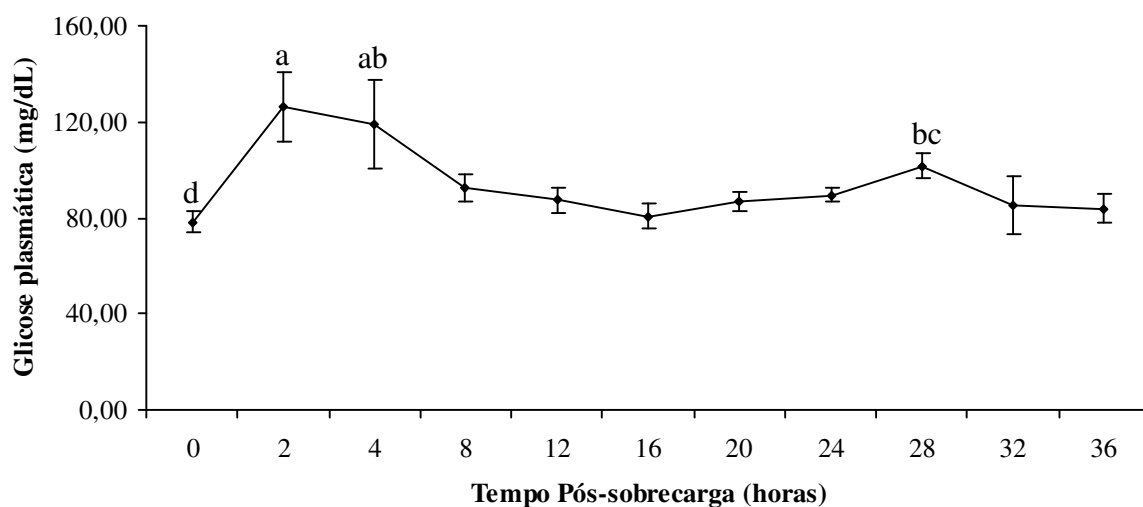


Figura 6. Valores médios da concentração plasmática de glicose em equínos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Para quantificação de endotoxina no sangue, foram utilizadas as amostras de soro referentes aos tempos zero, 12, 24 e 36 horas após a sobrecarga dietética com amido. Em todas as amostras testadas a concentração plasmática de endotoxina não ultrapassou 0,1000 EU/mL (limiar de sensibilidade do ensaio), podendo até mesmo estar ausente no soro. Níveis plasmáticos de endotoxina inferiores a 0,1000 EU/mL, juntamente com a baixa concentração plasmática de lactato, níveis plasmático de glicose normais e nenhum sinal clínico de endotoxemia demonstra que, até 36 horas pós-sobrecarga não houve lesão suficiente na mucosa do trato gastrointestinal para que os animais desenvolvessem quadros graves de endotoxemia e acidose metabólica.

Sob condições normais, o trato intestinal dos equínos contém grandes quantidades de bactérias gram-negativas das quais são liberadas endotoxinas devido à rápida multiplicação ou morte bacteriana (MOORE, 2001). Segundo Mackay (1992) baseado em estimativas, o ceco e cólons ventrais de equínos saudáveis contêm mais de 2 g de endotoxina livre. Estas endotoxinas são limitadas ao lúmen intestinal por uma eficiente barreira exercida pela mucosa intestinal e, quando atravessam esta barreira são ligadas a proteínas plasmáticas específicas, neutralizadas por anticorpos circulantes ou destruídas por células Kupffer no fígado (MOORE, 1981; MACKAY, 1992). A presença de altos títulos de endotoxina no plasma e fluido peritoneal é um indicativo de que houve lesão na parede intestinal o suficiente para permitir a absorção de endotoxinas (KING & GERRING, 1988).

Em estudo realizado por Mollett et al. (1985), observaram que níveis plasmáticos de endotoxinas abaixo de 0,01 ng/mL, limiar de sensibilidade do ensaio usado no estudo, foram capazes de produzir sinais clínicos como febre e leucopenia em éguas tratadas com infusão intrauterina de *Escherichia coli*. O quadro clínico apresentado pelo equino 06, vindo ao óbito 32 horas após a sobrecarga dietética com amido pode ser justificado pela literatura citada. A quantificação de endotoxina foi realizada neste animal somente até 24 horas após a sobrecarga não apresentando níveis acima de 0,1000 EU/mL.

As principais alterações clínicas, hematológicas e bioquímicas apresentadas pelo animal 06 iniciaram em média 24 horas após a sobrecarga seguida de agravamento do quadro clínico até o óbito, sendo a elevação da frequência cardíaca de 100 a 108 bpm, febre, com temperatura retal de 38,9 a 39,6 °C, aumento do tempo de preenchimento capilar, de 4 a 7 segundos, congestão da mucosa ocular e oral com formação de halo toxêmico, motilidade intestinal diminuída ou até mesmo ausente, desidratação acentuada caracterizada por diarreia

intensa, hemoconcentração com volume globular variando de 38 a 51%, proteína plasmática total variando de 9,2 a 10 g/dL e concentração plasmática de lactato elevada, 4,25 a 4,30 mmol/L.

4.2 Alterações Físico-químicas no Trato Gastrointestinal

Vários experimentos foram realizados utilizando a metodologia de sobrecarga dietética com amido com o objetivo de desenvolver um modelo experimental para laminite equina visando o melhor entendimento dos fatores envolvidos na sua patofisiologia (GARNER et al., 1975; GARNER et al., 1978; MOORE et al., 1979; KRUEGER et al., 1986; SPROUSE, 1987; POLLITT & DAVIES, 1998).

No entanto, as alterações do conteúdo da digesta no TGI e das fezes, não têm sido estudadas e é fundamental para o entendimento dos distúrbios sistêmicos apresentados nos equinos submetidos a este modelo de sobrecarga dietética. Nos estudos que avaliam as alterações do conteúdo da digesta, a maioria restringe as avaliações à apenas um segmento do TGI, em equinos fistulados consumindo dietas com níveis elevados de carboidratos hidrolisáveis (GOODSON et al., 1988; MOORE-COLYER et al., 2000; DE FOMBELLE et al., 2001; JULLIAND et al., 2001; BAIYLEY et al., 2002; LOPES et al., 2004).

O aspecto das fezes é importante na avaliação clínica em equinos com distúrbios digestivos, pois representa indiretamente as condições do TGI. No presente trabalho, todos os equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido apresentaram alterações no aspecto das fezes, porém de forma diferente. Os equinos 04 e 05 apresentaram fezes ressecadas oito horas após a sobrecarga e escurecidas 12 horas após, mantendo este aspecto até 36 horas. Nos demais animais as fezes estiveram amolecidas, com aspecto pastoso e odor ácido, em média 24 horas após a sobrecarga por amido, permanecendo este aspecto até o final do período experimental. Tal fato também foi observado por Harkema et al. (1978) em equinos submetidos à sobrecarga dietética com carboidratos hidrolisáveis. Neste estudo, os equinos apresentaram-se clinicamente normais nas primeiras 16 a 24 horas após a sobrecarga, porém apresentaram fezes pastosas, de cor verde esbranquiçada e aumento nos sons intestinais durante o restante do período de avaliação.

Os valores médios do teor de água das fezes de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido estão apresentados na Figura 7.

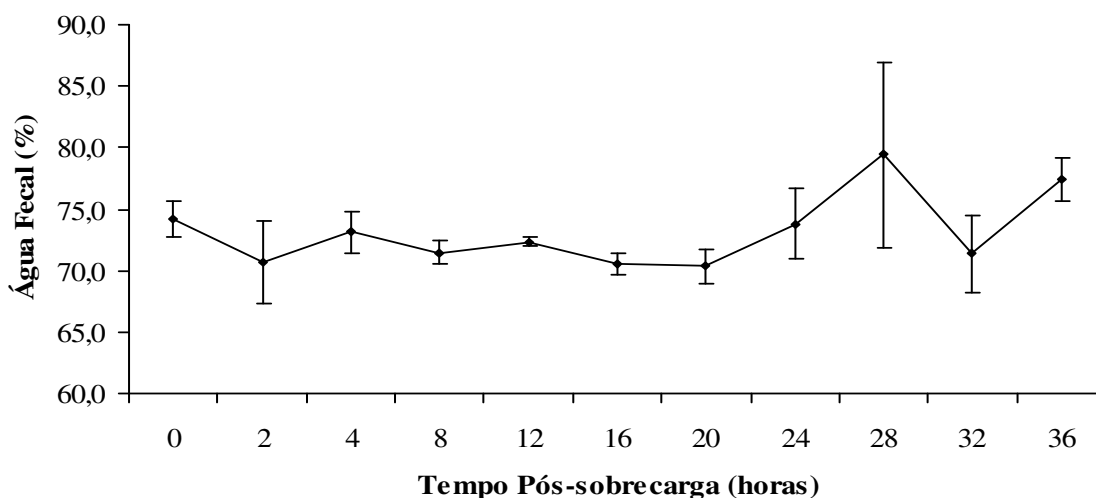


Figura 7. Valores médios do teor de água das fezes de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Não houve diferença ($P>0,05$) no teor de água fecal dos eqüinos durante o período de observação com valores médios variando de 70,32 a 79,45%. Até 20 horas após a sobrecarga, o teor de água fecal permaneceu constante, com valores médios de 71,82%, seguido de aumento até 28 horas, com valor médio de 79,45%.

Os valores médios dos teores de água no conteúdo da digesta dos segmentos do trato gastrointestinal de eqüinos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga estão ilustrados na Figura 8.

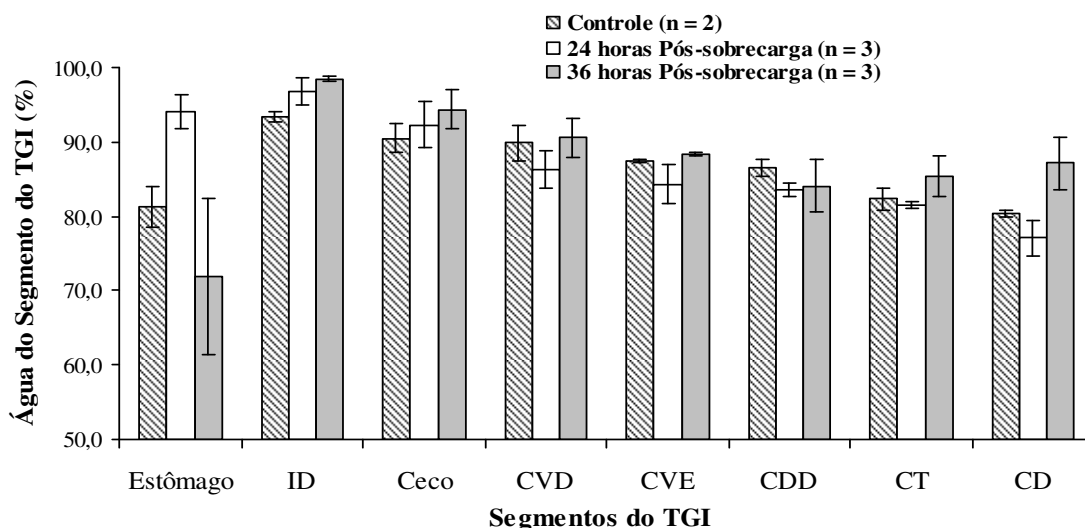


Figura 8. Valores médios do teor de água no conteúdo da digesta nos segmentos do trato gastrointestinal de eqüinos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga.

Não houve diferença ($P>0,05$) no teor de água do conteúdo da digesta no TGI dos animais controles e avaliados 24 e 36 horas após a sobrecarga. O conteúdo da digesta do intestino delgado, em ambos os grupos, foi a região do TGI que apresentou maiores teores de água comparado aos demais segmentos com valores médios de 93,37, 96,82 e 98,48%, para os animais do grupo controle e avaliados 24 e 36 horas pós-sobrecarga, respectivamente. Em todos os segmentos do TGI, com exceção do estômago, o teor de água da digesta apresentou ligeiro aumento nos animais avaliados 36 horas pós-sobrecarga, comparados com os animais do grupo controle e os eutanasiados 24 horas pós-sobrecarga. Isto pode ser explicado pelo fato de quatro animais apresentarem fezes amolecidas, com aspecto pastoso em média 24 horas após a sobrecarga dietética com amido, sendo que três animais permaneceram com fezes amolecidas até o final do período experimental.

LOPES et al. (2004) avaliando eqüinos fistulados no cólon dorsal direito e submetidos a diferentes regimes de alimentação composto de dieta exclusiva de feno com mudança abrupta para uma dieta composta de feno e concentrado, não observaram alteração significativa no teor de água das fezes entre as dietas experimentais, porém o teor de água no conteúdo do cólon dorsal direito foi significativamente menor quando os eqüinos foram alimentados com dietas contendo concentrado comparado a dieta exclusiva de feno.

Os valores médios do pH e da capacidade tampão das fezes de eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido estão apresentados na Tabela 7.

Observa-se redução nos valores de pH ao longo de 36 horas após a sobrecarga por carboidratos ($r^2= 0,855$) com valores variando de 6,09 a 4,46. Até 16 horas após a sobrecarga com amido, os valores de pH das fezes variaram de 6,14 a 5,92, sendo considerado como limiar para acidose sub-clínica em eqüinos, o pH cecal abaixo de 6,0, de acordo com Radicke et al. (1991). Cerca de 20 horas pós-sobrecarga, houve uma redução mais acentuada nos

valores de pH até 36 horas pós-sobrecarga, com valores médios de 5,63 e 4,84, respectivamente.

Tabela 7. Valores médios e desvio padrão do pH e capacidade tampão (CT₁ e CT₂) das fezes de eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Tempo Pós-sobrecarga (horas)	n	pH Fecal ¹	pH Fecal Pós-filtrado	CT ₁ ² (mmol/L)	CT ₂ ³ (mmol/L)
0	6	6,09±0,31 ^{ab}	6,16±0,25	16,46±5,04	3,05±1,73
2	6	6,14±0,32 ^a	6,23±0,31	15,31±5,86	4,48±2,52
4	6	6,04±0,34 ^{ab}	6,11±0,36	15,60±6,92	3,16±2,27
8	6	5,89±0,17 ^b	5,97±0,19	13,59±5,02	0,83±0,41
12	6	5,91±0,26 ^b	5,85±0,48	11,82±3,96	0,83±0,23
16	6	5,92±0,25 ^b	5,91±0,19	11,22±2,09	1,02±0,33
20	6	5,63±0,23 ^c	5,68±0,24	7,86±1,77	**
24	6	5,23±0,56 ^d	5,17±0,42	8,49±3,17	**
28	3	4,97±0,53 ^e	4,88±0,71	8,52±2,73	**
32	2	4,46±0,49 ^f	4,50±0,53	*	**
36	2	4,84±0,72 ^e	4,81±0,59	*	**
CV (%)		4,23			

¹ $\hat{Y} = 6,278 - 0,044X$; $r^2 = 0,855$; ² $\hat{Y} = 16,16 - 0,32X$; $r^2 = 0,919$; ³ $\hat{Y} = 3,67 - 0,206X$; $r^2 = 0,588$

Médias, nas colunas, seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste t de Student (P<0,05).

*pH abaixo de 5,0; **pH abaixo de 6,0.

A regressão linear do pH das fezes de eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido em função do tempo está apresentada na Figura 9.

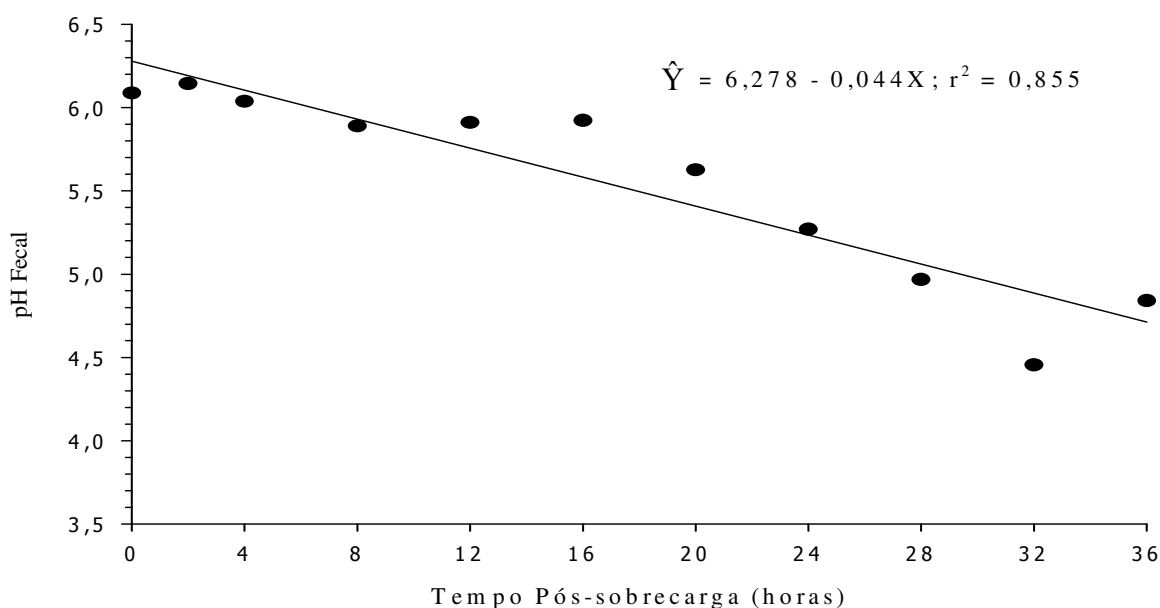


Figura 9. Regressão linear entre os valores médios do pH das fezes de eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido em função do tempo.

Considerando o modelo de regressão linear proposto $\hat{Y} = 6,278 - 0,044X$, a cada quatro horas seguidas à sobrecarga dietética com amido houve uma redução nos valores de pH fecal de 0,18 e, ao final de 36 horas pós-sobrecarga a redução, nos valores de pH foi de 1,58.

Pollitt & Davies (1998) utilizando cavalos induzidos à sobrecarga por carboidratos, observaram que os valores médios do pH fecal de eqüinos com e sem laminite permaneceram próximos da neutralidade nas primeiras oito horas de avaliação, seguido de acentuada redução até às 16 horas após a primeira sobrecarga por carboidratos, com valores médio de 5,35 e 5,51, respectivamente. Estes valores foram significativamente abaixo ($P < 0,05$) do valor médio do pH fecal nos eqüinos do grupo controle, de 7,4. Os valores médios do pH fecal dos eqüinos com laminite não diferiram dos eqüinos sem laminite durante o período de avaliação.

Em estudo realizado por Zeyner et al. (2004), avaliando o efeito do consumo de feno e seqüências de alimentação sobre a atividade microbiana no intestino grosso observaram aumento ($P < 0,05$) no pH fecal à medida que o consumo de feno aumentou, com valores médios variando de 6,36 a 6,68 e, em relação à seqüência de alimentação, o fornecimento do feno posteriormente a aveia resultou em maiores valores médios de pH fecal ($P < 0,05$) comparado ao fornecimento de feno antes da aveia, de 6,62 e 6,43, respectivamente.

Os valores iniciais de pH observados no presente estudo estão abaixo dos observados por Pollitt & Davies (1998) e Zeyner et al. (2004), e isso se justifica pelos animais utilizados em no presente estudo já estarem consumindo uma dieta com níveis de concentrado acima dos níveis consumido pelos animais naqueles estudos. No entanto, observa-se uma semelhança nos valores de pH fecal observados por Pollitt & Davies (1998) e os valores observados no presente estudo, de 5,35 e 5,23, respectivamente, no tempo de 24 horas após a sobrecarga dietética com amido.

Segundo Zeyner et al. (2004), a capacidade tampão entre o pH observado e qualquer valor de pH ideal representa o potencial real do meio em reagir contra modificações influenciadas pela produção de ácidos. Baseado neste conceito, a capacidade tampão das fezes e do conteúdo da digesta no TGI dos eqüinos controle e submetidos a sobrecarga dietética com amido foi avaliada. Em relação aos eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido, houve redução na capacidade de tamponamento das fezes, representado por CT_2 (pH observado - 6,0), 16 horas após a sobrecarga, pois a partir deste momento, os eqüinos apresentaram valores de pH fecal abaixo de 6,0 ou menos, caracterizando a acidose subclínica (RADICKE et al., 1991).

As funções de regressão linear da capacidade tampão CT_2 e CT_1 das fezes de eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido em função do tempo estão apresentadas nas Figuras 10 e 11.

Observa-se redução ($r^2 = 0,930$) na capacidade de tamponamento das fezes, representado por CT_1 (pH observado - 5,0), de zero até 28 horas após a sobrecarga com amido com valores variando de 16,46 a 8,52 mmol/L. A redução da CT_1 acompanhou os valores do pH e, isso se justifica pela grande quantidade de carboidratos hidrolisáveis sendo fermentado no intestino grosso superando a capacidade dos eqüinos na secreção dos tampões. Até 28 horas após a sobrecarga, os eqüinos foram capazes de tamponar o pH até valores próximos de 5,0, não ocorrendo o mesmo após 28 horas, estando os animais sujeitos a lesões de mucosa (DUKES, 1996).

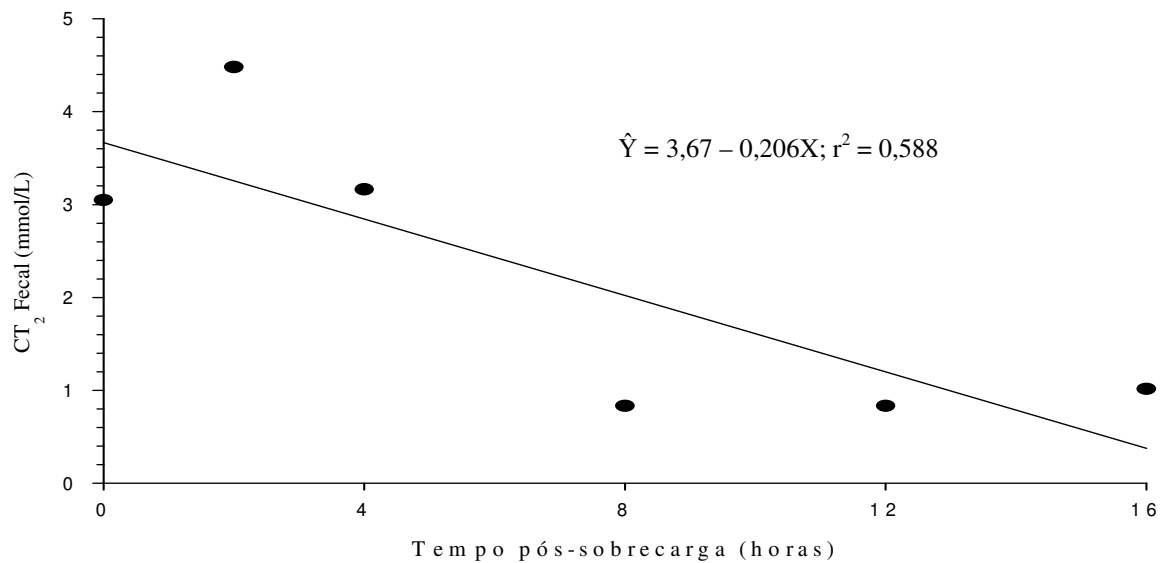


Figura 10. Regressão linear da capacidade tampão (CT₂) das fezes de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido em função do tempo.

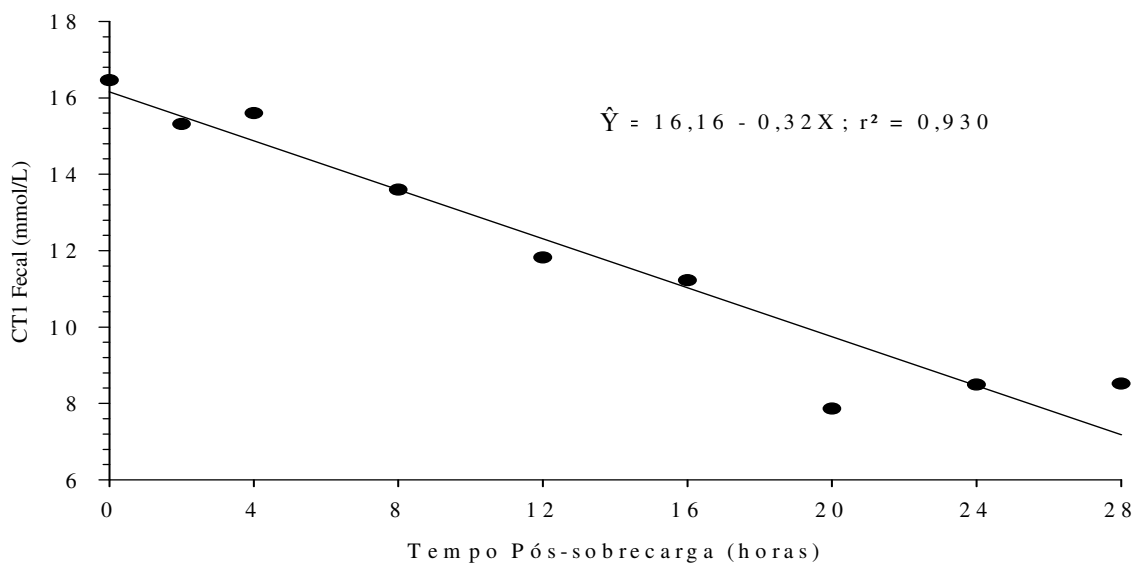


Figura 11. Regressão linear da capacidade tampão (CT₁) das fezes de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido em função do tempo.

Considerando o modelo de regressão linear proposto $\hat{Y} = 16,16 - 0,32X$, a cada quatro horas seguidas à sobrecarga com amido houve uma redução na CT₁ de 1,28 mmol/L e, ao final de 28 horas pós-sobrecarga a redução nos valores de CT₁ foi de 8,96 mmol/L.

As características do conteúdo da digesta nos segmentos do TGI, bem como as alterações macroscópicas na mucosa dos segmentos foram avaliadas durante os procedimentos de necropsia.

O conteúdo estomacal nos animais submetidos a sobrecarga e eutanasiados às 24 e 36 horas após a sobrecarga foi mais líquido, de cor verde esbranquiçada e odor ácido, enquanto os animais do grupo controle, não submetidos à sobrecarga com amido, apresentaram conteúdo com maior quantidade de material fibroso. Observou-se a presença de amido aderido à mucosa estomacal do equino 03 e 06, avaliados 24 e 36 horas após a sobrecarga

dietética com amido. O amido aderido a mucosa estomacal do equino 06 está ilustrado na Figura 12.



Figura 12. Presença de amido aderido à mucosa estomacal do equino 06 submetido à sobrecarga dietética com amido e avaliado após 32 horas, momento que veio ao óbito.

As características do conteúdo do intestino delgado foram semelhantes entre os animais submetidos à sobrecarga, os quais apresentaram conteúdo bastante líquido, de cor amarelo-esverdeado e com a presença de amido aderido à mucosa, principalmente no jejuno e íleo dos animais eutanasiados 24 horas após a sobrecarga, enquanto que nos animais do grupo controle, o conteúdo foi menos líquido e de cor mais esverdeado. O amido aderido à mucosa do jejuno e íleo do equino 03, eutanasiado 24 horas após a sobrecarga está ilustrado na Figura 13.

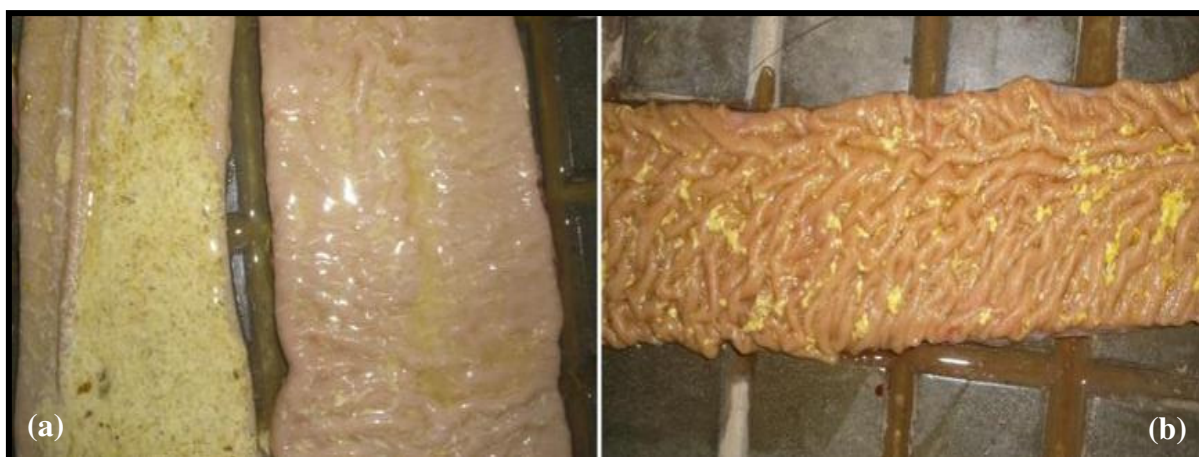


Figura 13. Presença de amido no jejuno (a) e íleo (b) do equino 03 submetido à sobrecarga dietética com amido e avaliado após 24 horas.

As principais alterações ocorreram no intestino grosso devido ao excesso de amido que ultrapassou a capacidade de digestão no intestino delgado sendo fermentado no intestino grosso. Nos animais submetidos à sobrecarga e avaliados após 24 e 36 horas, o conteúdo cecal tornou-se mais líquido de cor verde esbranquiçada e presença de bolhas de gás, enquanto que nos animais controle, não houve alterações nas características do conteúdo cecal, com cor verde oliva, semi-líquido e odor *sui generis*. Os conteúdos cecal dos equinos 05 e 08 estão apresentados na Figura 14.



Figura 14. Conteúdo cecal dos eqüinos 05 (a) e 08 (a) submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados após 24 e 36 horas.

A partir do ceco, as alterações nas características dos conteúdos foram bastante evidentes quando comparamos os animais controle com os submetidos à sobrecarga dietética com amido. Nos animais submetidos a sobrecarga com amido os conteúdos do cólon ventral direito e cólon ventral esquerdo apresentaram-se mais semi-líquido, cor verde esbranquiçada e aspecto leitoso, presença de bolhas de gás e odor ácido. Estas características foram mais acentuadas nos animais avaliados 36 horas após a sobrecarga. Nos animais controle, o conteúdo foi mais consistente, com bastante material fibroso, cor verde oliva e odor *sui generis*. O conteúdo do cólon dorsal direito, 24 horas após a sobrecarga foi mais pastoso, de cor levemente esverdeada com menos bolhas comparado ao cólon ventral direito, representado pelo eqüino 05, 24 horas após a sobrecarga (Figura 15).

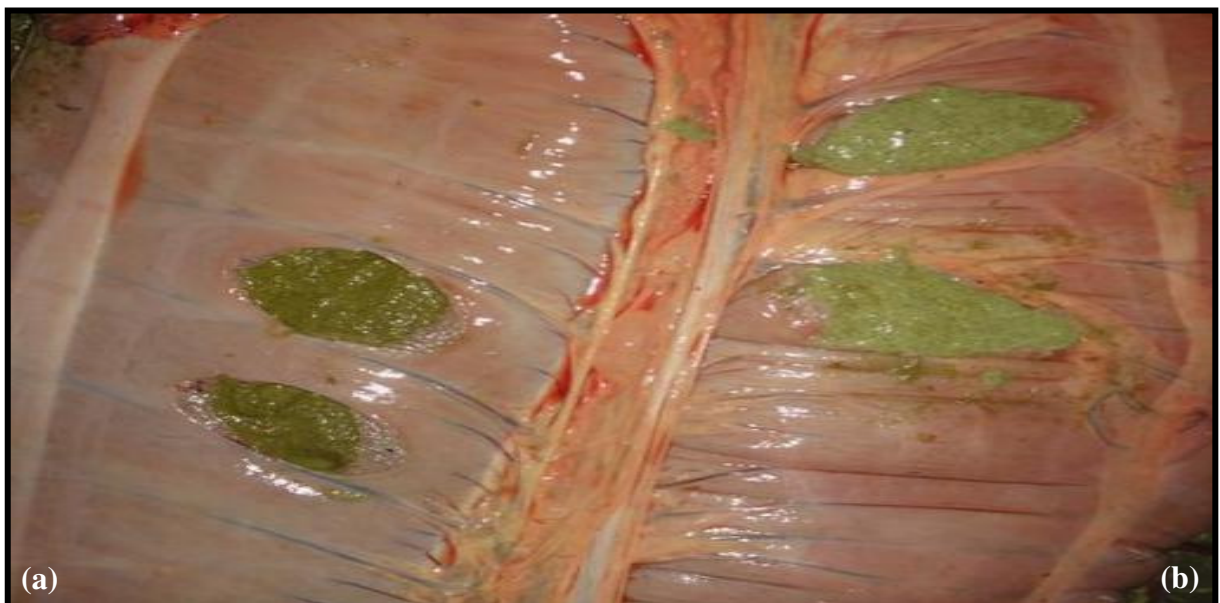


Figura 15. Conteúdo cor verde-oliva no cólon dorsal direito (a) e verde esbranquiçada no cólon ventral direito (b) do eqüino 05, 24 horas após sobrecarga dietética com amido.

Em relação ao cólon transverso e cólon descendente, observou-se uma diferença marcante no conteúdo dos animais submetidos a sobrecarga dietética com amido e os animais

do grupo controle. Nos animais submetidos à sobrecarga o conteúdo foi de pastoso a semi-líquido e coloração esverdeado, enquanto no grupo controle, houve presença bem característica de síbalas e coloração verde-oliva.

Os valores médios e desvio padrão do pH do conteúdo da digesta no TGI de equínos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas após a sobrecarga dietética com amido estão apresentados na Tabela 8 e ilustrados na Figura 16.

Tabela 8. Valores médios e desvio padrão do pH do conteúdo da digesta nos segmentos do trato gastrointestinal e nas fezes dos equínos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga.

Segmentos Intestinais	Tempo Pós-sobrecarga (horas)			CV (%)
	Controle (n = 2)	24 horas (n = 3)	36 horas (n = 3)	
Estômago	2,96±0,77 ^{Ad}	5,04±0,49 ^{Ade}	3,60±1,34 ^{Af}	29,56
Duodeno	6,04±0,26 ^{Bc}	6,63±0,25 ^{Aab}	5,38±0,30 ^{Ccde}	5,88
Jejuno	7,21±0,22 ^{Aa}	7,05±0,36 ^{Aa}	7,38±0,12 ^{Aa}	3,89
Íleo	7,52±0,03 ^{Aa}	6,89±0,71 ^{Aa}	7,06±0,53 ^{Aab}	5,01
Ceco	6,74±0,00 ^{Ab}	6,11±0,90 ^{Abc}	6,52±0,79 ^{Ab}	11,26
Cólon ventral direito	6,49±0,03 ^{Ab}	5,43±0,90 ^{Ac}	5,48±0,66 ^{Ac}	13,44
Cólon ventral esquerdo	6,49±0,08 ^{Ab}	5,37±0,87 ^{Ad}	5,27±0,8 ^{Ac}	15,19
Cólon dorsal direito	6,41±0,10 ^{Aa}	4,62±0,21 ^{Be}	4,49±0,21 ^{Be}	4,16
Cólon transverso	6,50±0,05 ^{Ab}	4,63±0,23 ^{Be}	4,71±0,21 ^{Bde}	3,84
Cólon descendente	6,57±0,03 ^{Ab}	4,56±0,17 ^{Be}	4,81±0,32 ^{Bcde}	4,21
Fezes	6,60±0,13 ^{Ab}	5,60±0,42 ^{Bcd}	4,84±0,72 ^{Ccde}	3,89
CV (%)	4,40	10,14	11,93	

Médias, nas linhas, seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem entre si pelo teste t de Student (P<0,05).

Médias, nas colunas, seguidas de letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste t de Student (P<0,05).

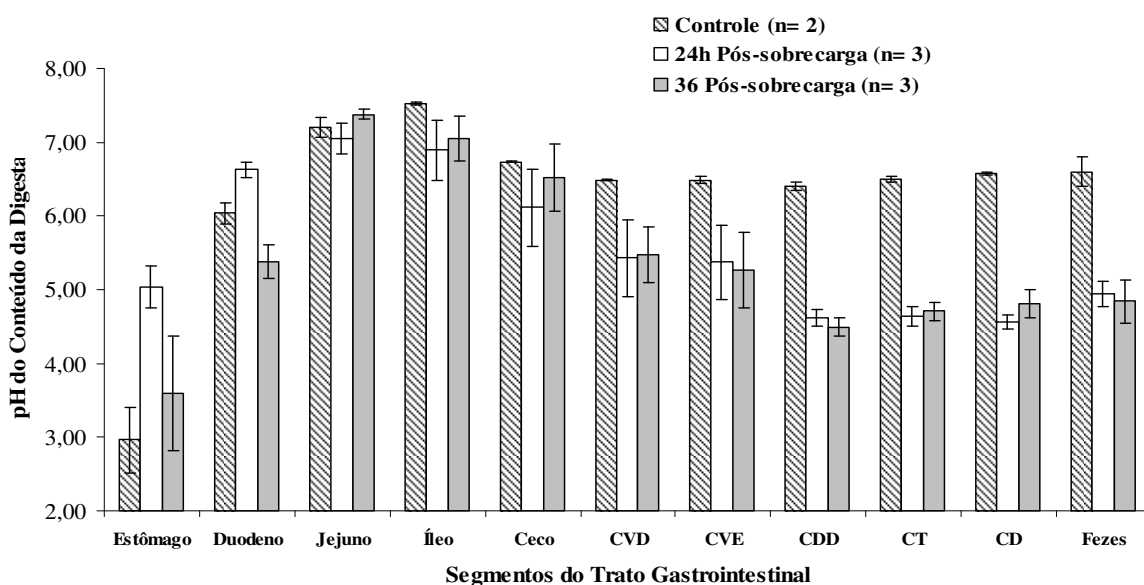


Figura 16. Valores médios do pH do conteúdo da digesta dos segmentos do trato gastrointestinal de equínos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga.

Em relação ao pH do conteúdo da digesta estomacal, não houve diferença ($P>0,05$) entre os animais submetidos à sobrecarga dietética com amido e eutanasiados 24 e 36 horas após a sobrecarga e os animais do grupo controle (tempo zero), com valores médios de 5,64, 3,60 e 2,96, respectivamente. Os valores médios do pH estomacal nos animais avaliados 24 horas pós-sobrecarga estão bem acima dos observados no grupo controle e nos animais avaliados 36 horas pós-sobrecarga e, pode ser justificado pelo refluxo de conteúdo proveniente do duodeno no momento da necropsia.

Dentre os segmentos do intestino delgado, o duodeno foi o único que apresentou diferença ($P<0,05$) nos valores de pH do conteúdo da digesta entre os animais submetidos à sobrecarga com amido e eutanasiados às 24 e 36 horas após a sobrecarga e os do grupo controle, com valores médios de 6,63, 5,38 e 6,04, respectivamente. No jejuno e íleo, não houve diferença ($P>0,05$) no pH dos conteúdos entre os animais e, foram os segmentos que apresentaram valores mais elevados de pH em todo o trato gastrointestinal, que decorre da produção de tampão HCO_3 pelo pâncreas e liberação para o duodeno juntamente com o tampão PO_4 originários da dieta, ambos contribuindo para melhor capacidade de tamponamento do conteúdo do intestino delgado (DUKES, 1996).

No intestino grosso, tanto o conteúdo da digesta do ceco como no cólon ventral direito e cólon ventral esquerdo não apresentaram diferença nos valores de pH entre os animais ($P>0,05$). No entanto, houve redução no pH dos conteúdos do cólon ventral direito e cólon ventral esquerdo nos animais submetidos a sobrecarga dietética com amido e avaliados às 24 e 36 horas após a sobrecarga, com valores médios de 5,43 e 5,48 para 5,37 e 5,27, respectivamente. Nos equinos do grupo controle, o pH do conteúdo da digesta permaneceu constante desde o ceco até o cólon descendente com valores de 6,74 e 6,57, respectivamente.

A partir do cólon ventral esquerdo, em todos os segmentos como o cólon dorsal direito, cólon transversal e cólon descendente houve uma redução no pH do conteúdo da digesta nos animais submetidos a sobrecarga dietética com amido, porém não houve diferença ($P>0,05$) entre os animais eutanasiados às 24 e 36 horas após a sobrecarga, com valores médios de 4,62, 4,63, 4,56 e 4,49, 4,71, 4,81, respectivamente, mas diferiram do pH observado nos animais do grupo controle, com valores médios de 6,41, 6,50 e 6,57, respectivamente ($P<0,05$).

Em relação às fezes, observou-se diferença nos valores de pH dos animais submetidos a sobrecarga e avaliados após 24 e 36 horas comparado com os animais do grupo controle com valores médios de 4,94, 4,84 e 6,60, respectivamente ($P<0,05$). Os valores de pH fecal nos animais submetidos a sobrecarga e avaliados após 36 horas e nos animais do grupo controle, com valores de 6,60 e 4,84, respectivamente, foram semelhantes aos valores de pH no cólon dorsal direito, cólon transversal e cólon descendente, apresentado anteriormente. Nos animais submetidos a sobrecarga e avaliados após 24 horas o pH fecal foi superior ao pH no cólon dorsal direito, cólon transversal e cólon descendente, com valores médios de 5,60, 4,62, 4,63 e 4,56, respectivamente.

Nos animais do grupo controle, os valores de pH nos segmentos do TGI estão de acordo com os valores observados por Mackie et al. (1988) avaliando equinos hípidos com valores médios de pH do duodeno, jejuno, íleo, ceco e cólon de 6,32, 7,10, 7,47, 6,70 e 6,67, respectivamente. Em relação aos animais submetidos a sobrecarga com amido, a redução nos valores de pH no intestino grosso foi mais acentuada devido à proliferação de bactérias produtoras de ácido láctico, as quais crescem em pH baixo, juntamente com a produção aumentada de AGVs derivados da fermentação bacteriana (MEDINA et al., 2002).

Os segmentos do intestino delgado e ceco dos equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados após 24 e 36 horas apresentaram maiores valores de pH. Isso pode ser justificado pela grande quantidade de tampões HCO_3 secretado pelo pâncreas no duodeno, e PO_4 , originário da dieta, contribuindo para a capacidade de tamponamento dos

conteúdos da digesta no duodeno, jejuno, íleo e no intestino grosso, principalmente ceco, o qual é beneficiado pelo fluxo de tampão HCO_3 proveniente do íleo (DUKES, 1996).

Os valores de pH observados no cólon ventral direito, cólon ventral esquerdo, cólon dorsal direito, cólon transverso e cólon descendente dos animais submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados 24 e 36 horas após a sobrecarga, indica que são os locais nos quais ocorreu maior processo fermentativo devido à sobrecarga e são os mais predispostos a lesões de mucosa. Segundo Dukes (1996), o pH de 5,0 ou menos começa a causar lesão à mucosa do cólon.

Em estudo realizado por Garner et al. (1978), com eqüinos fistulados no ceco e submetidos a sobrecarga com carboidratos hidrolisáveis, observaram redução significativa nos valores de pH do conteúdo cecal, 8 e 24 horas após a sobrecarga, de 5,72, 4,14, respectivamente, comparados ao grupo controle com pH 7,18. Estes valores discordantes dos valores de pH do conteúdo cecal observados no presente estudo, de 6,11 e 6,52, às 24 e 36 horas após a sobrecarga, respectivamente.

Tal fato pode ser devido aos animais utilizados no presente estudo estarem consumindo uma dieta com alta concentração de carboidratos hidrolisáveis na proporção de 60:40 em relação a volumoso/concentrado e, o ambiente cecal possuir uma quantidade maior de bactérias adaptadas ao ambiente mais ácido capazes de transformar o ácido lático produzido pela fermentação microbiana em AGVs, minimizando a redução no pH em situações de sobrecarga (DUKES, 1996). Outra explicação seria devida esses animais, por estarem consumindo uma dieta rica em carboidratos, os sistemas-tampão estão sendo produzidos em maior quantidade no pâncreas, íleo e intestino grosso, resultante do processo de adaptação.

Moore et al. (1979) utilizando o mesmo modelo experimental em dois eqüinos ceco-fistulados recebendo 17,6 g de amido/kg de peso corporal observaram redução nos valores de pH do conteúdo cecal, às três horas após a sobrecarga e permaneceu reduzindo até as 12 horas após, com valores de 5,40 e 6,76, 4,55 e 5,02, respectivamente, e valores de pH médio de 7,12 antes da sobrecarga.

Al Jassim (2006) avaliou o efeito do processamento do grão de sorgo no pH do conteúdo do TGI de eqüinos e observou que não houve diferença entre as dietas ($P>0,05$). Na região não glandular do estômago os valores médios de pH variaram de 4,0 a 4,3 para dietas composta de sorgo laminado e floculado, enquanto que na região glandular o pH foi de 2,0 a 2,5, respectivamente. No intestino delgado e no restante do TGI, os valores de pH foram acima de 6,0, concordando com os valores de pH encontrados no conteúdo do TGI dos animais controle, no presente estudo. Isto pode ser explicado pela quantidade de amido na dieta da literatura citada ser semelhante à consumida pelos eqüinos no presente estudo, de 3,26 e 3,12 g de carboidrato /kg de peso vivo, respectivamente.

Goodson et al. (1988) utilizando pônei fistulado no ceco, consumindo dieta exclusiva de feno seguido de mudança abrupta para dieta rica em concentrado, observaram redução do pH cecal nas primeiras sete horas pós-alimentação em ambas as dietas, porém a dieta rica em concentrado provocou redução mais acentuada no pH cecal comparado a dieta exclusiva de feno, com valores de 5,9 e 6,4, retornando aos valores de pH pré-alimentação, de 7,7, às 24 horas pós-alimentação. Estes valores são semelhantes aos valores de pH cecal observados nos animais submetidos a sobrecarga dietética com amido e avaliados às 24 e 36 horas após e animais do grupo controle, no presente estudo, com valores médios de 6,11, 6,52 e 6,74, respectivamente.

Resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo, em relação ao pH cecal, também foram observados por Moore-Colyer et al. (2000) utilizando pôneis fistulados no ceco e submetidos a diferentes dietas. Não observaram diferença ($P>0,05$) entre os valores de pH cecal cinco horas após a alimentação e durante oito horas de avaliação com os animais

consumindo diferentes dietas compostas de cubos de feno peletizados, casca de aveia/flocos de aveia (67:33), polpa de beterraba sem melão/ polpa de beterraba com melão (75:25) e açúcar de beterraba sem melão/cubos de feno (50:50), mantendo o pH cecal acima de 6,5.

Estudos realizados por De Fombelle et al. (2001), utilizando pôneis fistulados no ceco e cólon ventral direito visando à comparação de uma dieta exclusiva de feno com dietas compostas por feno e cevada na proporção de 70:30 e 50:50, fornecida duas vezes ao dia, observaram que a incorporação abrupta de cevada de ambas as dietas não foi seguida por uma variação significativa nos valores de pH cecal e do conteúdo do cólon, de 6,54 a 6,48, respectivamente. Sendo que a quantidade de amido fornecido por refeição não excedeu 2,3 g/kg de peso corporal, abaixo do limite máximo de 3,5 a 4 g/kg de peso corporal recomendado para prevenção de distúrbios digestivos (POTTER et al., 1992). Já no presente estudo, a quantidade de carboidratos hidrolisáveis utilizado na sobrecarga foi de 15,8 g/kg de peso corporal, 3,95 vezes mais o limite recomendado e, no entanto, os valores de pH do conteúdo cecal foram similares, porém os valores do pH do cólon ventral direito após 24 e 36 horas da sobrecarga foram menores, de 5,43 e 5,48.

Julliand et al. (2001) utilizando os mesmos animais e dietas do experimento anterior, porém com um período de quatorze dias de adaptação às dietas observaram diferenças entre valores de pH cecal e do cólon ventral direito nos animais recebendo dieta exclusiva de feno e 50:50 de feno e cevada, com valores de 6,74 e 6,26, respectivamente ($P < 0,1$). Estes resultados são semelhantes aos valores de pH cecal nos animais avaliados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga, de 6,74, 6,11 e 6,52, porém diferem dos valores médios de pH observados no cólon ventral direito, às 24 e 36 horas pós-sobrecarga, de 5,43 e 5,48, respectivamente.

Poucos dados são disponíveis para alterações no cólon de eqüinos consumindo dietas com altos níveis de concentrado, porém já é conhecida sua função na digestão da parede celular das plantas (DROGOUL et al., 1995) e, é o principal local onde ocorrem distúrbios digestivos (FREEMAN, 1997). Eqüinos que consomem dietas altamente energéticas, as quais contêm elevadas proporções de concentrado em relação ao volumoso, mais que 0,4% do peso vivo, a capacidade digestiva do intestino delgado é ultrapassada e grandes quantidades de amido chegam ao intestino grosso, principalmente no cólon (POTTER et al., 1992).

Os resultados descritos por De Fombelle et al. (2001) e Julliand et al. (2001) demonstraram que o cólon ventral direito foi mais afetado com a adição de concentrado na dieta comparado ao ceco, devido ao aumento na concentração de bactérias utilizadoras de lactato e amilolíticas. Partículas pequenas passam rapidamente através do ceco e permanecem por muito tempo no cólon (DROGOUL et al., 1995), o que provavelmente ocorreu com o amido de milho nos animais submetidos a sobrecarga, justificando os resultados observados no presente estudo com maiores alterações do conteúdo e pH dos segmentos do cólon nesses animais comparado ao ceco. O pH do ceco nos animais submetidos a sobrecarga, manteve os valores próximos aos animais controle, demonstrando maior resistência às dietas ricas em concentrados e menos susceptíveis a lesões de mucosa comparado ao cólon.

Bailey et al. (2002) utilizando o conteúdo cecal de eqüinos alimentados exclusivamente por feno em um modelo *in vitro* de sobrecarga por carboidratos, avaliaram a adição de amido de milho e inulina (uma forma de carboidrato derivado de frutanos) e durante 24 horas, concluindo que a adição de amido de milho e inulina resultou em redução significativa nos valores de pH, de 6,7 até 5,2 com amido de milho e 5,0 com a inulina 24 horas após a incubação. Os valores de pH referentes ao controle, permaneceram constantes até 24 horas após a incubação com valores próximos da neutralidade, estando em acordo com os valores de pH observado nos animais do grupo controle no presente estudo, de 6,74.

Os valores médios da capacidade tampão no trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados a zero, 24 e 36 horas após estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Valores médios e desvio padrão da capacidade tampão (CT₂) no trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e eutanasiados no tempo zero, 24 e 36 horas após a sobrecarga.

Segmentos Intestinais	CT ₂ (pH observado – 6,0) (mmol/L)			CV (%)
	Controle (n = 2)	24 horas (n = 3)	36 horas (n = 3)	
Estômago	*	*	*	-
Duodeno	*	7,38±1,63	*	-
Jejuno	56,13±32,70	58,88±14,88	41,92±7,80	35,22
Íleo	75,56±12,2	55,88±1,13	35,50±30,00	43,90
Ceco	38,06±48,7	33,75±16,25	51,38±16,38	42,35
Cólon ventral direito	17,94±13,88	*	*	
Cólon ventral esquerdo	25,13±24,93	*	*	
Cólon dorsal direito	23,94±22,36	*	*	
Cólon transverso	20,50±13,08	*	*	
Cólon descendente	10,00±1,77	*	*	

*valores de pH abaixo de 6,0.

A CT₂ representa a capacidade que o animal tem de tamponar o conteúdo intestinal até o limite mínimo de pH 6,0, responsável por causar acidose sub-clínica em equinos com pH cecal abaixo deste valor (RADICKE et al., 1991). Os resultados demonstram que a capacidade tampão apresenta elevada variação entre os equinos estudados representado pelo elevado desvio padrão observado.

Os equinos do grupo controle apresentaram maior capacidade de tamponamento comparado com os equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido, representado pelos valores de CT₂. Estes animais controles apresentam capacidade de tamponar o conteúdo da digesta até o pH 6,0 em todos os segmentos do TGI, exceto no estômago e duodeno, enquanto nos animais submetidos a sobrecarga somente foi possível o tamponamento no intestino delgado e ceco. Provavelmente devido aos tampões HCO₃ secretados no duodeno e íleo juntamente com PO₄, ambos carregados para o ceco exercendo efeito tamponante da digesta cecal.

Os valores médios e desvio padrão referentes à capacidade tampão no trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga com amido e avaliados a zero, 24 e 36 horas após estão apresentados na Tabela 10.

A CT₁ representa a maior capacidade que o animal tem de tamponar o conteúdo intestinal até o limite mínimo de pH 5,0, o qual começa a causar lesão à mucosa do cólon (DUKES, 1996). Semelhante aos valores de CT₂, os resultados demonstram elevada variação entre os equinos estudados devido ao elevado desvio padrão observado, porém os animais controle apresentaram maior capacidade de tamponamento do conteúdo intestinal quando comparado aos animais submetidos à sobrecarga dietética com amido.

Tabela 10. Valores médios e desvio padrão da capacidade tampão (CT₁) no trato gastrointestinal de eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados após zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga.

Segmentos Intestinais	CT ₁ (pH observado – 5,0) (mmol/L)			CV (%)
	Controle (n = 2)	24 horas (n = 3)	36 horas (n = 3)	
Estômago	*	21,00±25,10	*	
Duodeno	18,25±9,55	17,25±2,50	*	
Jejuno	101,13±53,92	89,63±17,88	82,38±10,97	33,01
Íleo	124,69±23,42	66,38±44,39	58,38±41,88	51,43
Ceco	96,19±68,68	80,25±88,87	79,50±30,25	50,67
Cólon ventral direito	56,19±36,15	32,50±5,00	51,94±27,31	67,05
Cólon ventral esquerdo	79,75±56,21	30,38±4,88	54,63±29,38	78,10
Cólon dorsal direito	90,88±64,88	*	*	
Cólon transverso	64,44±38,98	*	*	
Cólon descendente	27,50±5,30	*	*	

*pH abaixo de 5,0.

Dentre os segmentos do trato gastrointestinal, o jejuno, íleo e ceco apresentaram maior CT₁ comparado aos segmentos do intestino grosso, independente do grupo experimental. Em relação ao intestino grosso, a CT₁ do ceco foi maior nos animais controle comparado aos animais submetidos à sobrecarga e avaliados após 24 e 36 horas, com valores médios de 96,19, 80,25 e 79,50 mmol/L de conteúdo, respectivamente.

Observa-se que 24 horas após a sobrecarga os eqüinos não conseguem tamponar o conteúdo no cólon dorsal direito, cólon transverso e cólon descendente de forma eficiente para manter o pH da digesta acima de 5,0 e, a partir daí, estão sujeitos a lesões de mucosa devido ao ambiente ácido nos segmentos, consequência da intensa fermentação.

Em geral, pôde-se observar menor capacidade de tamponamento dos conteúdos do TGI para os eqüinos submetidos a sobrecarga dietética com amido, e isso é fundamentalmente devido a intensa fermentação do amido no intestino grosso, local em que observou-se maiores alterações do conteúdo da digesta e menores valores de pH, resultando em depleção dos tampões. Houve também, redução na capacidade tampão das fezes em função da sobrecarga ao longo das 36 horas de avaliação, resultado da fermentação do amido no TGI. No entanto, os eqüinos não submetidos à sobrecarga, apresentaram maior capacidade de tamponamento das fezes e dos segmentos do TGI, demonstrando menor risco de ocorrer distúrbios digestivos em eqüinos consumindo dietas com menor concentração de carboidratos hidrolisáveis.

À avaliação macroscópica, não observou-se alterações resultantes do processo fermentativo no intestino grosso. Observou-se congestão de mucosa difundidas ao longo do trato gastrointestinal, provavelmente devido ao cloreto de potássio utilizado na eutanásia.

4.3 Alterações Histológicas e Histoquímicas na Mucosa Intestinal

A distribuição e intensidade da infiltração de células inflamatórias e lesões observadas na mucosa e submucosa dos segmentos do TGI de eqüinos eutanasiados às zero, 24 e 36 horas após a sobrecarga dietética com amido, estão apresentadas nas Tabelas 11, 12, 13 e 14.

Tabela 11. Distribuição e intensidade da infiltração de células inflamatórias na mucosa dos segmentos do trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados através de exame histológico.

Grupos Experimentais	Células Inflamatórias	Segmentos do Trato Gastrointestinal										Equinos	
		Estômago	Duodeno	Jejuno	Íleo	Ceco	CVD	CVE	CDD	CT	CD		
Controle (n = 2)	Neutrófilos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
		NE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	Eosinófilos	-	-	-	(+)	(+)	+	+	+	(+)	(+)	(+)	1
		NE	(+)	+	+	+	+(+)	+(+)	+(+)	+	+	+	2
	Células Mononucleares	-	+	+	+	+	+	+(+)	+(+)	+(+)	(+)	(+)	1
		NE	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	+	+	+(+)	2
24 horas pós-sobrecarga (n = 3)	Neutrófilos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NE	3
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
	Eosinófilos	-	(+)	+	+	+	+	+	+(+)	+	(+)	NE	3
		-	-	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	4
		-	(+)	(+)	(+)	(+)	+(+)	(+)	+	+(+)	(+)	(+)	5
	Células Mononucleares	-	(+)	+(+)	+(+)	+	+(+)	++	++	-	NE	3	
		-	+	+(+)	+	+(+)	+	+(+)	+(+)	+	+	+	4
		-	+	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	+	+	+	5
36 horas pós-sobrecarga (n = 3)	Neutrófilos	-	-	-	NE	-	LCE(+)	LCE(+)	LCE+	LCE(+)	-	6	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	
		-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	8
	Eosinófilos	-	-	-	NE	+	+(+)	+	+	+	+	+	6
		-	-	(+)	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	7
		-	(+)	+(+)	NE	+(+)	+	++	+(+)	+	+	+	8
	Células Mononucleares	-	+	+	NE	+	+(+)	+(+)	+	+	+	+	6
		-	+(+)	+(+)	++	+(+)	+(+)	++	+(+)	+	+	+	7
-		+(+)	+(+)	NE	+	+(+)	+(+)	++	+	+	+	8	

- Lesão ausente, (+) discreta, + leve, +(+) leve a moderada, ++ moderada, NE = Não examinado.

Tabela 12. Distribuição e intensidade da infiltração de células inflamatórias na submucosa dos segmentos do trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados através de exame histológico.

Grupos Experimentais	Células Inflamatórias	Segmentos do Trato Gastrointestinal										Equinos	
		Estômago	Duodeno	Jejuno	Íleo	Ceco	CVD	CVE	CDD	CT	CD		
Controle (n = 2)	Neutrófilos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
		NE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	Eosinófilos	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	1
		NE	+	+	++	+(+)	+(+)	+	(+)	(+)	(+)	+(+)	2
	Células Mononucleares	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	-	(+)	(+)	1
		NE	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	2
24 horas pós-sobrecarga (n = 3)	Neutrófilos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NE	3	
		-	LCE +	-	-	LCE (+)	LCE (+)	(+)	LCE (+)	(+)	(+)	4	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
	Eosinófilos	-	-	+(+)	+(+)	+	(+)	+	++	+	NE	3	
		-	+	+(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	+	4	
		-	+	+	(+)	+(+)	+	+(+)	+(+)	(+)	(+)	5	
	Células Mononucleares	-	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	+	-	NE	3	
		+	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	(+)	4	
		-	-	(+)	-	+	(+)	+	(+)	-	-	5	
36 horas pós-sobrecarga (n = 3)	Neutrófilos	-	-	-	NE	-	LCE +	LCE +	LCE +	LCE+	LCE (+)	6	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	
		-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	8
	Eosinófilos	-	-	-	NE	(+)	+	+(+)	+	(+)	(+)	6	
		-	+	+	+(+)	+(+)	+(+)	+	(+)	(+)	+	7	
		+(+)	+(+)	++	NE	+(+)	+	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	8	
	Células Mononucleares	-	-	-	NE	(+)	(+)	(+)	-	-	-	6	
		(+)	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	7	
		-	-	(+)	NE	(+)	(+)	(+)	+	(+)	(+)	8	

- Lesão ausente, (+) discreta, + leve, +(+) leve a moderada, ++ moderada, NE = Não examinado, LCE = Leucocitoestase.

Tabela 13. Distribuição e intensidade das alterações circulatórias na mucosa dos segmentos do trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados através de exame histológico.

Grupos Experimentais	Alterações Circulatórias	Segmentos do Trato Gastrointestinal										Equinos
		Estômago	Duodeno	Jejuno	Íleo	Ceco	CVD	CVE	CDD	CT	CD	
Controle (n = 2)	Congestão	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	1
		NE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	Edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
		NE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	Dilatação de Vasos linfáticos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
		NE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
24 horas pós- sobrecarga (n = 3)	Congestão	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NE	3
		-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	4
		-	-	++	+	-	-	-	(+)	-	-	5
	Edema	-	-	++	++	-	-	-	(+)	-	NE	3
		(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
		-	-	-	(+)	+	-	-	(+)	-	-	5
Dilatação de vasos linfáticos	-	-	++	++	-	-	-	(+)	-	NE	3	
	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	4	
	-	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	5	
36 horas pós- sobrecarga (n = 3)	Congestão	-	-	-	NE	-	-	(+)	++	+	-	6
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
		-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	8
	Edema	-	-	-	NE	-	+	-	-	-	-	6
		-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	-	7
		-	-	-	NE	-	(+)	-	-	-	-	8
Dilatação de vasos linfáticos	-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	6	
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	
	-	-	-	NE	-	(+)	-	-	-	-	8	

- Lesão ausente, (+) discreta, + leve, ++(+)+ leve a moderada, ++ moderada, NE = Não examinado

Tabela 14. Distribuição e intensidade das alterações circulatórias na submucosa dos segmentos do trato gastrointestinal de equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e avaliados através de exame histológico.

Grupos Experimentais	Alterações Circulatórias	Segmentos do Trato Gastrointestinal										Equinos
		Estômago	Duodeno	Jejuno	Íleo	Ceco	CVD	CVE	CDD	CT	CD	
Controle (n = 2)	Congestão	-	-	(+)	-	+	-	(+)	(+)	-	(+)	1
		NE	-	+	-	-	-	-	-	-	-	2
	Edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
		NE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	Dilatação de Vasos linfáticos	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
		NE	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	2
24 horas pós-sobrecarga (n = 3)	Congestão	-	-	-	-	-	-	-	+	+	NE	3
		-	+	(+)	+	+	+	-	(+)	-	(+)	4
		-	-	(+)	(+)	(+)	-	-	(+)	-	-	5
	Edema	-	-	++(+)	++(+)	-	-	-	++(+)	-	NE	3
		-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	4
		-	-	-	(+)	-	-	+(+)	+	-	-	5
	Dilatação de vasos linfáticos	-	-	++(+)	++	-	-	-	++(+)	-	NE	3
		-	-	(+)	(+)	(+)	-	(+)	-	-	-	4
		-	+	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	5
36 horas pós-sobrecarga (n = 3)	Congestão	-	+	+	NE	(+)	+	(+)	++(+)	+	(+)	6
		-	-	-	-	+	+	+	+	(+)	-	7
		-	+	+	NE	(+)	-	+	++(+)	-	-	8
	Edema	-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	6
		-	-	-	-	+	-	(+)	+	-	-	7
		-	-	++(+)	NE	-	-	-	-	-	-	8
	Dilatação de vasos linfáticos	-	(+)	(+)	NE	-	-	-	-	-	-	6
		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	7
-		-	++(+)	NE	-	(+)	-	(+)	-	-	8	

- Lesão ausente, (+) discreta, + leve, ++(+), ++ moderada, +++ moderada a acentuada, NE = Não examinado.

Na avaliação histológica da mucosa, observou-se infiltração de granulócitos com predominância de eosinófilos em todos os animais estudados, independente da sobrecarga dietética com amido. Não houve infiltração de neutrófilos na mucosa dos eqüinos do grupo controle ou dos eqüinos eutanasiados 24 horas após a sobrecarga, no entanto, nos eqüinos eutanasiados 36 horas após a sobrecarga, observou-se maior afluxo de neutrófilos nos vasos, leucocitoestase, do cólon ventral direito, cólon ventral esquerdo, cólon dorsal direito e cólon transversal no eqüino 06, variando de discreta a leve. Isto pode ser justificado pelos valores de pH observado no intestino grosso, 36 horas após a sobrecarga, estar variando de 4,49 a 5,48, causando irritação na mucosa e conseqüentemente induzindo a uma resposta inflamatória neste local.

A infiltração tecidual de células mononucleares como, por exemplo, linfócitos, foi observada em todos os animais, pois são células, juntamente com os eosinófilos, normalmente presentes na mucosa e submucosa do intestino dos eqüinos e são responsáveis pela imunidade local da mucosa intestinal.

O grau de infiltração de células inflamatórias observado na submucosa foi maior do que na mucosa. Nos eqüinos 04 e 06, submetidos à sobrecarga e avaliados 24 e 36 horas após, respectivamente, observou-se leucocitoestase de neutrófilos e eosinófilos, porém com predominância de neutrófilos restrito ao intestino grosso, local de maior fermentação. Não houve infiltração de neutrófilos na submucosa dos animais do grupo controle. A infiltração de eosinófilos esteve presente em todos os eqüinos estudados, porém observou-se maior grau de infiltração dessas células na submucosa do intestino grosso, variando de leve a moderada. Segundo Meschter et al. (1986), os eosinófilos são comumente observados na mucosa e submucosa intestinal de eqüinos sob condições normal e inflamatória.

A infiltração de células mononucleares na submucosa dos eqüinos foi semelhante à observada na mucosa. O principal parâmetro para avaliação da resposta inflamatória do TGI na espécie eqüina, nestas condições, foi a infiltração neutrofílica porque sob condições normais, não há presença dessa célula na mucosa e submucosa intestinal, nem mesmo marginando os vasos sanguíneos.

Em relação às alterações circulatórias observadas na mucosa e submucosa dos segmentos do TGI dos eqüinos estudados, as que mais foram evidentes e são discutidas no presente estudo foram congestão, edema e dilatação de vasos linfáticos. Em algumas das vezes, as alterações estiveram associadas ao grau de infiltração de células inflamatórias.

Tanto em relação à mucosa quanto a submucosa, a distribuição das alterações circulatórias não foi mais evidente no intestino grosso, como foi em relação à intensidade de infiltração de células inflamatórias. No entanto, o grau de intensidade das alterações foi mais evidente na submucosa, concordando com a maior intensidade de células inflamatórias infiltradas na submucosa.

Nos eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido, houve congestão moderada da mucosa do jejuno do eqüino 05, 24 horas após a sobrecarga, enquanto que às 36 horas após a sobrecarga, congestão de leve a moderada foi observada no cólon dorsal direito do eqüino 06. Nos animais do grupo controle, observou-se discreta congestão na mucosa do cólon ventral esquerdo do eqüino 01, porém devemos levar em consideração que o cloreto de potássio utilizado na eutanásia provoca congestão vascular na observação macroscópica e microscópica.

Observou-se edema de intensidade moderada na mucosa do jejuno e íleo do eqüino 03, 24 horas após a sobrecarga, enquanto que nos animais avaliados 36 horas após a sobrecarga, edema discreto a leve foi observado na mucosa do cólon ventral direito do eqüino 06 e 08 e, cólon ventral esquerdo e cólon dorsal direito do eqüino 07. A dilatação dos vasos linfáticos foi mais evidente na mucosa ileal do eqüino 03, 24 horas após a sobrecarga, com intensidade de leve a moderada.

O edema e a dilatação dos vasos linfáticos foram mais evidentes na mucosa dos eqüinos submetidos à sobrecarga e avaliados 24 horas após a sobrecarga, quando comparado aos avaliados 36 horas após a sobrecarga. O jejuno, íleo e cólon dorsal direito foram os segmentos que apresentaram maior intensidade de edema e dilatação dos vasos linfáticos, variando de leve a moderada e de moderada a acentuada.

Em relação às alterações circulatórias observadas na submucosa dos eqüinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e eqüinos do grupo controle, observa-se congestão dos vasos sanguíneos de discreta a leve em todos os eqüinos avaliados às 24 horas após a sobrecarga, enquanto que 36 horas após a sobrecarga, o eqüino 06 e 08 apresentaram congestão de leve a moderada no cólon dorsal direito. Nos eqüinos do grupo controle, apenas o animal 01 apresentou congestão discreta no cólon ventral esquerdo, cólon dorsal direito e cólon descendente, provavelmente devido ao cloreto de potássio utilizado na eutanásia.

O eqüino 03, 24 horas após a sobrecarga, apresentou edema e dilatação dos vasos linfáticos de moderada a acentuada no jejuno, íleo e cólon dorsal direito, enquanto que 36 horas após a sobrecarga, o eqüino 08 apresentou edema e dilatação dos vasos linfáticos de leve a moderada no jejuno.

Krueger et al. (1986) avaliando as alterações morfológicas e patológicas na mucosa cecal, por microscopia eletrônica de varredura e transmissão, em eqüinos submetidos à sobrecarga por carboidratos observaram, às 24 horas pós-sobrecarga, células balonadas ao redor da abertura das criptas, porém somente 32 horas após a sobrecarga estas alterações foram evidentes. A degeneração celular com descamação do epitélio da mucosa cecal foi observada às 40 horas, porém tornou-se mais evidente 48 horas após a sobrecarga permanecendo semelhante até 72 horas.

Meschter et al. (1986), ao exame histológico, constataram que as alterações morfológicas no TGI de eqüinos com diversas causas de cólica, eram frequentemente limitadas ao jejuno, íleo, ceco e cólon maior. Edema, congestão capilar, dilatação de vasos linfáticos, e ocasionalmente hemorragia foi observado na lâmina própria e, intenso infiltrado celular composto de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, leucócitos globóides e mastócitos foi observado freqüentemente na mucosa e submucosa. Algumas alterações circulatórias encontradas na literatura corrente também foram observadas no presente estudo, no entanto, no que concerne ao infiltrado celular, não houve a presença de neutrófilos, sendo observado leucocitoestase de neutrófilos. O infiltrado observado no presente estudo foi composto principalmente de eosinófilos e células mononucleares tais como linfócitos, concordando com o observado por Meschter et al. (1986).

Os achados histopatológicos observados no presente estudo foram bastante discretos quando comparados com os achados histopatológicos observados por Meschter et al. (1986). O quadro histológico dos eqüinos com várias causas de cólica foi mais grave quando comparado ao observado no presente estudo, demonstrando que os eqüinos acometidos com a síndrome cólica frequentemente recebem atendimento veterinário, em geral, após 36 horas do início dos sinais clínicos.

De acordo com McConnico et al. (1999), alterações histopatológicas são mais graves em pôneis apresentando grandes números de células inflamatórias infiltradas na mucosa e submucosa, principalmente eosinófilos, nas primeiras 24 horas em um modelo de colite aguda induzida por óleo de rícino.

Avaliações microscópicas de bovinos que morreram de acidose ruminal devido à sobrecarga por carboidratos apresentam papilas ruminais tumefeitas e epitélio com vacuolização citoplasmática, vesiculação com ou sem erosões, e úlceras. Em geral, há uma variação no número de neutrófilos presentes na lâmina própria das papilas (JONES et al., 2000).

Infiltrações de células inflamatórias na mucosa e submucosa do cólon ventral direito (CVD) e cólon ventral esquerdo (CVE) de eqüinos submetidos à sobrecarga com amido e eutanasiados às zero e 36 horas após a sobrecarga, através de exame histológico, pode ser observado na Figura 17.

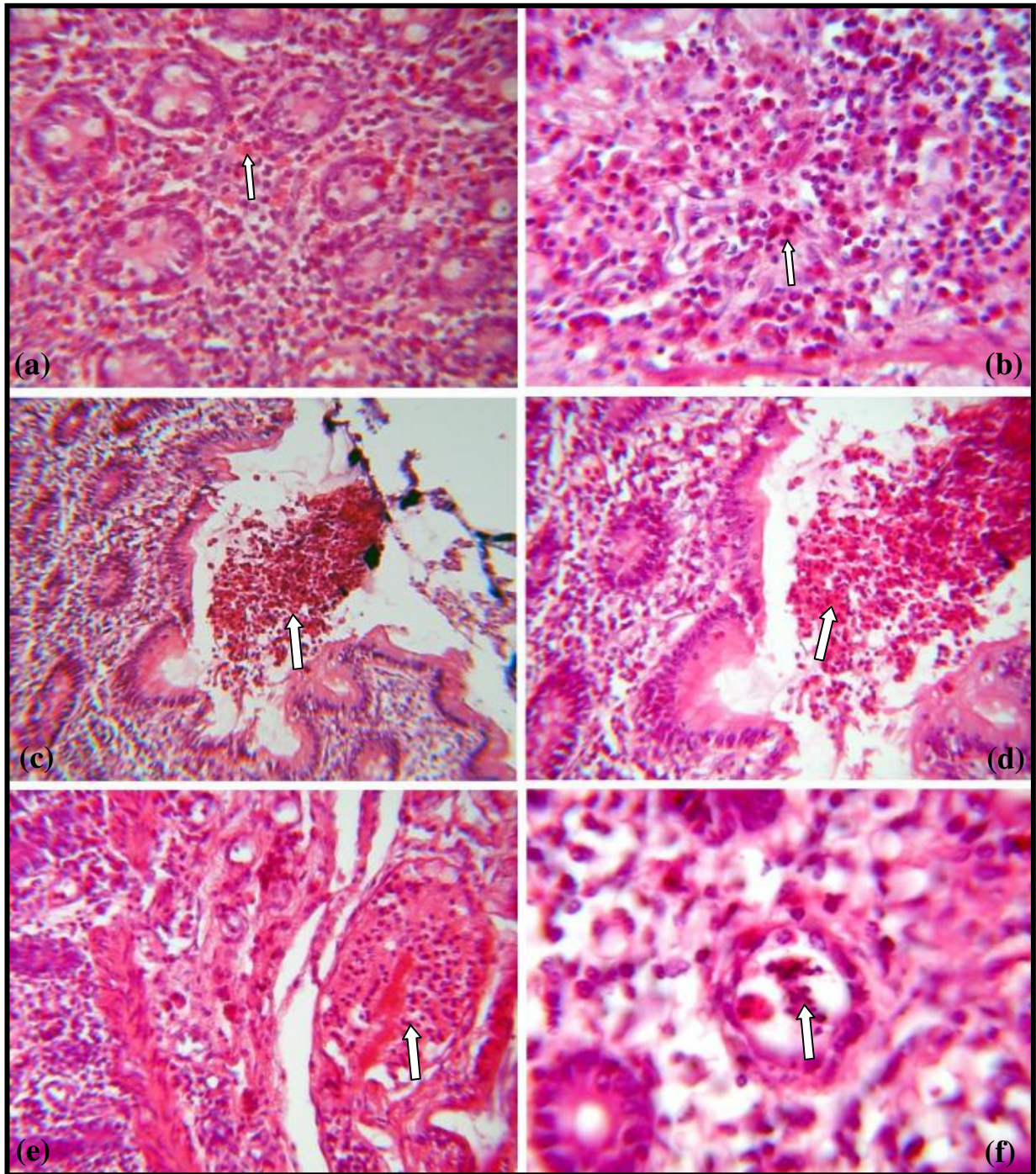


Figura 17. (a) mucosa do cólon ventral direito com infiltração por eosinófilos no eqüino 02 (250x); (b) submucosa do cólon ventral esquerdo com infiltração por eosinófilos e células mononucleares no eqüino 06 (250x), 36 horas pós-sobrecarga; eqüino 06 com infiltração por PMNs na superfície epitelial do cólon ventral direito (c) (160x) e (d) (250x), 36 horas pós-sobrecarga; (e) eqüino 06 com leucocitoestase em vasos da submucosa (160x) e da mucosa (f) (400x) do cólon ventral direito, 36 horas pós-sobrecarga. (a – f) corado com H – E.

Na Figura 17a, pode ser observado infiltração de eosinófilos de intensidade leve a moderada na mucosa do eqüino 02 do grupo controle e, na Figura 17b, a submucosa do cólon ventral esquerdo do eqüino 06 com infiltração de eosinófilos com a mesma intensidade observada no animal controle, porém 36 horas após a sobrecarga. Estas observações concordam com os resultados observados por Meschter et al. (1986), com eosinófilos presentes na mucosa e submucosa intestinal de eqüinos sob condições normal e inflamatória.

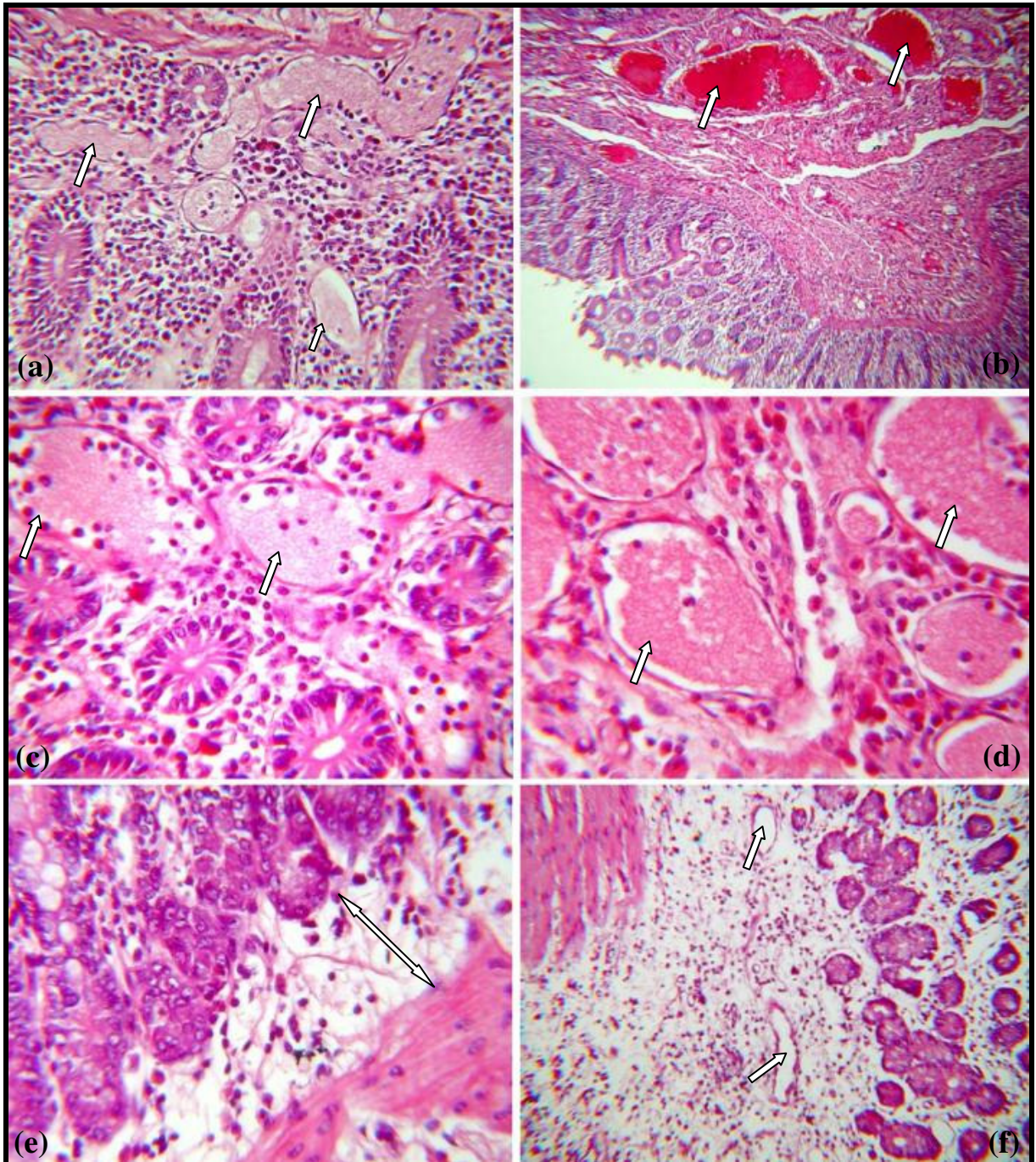


Figura 18. (a – d) eqüino 06; (a) mucosa do cólon dorsal direito com vasos congestos (160x); (b) submucosa do cólon ventral direito com vasos congestos (400x); (c) mucosa do cólon ventral esquerdo com vasos congestos e leucocitoestase (250x); (d) submucosa do cólon dorsal direito com vasos congestos (250x), 36 horas pós-sobrecarga; (e) eqüino 03, 24 horas pós-sobrecarga, com edema da base da mucosa do jejunum (250x) e (f) edema da base da mucosa e dilatação dos vasos linfáticos do jejunum (100x); (a – f) corado com H – E.

A infiltração de polimorfonucleares, com predominância de eosinófilos na superfície epitelial do cólon ventral direito do equino 06, 36 horas após a sobrecarga dietética com amido, está representada na Figura 17c e 17d.

A leucocitoestase de neutrófilos e eosinófilos com predominância de neutrófilos foi uma alteração bem marcante observada na submucosa e mucosa do cólon ventral direito do equino 06, o qual veio ao óbito 32 horas após a sobrecarga e, está representada na figura 17e e 17f, respectivamente. Observam-se muitos neutrófilos no interior do vaso sanguíneo e aderidos a sua parede, característico desta alteração, representando a migração dos neutrófilos para o interstício da submucosa devido ao processo inflamatório no cólon ventral direito.

As lesões na mucosa e submucosa do cólon ventral direito (CVD), cólon ventral esquerdo (CVE) e cólon dorsal direito (CDD) do equino 06, submetido à sobrecarga com amido e vindo ao óbito 32 horas após a sobrecarga, bem como do equino 03, 24 horas após a sobrecarga com lesão na mucosa do jejuno estão apresentadas na Figura 18.

Na Figura 18a pode-se observar congestão de leve a moderada dos vasos da mucosa do cólon dorsal direito, caracterizada pelos vasos irregularmente dilatados, enquanto que na Figura 18b observa-se uma moderada congestão da submucosa do cólon ventral direito do equino 06, 36 horas após a sobrecarga. Também observa-se no equino 06, 36 horas após a sobrecarga, cólon ventral esquerdo com congestão dos vasos da mucosa juntamente com leucocitoestase (Figura 18c) e cólon dorsal direito com a submucosa apresentando vasos bastante dilatados e repletos de sangue (Figura d).

O equino 03, 24 horas pós-sobrecarga, apresentou o jejuno com edema moderado na base da mucosa caracterizado pelo afastamento entre a mucosa e a muscular da mucosa, como mostra a Figura 18e. Outra secção deste mesmo segmento, além da congestão da base da mucosa, mostrou vasos linfáticos dilatados (Figura 18f).

A imunorreatividade para o anticorpo anti-MPO classificada em graus de 1 a 4 de acordo com o número de granulócitos marcados está representada na Figura 19.

O grau de imunorreatividade para o anticorpo anti-MPO baseado no número de granulócitos marcados na mucosa e submucosa dos segmentos do TGI de equinos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga está apresentado na Figura 20.

A MPO é uma enzima específica dos grânulos azurofílicos dos granulócitos, principalmente neutrófilos e eosinófilos e, a determinação da sua atividade na mucosa e submucosa intestinal tem sido bastante usado como índice quantitativo de infiltração de granulócitos (GRISHAM et al., 1990; McCONNICO et al., 1999; McCONNICO et al., 2002).

A sobrecarga dietética com amido em equinos acarreta uma intensa fermentação e consequentemente redução do pH resultando em desenvolvimento de processo inflamatório na mucosa do intestino grosso. Além disso, o estresse oxidativo com excessiva liberação de ROMs também contribui para destruição tecidual (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989; McCORD, 2000).

No presente estudo, a técnica de imuno-histoquímica revelou marcação acastanhada, por diaminobenzidina, dos granulócitos, indicando imunorreatividade para o anticorpo anti-MPO humana em todos os segmentos avaliados do TGI. Os equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido e eutanasiados 36 horas após a sobrecarga, apresentaram maior grau de imunorreatividade para o anticorpo anti-MPO em todos os segmentos do TGI, seguidos pelos animais eutanasiados 24 horas após a sobrecarga e os animais do grupo controle, com grau de imunorreatividade variando de 2,7 a 4,0, 1,0 a 3,7 e 1,0 a 2,5, respectivamente.

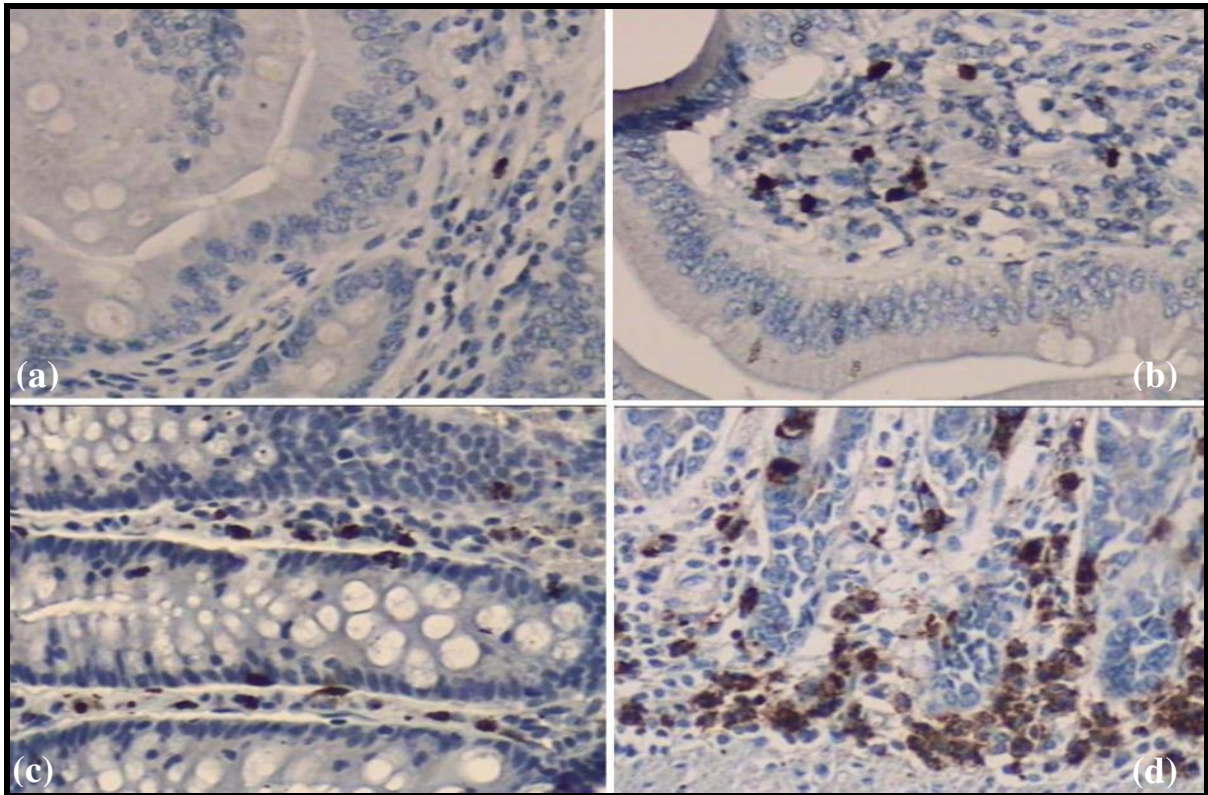


Figura 19. Imunorreatividade para o anticorpo anti-MPO classificada em graus de 1 a 4 de acordo com o número de granulócitos marcados, objetiva de 20x. Grau 1 – de 1 a 10 células por campo no duodeno do equino 01 (a); 2 – de 11 a 50 células por campo no duodeno do equino 03 (b); 3 - de 51 a 100 células por campo no cólon descendente do equino 01 (c); 4 – >100 células por campo no cólon transverso do equino 06 (d).

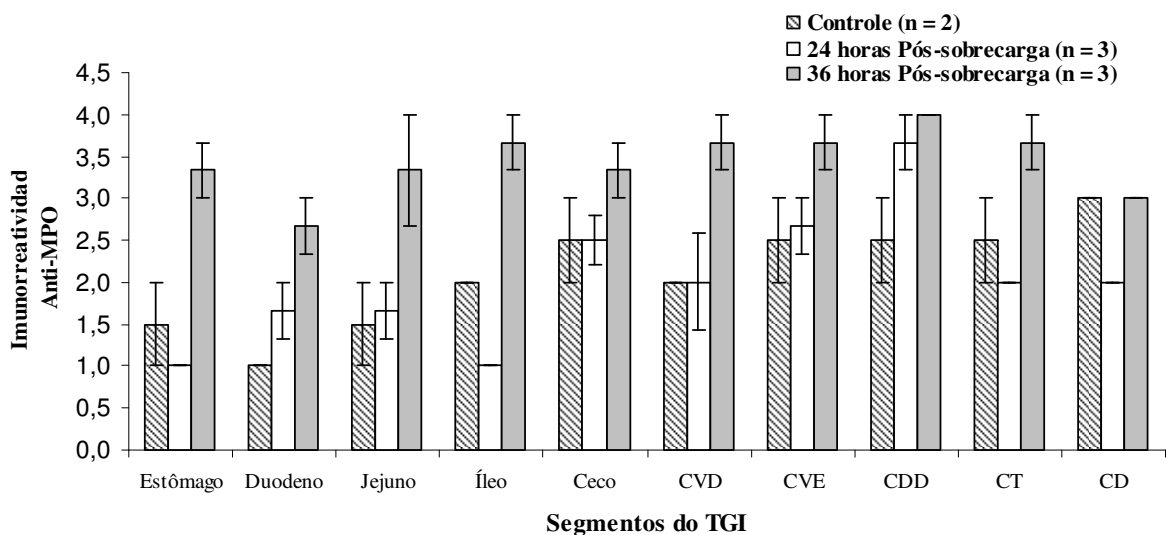


Figura 20. Grau de imunorreatividade para o anticorpo anti-MPO baseado no número de células marcadas nos segmentos do TGI em equinos eutanasiados nos tempos zero, 24 e 36 horas pós-sobrecarga. Grau (0) - ausência de marcação, (1) - 1 a 10 células marcadas (2) - 11 a 50 células marcadas (3) - 51 a 100 células marcadas (4) - >100 células marcadas, em campo de 200x.

O grau de imunorreatividade para o anticorpo anti-MPO foi maior nos segmentos do intestino grosso, principalmente cólon dorsal direito, de 4,0, 3,7 e 2,5, nos animais eutanasiados 36 e 24 horas após a sobrecarga e os animais do grupo controle, respectivamente. O cólon foi o local que apresentou menores valores de pH, resultado da fermentação do amido, justificando o maior número de granulócitos infiltrados na mucosa e submucosa desse segmento, expressado através de granulócitos imunomarcados com o anticorpo anti-MPO.

O estômago dos animais eutanasiados 36 horas após a sobrecarga apresentou grau de imunorreatividade anti-MPO muito superior aos animais eutanasiados 24 horas após a sobrecarga e animais controle, de 3,3, 1,0 e 1,5, respectivamente, demonstrando maior infiltração de granulócitos na mucosa e submucosa do estômago. Segundo Nadeau et al. (2003), a mucosa da região não-glandular do estômago de equinos exposta a elevadas concentrações de AGVs e $\text{pH} \leq 4,0$, resulta em severas alterações funcionais e histopatológicas, justificando o elevado grau de imunorreatividade anti-MPO neste segmento, 36 horas após a sobrecarga dietética com amido.

Os animais submetidos à sobrecarga e eutanasiados 36 horas após a sobrecarga, apresentaram grau elevado de granulócitos imunomarcados com anticorpo anti-MPO, demonstrando que estes animais apresentam maior infiltração de granulócitos na mucosa e submucosa do TGI, principalmente do intestino grosso, estando mais susceptíveis a lesões de mucosa comparado aos animais eutanasiados 24 horas após a sobrecarga e aos animais controle. O intestino delgado e grosso dos equinos possuiu grande capacidade de produzir ROMs e oxidantes clorados, através das oxidases encontradas nas células fagocíticas residentes, no endotélio microvascular e na mucosa epitelial (GRISHAM et al., 1988). Visto que ROMs são capazes de causar, diretamente, danos reversíveis e irreversíveis para qualquer biomolécula oxidável estão sendo implicados em danos teciduais e celulares em praticamente todas as doenças (VLESSIS et al., 1995; ROBBERECHT, 2000).

Krawisz et al. (1984) avaliando a atividade da MPO em modelos de inflamação, induziram colite em ratos com ácido acético e enterites em hamsters com enterotoxina de *Clostridium difficile* e, observaram que a atividade da MPO nos tecidos inflamados foi diretamente proporcional ao número de neutrófilos observados em cortes histológicos. McConnico et al. (1999), observaram correlação positiva entre a atividade da MPO e a infiltração de granulócitos na mucosa e submucosa do intestino de pôneis com colite aguda induzida por óleo de rícino.

Posteriormente, McConnico et al. (2002), observaram aumento gradual da atividade da MPO até 12 horas após a administração intracecal de óleo de rícino com a diminuição dos valores até 24 horas após. O aumento da atividade intestinal da MPO correspondeu com a manifestação de sinais clínicos adversos, incluindo hemoconcentração, diarreia aquosa profusa, e outros sinais compatíveis com endotoxemia intestinal.

A sobrecarga dietética com amido em equinos pode resultar em alterações na microbiota do ceco-cólon com proliferação de bactérias produtoras de ácido lático, resultando em redução nos valores de pH e morte de bactérias gram-negativas. O ambiente ácido no intestino grosso, pode levar o animal a desenvolver acidose sub-clínica, com pH cecal 6,0 (RADICKE et al., 1991) ou até mesmo promover lesões na mucosa, com pH de 5,0 ou menos (DUKES, 1996).

No presente estudo, a redução do pH no intestino grosso dos equinos submetidos à sobrecarga por carboidratos foi evidente, porém as lesões apresentadas na mucosa e submucosa do TGI dos equinos ao exame histológico não foram suficientes para causar danos à mucosa. Isso se explica pelos animais estudados não desenvolverem quadro clínico de endotoxemia e nem acidose metabólica, demonstrado pela concentração de endotoxina $< 0,1000$ EU/mL e concentração plasmática de lactato máxima de 1,22 mmol/L.

Provavelmente, devido ao grau de imunorreatividade contra o anticorpo anti-MPO nos eqüinos avaliados 36 horas após a sobrecarga, comparado aos demais animais, estar bem acima, representando elevada infiltração de granulócitos na mucosa e submucosa dos segmentos do TGI, danos mais acentuados na parede intestinal estariam ocorrendo a partir das 36 horas podendo desenvolver quadro de acidose metabólica, endotoxemia e até mesmo laminite.

5 CONCLUSÕES

A sobrecarga dietética com amido provoca alterações nas características físico-químicas das fezes e do conteúdo da digesta, com processo fermentativo intenso no intestino grosso, independente da adaptação à dieta com níveis elevados de carboidratos hidrolisáveis.

Os equinos submetidos à sobrecarga dietética com amido apresentam redução na capacidade de tamponamento das fezes e do conteúdo da digesta do ceco-cólon.

Os animais adaptados à dieta com níveis elevados de carboidratos hidrolisáveis e submetidos à sobrecarga dietética com amido, apresentam alterações clínicas moderadas até 36 horas pós-sobrecarga.

O modelo de sobrecarga dietética com amido utilizado no presente estudo, resulta no aumento da concentração plasmática de lactato sem acarretar quadro clínico de endotoxemia, 36 horas pós-sobrecarga, nos equinos adaptados à dieta com níveis elevados de carboidratos hidrolisáveis.

As alterações do processo fermentativo no trato gastrointestinal causam reação inflamatória e lesões de leve a moderada na mucosa e submucosa, principalmente do intestino grosso dos equinos, 36 horas pós-sobrecarga.

A mieloperoxidase pode ser utilizada como marcador do processo inflamatório no modelo de sobrecarga dietética com amido, em equinos.

A dieta composta de feno de capim *Coastcross* e ração concentrada na proporção de 40:60, nestas condições experimentais, mantém os valores de pH fecal e do conteúdo da digesta do trato gastrointestinal dos equinos dentro da normalidade.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL JASSIM, R.A.M. Supplementary feeding of horses with processed sorghum grains and oats. *Animal Feed Science and Technology*, v. 125, p. 33-44, 2006.
- BAILEY, S.R.; BAILLON, M.L.; RYCROFT, A.N.; HARRIS, P.A.; ELLIOTT, J. Identification of equine cecal bacteria producing amines in an in vitro model of carbohydrate overload. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, p. 2087-2093, 2003.
- BAILEY, S.R.; RYCROFT, A.; ELLIOTT, J. Production of amines in equine cecal contents in an in vitro model of carbohydrate overload. *Journal of Animal Science*, v. 80, p. 2656-2662, 2002.
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M. C.; FREITAS NETO, A.G. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo, EDART-São Paulo Livraria Editora Ltda, 1976, 257p.
- BERSCHNEIDER, H.M.; POWELL, D.W. Fibroblasts modulate intestinal secretory responses to inflammatory mediators. *Journal Clinical Investigation*, v. 89, p. 484-489, 1992.
- CLARK, R.A. Extracellular effects on the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-hyalide system. *Advances in Inflammation Research*, n. 5, p. 107-146, 1983.
- COLES, E.H. *Patologia Clínica Veterinária*. 3ª ed., Manole, São Paulo, 1984, 566p.
- CORDES, D.O.; PERRY, B.D.; RIKIHISA, Y.; CHICKERING, W.R. Enterocolitis caused by Ehrlichia sp. in the horse (Potomac Horse Fever). *Veterinary Pathology*, v. 23, p. 471-477, 1986.
- DE FOMBELLE, A.; JULLIAND, V.; DROGOUL, C.; JACOTOT, E. Feeding and microbial disorders in horses: 1- Effects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profile and activities. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 21, p. 439-445, 2001.
- DIXON, M.F.; GENTA, R.M.; YADLEY, J.H.; CORRÊA, P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston, 1994. *American Journal Surgery Pathology*, v. 20, p. 1161-1181, 1996.
- DROGOUL, C.; FAURIE, F.; TISSERAND, J.L. Estimation of the contribution of the ponys colon in fibre digestion: a methodological approach. *Annales de Zootechnia*, v. 44, p.182, 1995.
- DUKES, H.H. *Fisiologia dos animais domésticos*. 11 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, RJ, 1996, 856p.
- FREEMAN, D.E. Overview of gastrointestinal physiology. In: Geneva Congress of Equine Medicine and Surgery, 5. Geneva, *Proceedings...*p. 15-21, 1997.
- FUJISHIMA, S.; AIKAWA, N. Neutrophil-mediated tissue injury and its modulation. *Intensive Care Medicine*, n. 21, p. 277-285, 1995.
- GARNER, H. E.; COFFMAN, J.R.; HAHN, A.W.; HUTCHESON, D.P.; TUMBLESON, M.E. Equine laminitis of alimentary origin: An experimental model. *American Journal of Veterinary Research*, v. 36, n. 4, p. 441-444, 1975.

- GARNER, H. E.; HUTCHESON, D. P.; COFFMAN, J. R.; HAHN, A. W. Lactic acidosis: a factor associated with equine laminitis. *Journal of Animal Science*, v. 45, n. 5, p. 1037-1041, 1977.
- GARNER, H.E.; MOORE, J.N.; JOHNSON, J.H.; CLARK, L.; AMEND, J.F.; TRITSCHLER, L.G.; COFFMANN, J.R.; SPROUSE, R.F.; HUTCHESON, D.P.; SALEM, C.A. Changes in the caecal flora associated with the onset of laminitis. *Equine Veterinary Journal*, v. 10, p. 249-252, 1978.
- GOLOUBEFF, B. *Abdome Agudo Equino*. São Paulo. Edições Loyola, 1993, p. 174.
- GOODSON, J.; TYZNIK, W.J.; CLINE, J.H.; DEHORITY, B.A. Effects of an abrupt change from hay to concentrate on microbial numbers and physical environment in the cecum of the pony. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 54, n. 8, p. 1946-1950, 1988.
- GRANGER, R.N.; RUTILI, G. Neutrophil-mediated mucosal injury. Role of reactive oxygen metabolites. *Digestive Diseases Science*, v. 33, p. 6S-15S, 1988.
- GRISHAM, M.B.; McCORD, J.M. Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. In: *Physiology of Oxygen Radicals*, Taylor, A.E.; Matalon, S.; Ward, P.A. eds. Bethesda, American Physiology Society, p.1-18, 1986.
- GRISHAM, M.B.; BENOIT, J.N.; GRANGER, D.N. Assessment of leukocyte involvement during ischemia and reperfusion of intestine. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 729-742, 1990.
- GRISHAM, M.B.; GRANGER, D.N. Neutrophil-Mediated Mucosal Injury: Role of reactive oxygen metabolites. *Digestive Diseases and Science*, v. 33, n. 3 Suppl, p. 6S-15S, 1988.
- GUNTHEROTH, W.G.; FELSENFELD, A.J. Splenic constriction with endotoxin shock in the dog. *Journal of Applied Physiology*, v.30, n. 4, p. 517-520, 1971.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1989, 543p.
- HARKEMA, J.R.; ROBINSON, N.E.; SCOTT, J.B. Cardiovascular, Acid-Base, Electrolyte, and Plasma Volume Changes in Ponies Developing Alimentary Laminitis. *American Journal of Veterinary Research*, v. 39, n. 5, p. 741-744, 1978.
- HURLEY, D.J.; PARKS, R.J.; REBER, A.J.; DONOVAN, D.C.; OKINAGA, T.; VANDENPLAS, M.L.; PERONI, J.F.; MOORE, J.N. Dynamics changes in circulating leukocytes during the induction of equine laminitis with black walnut extract. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 110, p. 195-206, 2006.
- JOHNSON, C.M.; CULLEN, J.M.; ROBERTS, M.C. Morphologic characterization of castor oil-induced colitis in ponies. *Veterinary Pathology*, v. 30, p. 248-255, 1993.
- JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. *Patologia Veterinária*. In: *Sistema digestivo*. Ed. Manole, 6ª ed., São Paulo, p. 1063-1130, 2000.
- JULLIAND, V.; De FOMBELLE, A.; DROGOUL, C.; JACOTOT, E. Feeding and microbial disorders in horses: 3-Effects of three hay:grain ratios on microbial profile and activities. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 21, p. 543-546, 2001.
- KIM, H.S.; BERSTAD, A. Experimental colitis in animal models. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. v. 27, n. 7, p. 529-37, 1992.
- KING, J.N.; GERRING, E.L. Detection of endotoxin in cases of equine colic. *The Veterinary Record*, v. 123, n. 10, p. 269-271, 1988.

- KLEBANOFF, S.J. Oxygen metabolites from phagocytes. In: GALLIN, J.I.; GOLDSTEIN, I.M.; SNYDERMAN, M.D., Eds. *Inflammation: Basic principles and clinical correlates*. New York: Raven Press Ltd, p. 391-444, 1992.
- KLEBANOFF, S.J.; HAMON, C.B. Role of myeloperoxidase-mediated antimicrobial systems in intact leukocytes. *Journal of the Reticuloendothelial Society*, n.12, p. 170-196, 1972.
- KRAWISZ, J.E.; SHARON, P.; STENSON, W.F. Quantitative Assay for Acute Intestinal Inflammation Based on Myeloperoxidase Activity. *Gastroenterology*, v. 87, p. 1344-1350, 1984.
- KRUEGER, A.S.; KINDER, D.A.; GARNER, H.E.; SPROUSE, R.F. Ultrastructural study of the cecum during onset of laminitis. *American Journal of Veterinary Research*, v. 47, p. 1804-1812, 1986.
- LABO, G.; FACCHINI, A.; STEFANINE, G.F. Immunology of Inflammatory Bowel Diseases. *International Symposium Gastroenterology*, Bologna, Italy, *Proceedings*, p. 167-181, 1983.
- LOPES, M.A.F.; WHITE, M.A.; CRISMAN, M.V.; WARD, D.L. Effects of feeding large counts of grain on colonic contents and feces in horses. *American Journal of Veterinary Research*, v. 65, n. 5, p. 687-694, 2004.
- MACKAY, R. Endotoxemia. In: Robinson NE, ed. *Current Therapy in Equine Medicine*. Philadelphia: Saunders, p. 225-323, 1992.
- MACKIE, R.I.; WILKINS, C.A. Enumeration of anaerobic bacterial microflora of the equine gastrointestinal tract. *Applied Environmental Microbiology*, v. 54, n. 9, p. 2155-2160, 1988.
- MAIR, T. DIVERS, T. DUCHARME, N. *Manual de gastroenterologia equina*. 1^a ed., Inter-médica, Buenos Aires. p. 322-323, 2003.
- McCONNICO, R.S.; ARGENZIO, R.A.; ROBERTS, M.C. Prostaglandin E₂ and reactive oxygen metabolite damage in the cecum in a pony model of acute colitis. *Canadian Journal Veterinary of Research*, v. 66, p. 50-54, 2002.
- McCONNICO, R.S.; WEINSTOCK, D.; POSTON, M.E.; ROBERTS, M.C. Myeloperoxidase activity of the large intestine in an equine model of acute colitis. *American Journal Veterinary of Research*, v. 60, n. 7, p. 807-813, 1999.
- McCORD, J.M. The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine*, v. 108, p. 652-9, 2000.
- MEDINA, B.; GIRARD, I.D.; JACOTOT, E.; JULLIAND, V. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. *Journal of Animal Science*, v. 80, p. 2600-2609, 2002.
- MESCHTER, C.L.; TYLER, D.E.; WHITE, N.A.; MOORE, J. Histologic findings in the gastrointestinal tract of horses with colic. *American Journal of Veterinary Research*, v. 47, p. 598-606, 1986.
- MEYERS, K.; REED, S.; KECK, M.; CLEM, M.; BAYLY, W. Circulating endotoxin-like substance(s) and altered hemostasis in horses with gastrointestinal disorders: An interim report. *American Journal of Veterinary Research*, v. 43, n. 12, p. 2233-2238, 1982.
- MOLLET, T.A.; ELMORE, R.G.; BLANCHARD, T.L. BERG, J.N. Effects of intrauterine infusion of *Escherichia coli* endotoxin in anestrus and steroid treated pony mares. *Theriogenology*, v. 23, n. 4, p. 597-606, 1985.

- MOORE, J.N. Endotoxemia: definition, characterization, and host defenses. *Compendium on Continuing Education for the Veterinary Practitioners*, v. 3, p.355–359, 1981.
- MOORE, J.N. II: A Perspective on Endotoxemia. In: Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 47, San Diego, *Proceedings...AAEP*: San Diego, v. 47, p. 61-74, 2001.
- MOORE, J.N.; GARNER, H.E.; BERG, J.N.; SPROUSE, R.F. Intracecal endotoxin and lactate during the onset of equine laminitis: A preliminary report. *American Journal of Veterinary Research*, v. 40, p. 722-723, 1979.
- MOORE-COLYER, M.J.S.; HYSLOP, J.J.; LONGLAND, A.C.; CUDDEFORD, D. Intra-caecal fermentation parameters in ponies fed botanically diverse fibre-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, v. 84, p. 183-197, 2000.
- NADEAU, J.A.; ANDREWS, F.M.; PATTON, C.S.; ARGENZIO, R.A.; MATHEW, A.G.; SAXON, A.M. Effect of hydrochloric, acetic, butyric, and propionic acids on pathogenesis of ulcers in the nonglandular portion of the stomach of horses. *American Journal of Veterinary Research*, v. 4, p. 404–412, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. *Nutrients Requirements of Horses*. 5 ed. Washington, D. C., 1989, 100 p.
- OBEL, N. Studies on the Histopathology of Acute Laminitis. *Veterinary Stockholm*, v. 1, n. 1, p. 1-50, 1948.
- OLIVEIRA, H.P.; ALVES, G.E.S.; REZENDE, C.M.F. Eutanásia em Medicina Veterinária. In: *Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA)*. Escola de Veterinária da UFMG. Belo Horizonte, p. 1-14, 2002.
- PERDUE, M.H.; MCKAY, D.M. Integrative immunophysiology in the intestinal mucosa. *American Journal of Physiology*, v. 30, p. G151–G165, 1994.
- POLLITT, C.C.; DAVIES, C.T. Equine laminitis: its development coincides with increased sublamellar blood flow. *Equine Veterinary Journal*, v. 26, p. 125-32, 1998.
- POTTER, G.D.; ARNOLD, F.F.; HOUSEHOLDER, D.D.; HANSEN, D.H.; BROWN, K.M. Digestion of starch in the small or large intestine of the equine. *Pferdeheilkunde*, v. 1, p. 107-111, 1992.
- RADICKE, S.; KIENZLE, E.; MEYER, H. Preileal apparent digestibility of oats and corn starch and consequences for cecal metabolism. In: Equine Nutrition and Physiology Symposium, 12th Equine Nutrition and Physiology Society, Savoy, *Proceedings...ENPS*, p. 43–48, 1991.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K. W. *Clínica Veterinária – Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Eqüinos*. 9^a ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
- ROBBERECHT, W. Oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology*, v. 247, Suppl 1, p. 11-6, 2000.
- ROBERTS, M.C. Carbohydrate digestion and absorption in the equine small intestine. *Journal of South African Veterinary Association*, v.46, p.19-27, 1975.
- ROBERTS, M.C.; CLARKE, L.L.; JOHNSON, C.M. Castor oil-induced diarrhea in ponies: a model for acute colitis. *Equine Veterinary Journal*, v. 7, p. 60-67, 1989.

- ROONEY, J.R.; BRYANS, J.T.; PRICKETT, M.E.; ZENT, W.W. Exhaustion shock in the horse. *Cornell Veterinarian*, v. 56, p. 220–235, 1966.
- ROWE, J.B.; PETHICK, D.W.; JOHNSON, K.G. Controlling acidosis in the equine hindgut. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*: University of New England, Armidale, NSW, Australia, v. 10, p. 136-142, 1995.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. *Análise de Alimentos – Métodos Químicos e Biológicos*. 3.ed., Viçosa, UFV: Imprensa Universitária, 2002, 235p.
- SMITH, B. P. *Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais*. São Paulo, Manole, 1993, 900p.
- SPROUSE, R.F.; GARNER, H.E.; GREEN, E.M. Plasma endotoxin levels in horses subjected to carbohydrate induced laminitis. *Equine Veterinary Journal*, v. 9, p. 25-28, 1987.
- TEATHER, S.; CUTHBERT, A.W. Induction of bradykinin B1 receptors in rat colonic epithelium. *Brazilian Journal Pharmacology*, v. 121, n. 5, p. 1005–1011, 1997.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. SAEG - *Sistema de análises estatísticas e genéticas*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. Manual do usuário, 150p.
- VALADÃO, C.A.A. Endotoxemia no abdome agudo equino: causas e conseqüências – In: Simpósio Internacional do Cavalo Atleta – IV Semana do Cavalo, Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, *Anais*, p. 39-45, 2005.
- VERSPAGET, H.W.; MULDER, T.P.J.; VAN DER SLUYS VEER, A.; PEAN, A.S.; LAMERS, C.B.H.W. Reactive oxygen metabolites and colitis: A disturbed balance between damage and protection. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 26, p. 44–51, 1991.
- VERVUERT, I.; COENEN, M. Nutritional management in horses: Selected aspects to gastrointestinal disturbances and geriatric horses. In: European Equine Health & Nutrition Congress, 2, Lelystad, Netherlands. *Proceedings...* Lelystad, p. 20-30, 2003.
- VLESSIS, A.A.; GOLDMAN, R.K.; TRUNKEY, D.D. New concepts in the pathophysiology of oxygen metabolism during sepsis. *British Journal of Surgery*, v. 82. p. 870–6, 1995.
- WARDLE, T.D.; HALL, L.; TURNBERG, L.A. Inter-relationships between inflammatory mediators released from colonic mucosa in ulcerative colitis and their effects on colonic secretion. *Gut*, v. 34, p. 503–508, 1993.
- WEISS, D. J.; GEOR, R.J.; JOHNSTON, G. Microvascular thrombosis associated with onset of acute laminitis in ponies. *American Journal of Veterinary Research*, v. 55, n. 5, p. 606-612, 1994.
- WEISS, S.J. Tissue destruction by neutrophils. *New England Journal of Medicine*, v. 320, n. 6, p. 365–376, 1989.
- WHITE N.A. Examination and diagnosis of the acute abdomen, In: WHITE N.A. (ed.) *The Equine Acute Abdomen*. 1^a ed. Lea & Febiger, Pennsylvania. 1990, p. 102-142.
- WILLARD, J.G.; WILLARD, J.C.; WOLFRAM, S.A.; BAKER, J.P. Effect of diet on cecal pH and feeding behavior of horses. *Journal of Animal Science*, v. 45, p. 87-93, 1977.
- ZEYNER, A.; GEIBLER, C.; DITTRICH, A. Effects of hay intake and feeding sequence on variables in faeces and faecal water (dry matter, pH value, organic acids, ammonia, buffering capacity) of horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 88, p. 7-19, 2004.

7 GLOSSÁRIO

AGVs	ácidos graxos voláteis;
AO	aldeído oxidase;
CD	cólon descendente;
CDD	cólon dorsal direito;
CHCM	concentração de hemoglobina corpuscular médio;
CHO _H	carboidratos hidrolisáveis;
Cl ⁻	ânio cloreto;
CT	cólon transverso;
CT ₁	capacidade tampão;
CV	coeficiente de variação;
CVD	cólon ventral direito;
CVE	cólon ventral esquerdo;
DAB	diaminobenzidine;
EB	energia bruta;
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético;
EE	estrato etéreo;
EU	unidades de endotoxinas;
FDA	fibra em detergente ácido;
FDN	fibra em detergente neutro;
FIB	fibrinogênio;
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio;
Hb	hemoglobina;
HCO ₃	bicarbonato;
He	hematimetria;
HE	hematoxilina e eosina;
HOCl	ácido hipoclorito;
ID	intestino delgado;
LAL	<i>Limulus Amebocyte Lysate</i> ;
LIG	lignina;
LPS	lipopolissacarídeos;
MO	matéria orgânica;
MPO	mieloperoxidase;
MS	matéria seca;
O ₂ ⁻	ânio superóxido;
OH ⁻	ânio hidroxila;
PB	proteína bruta;
PMNs	polimorfonucleares;
PO ₄	fosfato;
PPT	proteína plasmática total;
ROMs	metabólitos de oxigênio reativo;
TBS	salina tritamponada;
TGI	trato gastrointestinal;
TPC	tempo de preenchimento capilar;
VG	volume globular;
VGM	volume globular médio;
XO	xantina oxidase.

ANEXOS

Anexo A – Identificação dos eqüinos utilizados no experimento.

Anexo B – Procedimentos para emblocamento em parafina dos fragmentos do trato gastrointestinal para análise histopatológica.

Anexo C – Tabelas de análise de variância.

Anexo A - Identificação dos eqüinos utilizados no experimento.

Grupos Experimentais	Nome	Ordem (Número)	Idade (Anos)
Controle	Castanho	1	17
	Queimado	2	18
24 horas Pós-sobrecarga	300	3	17
	Baio	4	27
	Tordilho	5	18
	Tordilhinho	6	25
36 horas Pós-sobrecarga	Amarilho	7	20
	Pampa	8	19

Anexo B – Procedimentos para emblocamento em parafina dos fragmentos do trato gastrointestinal para análise histopatológica.

- Lavar o material em água corrente por 30 minutos;
- 8:30h – Álcool 96%;
- 10:00h – Álcool absoluto (I);
- 11:00h – Álcool absoluto (II);
- 14:00h – Álcool absoluto (III);
- 16:00h – Álcool absoluto (IV);
- 17:00h – Álcool absoluto (V) e manter durante a noite;
- 8:30h – Xilol (I);
- 10:00h – Xilol (II);
- 14:00h – Xilol (III);
- 17:00h – Parafina (I) e manter durante a noite;
- 8:30h – Parafina (II);
- 10:00h Parafina (III);
- Emblocar.

Anexo C – Tabelas de análise de variância.

Análise de variância dos valores médios da frequência cardíaca até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	0.9307604E-02	0.3102535E-02	0.980	*****
REP	5	0.1241124E-01	0.2482249E-02	0.784	*****
Resíduo	11	0.3482715E-01	0.3166104E-02		
Coeficiente de Variação = 3.523					

Análise de variância dos valores médios de frequência respiratória até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	198.0000	66.00000	3.393	0.05747
REP	5	162.0000	32.40000	1.665	0.22317
Resíduo	11	214.0000	19.45455		
Coeficiente de Variação = 22.736					

Análise de variância dos valores médios da temperatura corporal até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	0.2911111	0.9703704E-01	0.472	*****
REP	5	0.7577778	0.1515556	0.737	*****
Resíduo	11	2.262222	0.2056566		
Coeficiente de Variação = 1.208					

Análise de variância dos valores médios do tempo de preenchimento capilar até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	1.819444	0.6064815	5.278	0.01689
REP	5	0.5694444	0.1138889	0.991	*****
Resíduo	11	1.263889	0.1148990		
Coeficiente de Variação = 15.065					

Análise de variância dos valores médios da temperatura superficial do casco anterior direito até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	8.097667	2.699222	1.073	0.40820
REP	4	23.72900	5.932250	2.358	0.13115
Resíduo	9	22.63900	2.515444		
Coeficiente de Variação = 5.108					

Análise de variância dos valores médios da temperatura superficial do casco anterior esquerdo até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	9.084000	3.028000	1.039	0.42115
REP	4	11.60400	2.901000	0.995	*****
Resíduo	9	26.23600	2.915111		
Coeficiente de Variação = 5.464					

Análise de variância dos valores médios da temperatura superficial do casco posterior direito até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	10.79467	3.598222	1.113	0.39382
REP	4	22.61067	5.652667	1.748	0.22333
Resíduo	9	29.10533	3.233926		
Coeficiente de Variação = 5.812					

Análise de variância dos valores médios da temperatura superficial do casco posterior esquerdo até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	14.20700	4.735667	1.313	0.32928
REP	4	17.72900	4.432250	1.229	0.36443
Resíduo	9	32.46300	3.607000		
Coeficiente de Variação = 6.053					

Análise de variância dos valores médios do volume globular até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	0.3111669E-01	0.1037223E-01	4.619	0.02518
REP	5	0.7370922E-02	0.1474184E-02	0.656	*****
Resíduo	11	0.2470263E-01	0.2245694E-02		
Coeficiente de Variação = 3.210					

Análise de variância dos valores médios da proteína plasmática total até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	4.580000	1.526667	9.615	0.00208
REP	5	16.28000	3.2560002	0.505	0.00003
Resíduo	11	1.746667	0.1587879		
Coeficiente de Variação = 5.271					

Análise de variância dos valores médios hemoglobina até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	0.2661865	0.8872885E-01	2.035	0.16741
REP	5	0.2965921	0.5931842E-01	1.360	0.31062
Resíduo	11	0.4796397	0.4360361E-01		
Coeficiente de Variação = 7.925					

Análise de variância dos valores médios de fibrinogênio até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	6.229092	2.076364	2.194	0.14621
REP	5	5.941981	1.188396	1.256	0.34833
Resíduo	11	10.40800	0.9461822		
Coeficiente de Variação = 10.585					

Análise de variância dos valores médios do volume globular médio até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	376.1928	125.3976	3.026	0.07538
REP	5	685.4074	137.0815	3.307	0.04571
Resíduo	11	455.9072	41.44611		
Coeficiente de Variação = 11.168					

Análise de variância dos valores médios da concentração de hemoglobina corpuscular médio até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	84.83577	28.27859	2.955	0.07950
REP	5	201.4625	40.29250	4.211	0.02198
Resíduo	11	105.2502	9.568201		
Coeficiente de Variação = 9.718					

Análise de variância dos valores médios do número de hemácias até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	0.4293833	0.1431278	1.126	0.38070
REP	5	3.493850	0.6987700	5.497	0.00888
Resíduo	11	1.398317	0.1271197		
Coeficiente de Variação = 6.994					

Análise de variância dos valores médios do número de leucócitos global até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	0.8016543E+08	0.2672181E+08	1.895	0.18894
REP	5	0.4265594E+08	8531189.	0.605	*****
Resíduo	11	0.1551208E+09	0.1410189E+08		
Coeficiente de Variação = 35.242					

Análise de variância dos valores médios do número de eosinófilos até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	106360.2	35453.40	3.557	0.05109
REP	5	228845.1	45769.01	4.592	0.01655
Resíduo	11	109637.4	9967.037		
Coeficiente de Variação = 36.170					

Análise de variância dos valores médios do número de bastonetes até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	4.940616	1.646872	3.752	0.04457
REP	5	8.375177	1.675035	3.816	0.02995
Resíduo	11	4.828584	0.4389622		
Coeficiente de Variação = 31.938					

Análise de variância dos valores médios do número segmentados até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	0.2810599E+08	9368662.	1.595	0.24664
REP	5	0.2279706E+08	4559412.	0.776	*****
Resíduo	11	0.6462080E+08	5874618.		
Coeficiente de Variação = 43.231					

Análise de variância dos valores médios do número de linfócitos até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	6809449.	2269816.	0.913	*****
REP	5	0.1665687E+08	3331374.	1.339	0.31787
Resíduo	11	0.2736060E+08	2487327.		
Coeficiente de Variação = 39.697					

Análise de variância dos valores médios do número de monócitos até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	3	60744.44	20248.15	0.584	*****
REP	5	249890.2	49978.05	1.441	0.28435
Resíduo	11	381445.8	34676.89		
Coeficiente de Variação = 41.075					

Análise de variância dos valores médios da concentração plasmática de lactato até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	10	1.172298	0.1172298	2.772	0.01096
REP	5	0.3489046	0.6978092E-01	1.650	0.16979
Resíduo	39	1.649325	0.4229037E-01		
Coeficiente de Variação = 23.454					

Análise de variância dos valores médios da concentração plasmática de glicose até 36 horas após sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPOS	10	14287.82	428.782	3.469	0.00245
REP	5	4618.337	923.6673	2.242	0.06922
Resíduo	39	16064.79	411.9177		
Coeficiente de Variação = 21.456					

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta estomacal nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	6.779772	3.389886	2.597	.18925
REP	2	0.6272222E-02	0.3136111E-02	0.002	*****
Resíduo	4	5.220444	1.305111		
Coeficiente de Variação = 29.566					

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do duodeno nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	2.346200	1.173100	10.762	0.02456
REP	2	0.5460000E-01	0.2730000E-01	0.250	*****
Resíduo	4	0.4360000	0.1090000		
Coeficiente de Variação = 5.490					

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do jejuno nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	0.1603389	0.8016944E-01	1.021	0.43822
REP	2	0.8270556E-01	0.4135278E-01	0.527	*****
Resíduo	4	0.3140111	0.7850278E-01		
Coeficiente de Variação = 3.885					

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do íleo nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	0.6340667	0.3170333	2.464	0.20073
REP	2	1.071667	0.5358333	4.165	0.10526
Resíduo	4	0.5146667	0.1286667		
Coeficiente de Variação = 5.012					

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta cecal nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	0.5968167	0.2984083	0.565	*****
REP	2	0.7848167	0.3924083	0.743	*****
Resíduo	4	2.112167	0.5280417		
Coeficiente de Variação = 11.257					

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do cólon ventral direito nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	2.138822	1.069411	1.760	0.28290
REP	2	0.5828889E-01	0.2914444E-01	0.048	*****
Resíduo	4	2.430178	0.6075444		
Coeficiente de Variação = 13.436					

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do cólon ventral esquerdo nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	2.731517	1.365758	1.816	0.27471
REP	2	0.9911667E-01	0.4955833E-01	0.066	*****
Resíduo	4	3.008467	0.7521167		

Coeficiente de Variação = 15.193

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do cólon dorsal direito nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	6.907400	3.453700	74.380	0.00069
REP	2	0.9866667E-02	0.4933333E-02	0.106	*****
Resíduo	4	0.1857333	0.4643333E-01		

Coeficiente de Variação = 4.165

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do cólon transversal nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	6.718822	3.359411	81.616	0.00057
REP	2	0.3602222E-01	0.1801111E-01	0.438	*****
Resíduo	4	0.1646444	0.4116111E-01		

Coeficiente de Variação = 3.843

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do cólon descendente nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	7.200200	3.600100	71.811	0.00073
REP	2	0.6326667E-01	0.3163333E-01	0.631	*****
Resíduo	4	0.2005333	0.5013333E-01		

Coeficiente de Variação = 4.214

Análise de variância dos valores médios do pH fecal nos grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	4.675200	2.337600	48.016	0.00160
REP	2	0.9034667	0.4517333	9.279	0.03144
Resíduo	4	0.1947333	0.4868333E-01		

Coeficiente de Variação = 3.885

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do trato gatrogastrointestinal do grupo controle.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
SEGMENTO	10	42.01137	4.201137	54.567	0.00000
Resíduo	22	1.693800	0.7699091E-01		

Coeficiente de Variação = 4.391

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do trato gatrogastrintestinal 24 horas após a sobrecarga dietética.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
SEGMENTO	10	25.41000	2.541000	7.780	0.00003
Resíduo	22	7.185033	0.3265924		

Coeficiente de Variação = 10.150

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta do trato gatrogastrintestinal 36 horas após a sobrecarga dietética.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
SEGMENTO	10	39.64142	3.964142	9.583	0.00000
Resíduo	22	9.100200	0.4136455		

Coeficiente de Variação = 11.929

Regressão linear dos valores médios do pH fecal em função do tempo.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Probab.
Devido a Regressão	1	2.944189	2.944189	59.77	0.0000
Independente	9	0.4432974	0.4925527E-01		

$r^2 = 0,855$

Regressão linear dos valores médios da capacidade tampão (CT₂) em função do tempo.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Probab.
Devido a Regressão	1	8.042596	8.042596	8.16	0.0461
Independente	4	3.942321	0.9855802		

$r^2 = 0,588$

Regressão linear dos valores médios da capacidade tampão (CT₁) em função do tempo.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Probab.
Devido a Regressão	1	82.17620	82.17620	91.50	0.0000
Independente	7	6.286400	0.8980571		

$r^2 = 0,919$

Análise de variância dos valores médios do pH conteúdo da digesta no grupo controle.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
SEGMENTOS	10	42.00026	4.200026	60.076	0.00000
Resíduo	22	1.538067	0.6991212E-01		

Coeficiente de Variação = 4.185

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta 24 horas após a sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
SEGMENTOS	10	26.49051	2.649051	8.152	0.00002
Resíduo	22	7.149300	0.3249682		

Coeficiente de Variação = 10.223

Análise de variância dos valores médios do pH do conteúdo da digesta 36 horas após a sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
SEGMENTOS	10	39.81370	3.981370	9.748	0.00000
Resíduo	22	8.985000	0.4084091		
Coeficiente de Variação = 11.863					

Análise de variância dos valores médios do teor de água fecal até 36 horas após a sobrecarga dietética com amido.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	10	308.5463	30.85463	1.160	0.34618
REP	5	178.1245	35.62490	1.339	0.26838
Resíduo	39	1037.658	26.60662		
Coeficiente de Variação = 7.101					

Análise de variância dos valores médios do teor de água do conteúdo da digesta estomacal entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	768.8314	384.4157	3.672	0.15617
REP	2	398.7906	199.3953	1.905	0.29240
Resíduo	3	314.0289	104.6763		
Coeficiente de Variação = 12.389					

Análise de variância dos valores médios do teor de água do conteúdo da digesta do intestino delgado entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	40.75341	20.37670	6.301	0.08432
REP	2	11.14418	5.572088	1.723	0.31751
Resíduo	3	9.702132	3.234044		
Coeficiente de Variação = 1.862					

Análise de variância dos valores médios do teor de água do conteúdo da digesta cecal entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	6.428265	3.214133	0.236	*****
REP	2	66.74071	33.37035	2.447	0.23427
Resíduo	3	40.91010	13.63670		
Coeficiente de Variação = 3.987					

Análise de variância dos valores médios do teor de água do conteúdo da digesta do cólon ventral direito entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	48.77055	24.38528	3.870	0.14762
REP	2	70.56101	35.28051	5.599	0.09712
Resíduo	3	18.90239	6.300796		
Coeficiente de Variação = 2.828					

Análise de variância dos valores médios do teor de água do conteúdo da digesta do cólon ventral esquerdo entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	32.56378	16.28189	2.571	0.22367
REP	2	24.48159	12.24079	1.933	0.28884
Resíduo	3	18.99941	6.333136		
Coeficiente de Variação = 2.905					

Análise de variância dos valores médios do teor de água do conteúdo da digesta do cólon dorsal direito entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	28.03604	14.01802	1.418	0.36864
REP	2	55.25303	27.62651	2.794	0.20648
Resíduo	3	29.66559	9.888530		
Coeficiente de Variação = 3.721					

Análise de variância dos valores médios do teor de água do conteúdo da digesta do cólon transversal entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	22.48473	11.24236	1.114	0.43475
REP	2	22.99735	11.49867	1.139	0.42849
Resíduo	3	30.28203	10.09401		
Coeficiente de Variação = 3.819					

Análise de variância dos valores médios do teor de água do conteúdo da digesta do cólon descendente entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	150.8324	75.41620	3.749	0.15276
REP	2	49.26009	24.63004	1.224	0.40853
Resíduo	3	60.34671	20.11557		
Coeficiente de Variação = 5.492					

Análise de variância dos valores médios da capacidade tampão (CT₂) do conteúdo da digesta do jejuno entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	431.7539	215.8770	0.648	*****
REP	2	634.1810	317.0905	0.952	*****
Resíduo	3	999.4232	333.1411		
Coeficiente de Variação = 35.217					

Análise de variância dos valores médios da capacidade tampão (CT₂) do conteúdo da digesta do íleo entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	1790.431	895.2155	1.644	0.32953
REP	2	319.9596	159.9798	0.294	*****
Resíduo	3	1633.517	544.5056		
Coeficiente de Variação = 43.898					

Análise de variância dos valores médios da capacidade tampão (CT₂) do conteúdo da digesta do ceco entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	466.2705	233.1352	0.757	*****
REP	2	2512.105	1256.052	4.077	0.13948
Resíduo	3	924.1845	308.0615		

Coeficiente de Variação = 42.356

Análise de variância dos valores médios da capacidade tampão (CT₁) do conteúdo da digesta do jejuno entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	270.8437	135.4219	0.153	*****
REP	2	1137.698	568.8490	0.644	*****
Resíduo	3	2649.208	883.0694		

Coeficiente de Variação = 33.099

Análise de variância dos valores médios da capacidade tampão (CT₁) do conteúdo da digesta do fêo entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	6635.168	3317.584	2.064	0.27303
REP	2	3175.324	1587.662	0.988	*****
Resíduo	3	4821.871	1607.290		

Coeficiente de Variação = 51.430

Análise de variância dos valores médios da capacidade tampão (CT₁) do conteúdo da digesta do ceco entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	2388.844	1194.422	0.479	*****
REP	2	5732.883	2866.441	1.149	0.42611
Resíduo	3	7484.250	2494.750		

Coeficiente de Variação = 50.668

Análise de variância dos valores médios da capacidade tampão (CT₁) do conteúdo da digesta do cólon ventral direito entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	2732.177	1366.089	0.834	*****
REP	2	20.16667	10.08333	0.006	*****
Resíduo	3	4913.271	1637.757		

Coeficiente de Variação = 78.107

Análise de variância dos valores médios da capacidade tampão (CT₁) do conteúdo da digesta do cólon ventral esquerdo entre os grupos experimentais.

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TEMPO	2	826.8926	413.4463	0.440	*****
REP	2	30.37500	15.18750	0.016	*****
Resíduo	3	2818.453	939.4844		

Coeficiente de Variação = 67.054