

**UFRRJ
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

DISSERTAÇÃO

**Avaliação de Parâmetros Fisiológicos e do
Metabolismo Mitocondrial Muscular em Equinos de
Concurso Completo de Equitação Submetidos a
Exercício Intenso**

Ana Cláudia Tavares Miranda

2014



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

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E DO
METABOLISMO MITOCONDRIAL MUSCULAR EM EQUINOS
DE CONCURSO COMPLETO DE EQUITAÇÃO SUBMETIDOS A
EXERCÍCIO INTENSO**

ANA CLÁUDIA TAVARES MIRANDA

Sob a Orientação do Professor
Fernando Queiroz de Almeida

e Coorientação do Professor
Alexandre Herculano Borges de Araújo

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2014

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

ANA CLÁUDIA TAVARES MIRANDA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 17/02/2014

Fernando Queiroz de Almeida. Ph.D. UFRRJ
(Orientador)

Antônio Galina Filho. Ph.D. UFRJ

Cristiane Divan Baldani. Dr. UFRRJ

Aos meus pais, minha irmã e aos animais,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pelo apoio e carinho durante esses anos de estudo. Obrigada por acreditarem em mim.

Ao Professor Fernando Queiroz de Almeida pelos anos de orientação e aos ensinamentos que me proporcionou. Agradeço pelo apoio e confiança.

À Escola de Equitação do Exército, em especial ao Comandante Ataíde, por ceder os animais para realização do estudo e por acreditar no nosso trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro por participarem na minha formação profissional.

Ao Professor Antônio Galina, e seus alunos Dionízio Ramos e Gustavo Gicaybam por me acolherem com carinho em seu laboratório e pela grande ajuda na realização das análises e interpretação dos resultados.

A Dra. Flora D'Angelis pelos ensinamentos sobre biópsia muscular.

Aos amigos Fernanda Godoi e Felipe Padilha pelo apoio e companheirismo durante o período experimental, e pela amizade durante esses anos.

Aos membros da equipe: Luana Dimache, Márcia Ramos, Marcos Pereira, Aline Tonusse, Agnaldo Andrade, Marcela Teixeira, Chiara Oliveira, Pablo Trigo, Luís Tenório e Tatiane Noronha pela ajuda na realização desse trabalho.

Às minhas amigas Gabrielli, Fernanda, Andresa, Kelly, Kênea, Bruna e Julianna pelos momentos de alegria que me proporcionaram. Em especial, agradeço a Fernanda e Gabrielli pelo apoio e carinho.

Aos cavalos Orla, Órbita, Morgana, Neres, Ostrogodo, Nagóia, Onagro, Maracatu, Nilo, Nando, Nan, Opala, Natalino e Minuano por participaram do experimento e pelos ensinamentos.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente me ajudaram a realizar esse sonho.

**“Podemos julgar o coração de um homem pela forma como ele trata os animais.”
(Immanuel Kant)**

RESUMO

MIRANDA, Ana Cláudia Tavares. **Avaliação de Parâmetros Fisiológicos e do Metabolismo Mitocondrial Muscular em Equinos de Concurso Completo de Equitação Submetidos a Exercício Intenso.** 2014. 86 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

O estudo teve como objetivo avaliar as alterações nos parâmetros fisiológicos relacionados ao desempenho físico antes e após teste de esforço máximo em esteira de alta velocidade de equinos iniciantes de Concurso Completo de Equitação. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Avaliação do Desempenho de Equinos, Escola de Equitação do Exército, Rio de Janeiro, Brasil. Foram usados quatorze equinos da raça Brasileiro de Hipismo, com idade entre 4 e 6 anos, sendo iniciantes de CCE. Foi realizado um teste incremental em esteira de alta velocidade, constituído por três fases, sendo: aquecimento - passo a 1,7m/s por 2 minutos, trote a 4,0 m/s por 2 minutos e trote a 4 m/s em esteira inclinada a 3% durante mais 2 minutos; galopes - mantendo-se a inclinação, iniciando na velocidade de 5 m/s com aumento da velocidade a cada minuto em 1m/s até atingir 8 m/s onde permaneceram até a exaustão e não conseguindo acompanhar a velocidade da esteira; e recuperação - passo a 1,7 m/s por 10 minutos. As amostras foram coletadas antes e, imediatamente, após o fim do teste. As análises bioquímicas foram realizadas em espectrofotômetro utilizando kit comerciais. A frequência cardíaca foi acompanhada com frequencímetro. As amostras de músculo foram obtidas do músculo glúteo médio, e foram divulsionadas e transferidas para uma solução de manutenção - BIOPS, permanecendo à 4 °C até a análise. A respiração mitocondrial foi avaliada utilizando oxígrafo de alta resolução (Oroboros). O protocolo foi: Piruvato/Malato (5/5mM), Adenosina difosfato (1mm), Succinato (20 mm), Adenosina difosfato (1mm), Citocromo c (0,01 mM), Oligomicina (2µg/ml), FCCP (0,001 mM), Rotenona (0,5 uM), Antimicina A (2,5 uM), em meio MIR05. Os resultados foram corrigidos por segundo/peso (mg) e expressos em média e desvio padrão. Foi usado teste T pareado e $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Os valores de lactato plasmático antes e após o exercício foram de $0,4 \pm 0,1$ mmol/L e $12,1 \pm 4,6$ mmol/L, respectivamente. Os valores médios de V2, V4 e V200 foram $6,4 \pm 1,55$; $8,8 \pm 1,97$ e $9,3 \pm 2,41$ m/s, respectivamente. Houve aumento dos valores de HT e PPT ($p < 0,05$) antes e após no último galope do teste. Os valores de glicose plasmática diminuíram durante o exercício e voltaram aos valores fisiológicos durante a recuperação. Houve aumento ($p < 0,05$) nos valores séricos de CK após 6 horas do final do teste, porém não houve diferença nos valores de LDH ($p > 0,05$). Os valores de pH e HCO_3^- diminuíram ($p < 0,05$) após exercício. Houve aumento dos valores de K^+ e Na^+ após o teste de esforço ($p < 0,05$) e diminuição dos valores de Ca^{2+} . A respiração mitocondrial máxima não teve alteração após exercício até fadiga. No entanto, houve um aumento no estado 3 da respiração usando os substratos Piruvato e Malato, e a respiração não-mitocondrial aumentou após o exercício. As alterações fisiológicas observadas mostraram que o teste incremental foi intenso para os equinos iniciantes. Houve pouca alteração na fisiologia mitocondrial do músculo esquelético e ocorreu aumento das reações de enzimas oxidases do músculo glúteo médio após exercício intenso.

Palavra-chave: Teste esforço progressivo. Respirometria de alta resolução. Mitocôndria. Equinos. Músculo. Exercício.

ABSTRACT

MIRANDA, Ana Cláudia Tavares. **Evaluation of Physiological Parameters and Muscle's Mitochondrial Metabolism of Eventing Horses Submitted to Intense Exercise.** 2014. 86 p. Dissertation (Master of Science in Animal Science). Animal Science Institute, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

The study was carried out to evaluate the changes in physiological parameters muscle's mitochondrial metabolism related to physical performance before and after maximal exercise treadmill test in eventing horses. The research was conducted at Laboratory of Horse Performance Evaluation, Brazilian Army Cavalry School, RJ, Brazil. Fourteen Brazilian Sport Horses were used, age ranging from 4 to 6 years old, and beginners at any exercise program. The incremental test consisted of three stages: warm up – walk at 1.7m/s for 2 minutes, trot at 4 m/s for 2 minutes and, with the treadmill inclined at 3%, trot at 4 m/s for 2 minutes; gallops – maintaining the inclination, started at a 5m/s speed, increasing the velocity 1m/s every minute until 8m/s, where the horses remained until the exhaustion; and recovery – walk at 1.7m/s for 10 minutes. The samples were collected before and immediately after the end of the test. Blood analyzes were measured in a spectrophotometer using commercial kit. Heart rate was monitored with frequency counter. Muscle samples were obtained from the middle gluteal muscle, it was transferred into ice-cold maintenance solution BIOPS. Mitochondrial respiration was assessed with O2K oxygraph of high resolution (Oroboros). The protocol was: Piruvate/Malate (5/5mM), Adenosine diphosphate (1mM), Succinate (20mM), Adenosine diphosphate (1mM), Cytochrome c (0,01mM), Oligomycin (2µg/ml), Carbonyl-cyane-phenyl-hydrozone (0,001mM), Rotenone (0,5µM), Antimycin A (2,5µM); in MIR05. The results were normalized per segundo per gram of wet weight and expressed as mean and SD. Paired *t*-test was used and $p < 0.05$ was considered as statistically significant. There was observed the lactate values before and after exercise was $0,4 \pm 0,1$ mmol/L and $12,09 \pm 4,6$ mmol/L, respectively. The results of VI2 and VI4 were subjected to a regression analysis based on the velocity and estimated in 6.9 ± 2.3 m/s and 9.5 ± 3.3 m/s, respectively. The V200 value, $8,9 \pm 1,2$ m/s, was estimated by linear regression based on the gallops velocities. The values of HT and PPT ($p < 0.05$) increased after the test. The plasma glucose values decreased during exercise and returned to physiological values during recovery. The CK values increased ($p < 0.05$) 6 hours after the test ended, but the LHD values weren't difference after the test. The pH and HCO_3^- decreased ($p < 0.05$) after exercise. The K^+ and Na^+ values after the test increased ($p < 0.05$) and Ca^+ values decreased after the exercise. However, there was an increase in state 3 respiration with Piruvate/Malate substrate, and non-mitochondrial respiration after exercise. The physiological changes showed that the incremental test was intense to horses. There is little change in mitochondrial physiology and increased reactions by enzymes oxidases of gluteus middles muscle after intense exercise.

Keyword: Progressive effort test. High resolution respirometry. Mitochondria. Equine. Muscle. Exercise.

LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

°C	Graus Celsius
ABCCH	Associação Brasileira de Criadores do Cavalo de Hipismo
acetil-CoA	Acetil-coenzima A
ADP+Pi	Adenosina difosfato ligado ao fosfato inorgânico
AG	ânion gap
AMP	Adenosina monofosfato
ATP	Adenosina trifosfato
BE	Bases fortes plasmáticas
Ca ⁺²	íons cálcio
CCE	Concurso Completo de Equitação
CK	Creatinaquinase
CK MM	Creatinaquinase muscular
CK MB	Creatinaquinase muscular e cerebral
CK BB	Creatinaquinase cerebral
Cl ⁻	íon cloro
CO ₂	Gás carbônico
CP	Creatina fosfato
D.P.	Desvio Padrão
EDTA	cido etilenodiamino tetra-acético
EsEqEx	Escola de Equitação do Exército
FAD	Dinucleótido de flavina e adenina
FADH ₂	Dinucleótido de flavina e adenina reduzido
FCCP	Carbonyl-cyane-phenyl-hydrozone
FEI	Federação Equestre Internacional
H ⁺	íons hidrogênio
HCO ₃ ⁻	on Bicarbonato
HT	Hematócrito
K ⁺	íon potássio
Kg	Quilograma
Lac	Lactato
LADeEq	Laboratório de Avaliação do Desempenho de Equinos
LDH	Lactato desidrogenase
mg/dl	Miligrama por decilitro
Mg ⁺²	íon magnésio
Mmol/L	Milimol por litro
Na ⁺	íon sódio
NADH ₂	Forma reduzida de nicotinamida adenina dinucleótido
O ₂	Oxigênio
OBLA	Onset Blood Lactate Accumulation
PaCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono arterial
pCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono
pH	Potencial Hidrogeniônico
Pi	Fosfato inorgânico
pO ₂	Pressão parcial de oxigênio
SBBCH	"Stud Book" Brasileiro do Cavalo de Hipismo
SID	Strong ions difference
sO ₂	Saturação de oxigênio

SRG	Serviço de Registro Genealógico
TTFA	Tenotrifluoroacetona
U/L	Unidades por litro
UQ	Coenzima Q
UQH•	Semiquinona
UQH ₂	Ubiquinol
V200	Velocidade na qual a frequência cardíaca é de 200 batimentos por minuto
V2	Velocidade na qual o lactato sanguíneo alcança o valor de 2 mmol/L
V4	Velocidade na qual o lactato sanguíneo alcança o valor de 4 mmol/L
VO _{2max}	Volume máximo de oxigênio inspirado

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descrição	Página
Figura 1	Variações da curva de dissociação da oxi-hemoglobina em função das variações da concentração de hemoglobina, temperatura corpórea e pCO ₂ (PRATT, 2006).....	21
Figura 2.	Equino preparado para o teste em esteira de alta velocidade com o frequencímetro Pollar, cateterizado e com equipamentos de proteção.....	25
Figura 3.	Teste incremental em esteira de alta velocidade.....	26
Figura 4.	Biópsia muscular no glúteo médio esquerdo imediatamente após o teste de esforço máximo na esteira de alta velocidade.....	26
Figura 5.	A. Local de realização da biópsia no terço médio cranial de uma linha imaginária que se estende da tuberosidade coxal à base da cauda; B. Bloqueio local com lidocaína 2%; C. Incisão na pele e subcutâneo utilizando lâmina de bisturi nº 21; D. Realização da biópsia muscular do músculo glúteo médio direito utilizando agulha tipo Bergström nº 6.0.....	27
Figura 6.	A. Agulha tipo Bergström nº 6.0; B. Amostras musculares realizadas em sequência em placa de Petri com gases úmidas.....	28
Figura 7.	Amostras musculares divulsionadas acondicionadas à 4°C em 2 ml de BIOPS.....	29
Figura 8.	Amostras plasmáticas após centrifugação acondicionadas em <i>eppendorf</i> para serem congeladas.....	31
Figura 9.	Representação gráfica dos valores da respiração mitocondrial quando adicionado os seguintes substratos piruvato/malato (5/5 mM), ADP (1 mM), citocromo c (0,5 mM), succinato (10 mM), ADP (1 mM), oligomicina (1 µg), FCCP (1 µM), rotenona (0,5 µM), TTFA (0,3 µM) e antimicina A (5 µM) antes do exercício (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	34
Figura 10.	Valores da respiração não mitocondrial e estado 3 da respiração com substrato piruvato/malato antes do exercício (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	35
Figura 11.	Valores de lactato (mmol/L) durante o exercício nas velocidades 1,7 m/s, 4 m/s, 5 m/s, 6 m/s, 7 m/s e 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	38
Figura 12.	Valores de lactato (mmol/L) durante o exercício nos tempos 4 min, 8 min, 9 min, 10 min, 11 min, 12 min e após exercícios nos tempos 22 min e 42 min, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	39
Figura 13.	Valores de hematócrito (%) e PPT (g/dL) antes, nas velocidades 1,7; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 e 8,0 m/s e 10 e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	42

Figura 14. Valores de LDH (U/L) e CK (U/L) ao final do último galope a 8 m/s, às 3h, 6h, 12h e 24h após o teste, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....

44

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.	Descrição funcional dos complexos proteicos constituintes da Cadeia Transportadora de Elétrons e de seus respectivos inibidores (adaptado de MONTEIRO et al. 2003).....	Página 10
Tabela 2.	Peso corporal (Kg), espessura da gordura subcutânea na garupa (cm) e percentual de gordura (%) (n=14).....	32
Tabela 3.	Médias ± desvio padrão obtidas para controle respiratório, respiração máxima, respiração mitocondrial, complexo I, complexo II, respiração não mitocondrial e estado 3 da respiração com substrato piruvato/malato antes do exercício (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	36
Tabela 4.	Médias ± desvio padrão obtidas para lactato antes (repouso), ao final do último galope a 8 m/s e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	37
Tabela 5.	Médias ± desvio padrão obtidas para as variáveis VL 2, VL 4 e V 200 em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	38
Tabela 6.	Médias ± desvio padrão obtidas para Frequência Cardíaca (bpm) antes (repouso), em 1 minuto na velocidade de 8 m/s, ao final do último galope a 8 m/s e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	40
Tabela 7.	Médias ± desvio padrão obtidas para hematócrito (%) e PPT (g/dL) antes (repouso), ao final do último galope a 8 m/s e 10 e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	41
Tabela 8.	Médias ± desvio padrão obtidas para glicose plasmática (mg/dL) antes (repouso), ao final do último galope a 8 m/s e 10 e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	43
Tabela 9.	Médias ± desvio padrão obtidas para LDH (U/L) e CK (U/L) ao final do último galope a 8 m/s, às 3h, 6h, 12h e 24h após o teste, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	44
Tabela 10.	Médias ± desvio padrão obtidas para pH, HCO ₃ ⁻ (mmol/L), pCO ₂ (mmHg/L), TCO ₂ (mmol/L), sO ₂ (%), pO ₂ (mmHg), BE ecf (mmol/L) e Temperatura Retal (°C) antes (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	46
Tabela 11.	Médias ± desvio padrão obtidas para Na (mEq/L), K (mEq/L) e Ca (mmol/L) antes (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.....	48

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 A Raça Brasileiro de Hipismo.....	2
2.2 O Concurso Completo de Equitação (CCE)	2
2.3 Metabolismo Energético nos Equinos durante o Exercício.....	3
2.4 Avaliação Muscular em Equinos.....	5
2.5. Índices Fisiológicos Relacionados ao Desempenho Físico.....	7
2.5.1 Avaliação mitocondrial.....	8
2.5.2 Lactato plasmático.....	12
2.5.3 Frequência cardíaca.....	14
2.5.4 Hematologia.....	15
2.5.5 Bioquímica sanguínea.....	17
2.5.6 Hemogasometria.....	19
2.5.7 Eletrólitos plasmáticos.....	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Local.....	24
3.2 Animais.....	24
3.3 Delineamento Experimental.....	24
3.4 Teste Incremental de Alta Velocidade.....	24
3.5 Biópsias Musculares.....	27
3.6 Respirimetria de Alta Resolução.....	28
3.7 Amostras Sanguíneas	30
3.8 Análises Estatísticas.....	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1 Peso e Escore Corporal.....	32
4.2 Biópsias Musculares.....	32
4.3 Respirimetria de Alta Resolução.....	33
4.4 Lactato Plasmático.....	37
4.5 Frequência Cardíaca	40
4.6 Hematócrito e Proteína Plasmática Total (PPT).....	41
4.7 Bioquímica Sanguínea.....	42
4.7.1.Glicose.....	42
4.7.2 Enzimas séricas (CK e LDH).....	43
4.8 Hemogasometria.....	45
4.9 Eletrólitos Plasmáticos.....	47
5 CONCLUSÕES	50
6 REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
7 ANEXOS	67

1 INTRODUÇÃO

Os equinos são animais que apresentam excelente capacidade atlética e, desde a sua domesticação vêm sendo selecionados para diferentes categorias como velocidade, resistência e salto. Essa capacidade atlética dos equinos é atribuída a várias adaptações biológicas e fisiológicas que são influenciadas pelo tipo de treinamento, sendo esse específico para cada modalidade esportiva. O bom condicionamento físico está relacionado à aptidão física do animal e ao protocolo de treinamento adotado (PÖSÖ, 2002).

Em função das provas equestres terem ganhado destaque no meio esportivo, aumentou o interesse no acréscimo do desempenho, no acompanhamento e na compreensão dos processos fisiológicos e metabólicos que ocorrem com os animais durante e após o exercício. Com isso, a pesquisa em fisiologia do exercício em equinos tornou-se ferramenta imprescindível no monitoramento e avaliação desses atletas, caracterizada pelos estudos que avaliam a resposta do equino frente ao exercício e ainda, como essas respostas podem ser modificadas com o treinamento (EVANS, 2008).

Os testes de avaliação do desempenho verificam o potencial físico do equino e monitoram programas de treinamento individuais que respeitam as características do animal e a demanda metabólica da modalidade a qual o mesmo se destina. Parâmetros fisiológicos como frequência cardíaca, lactato plasmático, enzimas séricas, hemogasometria e avaliação muscular, caracterizando os tipos de fibras musculares, a capacidade enzimática e o metabolismo celular são usados na avaliação das respostas do animal exposto ao exercício.

O objetivo do estudo foi avaliar os parâmetros fisiológicos e da respiração mitocondrial muscular relacionados ao desempenho físico antes e após único teste de esforço máximo em esteira de alta velocidade de equinos iniciantes de Concurso Completo de Equitação. Os parâmetros fisiológicos avaliados foram: concentração de lactato plasmático, frequência cardíaca, glicose plasmática, hematócrito, proteína plasmática total, hemogasometria, eletrólitos plasmáticos (potássio, sódio e cálcio) e as enzimas séricas CK e LDH.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A Raça Brasileiro de Hipismo

A Associação Brasileira de Criadores do Cavalo de Hipismo (ABCCH), fundada em 1977, é reconhecida pelo Ministério da Agricultura como entidade responsável pelo Serviço de Registro Genealógico (SRG) das raças de equinos utilizadas para a prática do hipismo no país. O SRG é denominado "*Stud Book*" Brasileiro do Cavalo de Hipismo (SBBCH) (ABCCH, 2013). Os fundadores da ABCCH, com o objetivo de formar e promover a raça Brasileira de Hipismo iniciaram cruzamentos utilizando garanhões importados ou nacionais, registrados em outras associações, com aptidão reconhecida para esportes hípicas (modalidades de salto, adestramento, concurso completo de equitação, pólo e enduro), denominados animais de raças formadoras, e éguas nacionais com ou sem genealogia conhecida, que apresentassem características funcionais e morfológicas necessárias para esportes hípicas, denominadas éguas base (ABCCH, 2013; SBBCH, 2013).

No período de formação da raça Brasileiro de Hipismo, as raças que tiveram maior influência na formação do cavalo Brasileiro de Hipismo foram Puro Sangue Inglês, Hanoverana, Westfalen, Holsteiner e Trakehner. A grande variabilidade genética do cavalo Brasileiro de Hipismo é uma característica que possibilita a implantação de futuros programas de melhoramento genético da raça (DIAS et. al., 2000).

Atualmente, o cavalo Brasileiro de Hipismo tem reconhecimento internacional pelas vitórias conquistadas em importantes eventos internacionais, além de fazer parte da "*World Breeding for Sport Horses*" (WBFSH, 1998), entidade internacional que reúne as associações de raças de cavalos utilizados para a prática de esportes hípicas em todo mundo. Porém, por escassez de estudos sistemáticos sobre a raça, há pouco conhecimento sobre sua formação, evolução e caracterização como raça de equinos.

2.2 O Concurso Completo de Equitação (CCE)

O CCE é um esporte equestre tradicional e que exige elevado nível metabólico (ANDREWS et al., 1995), sendo considerado o triatlo equestre. Este esporte compreende uma prova de adestramento, uma prova de *cross country* e uma prova de saltos de obstáculos. As três provas ocorrem separadamente em dias consecutivos, sendo o conjunto cavalo-cavaleiro o mesmo em todas as provas (FEI, 2013).

O CCE conhecido na língua inglesa como *Eventing* ou *3-day-event* é a competição combinada mais completa reconhecida pela FEI, *Fédération Equestre Internationale*, na qual homens e mulheres competem em igualdade de condições tanto em provas individuais quanto por equipes. Essa modalidade abrange a harmonia entre equino e cavaleiro no Adestramento (1º dia), o contato com a natureza, a emoção e a extensa experiência, essenciais para o *cross country* (2º dia) e a precisão, agilidade e técnica do Salto (3º dia). A prova de *cross country*, que simula uma corrida ao ar livre com obstáculos naturais, como troncos de árvores e cercas vivas, exige muito do animal, sendo importante o condicionamento físico e a resistência.

Essa modalidade equestre é uma disciplina que exige equinos com grande capacidade atlética, ágeis e fortes, não existindo nenhuma raça específica. A maioria dos equinos que competem neste esporte no Brasil apresenta alta porcentagem de sangue Puro Sangue Inglês com média em torno de 1,61 metros (GROSSI, 2006). Nas modalidades esportivas com equinos o condicionamento físico dos animais tem papel preponderante na obtenção de bons resultados e está intimamente relacionado à aptidão

física do animal e ao protocolo de treinamento adotado. Segundo Cavalcanti (2009) o CCE exige da parte do concorrente uma experiência avançada em todas as disciplinas equestres e um conhecimento preciso de seu cavalo e, da parte do cavalo, um grau de formação múltipla, resultado de um treinamento inteligente e racional.

2.3 Metabolismo Energético nos Equinos durante o Exercício

A contração muscular requer energia para ocorrer e depende do suprimento de moléculas de ATP (adenosina trifosfato), que ao converter-se em ADP+Pi libera energia. Grande parte da energia liberada se perde sob a forma de calor. Parte é usada durante a contração muscular, gerando aporte energético suficiente para os filamentos de actina deslizarem sobre os de miosina e para o bombeamento retrógrado de cálcio para o retículo sarcoplasmático (LÓPEZ-RIVERO, 2004).

Para manterem-se em exercício, os equinos precisam que o conteúdo de ATP seja constantemente repostado com taxas satisfatórias. Independente do tipo do exercício, alta ou baixa intensidade, curta ou longa duração, todas as vias de produção de ATP são ativadas e o que determina qual será predominante é a intensidade e duração do mesmo (EATON et al., 1994).

Quando a demanda energética é reduzida, no caso de exercícios de baixa intensidade, o metabolismo aeróbio é capaz de suprir as necessidades de ATP. O metabolismo aeróbio é o processo pelo qual lipídios, carboidratos e aminoácidos são oxidados culminando com a produção de ATP, água e gás carbônico. A energia despendida para a realização de atividades físicas de alta intensidade em equinos é descrita por Eaton et al. (1995) como sendo 50 vezes maior do que em repouso. Esse aumento da demanda energética devido ao exercício físico de alta intensidade é fornecido através da combinação de via aeróbica e anaeróbica.

A glicose é armazenada no organismo animal sob a forma de glicogênio muscular e hepático, e este último é degradado em glicose ainda no fígado, sendo a glicose então transportada pelo sangue até as células musculares. O glicogênio é uma fonte de energia limitante para a contração muscular. Tanto para exercícios de alta, baixa e moderada intensidade, a capacidade de maximizar a reposição de glicogênio muscular após o exercício é um fator importante para melhorar o desempenho em cavalos competindo em dias sucessivos ou em várias ocasiões durante o mesmo dia. No entanto, a resíntese completa de glicogênio muscular requer 48 a 72 h após o exercício (LACOMBE et al., 2003).

O exercício extenuante provoca uma substancial depleção do glicogênio muscular. Exercícios de baixa intensidade promovem esgotamento das reservas glicogênicas mais pronunciadas nas fibras musculares de contração lenta e fibras musculares de contração rápida com metabolismo oxidativo predominante. Em exercícios de alta intensidade, a depleção de glicogênio é maior nas fibras musculares glicolíticas (ESSÉN-GUSTAVSSON et al., 1984).

Com o exercício prolongado de baixa intensidade, a absorção de ácidos graxos livres pelo músculo aumenta substancialmente, tornando-se gradualmente a principal fonte de energia (ESSEN-GUSTAVSSON et al., 1984). Pagan et al. (2002) avaliando equinos Árabes alimentados com dietas com adição de óleo de milho observaram vantagens para exercício de longa duração, por diminuir a utilização de carboidratos como fonte energética, usando assim, os ácidos graxos livres e retardando o aparecimento de fadiga muscular.

A capacidade do equino em transformar energia de forma aeróbia é primariamente limitada pela capacidade de oxigenação das células musculares. Os

fatores limitantes potenciais são: capacidade cárdio-respiratória, concentração de hemoglobina sanguínea, concentração de enzimas musculares, dentre outras (LÓPEZ-RIVERO, 2004).

No metabolismo anaeróbio é possível gerar ATP na ausência de oxigênio. Nessa via metabólica o piruvato produzido a partir da glicose é convertido em lactato no citoplasma celular pela enzima lactato desidrogenase (LDH). A glicólise anaeróbica é eficiente em relação à cinética, porém é considerada ineficiente na síntese de ATP a partir de uma molécula de glicose. No metabolismo aeróbio, o piruvato é transportado para a mitocôndria, onde sofre descarboxilação oxidativa para formar acetil-coenzima A (acetil-CoA). O metabolismo oxidativo é eficiente energeticamente, mas é ineficiente cineticamente. As fibras que contêm uma grande quantidade de mitocôndrias têm maior capacidade oxidativa em relação às fibras que possuem menor quantidade dessa organela (VOTION et al., 2007).

No momento em que o exercício intenso inicia-se, o suprimento de oxigênio para as células musculares não consegue alcançar níveis suficientes para manter o metabolismo aeróbio, levando de 30 a 45 segundos até que o oxigênio alcance tais níveis. Durante esse intervalo ocorre o consumo da fosfocreatina presente na célula e basicamente, o metabolismo anaeróbio, com aumento da frequência cardíaca e respiratória, aumento na capacidade de transporte de gases pela hemoglobina, mobilização das reservas esplênicas de eritrócitos e desvio de fluxo sanguíneo para as células musculares. Parte do lactato difunde-se do músculo para o fígado, via corrente sanguínea, sendo transformado em glicogênio hepático nesse órgão (CLAYTON, 1991). Durante momentos de extrema demanda energética, quando a resíntese de ATP é insuficiente, pode ocorrer ainda reação de mioquinase, onde duas moléculas de ADP reagem para formar um ATP e um AMP, além de amônia e ácido úrico, suprimindo a célula momentaneamente de ATP.

A contribuição de cada via metabólica para a produção de ATP, sendo aeróbica ou anaeróbica, bem como a fonte de energia, depende do tipo, intensidade e duração do exercício. Treinamento e nutrição também são determinantes da via utilizada para a produção de ATP (VOTION et al., 2007). O sucesso do equino atleta está intimamente ligado à relação entre as capacidades oxidativa e glicolítica do indivíduo. Sendo assim, o estudo da fisiologia muscular durante o exercício torna-se necessário para o melhor treinamento dos atletas, passando obrigatoriamente pela compreensão dos mecanismos de transformação de energia no músculo, incluindo as duas vias citadas (MUÑOZ et al., 1999).

De acordo com Myers & Ashley (1997) o aumento da intensidade do exercício levaria a um ponto em que a quantidade de oxigênio disponível será insuficiente para a fosforilação oxidativa e moléculas de NADH_2 seriam reoxidadas através da transformação do piruvato em lactato, gerando um acúmulo deste último no músculo e posteriormente no sangue. Esta hipótese apontava o déficit de oxigênio como o único fator para o acúmulo de lactato muscular e sanguíneo.

Porém, outros trabalhos mostraram que os mecanismos responsáveis pelo acúmulo de lactato eram o recrutamento de fibras musculares que produzem energia pela via anaeróbia, fibras do tipo II, a falta de oxigênio disponível e o aumento do fluxo de glicose (ANTONUTTO & DI PRANPERO, 1995; PHILP et al., 2005). Entende-se que a via anaeróbia indica que há produção de ATP sem a participação de oxigênio e não necessariamente a não disponibilidade do mesmo.

Snow et al. (1981) estudando a quantidade de glicogênio presente na musculatura em um grupo de cavalos participantes de uma competição de enduro, relacionaram o desempenho dos animais à composição das fibras musculares do

músculo glúteo médio. Observaram que, os animais com alta proporção de fibras tipo I e suficiente estoque de glicogênio muscular apresentaram melhor desempenho na competição.

Em humanos, estudos mostram que os benefícios fisiológicos das adaptações mitocondriais no músculo estriado, para a mesma intensidade de exercício, consistem numa alteração da preferência metabólica, com aumento da utilização dos lipídios em relação aos carboidratos. Como consequência destas adaptações do músculo esquelético em resposta ao exercício de resistência, mais concretamente ao treino sistemático, verificou-se uma redução no consumo de glicogênio, concomitantemente ao aumento da preponderância da β oxidação, bem como uma redução dos níveis musculares e sanguíneos de lactato (HOROWITZ & KLEIN, 2000). Este modelo de treino aumenta o conteúdo lipídico da célula muscular contribuindo deste modo para o aumento da utilização deste substrato como fonte energética (VAN LOON et al., 2001). Estas adaptações decorrem não só do aumento da densidade mitocondrial e capilar, como também do resultado das adaptações enzimáticas mitocondriais. Deste modo, o aumento na capacidade respiratória do músculo esquelético desempenha um papel crucial na melhoria do desempenho induzida pelo treino de enduro (DUDLEY et al., 1987).

2.4 Avaliação Muscular em Equinos

A musculatura esquelética dos equinos é muito desenvolvida, principalmente em raças com aptidão atlética. Comparando com os outros mamíferos que possuem de 30-40% de seu peso corporal correspondente à musculatura, os equinos não atletas corresponde a aproximadamente 42% e equinos de alta desempenho a 55% do peso corporal (LÓPEZ-RIVERO, 2004).

Em um único músculo pode existir três ou mais tipos de fibras que são caracterizadas pela isoforma da cadeia pesada de miosina, refletindo o fenótipo de cada tipo de fibra que são diferenciadas bioquimicamente e fisiologicamente (SNOW & VALBERG, 1994). Os tipos de fibra muscular podem ser divididos em tipo I e tipo II. As fibras do tipo I hidrolisam o ATP lentamente, assim sua contração e relaxamento ocorrem devagar; têm alta capilaridade, grande capacidade de oxidação e pouco acúmulo de glicogênio, essa fibra é eficiente por produzir movimentos repetitivos e força de sustentação isométrica por longo tempo. As fibras do tipo II geram ciclos de contração-relaxamento rápidos. Este grupo pode ser dividido em fibras IIX e IIA, sendo que as fibras IIX têm velocidade de contração maior que as fibras do tipo IIA. As fibras IIX possuem pouca capacidade oxidativa e baixa disponibilidade de oxigênio, no entanto, as fibras IIA são bem capilarizadas e possuem um número elevado de mitocôndrias o que permite ela realizar metabolismo glicolítico e oxidativo. Também existem as fibras consideradas híbridas, do tipo IIAX que possuem características dos dois tipos de fibras desse grupo (BOTTINELLI et al., 1994).

Com a técnica de biópsia muscular percutânea é possível estudar diferentes características musculares, como os tipos de fibra muscular e suas adaptações em resposta a diferentes treinamentos. As biópsias musculares são frequentemente utilizadas para obter amostra do tecido quando não é desejável a morte do animal, e informações sobre o músculo inteiro é deduzida a partir destas amostras (LÓPEZ-RIVERO, 1994).

A técnica de biópsia muscular foi descrita inicialmente no músculo glúteo médio por Lindholm & Piehl (1974), sendo este músculo o mais pesado do membro posterior, muito ativo durante a atividade física e apresenta grande adaptação ao exercício. Outros músculos podem ser avaliados com essa técnica, como

Semitendinoso, Bíceps femoral, Longuíssimos, Tríceps braquial e Cleidocervical. Sendo considerada uma técnica simples e pode ser realizada durante o período de treinamento sem causar complicação ou efeito negativo no rendimento do cavalo (LINDHOLM & PIEHL, 1974; SNOW & GUY, 1976; SNOW & VALBERG, 1994; RIVERO et al., 1999). Essa técnica constitui excelente ferramenta na avaliação do potencial atlético do equino, sendo bastante utilizada na medicina esportiva equina (HODGSON & ROSE, 1987; RIVERO et al., 1995a,b).

Amostras musculares podem ser estudadas *in vitro* e *in vivo*, avaliando a morfologia, bioquímica e fisiologia do tecido muscular. Quando destinadas à histoquímica, as amostras são congeladas em nitrogênio líquido com isopentano (FERREIRA, 1994). Porém, as amostras para bioquímica são imersas diretamente em nitrogênio líquido (FERREIRA, 1994). Para se avaliar a estrutura e densidade capilar e mitocondrial, as amostras são destinadas à microscopia eletrônica (TERRENCE et al., 2000). Para se avaliar a funcionalidade e o mecanismo da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, utiliza-se a técnica de respirometria de alta resolução (VOTION et al., 2010).

A musculatura esquelética dos equinos possui potencial de adaptação ao treinamento, principalmente em relação à força, resistência e velocidade de contração. As adaptações musculares mais comuns são o remodelamento com discreta hipertrofia e aumento no número de capilares que irrigam a musculatura. Além do incremento do metabolismo aeróbio das fibras musculares, possibilitando maior resistência a fadiga. A natureza e magnitude das respostas musculares ao treinamento dependem de dois grupos de fatores. O primeiro intimamente relacionado ao equino como o estado basal do músculo, idade, raça, sexo e histórico de treinamento. O segundo relacionado ao protocolo de treinamento: tipo, intensidade, frequência e duração do exercício (LÓPEZ-RIVERO et al., 2004).

O tipo e a amplitude da resposta ao treinamento dependem do perfil muscular apresentado pelo animal antes do treinamento. O aumento da capacidade contrátil muscular é associado à modificação induzida pelo treinamento no sentido de formar músculo com perfil de contração lenta e alta capacidade oxidativa (PETTE, 2002). As fibras de rápida contração apresentam maior adaptação ao treinamento comparado com as fibras de contração lenta. Essa resposta é maior em equinos jovens, inativos e sedentários que possuem alta porcentagem de fibras glicolíticas, ao contrário com o que ocorre em equinos em atividade, que possuem mais fibras musculares do tipo oxidativa. No entanto, é difícil diferenciar as alterações causadas nas fibras musculares pelo crescimento ou pelo treinamento, principalmente em treinamentos de potros em crescimento ou equinos jovens (YAMANO, 2002).

López-Rivero et al. (1989) estudando biópsias do músculo glúteo médio de diferentes raças de equinos, observaram relação entre fibras de contração rápida com animais de prova rápidas, consistindo em 70 a 80% de fibras do tipo IIA e 20 a 30% de fibras do tipo IIX. Houve diferença na composição da fibra muscular entre as raças de equinos, não sendo homogêneas e, também há variações significativas entre diferentes linhagens genealógicas (LÓPEZ-RIVERO et al., 1996). A proporção entre fibras tipo I e II apresenta alta herdabilidade implicando em maior influência genética.

Investigações realizadas em diferentes raças têm demonstrado que regiões mais profundas do músculo glúteo médio possuem maior porcentagem de fibras tipo I, enquanto as regiões mais superficiais têm maior porcentagem de fibras do tipo II (KLINE et al., 1987; RIVERO et al., 1993b, ISLAS et al., 1996). Segundo Serrano & Rivero (2000b) regiões proximais do músculo possuem grande porcentagem de fibras tipo I que são recrutadas para postura e manutenção e, altas proporções são encontradas

em atividades de longa duração. Em contrapartida, maiores proporções de fibras tipo IIX, nas partes distais do músculo, indicam que esta região é mais envolvida com exercícios de curta duração e alta intensidade. Para superar o problema da grande variação na porcentagem dos tipos de fibras, o ideal é que a coleta do músculo glúteo médio seja feita sempre na mesma profundidade (SNOW & GUY, 1980; RIVERO et al., 1993a,b; RIVERO et al., 1995b). De acordo com SERRANO & RIVERO (2000b), as variações que existem nesta profundidade podem ser provocadas pelo efeito do treinamento de baixa intensidade e longa duração. RIVERO et al. (1993b) não encontraram diferenças quanto às características musculares contralaterais em cavalos.

Para avaliar o efeito de coletas repetidas no mesmo local do músculo, Lindner et al. (2002) coletaram fragmentos do músculo glúteo médio direito e esquerdo nas profundidades de 20 e 60 mm, utilizando a técnica descrita por Lindholm & Piehl (1974). Em cada lado do músculo foram procedidas três biópsias em um intervalo de sete semanas. Esses autores comprovaram que, quando se coleta várias amostras nesse intervalo permite-se reconstituição completa do músculo.

Dessa forma, não há prejuízo para avaliação das variáveis musculares. Após a ocorrência de injúria, observa-se que o tecido muscular apresenta excelente capacidade de reparação. Esta habilidade de regeneração está relacionada à extensão da necrose, a preservação da inervação e do suprimento sanguíneo na área e o grau de integridade do sarcolema da fibra muscular. Quando o trauma não danifica a lâmina basal e o plasmalema das miofibrilas, é possível a reparação completa (RIVERO et al., 1999; LINDNER et al., 2002).

As adaptações ao treinamento de cavalos de enduro foram avaliadas pela atividade das enzimas mitocondriais e/ou pela caracterização dos tipos fibra muscular (LÓPEZ-RIVERO et al., 1995). Os programas de condicionamento aeróbio em cavalos de provas de resistência induzem, em primeiro lugar, aumento na atividade do metabolismo oxidativo e redução do metabolismo anaeróbio. Após três meses do programa de treinamento de baixa intensidade em cavalos da raça Andaluz, a atividade de marcadores de capacidade oxidativa aumentou (+22% para citrato sintase, +15% para 3-hidroxi-acil-CoA-desidrogenase e até 15% para a atividade da enzima succinato desidrogenase dependendo do tipo de fibra) e diminuição da atividade de marcadores de capacidade glicolítica (-12% para a atividade fosfofrutoquinase) no músculo glúteo médio (SERRANO et al. 2000b).

2.5 Índices Fisiológicos Relacionados ao Desempenho Físico

Grande parte dos conhecimentos adquiridos na fisiologia do exercício foi possível devido a diversos estudos com equinos em esteira de alta velocidade nas últimas décadas. Essas alterações ocorreram nas áreas dos sistemas cardiovascular, respiratório, metabólico, hematológico, termorregulatório, hormonal e locomotor como a cinemática (ROSE & HODGSON, 1994a).

O ambiente da esteira permite a padronização de variáveis que em testes a campo não seria possível. Pode-se padronizar a velocidade do andamento, variando de 1,4 m/s a 16 m/s em esteiras de alta velocidade com pequenos incrementos de 0,1 m/s. A temperatura e umidade também podem ser controladas e essas interferem diretamente a duração do exercício. Quando experimentos são planejados é importante saber controlar todas as variáveis para que haja variação somente das características de interesse no estudo.

A superfície de borracha da correia da esteira representa uma superfície estável e sem irregularidades, condição diferente de uma prova. O fluxo de ar deve ser no mínimo

equivalente à velocidade na qual o equino se movimenta e, esse volume deve ser equivalente à massa do equino, usando ventiladores de no mínimo 50 cm de diâmetro cada (MARLIN & NANKERVIS, 2002).

Os testes de exercício, independentemente de serem em esteira ou a campo, em equinos ou em humanos, são classificados em: testes de intensidade constante, intermitente ou incrementais. Diferentes protocolos são utilizados dependendo da natureza do estudo ou do tipo de pesquisa. O teste de intensidade constante consiste num aquecimento ao passo ou trote de um a dois minutos, seguido por um cânter e depois passo novamente para os equinos então se exercitarem na velocidade constante. Previamente deve-se realizar algum teste para se determinar em que intensidade se quer que os equinos trabalhem. Pode se efetuar um teste de intensidade constante até que o equino seja incapaz de manter sua posição na esteira (MARLIN & NANKERVIS, 2002).

Protocolos de exercício intermitente são variados e podem, por exemplo, consistir de diversos galopes seguidos, intercalados com movimentos de menor velocidade para recuperação. Estes tipos de delineamento podem exigir alterações metabólicas e fisiológicas de maior magnitude do que o exercício simples ou incremental. Este tipo de teste de exercício é utilizado para a depleção de glicogênio muscular para posterior tratamento de repleção, aferição da ventilação, gases sanguíneos e locomoção. Estudos de termorregulação também são apropriados com este tipo de teste, devido a maior produção de calor nestes exercícios (MARLIN & NANKERVIS, 2002).

O teste incremental é tipicamente utilizado para avaliar o consumo máximo de oxigênio ($V_{O_{2max}}$). Este teste geralmente consiste num aquecimento de passo e trote por 10 a 15 minutos e depois um cânter a 5-7 m/s (dependendo da raça do equino testado) e a velocidade então é aumentada 0,5 a 1 m/s a cada 1 a 2 minutos até que o equino não consiga mais manter a posição na frente da esteira apesar de estímulo verbal. Estes testes são realizados a 3-6° de inclinação da esteira. A inclinação permite que o equino alcance o VO_{2max} antes de atingir a velocidade máxima da esteira. No entanto, escolha do teste apropriado vai depender das variáveis estudadas (MARLIN & NANKERVIS, 2002).

2.5.1 Avaliação Mitocondrial

As mitocôndrias são organelas existentes em quase todas as células do organismo. A sua forma é dinâmica sendo capazes de alterar a sua conformação constantemente. Uma célula eucariota contém cerca de 2.000 mitocôndrias, ocupando desta forma, metade do seu volume total (EDGAR & TRIFUNOVIC, 2007). As mitocôndrias são normalmente associadas à produção de energia celular através da utilização de oxigênio e nutrientes para a produção de ATP, pelo processo de fosforilação oxidativa, energia essa necessária, por exemplo, para a contração muscular (HOPPELER & FLUCK, 2003). No entanto, as mitocôndrias são importantes em muitas outras funções celulares, como a regulação osmótica, a modulação do estado redox celular, controle de pH, transdução do sinal, homeostasia do cálcio (WALLACE et al., 1997) e regulação da via intrínseca de morte celular (NICHOLLS, 2004).

Estudos utilizando a microscopia eletrônica permitiram identificar os diferentes compartimentos desta organela. Assim diferenciaram-se quatro compartimentos: a membrana externa, membrana interna e suas cristas, espaço intermembranar e matriz mitocondrial (HOOD et al., 2006). As membranas, interna e externa, separam a matriz mitocondrial do citoplasma da célula, sendo que a membrana externa contém canais

transmembranares formados pela proteína denominada porina que a torna bastante permeável. A membrana interna possui invaginações ou cristas que ampliam a sua área de superfície e é mais seletiva quanto a sua permeabilidade, sendo a passagem de certas moléculas dependentes de sistemas de transporte específicos (TURCOTTE et al., 2003).

Considerada a principal organela que utiliza biologicamente o oxigênio, a relação entre o consumo de oxigênio a nível mitocondrial e a síntese de ATP é vital para as necessidades energéticas musculares. No entanto, esta relação não se verifica na sua totalidade e parte do oxigênio consumido é atribuída ao desacoplamento da respiração mitocondrial (BRAND et al., 1999). A respiração desacoplada está associada à dissipação do gradiente de prótons mitocondrial e, conseqüentemente, à produção de calor, em vez de ser utilizado como mediador na síntese de ATP. As mitocôndrias apresentam um papel muito importante na produção de energia necessária à vida, aproximadamente 95% dessa energia é produzida pela célula na fosforilação oxidativa (ESTABROOK, 1967). A fosforilação oxidativa é o cerne do metabolismo energético em animais e plantas e, em muitas formas de vida microbiana. Em eucariontes, este processo ocorre na mitocôndria, onde o NADH e o ubiquinol produzidos pela glicólise, pelo ciclo do ácido cítrico e por outras vias metabólicas são afinal reoxidados pelo oxigênio molecular num processo chamado de respiração celular. Nesse processo, os elétrons são transferidos do NADH diretamente para o O₂ em algumas etapas, que oferecem várias oportunidades para aproveitar a energia livre da oxidação (PRATT, 2006). Em muitos casos, as mitocôndrias formam um complexo que interage com outros componentes celulares, em particular o citoesqueleto e retículo endoplasmático (TERRENCE et al., 2000).

A energia produzida pela mitocôndria depende da ação combinada entre o ciclo do ácido cítrico, a cadeia respiratória e o sistema de fosforilação oxidativa. O acetil-CoA, formado pela oxidação de compostos orgânicos, entra no ciclo do ácido cítrico e tem seus grupamentos acetil oxidados a CO₂. A energia liberada no processo é armazenada pelas coenzimas derivadas de nicotinamida e flavina, NADH e FADH₂, respectivamente. Ambas atuam como transportadores de elétrons em suas formas reduzidas até alcançarem a cadeia respiratória mitocondrial. Esta é constituída por um conjunto de complexos multienzimáticos bioquimicamente conectados (complexos I, II, III e IV) na membrana interna mitocondrial, os transportadores de elétrons coenzima Q (UQ) e citocromo *c* e ainda as proteínas ferro-enxofre. Ao alcançarem a cadeia respiratória, o NADH e o succinato transferem seus elétrons para a coenzima Q numa reação catalisada respectivamente pelos complexos I e II. Por sua vez, o complexo III carrega os elétrons da coenzima Q reduzida para o citocromo *c*, e deste os elétrons chegam ao seu destino final, o oxigênio molecular na citocromo *c* oxidase (complexo IV) (NELSON & COX, 2011).

A NADH desidrogenase (complexo I) catalisa a transferência de um íon hidreto proveniente do NADH e um próton da matriz para a coenzima Q e a transferência de quatro prótons da matriz para o espaço intermembrana. Com a saída dos prótons, o espaço intermembrana torna-se carregado positivamente e a matriz fica carregada negativamente. Dessa forma, o complexo I atua bombeando prótons para o espaço intermembrana à custa de energia proveniente da transferência de elétrons sendo, portanto, processos obrigatoriamente acoplados. O ubiquinol (UQH₂) forma totalmente reduzida da coenzima Q, deixa o complexo I e difunde-se pela membrana interna até a coenzima Q: citocromo *c* oxidoreductase (complexo III), onde é reoxidado. A UQ possui a propriedade de aceitar um elétron, tornando-se o radical aniônico semiquinona (UQH•), ou aceitar dois elétrons, gerando o ubiquinol. A coenzima Q tem a importante função de manter o acoplamento do fluxo de elétrons ao movimento de prótons já que

ela consegue transportar ambos (NELSON & COX, 2011). No caso da succinato desidrogenase (complexo II), os elétrons são primeiramente transferidos do succinato para o FAD, e em seguida seguem sequencialmente para a coenzima Q, e o complexo III acopla a transferência de elétrons da coenzima Q reduzida para o citocromo c com o bombeamento de prótons para o espaço intermembrana. Devido à sua solubilidade, o citocromo c consegue transferir o elétron para o complexo IV, e neste o elétron é doado ao oxigênio molecular, reduzindo-o à água, concomitantemente ao bombeamento de prótons para o espaço intermembranas (ROTTENBERG, 1998; NELSON & COX, 2011).

A energia livre liberada pela oxidação dos substratos com transferência de elétrons pela cadeia respiratória é utilizada para o bombeamento de prótons para o espaço intermembranas. Com isso ocorre uma diferença na concentração de prótons e uma separação de cargas nas duas regiões separadas pela membrana, formando um gradiente eletroquímico e a energia estocada temporariamente neste gradiente contendo os componentes químico e elétrico é denominada força próton-motriz. Nas mitocôndrias a energia eletroquímica do gradiente de prótons impulsiona a produção de ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico (Pi) a medida que os prótons fluem passivamente de volta à matriz através do poro para prótons na ATP-sintase (complexo V). Esta é constituída por duas unidades denominadas F1, solúvel e localizada na matriz mitocondrial, e F0, hidrofóbica e está na membrana mitocondrial interna (Tabela 1) (NICHOLLS & FERGUSON, 2002).

Tabela 1. Descrição funcional dos complexos proteicos constituintes da Cadeia Transportadora de Elétrons e de seus respectivos inibidores (adaptado de MONTEIRO et al. 2003).

Complexo	Função	Inibidores
I - NADH: desidrogenase: Coenzima Q redutase	Tem a capacidade de oxidar o NADH. Bombeia prótons para o espaço intermembranar das mitocôndrias, contribuindo para o gradiente eletroquímico de prótons e pode conduzir à geração de espécies reativas de oxigênio.	Rotenona Óxido nítrico Neurotoxina 1-metil-4-fenilpiridina (MPP+).
II- Succinato desidrogenase: Ubiquinona redutase	Cataliza a oxidação do succinato em fumarato, com a formação de ubiquinol a partir da ubiquinona.	Ácido 3-nitropropiónico Malonato Oxido nítrico
III-Ubiquinol: Citocromo c redutase	Através do ubiquinol e, ao mesmo tempo em que ocorre a expulsão de um par de prótons, um elétron é transferido para o citocromo c.	Antimicina A
IV- Citocromo c oxidase	Reduz o O ₂ em água e utiliza a energia liberada para bombear prótons.	Cianeto Monóxido de carbono
V- F1F0: ATP sintase	O gradiente de prótons estabelecido pelos complexos anteriores é utilizado para a síntese de ATP.	Oligomicina

O metabolismo energético mitocondrial é tido como a principal fonte de radicais livres na maior parte das células eucarióticas (KOWALTOWSKI et al., 2009). No complexo IV, a redução completa de uma molécula de O₂ em duas moléculas de água necessita de quatro elétrons. No entanto, como consequência de sua configuração eletrônica, a molécula de O₂ tem forte tendência em receber um elétron de cada vez e o oxigênio não é liberado antes da obtenção de sua redução total (TURRENS, 1997), fazendo com que a produção de radicais livres, através da redução monoelétrica do O₂ pelo complexo IV, seja praticamente inexistente.

A liberação de energia a nível mitocondrial varia entre dois estados de energia, designado por estado 3, no qual a respiração mitocondrial está acelerada e é elevada a produção de ATP e o estado 4, no qual a respiração é mais lenta e não há produção de ATP (BENARD et al., 2007). No entanto, em termos de condições fisiológicas considera-se que a produção de ATP ocorre num estado intermédio entre o estado 3 e o estado 4 (BENARD & ROSSIGNOL, 2008). Em determinadas condições, como quando há permeabilização da membrana interna da mitocôndria ou a utilização de determinados compostos desacopladores, o potencial pode ficar totalmente dispersado. Como consequência, a respiração e o respectivo consumo de oxigênio são acelerados, mas a produção de ATP está comprometida.

O ATP é a única forma de energia utilizada pela célula e quando produzido pela mitocôndria é translocado para o citoplasma pelo translocador de nucleotídeos de adenina por troca com ADP citosólico (BENARD & ROSSIGNOL, 2008).

A determinação da capacidade oxidativa do músculo é feita pela avaliação da atividade mitocondrial por métodos histoquímicos, como a avaliação da enzima succinato desidrogenase ou a quantificação de mitocôndrias. Porém, essas técnicas não consideram as funções integradas das mitocôndrias (LINDHOLM, 1987). A respirometria é usada para monitorar a respiração mitocondrial, avaliando a atividade mitocondrial através do fornecimento de diferentes substratos reproduzindo o meio intracelular ou, inibidores para determinar a importância de cada complexo na respiração mitocondrial (VOTION et al., 2012).

A mensuração da respiração mitocondrial pode fornecer informação adicional de tanto quantitativa (potencial máximo oxidativo) quanto qualitativa (eficiência da transferência de energia oxidativa e do grau de controle respiratório) aspectos da função mitocondrial (ZOLL et al., 2003). Votion et al. (2012) definiu diferentes protocolos para avaliar a função mitocondrial muscular em equinos em respirometria de alta resolução, permitindo assim, a comparação das respostas mitocondriais em diferentes modalidades esportivas e, em diferentes testes experimentais, como a campo ou em esteira de alta velocidade.

Estudos mostram que o treinamento de força que resulta em hipertrofia muscular pode ter um efeito negativo na capacidade oxidativa muscular. Utilizando microscopia eletrônica combinado com procedimentos estereológicos, tem sido mostrado que a densidade de volume de mitocôndrias (definida como o volume de unidade de mitocôndrias pelo número de fibra muscular) diminuiu à medida que as fibras musculares hipertrofiavam (LUTHI et al., 1986). O número de mitocôndrias permanece o mesmo com o treinamento de força, mas as mitocôndrias são "diluídas" quando o número de fibras aumenta. Isto é observado numa atividade reduzida de enzimas musculares oxidativas, como a succinato desidrogenase (CHILIBECH et al., 1999).

No entanto, RIVERO et. al. (2012) demonstraram que seis semanas de condicionamento físico em equinos de esporte destreinados proporcionou aumento das estruturas relacionadas com a capacidade aeróbia e força da musculatura esquelética, como densidade e tamanho das mitocôndrias e número de miofibrilas, respectivamente,

com exercício de baixa a moderada intensidade (valores de lactato 1,5 a 2,5 mmol/L) por longa duração (45 min/dia).

Rasmussen et al.(2001) avaliando a atividade das mitocôndrias musculares em humanos após teste de fadiga muscular, não encontraram alterações nas variáveis analisadas como teor de citocromo c a permeabilidade da membrana aos prótons, a atividade da cadeia respiratória e a capacidade de fosforilação. No entanto, Votion et. al.(2010) observaram depressão da atividade mitocondrial em equinos em treinamento para enduro.

2.5.2 Lactato plasmático

A avaliação da concentração sanguínea de lactato é comumente utilizada em equinos para acessar seu desempenho atlético. A curva estabelecida por essas concentrações determinadas em velocidades crescentes é denominada curva velocidade-lactato. Em baixas velocidades, há predomínio do metabolismo aeróbio e as concentrações de lactato se mantêm quase que inalteradas. Com o aumento da intensidade do exercício, a demanda energética passa a ser provida principalmente pelo metabolismo anaeróbio com aumento marcante dos valores de lactato, que é produzido para repor os valores de NAD^+ necessário para manter a via glicolítica, caracterizado por uma inflexão repentina da curva para cima. Este ponto é denominado limiar anaeróbio e vem sendo extensivamente utilizado na clínica médica, na prescrição de intensidades de exercícios para o treinamento (HOLLMANN, 1985) e em pesquisas na área de fisiologia do exercício. Este ponto é comumente atingido quando a concentração de lactato está entre 2 e 4 mmol/L (HODGSON & ROSE, 1994a). Cabe ressaltar que o lactato sanguíneo correspondente a 4 mmol/L é denominado “Onset Blood Lactate Accumulation” (OBLA) e definido como a intensidade do exercício realizado durante teste progressivo na qual o lactato sanguíneo alcança o valor de 4 mmol/L (V4) (HODGSON & ROSE, 1994a).

Essa velocidade em que se atinge a concentração de 4 mmol/l (V4) é um importante indício da forma física. O exercício de baixa intensidade realizado por um período de tempo mais longo é considerado mais efetivo para aumentar a resistência do que exercícios de alta intensidade realizados por um curto período de tempo (TRILK et al., 2002).

Os sistemas muscular e sanguíneo possuem propriedades que aumentam a tolerância ao ácido láctico. A capacidade tamponante da musculatura de cavalos treinados é maior do que de outras espécies com potencialidade atlética. A regulação do efeito acidificante produzido pelo ácido láctico na musculatura exercitada e sua capacidade de exportá-lo é fundamental uma vez que este efeito pode ser causador de fadiga muscular (POOLE & HALESTRAP, 1993). O bicarbonato, as proteínas, fosfatos e carnosina são os sistemas tampão utilizados para manutenção do pH na célula. O sistema bicarbonato é o mais eficiente, pois é um sistema aberto, via circulação e respiração. A capacidade tamponante da musculatura de equinos treinados é até 50% maior do que a de atletas humanos. Mesmo assim, não é suficiente para prevenir a acidificação (JUEL, 1997).

O ácido láctico em pH celular se encontra dissociado em ânion lactato e um próton, ambos exercendo efeito no metabolismo celular. A acidificação do meio celular impede o funcionamento da bomba e dos canais de Ca^{+2} no retículo sarcoplasmático, aumentando o tempo de relaxamento dos sarcômeros musculares. Os prótons também têm um efeito sobre a conformação da ATPase que é necessária para a contração muscular. Além disso, há redução da produção de energia por inibição da atividade celular, limitação da fosfofrutoquinase e inibição da fosforilação glicogênica. Estes

eventos fazem o músculo trabalhar de forma lenta, caracterizando a fadiga (PÖSÖ, 2002). Visando retardar a acidificação e conseqüentemente retardar o tempo para a exaustão, o lactato é transportado para o espaço intersticial e plasma sanguíneo (JUEL, 1996). No plasma, o lactato é transportado para eritrócitos, fígado, coração, músculos e demais tecidos. A direção do fluxo de lactato para os tecidos depende principalmente do gradiente de concentração entre estes tecidos, visando à redução da concentração plasmática para dar continuidade à passagem de lactato do músculo em atividade para o plasma. A queda de pH também é um fator ativador dos transportadores nas membranas dos eritrócitos (SKELTON et al., 1995).

A utilização do lactato é diferente entre os tecidos muscular e hepático. No músculo, a glicose proveniente do lactato é usada para a oxidação e produção de energia, enquanto no fígado, especialmente durante o exercício, o lactato é metabolizado em glicose e retorna a circulação. Durante a fase de recuperação, parte do lactato pode ser utilizada para a síntese de glicogênio (STEVENSON et al., 1987; RYAN & RADZIUK, 1995).

O treinamento promove algumas mudanças que afetam a concentração de lactato. Cavalos bem treinados apresentam concentrações de lactato mais baixas após a realização de exercício sub-máximo do que cavalos não-treinados, sendo um bom indicador de desempenho (ROSE et al., 1983). O aumento da densidade de mitocôndrias na fibra muscular aumenta a capacidade oxidativa do músculo em exercício e reduzindo a produção de lactato durante tal atividade. O treinamento também induz o aumento de proteínas de transporte de monocarboxilatos, aumentando o fluxo de lactato do músculo para a corrente sanguínea (VÄIHKÖNEN et al., 1998). Hamlin et al. (2002), verificaram um decréscimo substancial na concentração de lactato sanguíneo após 24 semanas de exercício de baixa intensidade que precederam 8 semanas de um teste de sobre-carga de exercício. Após este período inicial, a concentração de lactato aumentou para 2,9 mmol/l e reduziu 0,7 mmol/l após 2 semanas de recuperação.

Os valores de referência para o lactato são de 2.5-15.5 mmol/dl para equinos da raça Puro Sangue Inglês (ROBINSON, 2003). Art et al. (1990a), encontraram uma média de 0.52 ± 0.03 mmol/l para cavalos Sela Belga, em repouso. Compararam com os níveis de lactato obtidos imediatamente após cinco provas de salto que compunham um campeonato, verificando uma variação na ordem de 6.7 ± 0.7 mmol/l.

Outro fator promovido pelo treinamento que influencia a taxa de lactato sanguíneo é a velocidade de metabolização do mesmo. Estudos em humanos demonstram que a “clearance” de lactato é aumentada pelo treinamento (DONOVAN & BROOKS, 1983; PHILLIPS et al., 1995). A “clearance” aumentada durante e após o exercício tendem a produzir menores concentrações de lactato no sangue.

Durante a avaliação do treinamento de equinos para corrida, a concentração de lactato foi mensurada, revelando valores que oscilaram entre 2,8 e 7,35 mg/dl, considerados dentro da normalidade (MULLEN et al., 1979). Em um estudo desenvolvido para avaliar o déficit de oxigênio em cavalos atletas, os animais foram submetidos a diferentes intensidades de exercício em esteira. Os pesquisadores verificaram, ao dosar as concentrações plasmáticas de lactato, que independente da intensidade do exercício, o pico de concentração ocorreu após 5 minutos de atividade. As concentrações verificadas variaram entre 26,1 e 29,5 mmol/l (EATON et al., 1995).

Foreman et al. (1996) dosaram lactato em equinos durante um período de trote e galope em esteira. No período de galope houve uma elevação significativa na concentração plasmática. No entanto, chama a atenção que no período inicial do teste, com 10 minutos de trabalho com velocidade baixa, o lactato mostrou uma tendência de queda.

2.5.3 Frequência cardíaca

O sistema de transporte de oxigênio está intimamente envolvido na realização de atividade física. Em diferentes espécies, tem-se verificado que os batimentos cardíacos aumentam de forma linear à medida que aumenta a intensidade do exercício, ocorrendo o aumento do consumo de energia ou do consumo de oxigênio (ASHEIM et al., 1970), isso devido a atividade nervosa parassimpática diminuir e os estímulos simpáticos e as catecolaminas circulantes aumentarem. Dessa forma, o aumento da frequência cardíaca durante o exercício físico gera uma elevação do débito cardíaco, aumento da contratilidade miocárdica por incremento da estimulação simpática, proporcionando uma eficaz distribuição sanguínea para os músculos (PIÑA et al., 2003). A descarga simpática, responsável pela taquicardia durante o exercício também provoca mobilização esplênica de hemácias (FREGIN & THOMAS, 1982).

O equino ao realizar vários exercícios em diferentes velocidades com a mesma duração, tem sua frequência cardíaca mais alta quanto maior for a velocidade a qual se exercita, como ocorre com o lactato sanguíneo. No entanto, quando o equino é submetido a vários exercícios de igual velocidade e diferentes durações, a frequência cardíaca durante os exercícios permanece quase constante. Este comportamento é diferente ao do lactato sanguíneo, e isso explica, em parte, por que a frequência cardíaca não é considerada sensível para demonstrar a reação ao exercício prescrito e, por fim, para o diagnóstico da capacidade competitiva do animal (BOFFI, 2007). O aumento da frequência cardíaca ocorre de modo linear com o aumento da velocidade do exercício até um ponto em que a frequência máxima é alcançada. A frequência máxima é identificada quando não há mais incremento na frequência cardíaca com a aceleração da esteira (HODGSON & ROSE, 1994a).

O decréscimo da frequência cardíaca ocorre rapidamente após os primeiros minutos de término do esforço físico. A taxa de redução da frequência cardíaca pós-exercício e o tempo necessário para que sejam alcançados níveis pré-exercício dependem da duração e intensidade da atividade física, da capacidade física do animal e de alguns fatores extrínsecos, como temperatura e umidade ambiental.

A frequência cardíaca basal dos equinos varia entre 28 a 45 batimentos por minuto (BOFFI, 2007). Frequências cardíacas de 240 batimentos por minutos ou mais foram relatadas durante exercício máximo ou próximo ao esforço máximo em cavalos de corrida. Durante a natação foram registradas frequências cardíacas máximas mais baixas tanto em atletas humanos como em atletas equinos (THOMAS et al., 1980). Em testes de exercício padronizados em esteira ergométrica, a relação frequência cardíaca/trabalho submáximo é reproduzível e alcança frequências de 120 a 210 batimentos por minuto. Desta forma, este tipo de prova poderia ser útil na avaliação da capacidade aeróbica (BOFFI, 2007).

A capacidade e função cardiovascular podem ser medidas indiretamente pela aferição da frequência cardíaca durante o exercício. Esta avaliação pode ser realizada durante a prática de exercício, por meio da utilização de frequencímetro digital específico para cavalos. Porém, estudos mostram ocorrência de interferências na captação elétrica dos frequencímetros. Essas interferências podem ser causadas por alguns fatores, entre eles o posicionamento de eletrodos próximo a grupamentos musculares ativos durante o exercício (MARLIN & NANKERVIS, 2006).

A frequência cardíaca é normalmente utilizada expressando a constante de velocidade submáxima, tal como V₂₀₀, a velocidade na qual a frequência cardíaca é de 200 batimentos por minuto. A relação entre a frequência cardíaca e a velocidade varia entre as raças e entre indivíduos da mesma raça, sendo relacionada com a habilidade

atlética. Essa relação sofre alterações com o treinamento e com o nível de aptidão do equino (HARRIS et al., 2007).

Art et al. (1990a) registraram valores de frequência cardíaca de $43,9 \pm 1,9$ batimentos por minuto em cavalos de salto em repouso. Durante a prova obtiveram picos de frequência cardíaca de $191,4 \pm 3,8$ batimentos por minuto. A frequência cardíaca mostrou um aumento progressivo, desde o início até o final da prova, variando de $178,7 \pm 4,5$ batimentos/minuto para $191,4 \pm 3,8$ batimentos/minuto. Após 2 minutos, a frequência cardíaca caiu para $101,5 \pm 7,0$ batimentos por minuto.

Santiago et. al. (2010), avaliando equinos de CCE durante uma prova de cross country, apresentaram frequência cardíaca máxima entre 194 e 218 batimentos por minuto, sendo esses valores observados na fase inicial do percurso, durante a transposição dos obstáculos e nos metros finais da prova. Gehlen et al. (2006) avaliando também equinos de CCE treinados e não treinados e a influência do treinamento na função cardíaca perceberam que a frequência cardíaca não foi significativamente diferente entre os animais de ambos os grupos. Somente na fase de recuperação, observaram decréscimo mais rápido nos animais treinados quando comparado aos não treinados.

2.5.4 Hematologia

As variações no perfil hematológico são utilizadas para avaliar o treinamento ou estado clínico dos animais. A avaliação hematológica de equinos em repouso tem sido objeto de estudo visando estabelecer uma relação com treinamento ou capacidade atlética (ROSE et al., 1983). Os parâmetros hematológicos, como hematócrito e proteínas plasmáticas totais, são considerados índices de desempenho válidos por alguns autores, porém, a maioria dos autores baseia-se em índices de lactatemia e frequência cardíaca, mas há alguns estudos relativos a outros tipos de variáveis como porcentagem de tipos de fibras musculares (MUÑOZ et al., 1997). Todavia, Marlin & Nankervis (2002) relataram que embora haja alterações na hematologia dos equinos decorrentes do exercício e treinamento, ainda não existem indicadores hematológicos confiáveis de desempenho e condicionamento físico.

Durante o exercício o baço, que estoca aproximadamente 33% da massa eritrocitária circulante durante o repouso, se contrai mobilizando as hemácias para a circulação, o que gera um rápido e pronunciado aumento dessas células na circulação aumentando, conseqüentemente, o hematócrito (HT), que é a porcentagem ocupada pelos eritrócitos no volume total de sangue (PERSSON, 1983b). O aumento do hematócrito, além da hemoglobina se deve pela contração esplênica induzida por adrenérgicos que ocorre em casos de hemorragias, excitação e exercícios, e também pela sudorese ocorrida durante o período de exercício (CONCEIÇÃO et al, 2001). Durante o exercício, o hematócrito pode aumentar em 40% devido à combinação da contração esplênica e redistribuição do volume de fluido circulante através do aumento da pressão sanguínea arterial. O aumento de hematócrito previne a queda da concentração de oxigênio sanguíneo durante o exercício intenso (SEEHERMAN et al., 1990).

Alguns fatores podem afetar o hemograma de cavalos de corrida, são eles: excitação e exercício, idade, raça, treinamento, deslocamento de fluido no plasma, *overtraining*, doenças subclínicas e alterações eritrocitárias provocadas pelo exercício (PICCIONE, 2004; MCGOWAN, 2008). Por isso, apesar do eritrograma poder ser usado para auxiliar na análise do animal durante o exercício, considera-se que a aplicação deste parâmetro para avaliação da evolução da condição física com o treino não seja muito confiável (KINGSTON, 2004).

Um dos fatores limitantes para o condicionamento atlético é a capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue. Essa característica é maximizada pelo aumento total da massa eritrocitária, havendo uma relação bem definida entre o estado atlético e o volume total de eritrócitos em humanos e equinos, essa relação pode ser mudada pelo treinamento físico (HODGSON & ROSE, 1994a). Um estudo desenvolvido em diferentes continentes demonstrou diferenças nos valores basais de parâmetros hematológicos como hematócrito, número de eritrócitos e concentração de hemoglobina em equinos (SNOW et al., 1983).

A elevação do hematócrito é dependente da intensidade e da duração do esforço, apresentando uma relação linear com a velocidade, podendo atingir um valor máximo de 60 a 65% (ROSE & ALLEN, 1985). Exercícios de curta duração levam a perda de cerca de 5 a 10% do volume plasmático pela sudorese e ao se prolongar a atividade ocorrerá significativa redução deste volume, provocando aumento do hematócrito (KINGSTON, 2004). McKeever et al. (1993) descreveu o aumento de hematócrito em cavalos submetidos a diversas intensidades de exercício. O hematócrito apresentou elevação rápida durante a primeira fase de um teste de exercício em esteira realizado a velocidade de 4 m/s. Na segunda etapa do teste de exercício em esteira, na velocidade de 5, 6 e 7 m/s o aumento no hematócrito ocorreu mais lentamente, em consequência da redução do volume plasmático. Schalm (1979) avaliou os principais parâmetros hematológicos de equinos Puro Sangue com idades superiores a 5 anos de idade. Os valores médios obtidos foram: hematócrito (%) = 40,8, hemoglobina = 14,4 g/dl, proteínas plasmáticas totais = 7,0 g/dl.

Jablonska et al. (1991) avaliando equinos após exercício de baixa intensidade, não observaram variações significativas ($p < 0,05$) no hematócrito e hemoglobina, atribuindo esse fato a não ocorrência da máxima contração esplênica, uma vez que a frequência cardíaca durante o exercício permaneceu abaixo de 150 batimentos por minuto. O aumento de proteínas plasmáticas totais foi justificado pela perda de fluidos do compartimento vascular. O grau de variação depende da duração e da intensidade do exercício. Um aumento de 5% nos níveis de proteínas plasmáticas totais durante o exercício reflete uma pequena variação no volume plasmático.

Smith et al., (1995) relataram que exercício de alta velocidade em esteira (10 m/s por 2 minutos com 3,3% de inclinação), reduz significativamente a fragilidade eritrocitária de equinos Quarto de Milha e Puro Sangue Inglês. Hanzawa & Watanabe (2000) observaram que o exercício aeróbio (9 ou 10 m/s) reduz significativamente a hemólise mensurável dos eritrócitos, enquanto o exercício anaeróbio (13 ou 15 m/s) aumenta significativamente a fragilidade osmótica em equinos atletas.

O exercício anaeróbio normalmente aumenta a pressão parcial de dióxido de carbono (pCO_2) e a concentração de lactato na corrente sanguínea, mas reduz a concentração de bicarbonato, reduzindo o pH sanguíneo. Bayly et al. (1995) e Pan et al. (1983) sugeriram que o exercício aeróbio afeta os eritrócitos sanguíneos através de alterações na composição lipídica e na estrutura protéica da membrana celular, que acabam reduzindo a fragilidade osmótica dos eritrócitos, enquanto o exercício anaeróbio afeta a composição lipídica e a estrutura proteica da membrana celular, tornando os eritrócitos suscetíveis às variações osmóticas (HANZAWA et al., 1999).

Persson (1967) afirma que o aumento excessivo do hematócrito provocado pelo aumento da viscosidade sanguínea poderia causar redução da perfusão capilar e diminuição do aporte de O_2 às células, com prejuízo para o desempenho desportivo. Corroborando com este fato, Muñoz et al (1997) mostraram que equinos com menores valores de hematócrito durante esforço máximo foram considerados animais de melhor

nível de treinamento, sugerindo que esta variável é negativamente correlacionada com a capacidade física.

2.5.5 Bioquímica sanguínea

Glicose - Durante o exercício, a demanda energética aumenta para ocorrer contração muscular. A energia suprida anaerobicamente pelo ATP e fosfocreatina durante a atividade física de alta intensidade se esgota rapidamente. O que torna o fator limitante para o desempenho da atividade física, a disponibilidade de glicose para a geração de energia pelo metabolismo anaeróbio e/ou aeróbio. A glicose sob a forma de glicogênio muscular é a fonte primária de energia durante o exercício extenuante em humanos e equinos. À medida que o exercício sub-máximo progride como ocorre em equinos treinados, a participação dos ácidos graxos como substrato para o fornecimento de energia via aeróbica aumenta (LACOMBE et al., 2003).

O efeito do exercício sobre os níveis de glicose sanguínea é variável em equinos. A glicose sanguínea não fornece muitas informações sobre o metabolismo dos carboidratos durante o exercício, uma vez que reflete tanto o balanço entre a glicose sanguínea mobilizada para o suprimento energético durante a atividade física, como àquela suprida pela glicogenólise hepática (LINDHOLM & SALTIN, 1974).

Em equinos não alimentados, a glicose plasmática tende a aumentar durante o exercício de intensidade moderada, diferente dos humanos e dos cães (ROSE; HODGSON, 1994a; PAGAN & HARRIS, 1999). O efeito do exercício sobre a concentração de glicose é variável dependendo da intensidade e duração do exercício (DERMAN & NOAKES, 1994). Os músculos em atividade utilizam uma quantidade maior de glicose com o aumento do período de atividade física (WAHREN et al., 1973). Em muitas espécies, o treinamento provoca várias alterações na utilização de substratos energéticos durante o exercício sub-máximo. Durante a atividade física sub-máxima de longa duração, a depleção dos estoques de glicogênio intramuscular ou a hipoglicemia, secundária a depleção de glicogênio hepático é a principal responsável pela fadiga (PAGAN et al., 2002).

Andrews et al. (1995) constataram que os acréscimos na concentração de glicose em equinos submetidos às provas de Concurso Completo de Equitação (CCE) eram superiores em comparação ao grupo de equinos submetidos a prova de enduro. Este aumento é decorrente do aumento da taxa de glicogenólise, provavelmente pelo aumento da demanda por glicose, além dos efeitos do estresse que estimula a liberação de glicose por estímulo adrenérgico. O aumento da glicogenólise e do estresse ocorre em consequência da duração prolongada da prova.

Fatores endócrinos como insulina, glucagon, epinefrina e norepinefrina são importantes reguladores do metabolismo da glicose durante o exercício (COGGAN, 1991). A redução na relação insulina/glucagon é o estímulo primário para a glicogenólise hepática, promovendo aumento da glicose durante o exercício de baixa intensidade em humanos e cães. Da mesma forma, a epinefrina pode estimular a produção de glicose hepática durante o exercício.

Outros fatores importantes que interferem na resposta glicêmica após o exercício são o tempo decorrido da última refeição até o início do exercício e a hora do dia em que o exercício foi praticado, porque a glicemia é bastante influenciada pelos hormônios pancreáticos e os mesmos são regulados pela digestão e absorção de carboidratos e pelo ciclo circadiano (SIMÕES, 2000). No entanto, como ressalta Pöso et al. (2002), o metabolismo da glicose durante o exercício é complexo sendo necessário mais estudos em equinos para esclarecer estes pontos.

Creatinaquinase - a creatinaquinase (CK) também chamada de creatina fosfoquinase, existe na forma de dímeros, formada por duas subunidades correspondentes as formas M (muscular) ou B (cerebral), havendo três isoenzimas (MM, MB e BB). A principal atividade de CK é fosforilar de forma reversível a creatina utilizando ATP, como uma forma adicional de conservação de energia (Fosfocreatina + ADP → Creatina + ATP + íon fosfato). Ela é encontrada principalmente no tecido muscular (esquelético e cardíaco) e em menor quantidade no rim, cérebro, diafragma, trato gastrointestinal, útero e bexiga (KANEKO et al., 1997).

A CK é amplamente usada para diagnosticar problemas musculares. A enzima é citosólica ou associada às estruturas das miofibrilas, estando em baixos níveis no plasma. Requer Mg^{+2} como co-fator e, portanto, sua atividade pode estar inibida na presença de compostos quelantes (EDTA, citrato, oxalato). Em geral, a atividade plasmática de CK apresenta um pico 4 a 12 horas após a realização do exercício. A meia-vida de CK em equinos é de aproximadamente 90 minutos. Em equinos saudáveis, cães e humanos, o exercício físico pode aumentar a atividade plasmática ou sorológica de CK de 2 a 4 vezes e exceder os valores de referência para o indivíduo em repouso. A magnitude do aumento depende da intensidade do exercício, da duração e é influenciado primariamente pelo condicionamento físico do animal, pela idade, sexo e dieta (MacLEAY et al., 2000).

Os valores de referência para CK são de aproximadamente 147 UI/l para equinos da raça Puro Sangue Inglês e 18-217 UI/l para equinos de trote (ROBINSON, 2003). A média da concentração de CK em cavalos de salto da raça Sela Belga foi de 51.2 UI/l em repouso (ART et al., 1990b).

Rose et al. (1980) avaliaram a variação da concentração de CK em cavalos durante e após o segundo dia (enduro, percurso com obstáculos e corrida) de um evento de 3 dias. Verificaram que a atividade de CK variou de 192,7 UI/l pré-evento para 460,5 UI/l após a corrida com obstáculos, 684,2 UI/l após enduro e 874,4 UI/l após 30 minutos de recuperação. A enzima muscular CK aumentou significativamente e apresentou valores acima dos verificados antes do evento em todos os tempos de coleta.

A CK é um indicador da intensidade do exercício. Em muitas espécies, incluindo os equinos, o exercício intenso provoca aumento da concentração plasmática de muitos marcadores, incluindo a creatinaquinase. Conforme o tipo e a duração do exercício esta enzima citosólica é liberada na corrente linfática devido ao seu tamanho e após, chega a corrente sanguínea, por consequência da alteração na permeabilidade da membrana plasmática e/ou lesão na célula muscular esquelética (VOLFINGER et al., 1994). Murakami & Takagi (1974) apresentaram evidências de que o aumento de CK durante o exercício é diretamente relacionado à carga de trabalho e o condicionamento físico do equino. A cinética da enzima CK antes e após o exercício foi estudada por vários autores e pode ser utilizada para detecção de doenças musculares (BOFFI et al., 2007), caracterização da intensidade do exercício (ART et al., 1990; TEIXEIRA-NETO et al., 2008) e predição de possíveis complicações decorrentes do exercício (TRIGO et al., 2010).

Lactato desidrogenase - a lactato desidrogenase catalisa a oxidação reversível do lactato para piruvato com cofator NAD^+ . (Piruvato + $NADH$ \xrightarrow{LDH} Lactato + NAD^+) Existem cinco isoenzimas da LDH que são derivadas de duas subunidades, sendo elas nomeadas cardíaca (H) e muscular (M). As duas subunidades puras, H4 e M4, diferem entre si cineticamente, a M4 tem K_m para piruvato mais elevado que a H4 (PESCE et al., 1964) e essa mantém sua atividade catalítica em altas concentrações de piruvato, o que inibe a atividade da H4 (DAWSON et al., 1964). A concentração de LDH nos

eritrócitos é 150 vezes maior do que no plasma. Foi utilizada anteriormente como indicador de lesão muscular esquelética ou cardíaca (GONZÁLEZ & SILVA, 2003). Porém, autores afirmam que o aumento da atividade sérica desta enzima não é específico para lesão muscular (CÂMARA SILVA et al, 2007).

Os valores encontrados para cavalos Sela Belga em repouso foram de 245.5 ± 25.8 UI/l (ART et al., 1990b). Judson et al. (1983) detectaram variações de lactato desidrogenase após a realização de exercício sub-máximo e máximo. Os valores variaram de 306 UI/l em repouso para 325 UI/l após um minuto de exercício sub-máximo e 231 UI/l em repouso e 311 após a realização de exercício máximo. As alterações dos níveis de lactato desidrogenase foram semelhantes à magnitude do aumento observado nos níveis de proteínas totais e, portanto foram atribuídas a hemoconcentração. Alterações passageiras nos níveis de LDH foram detectadas em atletas humanos cujos aumentos foram proporcionais a intensidade do exercício e consequência da hemoconcentração.

McGowan et al. (2002) analisaram o comportamento da enzima LDH frente a um programa de treinamento prolongado (em esteira de alta velocidade com inclinação de 10° e intensidade de aproximadamente 60% de $VO_{2máx}$). Os autores comprovaram não haver alterações significativas nas concentrações plasmáticas de LDH.

2.5.6 Hemogasometria

Considerado o método mais adequado e eficaz para a detecção das alterações do equilíbrio ácido-base dos fluidos orgânicos (DAY, 2002; GOKCE et al., 2004), a hemogasometria consiste na análise dos gases sanguíneos, sendo eles a pressão parcial de oxigênio (PO_2) e pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2), assim como do bicarbonato, pH e eletrólitos plasmáticos. O sangue venoso fornece informações sobre a perfusão tecidual e do estado ácido-base metabólico do equino (CARLSON, 1997; DAY, 2002).

O controle do equilíbrio ácido-base se refere à regulação da concentração do íon hidrogênio (H^+) nos líquidos corporais. A concentração deste íon é expressa pelo pH, cuja variação ocorre inversamente à concentração do íon hidrogênio, gerando casos de acidemia quando a concentração de íons hidrogênio se eleva no sangue e alcalemia quando a concentração de H^+ diminui (CARLSON, 1997). A alteração metabólica mais comum é a adição de excesso de ácido ou de íons hidrogênio aos líquidos corpóreos, como produtos do metabolismo glicolítico. A quantidade de ácido produzida está relacionada à dieta, à intensidade de exercício e a outros processos fisiológicos (CUNNINGHAM, 1999).

O equilíbrio ácido-base é representado tradicionalmente pelas relações entre a pressão parcial de dióxido de carbono (pCO_2), o pH e o íon bicarbonato no plasma sanguíneo. Segundo STEWART (1983), o equilíbrio ácido-base também é dependente da diferença entre íons fortes (SID), da concentração total de ácidos fracos e da pressão parcial de CO_2 (LINDINGER, 2004). A SID é expressa em mmol/L e determinada principalmente pela diferença entre as concentrações dos cátions fortes (sódio [Na^+]; potássio [K^+] e magnésio [Mg^{++}]) e ânions fortes (cloro [Cl^-], lactato [Lac] e sulfato), seus principais determinantes são Na^+ , K^+ , Cl^- e Lac.

Em equinos, a diminuição na SID ocorre tanto pela diminuição na concentração de cátions fortes quanto pelo aumento na concentração de ânions fortes. Após exercício máximo, essa diminuição está relacionada, principalmente, ao aumento do lactato sanguíneo (ânion forte) ocasionando acidose metabólica. Por sua vez, o aumento na SID está relacionado a grandes perdas de cloro levando ao desenvolvimento de alcalose

metabólica hipoclorêmica, o que ocorre em provas de enduro devido ao grande volume de suor eliminado, sendo esse hiperclorêmico (CARLSON, 1997; LINDINGER, 2004).

Estudos demonstram diferença entre os sangues arterial e venoso, sendo que o sangue arterial possui valores maiores para o pH e menores para $p\text{CO}_2$ e HCO_3^- (SPEIRS, 1980). Os valores maiores para o bicarbonato no sangue venoso refletem o papel importante do mesmo como meio de transporte de CO_2 (CARLSON, 1995).

Na ausência da hemogasometria, pode-se utilizar a diferença entre a somatória de cátions ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) e ânions mensuráveis ($\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-$), denominada de *anion gap* (AG). Apesar do AG não representa a diferença total entre cátions e ânions plasmáticos, por ser o resultado apenas dos íons mensuráveis (POLZIN et al., 1982; DIBARTOLA, 2001). Os valores normais para o AG estão entre 6,6 e 14,7 mmol/L. O aumento desta variável geralmente está relacionado à acidose láctica associada ao exercício máximo (CARLSON, 1997).

A regulação do íon hidrogênio é essencial uma vez que as atividades dos sistemas enzimáticos do organismo são influenciadas pelo pH. Três sistemas são usados para mantê-lo em limites compatíveis com os processos fisiológicos, são eles: sistema tampão sanguíneo, respiratório e renal. O sistema tampão é dividido em três grandes componentes: bicarbonato/ácido carbônico, proteínas e fosfatos. (GUYTON & HALL, 2002). O mecanismo respiratório altera a taxa de remoção do dióxido de carbono (CO_2) e, conseqüentemente, alterando a concentração do ácido carbônico (H_2CO_3) no sangue pela ação da enzima anidrase carbônica presente principalmente, nas hemácias. Porém, o principal responsável pela excreção real do excesso de H^+ é o sistema renal (CUNNINGHAM, 1999). Os rins controlam a concentração de íons H^+ do líquido extracelular por três mecanismos básicos: secreção de íons H^+ , reabsorção dos íons HCO_3^- filtrados e produção de íons HCO_3^- (HOUPY, 2006).

O exercício físico causa elevação da concentração de lactato como produto do metabolismo anaeróbico das células musculares. Mecanismos compensatórios são ativados para prevenir as variações de pH, sendo eles o consumo de bicarbonato e redução de $p\text{CO}_2$. Existe uma relação inversamente proporcional entre as variações na concentração de lactato e bicarbonato plasmático (AGUILERA-TEJERO et al., 2000).

O pH da fibra muscular em repouso é regulado pelo sistema Na^+/H^+ , enquanto o sistema HCO_3^- tem função secundária. Durante a atividade muscular intensa, tanto o H^+ quanto o lactato se acumulam na célula, causando diminuição do pH intracelular levando o animal à fadiga. Somente o sistema lactato/ H^+ remove lactato do interior da fibra muscular enquanto o H^+ pode ser removido pelos sistemas HCO_3^- , lactato/ H^+ e Na^+/H^+ . A atividade destes sistemas é dependente do tipo de fibra, da idade e do treinamento físico. A capacidade do sistema HCO_3^- é específica para o tipo de fibra muscular (JUEL, 1997).

A quantidade de O_2 no sangue arterial é determinada principalmente, pela concentração de hemoglobina e pela porcentagem de sítios de ligação desta para o O_2 . O valor de O_2 ligado à hemoglobina determina a saturação de oxigênio ($s\text{O}_2$) (POOLE & ERICKSON, 2004). A pressão parcial de O_2 ($p\text{O}_2$) representa a pressão relativa exercida pelo gás em uma mistura de gases (no ar ou em meio líquido) (FENGER et al., 2000).

A afinidade da hemoglobina pelo oxigênio e a posição da curva de dissociação do mesmo são dependentes da temperatura, do pH e da ligação do CO_2 à molécula de hemoglobina, chamado de efeito Bohr (TERZY, 1992). Acidemia, elevação da pressão parcial de dióxido de carbono e da temperatura, deslocam a curva para a direita, ou seja, diminuem a afinidade da hemoglobina pelo O_2 e mais O_2 será liberado. Quando ocorre a elevação do pH, a diminuição do CO_2 e da temperatura há deslocamento da curva para a esquerda aumentando a afinidade da hemoglobina pelo O_2 produzindo maior saturação

de hemoglobina para uma dada pressão parcial de O_2 (Figura 1). Tal fenômeno ajuda a aumentar o carregamento de O_2 nos capilares pulmonares (FENGER et al., 2000).

A capacidade da hemoglobina em fixar oxigênio depende de seu grupamento heme, que é constituído de uma parte orgânica (protoporfirina) e um átomo de ferro, podendo este estar tanto no estado ferroso (+2) como no férrico (+3). Somente o estado ferroso é capaz de se ligar ao oxigênio. O principal fator que determina a extensão da ligação do O_2 à hemoglobina é a pressão parcial de oxigênio. Sob uma pressão parcial de oxigênio de 100 mmHg, presente no sangue arterial a hemoglobina está cerca de 97,5% saturada com oxigênio. Quando a pressão parcial de oxigênio é de 40 mmHg que ocorre no sangue venoso, a saturação de oxigênio está em torno de 72% (FENGER et al., 2000).

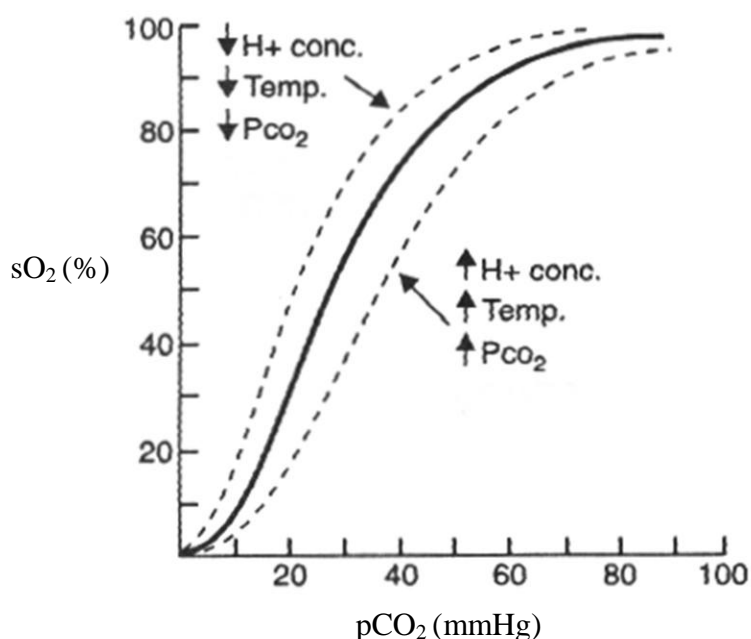


Figura 1. Variações da curva de dissociação da oxi-hemoglobina em função das variações da concentração de hemoglobina, temperatura corpórea e pCO_2 (PRATT, 2006).

Durante o exercício intenso, ocorrem elevações do débito cardíaco, da ventilação e da extração de O_2 a partir do sangue em resposta ao aumento da demanda de O_2 , porém essas alterações não atendem às necessidades teciduais, passando a predominar o metabolismo anaeróbio, resultando em produção de ácido lático. A pO_2 diminui para aproximadamente 40 mmHg aumentando a captação de O_2 . Com essa pO_2 , o sangue perde 25% do seu oxigênio por difusão para as células (LEKEUX & ART, 1994). Ocorre também alteração na diferença entre as pressões de O_2 alveolar e arterial, cujo valor médio em repouso se mantém em torno de 4 mmHg, se elevando podendo atingir 30 mmHg, o que pode impedir a difusão do O_2 dos alvéolos para o sangue (NYMAN et al., 1995). O impedimento da difusão de O_2 do alvéolo para o sangue é relatado como a principal causa de ocorrência de hipoxemia nos exercícios de intensidade máxima (WAGNER et al., 1989). Ocorre ainda o decréscimo da sO_2 , que em média é 95% durante o repouso, caindo para 85% durante este tipo de exercício, justificando também a hipoxemia arterial (POOLE & ERICKSON, 2004) com valores de pO_2 menores que 80 mmHg e, hipercapnia com valores da pCO_2 maiores que 50 mmHg (BAYLY et al., 1989). Outra causa importante da hipoxemia é o aumento da velocidade do fluxo

sanguíneo na artéria pulmonar, devido ao aumento do débito cardíaco, diminuindo consideravelmente o tempo de captação do O₂ (WILKINS et al., 2001) por diminuir tempo de trânsito dos eritrócitos pelos capilares.

O transporte do CO₂ na corrente sanguínea é feito em combinação com a água (H₂O), formando bicarbonato (HCO₃⁻) e pela hemoglobina, somente 5% do CO₂ se encontram dissolvidos no plasma; esta fração representa a pressão parcial de CO₂ (pCO₂) (LEKEUX & ART, 1994).

Estudos mostram a ocorrência de diminuição nos valores de pCO₂ e aumento de pCO₂ imediatamente após o exercício, decorrente da utilização acentuada de oxigênio e produção de dióxido de carbono nas células musculares em exercício (AINSWORTH, 2008). A este fato, soma-se a incapacidade dos equinos de realizar uma hiperventilação compensatória durante o exercício, porque os equinos apresentam um acoplamento entre os galões do galope e os ciclos respiratórios, impedindo assim o aumento significativo da frequência respiratória, ocorrendo hipercapnia (ATTENBURROW & GOSS, 1994). Essa hipercapnia pode influenciar o desempenho de equinos durante o exercício, retardando a regulação do íon hidrogênio, particularmente aquele produzido nos músculos em atividade (ERICKSON, 1996). Portanto, a hipercapnia é marcante no sangue venoso, pois no sangue arterial as alterações na pressão parcial de dióxido de carbono arterial (PaCO₂) ocorrem apenas em estágios próximos à fadiga (LINDINGER, 2004).

2.5.7 Eletrólitos plasmáticos

A água é o componente mais abundante no organismo representando nos equinos aproximadamente 70% do seu peso vivo. Neste líquido estão diluídas inúmeras substâncias, entre elas os eletrólitos (CARLSON, 1987; JOHNSON, 1998). No líquido extracelular contém a maior parte do sódio e do cloro prontamente disponíveis e no líquido intracelular encontra-se a maior concentração de potássio, ambos em equilíbrio osmótico. Essa diferença na composição se deve, principalmente, à bomba de sódio/potássio ATPase das membranas celulares que transporta ativamente Na⁺ para fora da célula e K⁺ para dentro, em uma relação de 3[Na⁺]:2[K⁺] (BOFFI, 2007).

As funções dos eletrólitos no organismo animal são múltiplas, não existindo nenhum processo metabólico que seja independente ou se mantenha inalterado diante deles (FAN et al., 1994), sendo a principal função dos eletrólitos a manutenção das forças osmóticas possibilitando o equilíbrio de líquidos entre os compartimentos intra e extracelulares. Estes, ainda, estão envolvidos na atividade enzimática, na condução nervosa e despolarização de fibras musculares possibilitando a contração muscular (MANSMANN et al, 1974; HINTON, 1978).

Os efeitos do exercício sobre os eletrólitos séricos dependem da intensidade e da duração do esforço, bem como do grau de perda dos mesmos. As maiores perdas estão, geralmente, relacionadas com exercício de longa duração, mas também podem ocorrer nos exercícios de alta intensidade e curta duração em situações ambientais desfavoráveis como elevadas temperatura e umidade relativa do ar (COENEN, 2005). O esgotamento de fluídos corporais e reservas de eletrólitos, como consequência da sudorese, representa uma limitação importante para manutenção do desempenho durante exercícios prolongados (SCHOTT II & HINCHCLIFF, 1997). Williamson (1974) visando elucidar problemas de performance, desenvolveu um estudo que forneceu parâmetros para valores de concentração de eletrólitos séricos. A média obtida para o íon sódio foi de 141 mg/dl, para o potássio 3,8 mEq/l, 101 mEq/l para o cloro e 27 mEq/l como referência para o bicarbonato.

O sódio (Na⁺) é o cátion mais importante do líquido extracelular e se encontra no suor equino em concentrações semelhantes ou superiores às do plasma. É responsável pela manutenção da osmolaridade e, conseqüentemente, do volume de líquido extracelular, da manutenção da funcionalidade normal do sistema nervoso central, da geração de potencial de ação e excitabilidade dos tecidos e transporte de inúmeras substâncias através das membranas celulares (DEARO, 2001).

O potássio (K⁺) é o principal cátion do líquido intracelular, pois 98% do seu conteúdo corporal total estão no interior das células (HOUP, 2006). Sua manutenção em níveis fisiológicos é resultado da ingestão, absorção intestinal e perdas na urina, suor e fezes (JOHNSON, 1995) com a finalidade de preservar a condutividade neuromuscular e a função cardíaca (SEAHORN & SEAHORN, 2003). Geralmente, há aumento de suas concentrações dependendo da intensidade do esforço físico devido à sua maior saída da célula muscular (ROSE & HODGSON, 1994b). Este íon exerce função vasodilatadora e é responsável pelo aumento do fluxo sanguíneo para os músculos em atividade e pela redução inicial na resistência vascular periférica (BERNE et al., 2004). Perdas de potássio muscular e o aumento acentuado nas concentrações plasmáticas durante exercício de alta intensidade tem sido relacionadas à baixa atividade da bomba de sódio/potássio ATPase devido à diminuição do pH na célula muscular (HARRIS & SNOW, 1988). Alguns autores relacionam o aumento nas concentrações plasmáticas de potássio com elevações nas concentrações de lactato e íon hidrogênio (H⁺) (HARRIS & SNOW, 1988; SEJERSTED, 1992), porém alguns autores discordam dessa relação (FREESTONE et al., 1991).

O cálcio sérico total é a soma de três componentes (cálcio ionizado, cálcio ligado a proteínas plasmáticas e o cálcio complexado com ânions como citrato, fosfato, bicarbonato e lactato) sendo o quinto elemento mais abundante no organismo. De modo geral, todo cálcio se encontra no meio extracelular e 99% está armazenado como cristais de apatita nos ossos e dentes. Sua fração ionizada é a forma biologicamente ativa e compõe aproximadamente 50% do total de cálcio presente no sangue, enquanto que, o restante se encontra ligado à albumina e a outras proteínas plasmáticas. A principal função do cálcio durante o exercício é sua fundamental participação na contração muscular quando liberado do retículo sarcoplasmático (McKEEVER, 2004). A concentração plasmática de cálcio pode se manter inalterada, apesar das perdas que ocorrem com este íon durante o exercício, devido a sua baixa concentração no suor (DELDAR et al. 1982).

Um importante íon na manutenção da eletroneutralidade é o cloro (Cl⁻). Alterações nas concentrações de cloro plasmático durante o exercício constituem evidências da perda de cloreto por meio da sudorese (CARLSON et al., 1995). Para manter a eletroneutralidade do meio, o organismo mobiliza HCO₃⁻. Acredita-se que a elevação das concentrações sanguíneas de HCO₃⁻, por sua vez, seja responsável pelo desenvolvimento de alcalose metabólica. Os mecanismos de difusão do CO₂ no sangue e troca de HCO₃⁻ e Cl⁻ nos eritrócitos explicam o aumento na concentração de HCO₃⁻ e a redução de Cl⁻ no sangue venoso durante esforço físico, no qual há mínimo vestígio de suor. No pulmão, esse processo é revertido com a expiração do dióxido de carbono, resultando no aumento de Cl⁻ e diminuição de HCO₃⁻ arterial (TAYLOR et al., 1995).

FOREMAN et al. (1996) avaliaram equinos em esteira com velocidades incrementais em relação às variações na concentração de eletrólitos plasmáticos. Antes do exercício os valores encontrados foram de 136,0 mmol/l para sódio, 4,0 mmol/l para potássio, cloro de 103,0 mmol/l. A partir do trote houve elevação nos valores de sódio e potássio e, permaneceram semelhantes até o término do teste. A concentração de cloro foi inferior durante o exercício quando comparado ao valor antes do teste incremental.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O experimento foi conduzido no Laboratório de Avaliação do Desempenho de Equinos – LADEq, localizado na Escola de Equitação do Exército (EsEqEx), em Deodoro, Rio de Janeiro e no Laboratório de Bioenergética e Fisiologia Mitocondrial do Instituto de Bioquímica Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro com o número 264/2012.

3.2 Animais

Foram utilizados 14 equinos da raça Brasileiro de Hipismo, sendo nove machos castrados e cinco fêmeas, com idade média de $4,9 \pm 0,7$ anos, peso vivo médio de $494 \pm 33,9$ Kg. Os animais participavam da disciplina de Iniciação Esportiva no Curso de Instrutor de Equitação da EsEqEx.

Os equinos foram submetidos a exame clínico e hematológico para avaliação da higidez antes de participarem do experimento. Os animais foram pesados em balança mecânica (COIMMA[®]) com capacidade máxima de 1.000 kg. A avaliação da porcentagem de gordura corpórea foi feita através da determinação da espessura de tecido adiposo na garupa esquerda medida por ultrassonografia (DP-4.900VET Mindray[®]) e estimada de acordo com Westervelt et al. (1976).

Durante o período experimental os animais permaneceram em baias de alvenaria 4x4m dispostas de comedouros e bebedouros e livre acesso à água. A dieta foi composta de feno de coastcross (*Cynodon dactylon*) e concentrado comercial (Procavalo, Socil[®]), fornecida três vezes ao dia e 50 gramas de sal mineral, fornecido uma vez ao dia, junto com o concentrado.

A adaptação à esteira ergométrica de alta velocidade Galloper 5500 (Sahinco[®]) teve a duração de 15 dias, consistindo do reconhecimento do local e uso dos equipamentos de segurança, à adequada locomoção dos equinos sobre a esteira nos andamentos passo, trote e galope, bem como sua adaptação às mudanças de velocidade e de inclinação.

3.3 Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em dados pareados com dois tratamentos: Tratamento 1- avaliação antes do esforço físico e Tratamento 2 – avaliação após o esforço físico; com 14 repetições (animais).

3.4 Teste Incremental de Alta Velocidade

Os equinos foram separados por sorteio em sete pares, sendo dois equinos avaliados por dia. Este procedimento teve como objetivo avaliar as amostras musculares de forma mais rápida, aumentando a confiabilidade nas análises.

O frequencímetro cardíaco (Polar[®]) foi usado monitorando a frequência cardíaca durante todos os testes. Ao final dos testes, os resultados foram transferidos para o computador através de transmissão por infravermelho, utilizando a interface fornecida pelo programa Polar[®] e registrando o maior valor da frequência cardíaca, a cada etapa durante os testes.

As amostras sanguíneas consideradas como basais foram coletadas 6 horas antes do início do teste e 8 horas de jejum prévio. Os animais foram alimentados com concentrado 5 horas antes do teste, permanecendo em suas baias com livre acesso a água. Foi acoplado à região torácica dos equinos o frequencímetro cardíaco, para o monitoramento da frequência cardíaca. Os animais eram submetidos à rigorosa antissepsia da região onde se localiza topograficamente a veia jugular esquerda, para posterior venocateterização e acoplamento de tubo extensor ao cateter, de modo a permitir sucessivas coletas durante o teste. O tubo extensor e cateter eram então preenchidos com solução anticoagulante, constituída por solução de cloreto de sódio a 0,9% e heparina sódica. Em seguida a região do cateterismo era envolvida com liga de elastano, permitindo maior firmeza do sistema coletor durante o teste e, por fim, o animal era equipado com o selote, que era acoplado ao cinto de segurança da esteira de alta velocidade e com protetores de boleto e cascos (Figura 2).



Figura 2. Equino preparado para o teste em esteira de alta velocidade com o frequencímetro cardíaco, cateterizado e com equipamentos de proteção.

O teste incremental de velocidade foi conduzido em esteira de alta velocidade Galloper 5500 (Sahinco[®]). Utilizou-se protocolo adaptado de Hodgson & Rose (1994), o qual consistiu um aquecimento de 10 minutos, composto por 2 minutos na velocidade de 1,7m/s e 8 minutos na velocidade de 4,0m/s, sendo que os 4 últimos minutos nessa velocidade a esteira estava com inclinação de 3%, seguido pelo incremento de 1m/s a cada minuto, nas velocidades de 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 m/s. Na velocidade de 8 m/s equino permaneceu até não conseguir acompanhar a velocidade da esteira, considerando-se que o equino estava em fadiga (Figura 3).

A esteira foi imediatamente parada e a biópsia muscular no lado esquerdo foi realizada (Figura 4). Ao final da biópsia, procedeu-se o desaquecimento do equino durante 10 minutos ao passo, sem inclinação da esteira. Após, os animais foram resfriados e permaneceram até completar 20 minutos numa baia com livre acesso a água, sendo liberados com 30 minutos após o término do teste.



Figura 3. Teste incremental em esteira de alta velocidade.

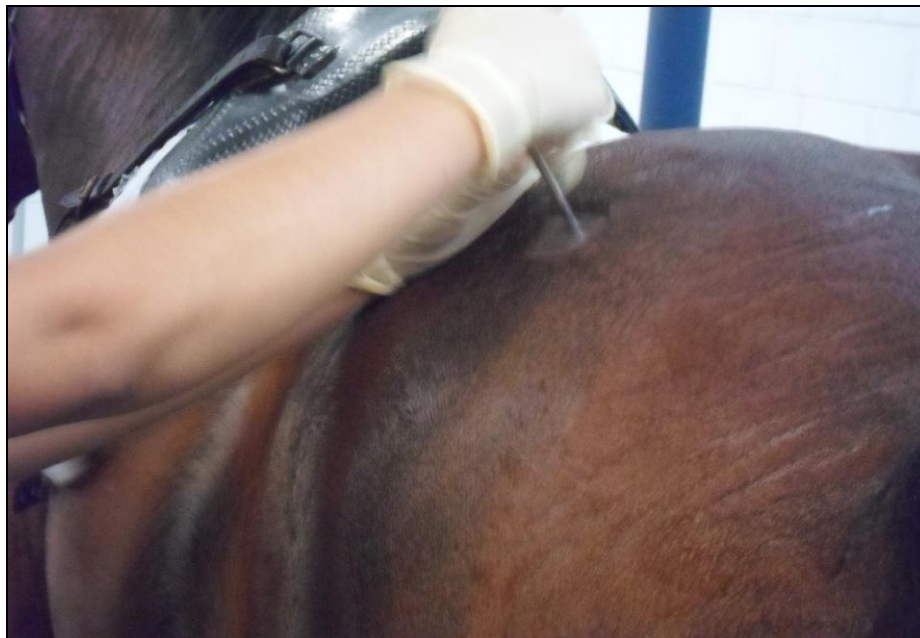


Figura 4. Biópsia muscular no glúteo médio esquerdo imediatamente após o teste de esforço máximo na esteira de alta velocidade.

3.5 Biópsias Musculares

Antes dos animais serem conduzidos para os testes na esteira foram realizadas tricotomia, antissepsia e anestesia na região anatômica do músculo glúteo médio esquerdo e direito. As biópsias musculares ocorrem antes e após o teste incremental de velocidade. A técnica consistiu na coleta de fragmentos do músculo glúteo médio direito e esquerdo, o local padronizado (LINDHOLM & PIEHL, 1974) localizado no terço médio cranial de uma linha imaginária que se estende da tuberosidade coxal à base da cauda. Para tanto, realizou-se tricotomia de uma área de aproximadamente 5cm², correspondente à região do músculo glúteo médio. Em seguida, realizou-se a antissepsia da área utilizando Iodopovidine e álcool iodado (1,0 % de iodo livre em álcool etílico de 77% (v/v)) (Figura 5).

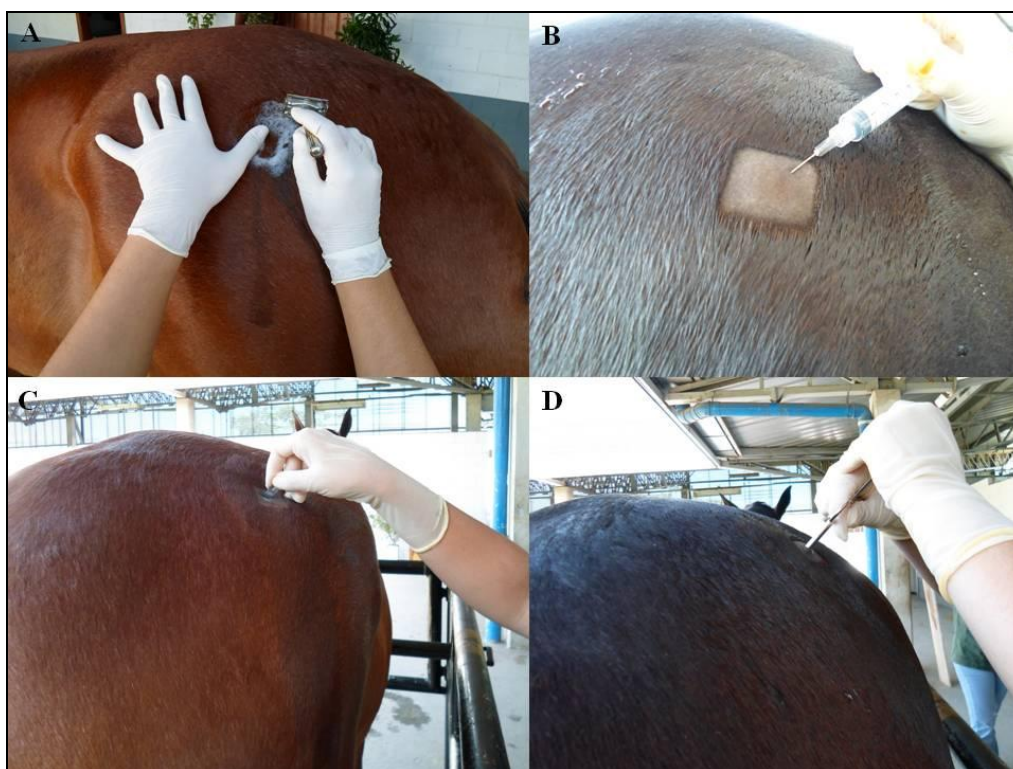


Figura 5. **A.** Local de realização da biópsia no terço médio cranial de uma linha imaginária que se estende da tuberosidade coxal à base da cauda; **B.** Bloqueio local com lidocaína 2%; **C.** Incisão na pele e subcutâneo utilizando lâmina de bisturi nº 21; **D.** Realização da biópsia muscular do músculo glúteo médio direito utilizando agulha tipo Bergström nº 6.0.

No local onde realizou-se a biópsia do lado direito, foi realizado o bloqueio anestésico local. Foram infiltrados no subcutâneo 2 ml de cloridrato de lidocaína a 2% sem vasoconstritor – Xilestein 2% (Crystalia®). Após dois minutos, foi feita novamente uma rigorosa antissepsia na área tricotomizada. Utilizando um bisturi com lâmina descartável nº 21, foi feita uma incisão, na pele, tecido subcutâneo, e fáscia glútea, de aproximadamente um centímetro e em seguida promoveu-se hemostasia compressiva utilizando gaze estéril.

Introduziu-se a agulha de biópsia percutânea do tipo Bergström nº 6.0 acoplada ao cilindro cortante com a janela fechada, ambos previamente esterilizados, em um

ângulo de 90°, na incisão promovida pela lâmina de bisturi, até aproximadamente 6,0 cm de profundidade, para atingir o músculo glúteo médio. Em seguida, o cilindro cortante foi suspenso, permitindo a abertura da janela de corte e procedeu-se o deslocamento lateral na agulha, pressionando lateralmente contra a massa muscular descrevendo um ângulo de 45°, então, introduziu-se o cilindro cortante para a realização do corte do fragmento muscular (Figura 6).

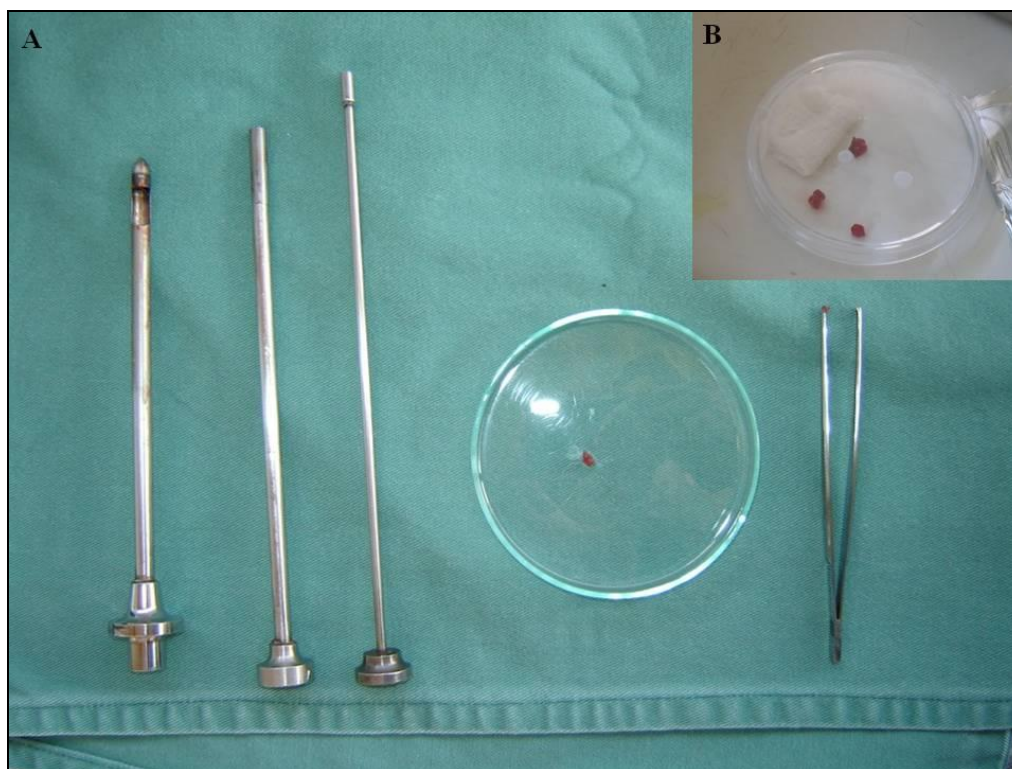


Figura 6. A. Agulha tipo Bergström nº 6.0; B. Amostras musculares realizadas em sequência em placa de Petri com gases úmidas.

Foram coletadas três amostras consecutivas do músculo glúteo médio através da mesma incisão no lado direito da garupa de cada animal. Após a colheita da amostra, a agulha foi retirada cuidadosamente e realizou-se a hemostasia comprimindo-se manualmente a ferida cirúrgica com gaze estéril. A lesão foi tratada com pomada cicatrizante e repelente. As biópsias musculares do glúteo médio esquerdo imediatamente após o último galope com os equinos na esteira de alta velocidade ocorreu como descrito anteriormente.

3.6 Respirimetria de Alta Resolução

Após a coleta dos fragmentos de músculo com a biópsia, dois dos fragmentos ficaram acondicionados em papel filtro até as contrações musculares cessarem, depois um fragmento foi recoberto com talco neutro e rapidamente congelado em nitrogênio líquido a -160°C por imersão direta, outro foi rapidamente congelado em nitrogênio líquido a -160°C por imersão direta, o terceiro fragmento foi acondicionado, imediatamente após a retirada, a 4°C em solução de BIOPS contendo 10 mM de $\text{CaK}_2\text{-EGTA}$, 7.23 mM de $\text{K}_2\text{-EGTA}$, 20 mM de imidazol, 20 mM de taurina, 50 mM de K-MES , 0.5 mM de ditioneitol, 6.56 mM de MgCl_2 , 5.77 mM de ATP e 15 mM de

fosfocreatina para ajustar o pH em 7.1, mantendo assim o metabolismo celular. No BIOPS, foi feito o divulsionamento das fibras musculares para aumentar a superfície de contato com a solução (Figura 7).

As amostras musculares foram transportadas em BIOPS sob refrigeração ao Laboratório de Bioenergética e Fisiologia Mitocondrial no Instituto de Bioquímica Médica na Universidade Federal do Rio de Janeiro. O procedimento iniciou-se com uma segunda separação das fibras musculares, retirando o tecido conjuntivo presente no fragmento utilizando pinça e tesoura. A permeabilização da membrana plasmática foi iniciada colocando as fibras musculares em 2ml de BIOPS contendo 50 mg / ml de saponina, permanecendo por 30 minutos sob leve agitação. Após esse período, foram lavadas três vezes em 2 ml de MIR 05 (0.5 mM EGTA, 3 mM MgCl₂, 60 mM K-lactobionato, 20 mM taurina, 10 mM KH₂PO₄, 20 mM Hepes, 110 mM sacarose e 1 g/l albumina bovina sérica livre de ácidos gráxos para ajustar o pH em 7.1) permanecendo em cada etapa por 10 minutos sob agitação. As fibras musculares permeabilizadas foram imediatamente pesadas em balança analítica e utilizadas para respirometria de alta resolução (GNAIGER, 2012).



Figura 7. Amostras musculares divulsionadas acondicionadas à 4°C em 2 ml de BIOPS.

Utilizou-se, aproximadamente, 5mg de fibra muscular permeabilizada para a análise, foram adicionadas nas câmaras do Oxígrafo-2k (OROBOROS, Innsbruck, Áustria) contendo 2 ml de MiR05 à 37.0 °C. A concentração de oxigênio (mM) e o fluxo de oxigênio por massa muscular (pmol/O₂/mg de massa muscular) é calculado usando o software DatLab (OROBOROS, Innsbruck, Áustria).

Durante o protocolo de titulação o nível de oxigênio na câmara foi mantido entre 70 e 200 mm O₂ para evitar qualquer limitação de oxigênio na respiração. Considerando que a pressão do oxigênio no nível do ar não é um fator limitante para estudos de respirometria com baixos níveis de oxigênio para mitocôndrias isoladas. As câmaras foram reoxigenadas quando o nível médios de O₂ caíam abaixo de 70 mM.

O protocolo, adaptado de Votion et. al. (2012) iniciou-se adicionando Piruvato e Malato (5 e 5 mM, respectivamente) e subsequente adição de ADP (1mM). Após, foi adicionado Citocromo c (0,01mM). Posteriormente, foi adicionado Succinato (20mM), e novamente ADP (1mM). A respiração mitocondrial foi inibida com adição de Oligomicina (2µg/ml). Com a adição de FCCP (Carbonyl-cyane-phenyl-hydrozone) (0,001mM) obteve-se a capacidade máxima da cadeia transportadora de elétrons, adicionando assim três vezes o volume de 1 µL de FCCP até não observarmos aumento da respiração mitocondrial. A inibição do Complexo I foi feita com a adição de Rotenona (0,5 µM). Adicionou-se TTFA (4 µM). Finalmente, o consumo residual de oxigênio foi obtido com adição de Antimicina A (2,5µM) que bloqueia a passagem de elétrons pelo Complexo III.

3.7 Amostras Sanguíneas

Em todos os testes procedeu-se coleta de sangue 6 horas antes do teste (coleta basal), com o equinos em jejum de 8 horas, por punção da veia jugular esquerda com agulha própria para coleta à vácuo em tubos siliconados contendo EDTA, fluoreto de sódio e sem anticoagulante, destinando-se a análise de hemograma, lactato e glicose e enzimas musculares como a creatinaquinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH), respectivamente (Figura 8).

Durante a execução do protocolo foram realizadas coletas de sangue a cada mudança de velocidade e imediatamente, após o último galope, em tubos contendo EDTA para o hemograma e, contendo fluoreto de sódio para análise de lactato e glicose. Nos testes em esteira de alta velocidade, as coletas eram realizadas através do sistema coletor previamente instalado nos animais como descrito anteriormente. Para avaliação da recuperação do teste, foram coletadas amostras aos 10 e 30 minutos do final do último galope.

Ao final da última etapa, às 3, 6, 12 e 24 horas após o teste foram tomadas amostras de sangue, por punção da veia jugular esquerda, em tubo sem anticoagulante, para análises de CK e LDH.

Após a obtenção das amostras, os tubos eram armazenados sob refrigeração até o adequado processamento. O hemograma foi realizado em contador de células automático. Os tubos contendo Fluoreto de Sódio e sem anticoagulante foram centrifugados a 3.000 rpm por 10 minutos para obtenção de plasma e soro, respectivamente. O plasma foi congelado até realização das análises por espectrofotometria para lactato (Katal® Lactato LOD-PAP) e para glicose (Labtest®). O soro foi congelado e posteriormente foram realizadas as análises das enzimas LDH e CK em espectrofotômetro com os respectivos kits da Biosystem®.



Figura 8. Amostras plasmáticas após centrifugação acondicionadas em *eppendorf* para serem congeladas.

Para a análise hemogasométrica, as amostras de sangue foram coletadas anaerobicamente, simultânea as coletas de sangue para hemograma e análises bioquímicas, sendo 5 horas antes do teste e imediatamente após o último galope, através da punção da jugular, com agulha 25 x 0,8mm, em seringas plásticas descartáveis de 5 ml, e encaminhadas imediatamente, em intervalo máximo de três minutos, para a análise das seguintes variáveis: potencial hidrogênio-iônico (pH), pressão de gás carbônico (pCO₂), pressão de oxigênio (pO₂), concentração de bicarbonato (HCO₃⁻), e análise das concentrações sanguíneas dos íons sódio, potássio e cálcio com equipamento de hemogasometria I-Stat (Roche®).

3.8 Análises Estatísticas

Os resultados das variáveis foram comparados pelo teste t pareado, a 5% de probabilidade. As variáveis estudadas foram analisadas mediante o programa estatístico GraphPad Prism 5.01. Os resultados foram apresentados como valores médios ± desvio padrão, na forma de tabelas e figuras.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Peso e Escore Corporal

O valor médio do peso corporal dos equinos foi de 494 kg e a espessura média da gordura subcutânea na região da garupa destes animais foi de 0,44 cm (Tabela 2). A avaliação por ultrassonografia da gordura de cobertura na garupa dos equinos foi utilizada para estimar a gordura corporal total obtendo-se o valor médio de 10,7%.

Tabela 2. Peso corporal (Kg), espessura da gordura subcutânea na garupa (cm) e percentual de gordura (%) (n=14).

Peso corporal (Kg)	Espessura de gordura da garupa (cm)	Gordura corporal (%) *
494 ± 33,9	0,44 ± 0,21	10,7 ± 1,0

* $\hat{y} = 8,64 + 4,70 X$ ($r^2 = 0,86$)

Segundo o NRC (2007), um equino de 500kg e com 5% de gordura possui 10 vezes mais energia acumulada na forma de gordura do que na forma de glicogênio, todavia ainda há poucos estudos que indiquem a porcentagem de gordura em diferentes grupos de equídeos. Devido a esse fato, tem sido estimulada a mensuração da porcentagem de gordura corporal em equinos para uma melhor compreensão das adaptações metabólicas durante as diferentes fases produtivas e/ou durante seus treinamentos. Manso Filho et al. (2009) observaram que animais jovens e cavalos de vaquejada apresentam menores porcentagens de gordura corporal quando comparado com garanhões e equinos castrados não ativos. A reduzida massa de gordura desses animais indica que os grupos de animais (crescimento, lactação e competições) são sujeitos a maiores desafios metabólicos e, por conseguinte, maior demanda energética, apresentaram menores acúmulos de gordura corporal.

O aumento da porcentagem de gordura corporal pode significar aumento das reservas energéticas para os exercícios de resistência, mas não para os de corrida, pois a formação de ATP a partir de compostos originários do tecido adiposo demora mais para ser metabolizada. O tempo de corrida está correlacionado negativamente com a quantidade de gordura corporal. Assim, os equinos de corrida apresentam baixa porcentagem de gordura, aproximadamente, 10,0% e equinos de vaquejada de 10,8% (MANSA FILHO et al., 2009). Essas porcentagens de gordura descritas na literatura são semelhantes à encontrada nesse estudo para equinos de CCE.

Leleu et al. (2009) avaliaram potros Puro Sangue Inglês e observaram que a composição corporal dos animais foi estreitamente relacionada com medidas indiretas de capacidade aeróbia, que são um dos principais fatores de desempenho atlético em equinos de corrida de média distância, o que não foi observado nesse estudo, não havendo correlação da porcentagem de gordura corporal com variáveis como VL4 e V200.

4.2 Biópsia Muscular

A técnica de biópsia muscular utilizada foi descrita por Lindholm & Piehl (1974) no músculo glúteo médio, por causa da importância desse músculo no movimento. Com essa técnica de biópsia, mesmo considerada muito invasiva

comparada com as novas técnicas de microbiópsias que usam agulhas menores, não ocorreram problemas com nenhum equino que passou pelo procedimento, não precisando de sutura no local da amostragem e o treinamento dos equinos não foi interrompido, como é descrito na literatura (SERRANO et al., 2000a). Porém, notamos que na incisão realizada para a biópsia antes do exercício demorou, em média, um dia a mais para completa cicatrização, no entanto, todos os locais de incisão para as biópsias estavam completamente cicatrizados quatro dias após a realização. Observou-se que nos procedimentos da biópsia após o exercício ocorreu maior sangramento devido à vasodilatação causada pelo esforço físico.

4.3 Respirometria de Alta Resolução

Atualmente, existem poucos estudos sobre respirometria mitocondrial em equinos atletas, existem apenas estudos pioneiros com equinos de resistência (enduro) (VOTION et al., 2010). Nesta análise pode-se avaliar as repostas da fosforilação oxidativa e da cadeia transportadora de elétrons de equinos utilizando protocolos com substratos ou inibidores da cadeia transportadora de elétrons pode-se avaliar a função respiratória medindo o fluxo de oxigênio consumido quando elétrons são transferidos para os complexos dessa cadeia. As medições são totalmente dependentes do que é fornecido em cada passo dos protocolos realizados com condições experimentais específicas (ou seja, 37 °C, alta concentração de ADP, sem limitação de substrato e de controle do nível de oxigênio no meio. Nesse estudo o fluxo de oxigênio foi entre 200 a 50 pmol de O₂/s*mg de fibra fresca) para atingir a respiração máxima (GNAIGER, 2009).

A fosforilação oxidativa é o processo que forma ATP a partir de ADP, para que ocorra esse processo é preciso que a cadeia transportadora de elétrons esteja acoplada. O acoplamento é conseguido através das bombas de prótons que geram e utilizam a força proton-motriz num circuito de prótons através da membrana mitocondrial interna. Este circuito de prótons é parcialmente desacoplado por vazamentos destes através da membrana mitocondrial interna. O estado de acoplamento da mitocôndria é um componente chave do controle respiratório mitocondrial considerado seu estado ativo, aumentando sua afinidade pelo oxigênio. Em condições experimentais, o estado desacoplado é o estado controlado totalmente que pode ser induzido pela adição de substratos desacopladores como o FCCP, obtendo-se um estado de referência com menor potencial de membrana mitocondrial, para avaliação da capacidade respiratória através do sistema de transferência de elétrons (GNAIGER, 2012).

Foi utilizado na presente pesquisa um protocolo de titulação com substratos e inibidores com a finalidade de avaliar a capacidade respiratória mitocondrial em fibras musculares de equinos de CCE antes e após exercício intenso em esteira de alta velocidade. Na figura 9, foram ilustrados os valores da respiração mitocondrial quando adicionado os substratos nessa ordem, e a variação da respiração antes e após exercício para cada substrato.

Quando a fibra muscular é colocada na câmara do oxígrafo com substrato para o Complexo I, como Piruvato, Malato e Glutamato o ciclo do ácido tricarboxílico será estimulado. A estimulação da respiração mitocondrial aumenta 15% no músculo esquelético de humanos quando adicionado piruvato/malato (GNAIGER, 2012). A primeira adição de Piruvato e Malato estimulou, principalmente, o Complexo I e em seguida a adição de ADP levou a um aumento da respiração, caracterizando o Estado 3.

O citocromo c foi adicionado para avaliar a integridade da membrana mitocondrial e saber se a respiração não estava sendo superestimada por essa alteração.

Quando o fluxo de oxigênio subiu mais de 15% após adição de citocromo c, foi descartada a respectiva corrida devido à lesão na membrana que apresentava.

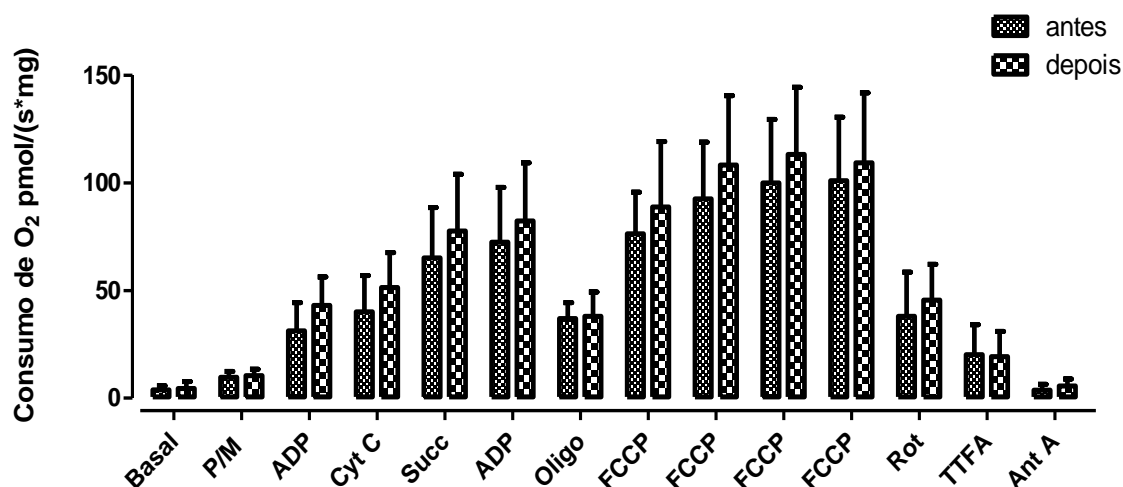


Figura 9. Valores da respiração mitocondrial quando adicionado os seguintes substratos piruvato/malato (5/5 mM), ADP (1 mM), citocromo c (0,5 mM), succinato (10 mM), ADP (1 mM), oligomicina (1 µg), FCCP (1 µM), rotenona (0,5 µM), TTFA (0,3 µM) e antimicina A (5 µM) antes do exercício (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

A adição de succinato ativa, predominantemente, o complexo II e forma o fluxo máximo respiratório que envolve o fluxo de elétrons convergente de complexos I + II para a proteína Q (GNAIGER, 2009). A reconstituição da função do ciclo do ácido tricarboxílico nas mitocôndrias permeabilizadas requer a adição de succinato como substrato, principalmente, para o complexo II (GNAIGER, 2012). Houve adição novamente de ADP que pode ser comparada com o ADP regenerado por enzimas como a hexoquinase ou creatinaquinase para estimulação da respiração. Em seguida oligomicina foi injetada para calcular o controle respiratório, pois a oligomicina inibe a ATP-sintase.

Para avaliar a respiração máxima foi adicionado três vezes FCCP. Em testes preliminares observou-se que maiores concentrações resultavam em inibição da respiração. A respiração máxima também chamada de capacidade do sistema de transferência de elétrons (ETS) é avaliada em uma operação de circuito aberto do gradiente transmembrana de prótons, e esse estado de circuito aberto é estabelecido experimentalmente por desacoplamento completo usando FCCP. A respiração do complexo I foi medida com a adição de rotenona que inibe esse complexo e a respiração do complexo II foi medida com a adição de TTFA que inibe o segundo complexo. A respiração mitocondrial e não mitocondrial foi avaliada com a adição de antimicina A, que inibe a respiração mitocondrial.

Os resultados do controle respiratório, respiração máxima, respiração mitocondrial, complexo I, complexo II, respiração não mitocondrial e estado 3 da respiração com substrato piruvato/malato antes do exercício (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade demonstraram que só houve alteração antes e após

o exercício nos valores de respiração não mitocondrial e no estado 3 da respiração com os substratos piruvato/malato (Tabela 3). Os resultados que apresentaram diferença significativa antes e após o exercício estão representados na figura 10.

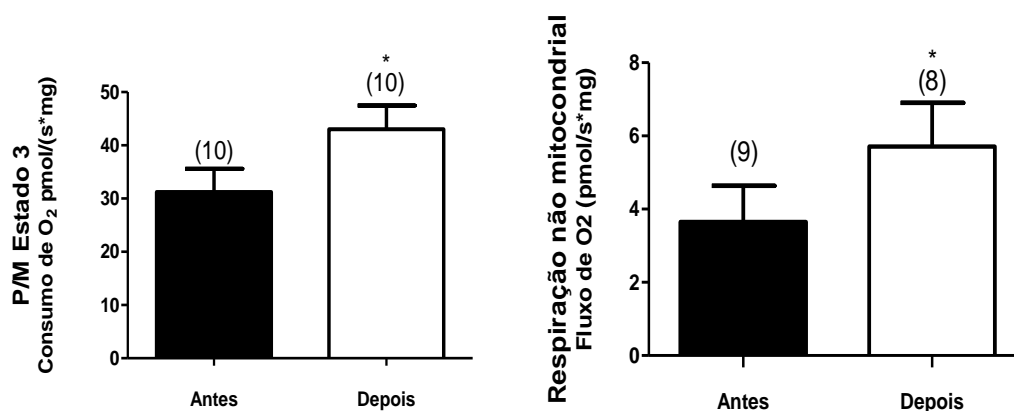


Figura 10. Valores da respiração não mitocondrial e estado 3 da respiração com substrato piruvato/malato antes do exercício (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

Não houve diferença ($p > 0,05$) nos valores médios do controle respiratório antes e após exercício intenso em equinos de CCE. Essa variável é calculada pela divisão dos valores máximos encontrados após a adição da segunda dose de ADP com os valores do consumo de oxigênio após adição de oligomicina. Os valores médios observados foram antes e após o exercício, respectivamente, $1,962 \pm 0,58$ e $2,27 \pm 0,77$ (pmol de O₂/s*mg de fibra fresca) (Tabela 3). Essa variável é a forma indireta de estimar o quanto de ATP está sendo formado a partir de ADP, sua média varia normalmente entre 1 e 2 (pmol de O₂/s*mg de fibra fresca) (GNAIGER, 2012).

Os valores da respiração máxima encontrados antes e após o exercício intenso não diferiram entre si ($p > 0,05$), sendo os valores observados $102,50 \pm 31,03$ e $114,90 \pm 32,78$ (pmol de O₂/s*mg de fibra fresca), respectivamente (Tabela 3). Como dito anteriormente, essa variável é chamada de capacidade do sistema de transferência de elétrons (ETS) que é o fluxo total de prótons que passa pela membrana desacoplada. Votion et.al. (2010) afirmaram que a respiração mitocondrial é inibida por valores altos de lactato plasmático mostrando a predominância do metabolismo anaeróbico, essa afirmação não foi vista nesse estudo onde os equinos apresentaram altos índices de lactato plasmático mas os valores da respiração mitocondrial não diminuíram, caracterizando o metabolismo anaeróbico como a principal fonte de energia durante o teste de esforço máximo.

A respiração mitocondrial é o resultado da respiração máxima menos o valor encontrado para o consumo de oxigênio após adição de Antimicina A. Esses valores médios antes e após exercício também não variaram entre si ($p > 0,05$) (Tabela 3).

A respiração mitocondrial correspondente ao complexo I foi feita pela diminuição do valor do consumo de oxigênio após a adição de rotenona no valor médio encontrado para a respiração máxima e a respiração correspondente ao Complexo II é o valor encontrado para o complexo I menos o consumo de oxigênio observado após adição de TTFA. Esses dois parâmetros não variaram entre si ($p > 0,05$) como pode ser visto na tabela 3.

Tabela 3. Valores médios \pm desvio padrão obtidos para controle respiratório, respiração máxima, respiração mitocondrial, complexo I, complexo II, respiração não mitocondrial e estado 3 da respiração com substrato piruvato/malato antes do exercício (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

(pmol de O ₂ /s*mg de fibra fresca)	Respirometria mitocondrial	
	Repouso	Após exercício
Controle respiratório	1,962 \pm 0,58 ^a	2,27 \pm 0,77 ^a
Respiração Máxima	102,50 \pm 31,03 ^a	114,90 \pm 32,78 ^a
Respiração Mitocondrial	99,26 \pm 31,22 ^a	110,30 \pm 30,89 ^a
Complexo I	62,96 \pm 34,36 ^a	69,36 \pm 27,88 ^a
Complexo II	46,46 \pm 30,71 ^a	50,06 \pm 33,28 ^a
Respiração Não Mitocondrial	3,65 \pm 2,96 ^b	5,71 \pm 3,37 ^a
Estado 3 (P/M)	31,23 \pm 13,87 ^b	43,01 \pm 14,08 ^a

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si em teste t pareado ($p \leq 0,05$)

No entanto, o consumo de oxigênio correspondente à respiração não mitocondrial foi maior após o exercício ($p < 0,05$) comparada com o valor observado antes do teste de esforço (Tabela 3). Esse resultado mostra que houve aumento da respiração residual de oxidases do músculo após o exercício intenso (GNAIGER, 2012). Votion et.al. (2010) avaliando equinos após prova de enduro obtiveram um valor de respiração não mitocondrial de apenas 2% da respiração máxima, consideraram que as reações oxidativas secundárias foram insignificantes, nesse estudo esse índice foi de aproximadamente 4%. Os valores do consumo do Estado 3 após o exercício também foi maior comparado com o anterior ao exercício ($p < 0,05$) como mostrado na tabela 3, porém, essa variação necessita de mais estudos para que haja entendimento do porquê desse aumento.

No presente estudo, a respiração mitocondrial por massa muscular foi determinada por adições sequenciais de combinação de substratos que fornecem elétrons para a coenzima Q. A cadeia transportadora de elétrons não pode ser conceituada como linear, o Complexo I e o II devem ser vistos como ramos de entrada convergentes para a coenzima Q. *In vivo*, o fluxo de elétrons se liga à coenzima Q, vindos de diversas vias metabólicas. Os elétrons são provenientes de glicólise aeróbica que resultam da descarboxilação de piruvato pela piruvato desidrogenase localizada nas mitocôndrias, a partir do ciclo do ácido tricarboxílico e da β oxidação de ácidos graxos. Essa função integrada dos substratos que chegam à proteína Q pelos complexos aumenta a função do ciclo do ácido tricarboxílico em até duas vezes comparado com experimentos que usavam apenas succinato + rotenona (Complexo II) ou substratos apenas ligados a NADH (Complexo I) (GNAIGER, 2009).

A capacidade oxidativa da célula muscular pode ser aumentada de acordo com o treinamento que o equino pratique. Programas de condicionamentos aeróbios em equino de enduro induzem maior aumento na atividade do metabolismo oxidativo e uma diminuição do metabolismo anaeróbio comparado com outros tipos de treinamento (RIVERO et al, 1995 c). Mamíferos podem aumentar a taxa metabólica em até 30 vezes em exercício máximo, porém, equinos atletas podem aumentar essa taxa em até 50

vezes. No entanto, o aumento da demanda energética após o início do exercício não é essencial para ativação da respiração, ela está limitada, *in vivo*, pelo suplemento de oxigênio da célula (GNAIGER, 2009). Esse parâmetro é limitado pelo metabolismo oxidativo das células musculares, pois se ele não sustentar o consumo de energia pelo músculo, o metabolismo anaeróbio produzirá energia com a liberação de lactato para o sangue que em altas concentrações pode cessar a prática do exercício (WEIBEL et.al., 2005).

4.4 Lactato Plasmático

Houve diferença ($p < 0,05$) nos valores médios de lactato plasmático antes do teste, imediatamente após o último galope e 30 minutos após o término do exercício, correspondendo ao final da recuperação. Os valores observados nesses momentos foram, respectivamente, de $0,39 \pm 0,10$; $11,83 \pm 5,77$ e $3,96 \pm 4,64$ mmol/L (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios \pm desvio padrão da concentração plasmática de lactato antes (repouso), ao final do último galope a 8 m/s e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

	Repouso	8m/s	Após 30 min
Lactato plasmático (mmol/L)	$0,39 \pm 0,10^c$	$11,83 \pm 5,77^a$	$3,96 \pm 4,64^b$

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si em teste t pareado ($p \leq 0,05$)

O aumento da concentração de lactato no músculo e no sangue pode ser causados por vários fatores, sendo a quantidade de O_2 presente no músculo um deles. O lactato é um composto produzido pelo metabolismo anaeróbio, caracterizado pela ausência de O_2 , mas também, quando há concentrações baixas de O_2 (GLADDEN, 2004). Os valores de lactato plasmático observados após o exercício foram considerados altos demonstrando que a intensidade do exercício foi elevada, por existir uma correlação altamente positiva entre a concentração de lactato e a intensidade das sessões de exercício, segundo Guhl et al. (1996).

A exponencial das concentrações plasmáticas de lactato em função da velocidade determinada para os equinos exercitados em esteira rolante resulta curva velocidade-lactato (Figura 11).

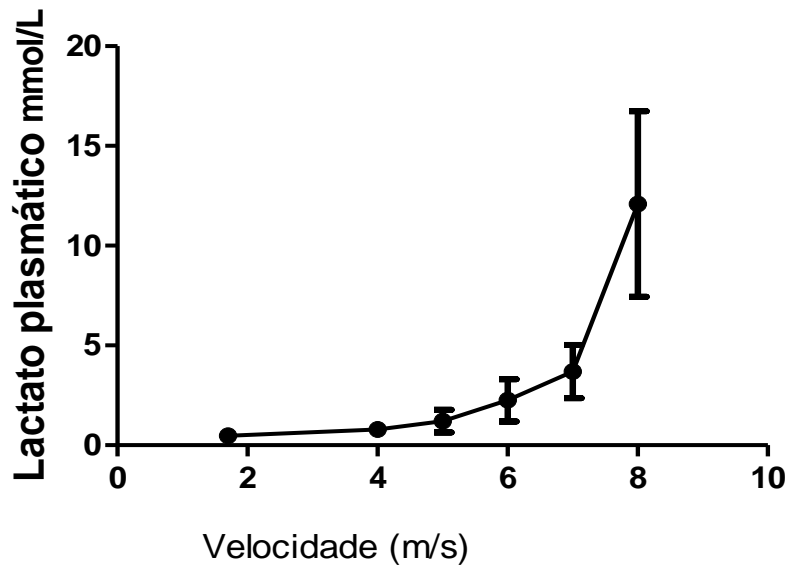


Figura 11. Valores de lactato (mmol/L) durante o exercício nas velocidades 1,7 m/s, 4 m/s, 5 m/s, 6 m/s, 7 m/s e 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

O aumento da intensidade do exercício na velocidade 6 m/s fez aumentar a demanda energética provida pelo metabolismo anaeróbio causando aumento marcante do lactato, caracterizado por uma inflexão da curva para cima nesse ponto (HOLLMANN, 1985).

A utilização da velocidade que coincide com a inflexão da curva velocidade-lactato para cima é denominada tradicionalmente como limiar anaeróbio, sendo fixada na velocidade obtida em testes progressivos na qual a concentração de lactato atinge 4,0 mmol/L (VL4) esse ponto é usado para estabelecer a carga de trabalho durante o treinamento e avaliar o condicionamento físico do equino. Porém, estudos mostram que essa velocidade é elevada para os equinos, causando diversas lesões em articulações distais dos membros (SHEARMAN et al., 2002).

No presente estudo, o valor de VL4 foi de $8,8 \pm 1,97$ m/s (Tabela 5). Persson et al. (1983a) observaram valor médio de VL4 semelhante em equinos sobreanos treinados durante teste progressivo em esteira de alta velocidade, sendo o valor de VL4 de 8,2m/s, que foi significativamente maior comparado a média de equinos não treinados durante as mesmas condições de teste, que foi de 5,8m/s, demonstrando que esta variável apresenta efeito do treinamento.

Tabela 5. Valores médios \pm desvio padrão das variáveis VL2, VL4 e V200 em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

VL2 (m/s)	VL4 (m/s)	V200 (m/s)
$6,4 \pm 1,6$	$8,8 \pm 1,9$	$8,9 \pm 1,2$

O valor de V2 observado nesse estudo foi de $6,4 \pm 1,55$ m/s (Tabela 5). Valor médio de V2 de $6,7 \pm 0,75$ m/s, semelhantes ao do presente estudo foi observado por

Piccione et al. (2004) em um grupo de 30 equinos Anglo Árabe realizando teste composto de três cargas de esforço progressivo a campo.

O valor médio de lactato plasmático ao final do teste de esforço físico foi de $11,8 \pm 4,16$ mmol/L, ocorrendo aumento de 68,5% em relação ao valor médio observado na velocidade de 7 m/s de $3,5 \pm 1,39$ mmol/L. Após 10 minutos do final do teste, foi observado valor médio de lactato plasmático de $7,9 \pm 4,42$ mmol/L, caracterizando decréscimo de 36,7% em relação ao valor médio ao final do teste. Aos 30 minutos do término do teste incremental foi observada redução de 72,8% no valor médio de lactato plasmático em relação ao observado imediatamente após o teste, sendo os valores médios após 30 minutos do final do esforço físico de $3,5 \pm 2,97$ mmol/L (Figura 12).

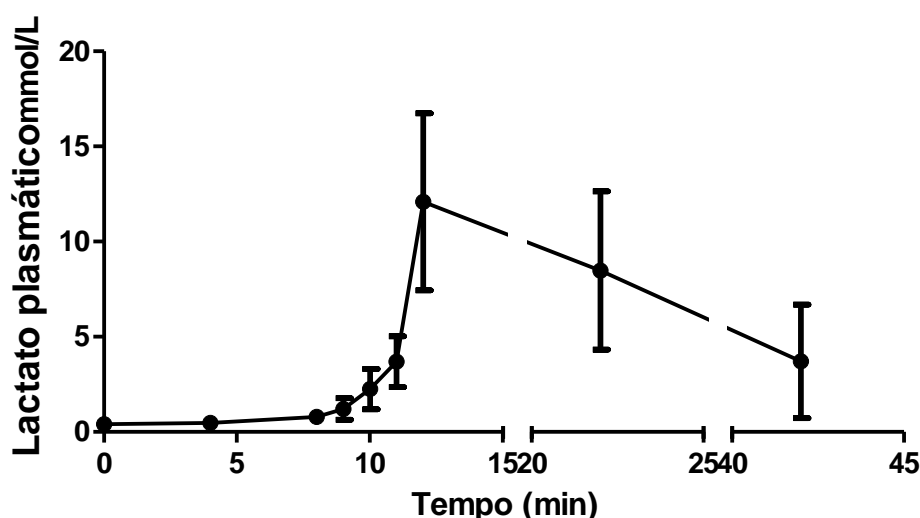


Figura 12. Valores de lactato (mmol/L) durante o exercício nos tempos 4 min, 8 min, 9 min, 10 min, 11 min, 12 min e após exercícios nos tempos 22 min e 42 min, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

O lactato é considerado um importante composto intermediário para inúmeros processos metabólicos, especialmente, para metabolismo aeróbio. Durante o repouso, o lactato plasmático é distribuído para os tecidos onde é oxidado. O músculo esquelético, por sua grande massa e seu metabolismo, produz e consome lactato. A maior parte do lactato absorvido pelo músculo é oxidado para a produção de energia, sendo melhor consumido no músculo exercitado moderadamente. Assim, o lactato compete com a glicose como fonte de hidratos de carbonos em células musculares exercitadas moderadamente, poupando glicose para o uso de outros tecidos (GLADDEN, 2004).

Jacobs et.al. (2012) demonstraram que as mitocôndrias de músculo esquelético humano não podem oxidar diretamente o lactato dentro da matriz mitocondrial. Estes resultados apoiam afirmações anteriores que o lactato é convertido em piruvato dentro do espaço intermembranar mitocondrial, e este levado à matriz mitocondrial onde entra no ciclo do ácido tricarboxílico sendo finalmente oxidado.

Pode-se afirmar, que em exercício submáximo, a taxa de gliconeogênese aumenta comparada com a taxa que ocorre em exercício máximo, sendo o lactato um importante precursor da gliconeogênese. Estima-se que a conversão de lactato a glicose no fígado e nos rins é responsável por aproximadamente 25% da eliminação de ácido láctico durante o exercício por essa via metabólica (DONOVAN & BROOKS, 1983).

Stevenson et. al. (1987), mostrou que o consumo do lactato pelos tecidos caracteriza o rápido decréscimo que ocorreu em seus valores durante a recuperação.

Em pH fisiológico, o lactato é dissociado em íon lactato e H^+ . Como em exercício intenso as concentrações desse compostos se elevam, pesquisadores afirmam que os íons H^+ causam prejuízos no desempenho durante exercício (GLADDEN, 2004). Acreditava-se que o declínio na força muscular era causado pela diminuição do pH muscular por vários motivos, como a diminuição da velocidade do encurtamento das fibras musculares; inibição da ATPase miofibrilar; inibição da taxa de glicólise; inibição competitiva com o Ca^{+2} pela troponina C e a redução da reabsorção de Ca^{+2} através da inibição da ATPase sarcoplasmática, levando a subsequente redução da liberação de Ca^{+2} (GLADDEN, 2004). Atualmente, a acidose muscular como importante causa de fadiga é contestada. Experimentos mostram que os motivos expostos como causadores da fadiga pela acidose não ocorrem em temperaturas que estão mais próximas as encontradas fisiologicamente (GLADDEN, 2004). A acidose não pode ser descartada como causa de fadiga muscular, mas estudos mostram que o Pi pode agir como agente primário de fadiga durante exercício intenso de curta duração em humanos (GLADDEN, 2004). Os resultados observados nesse trabalho corroboram com a afirmativa anterior, pois não houve correlação entre os valores de lactato e o tempo em que cada equino permaneceu galopando a 8m/s.

4.5 Frequência Cardíaca

Os valores da frequência cardíaca obtidos em repouso revelaram valores compatíveis com os valores de referência para a espécie equina (ASHEIM et al., 1970) e revelaram um aumento progressivo desde o repouso, de 53 bpm até o valor máximo de 207 bpm na velocidade de 8 m/s (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios \pm desvio padrão da frequência cardíaca (bpm) antes (repouso), na velocidade de 8 m/s, ao final do último galope a 8 m/s e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

	Repouso	8 m/s	Ao final da velocidade de 8m/s	Após 30 min
Frequência Cardíaca (bpm)	53 \pm 26,15 ^c	187,4 \pm 20,53 ^a	207 \pm 12,66 ^a	78 \pm 13,55 ^b

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si em teste t pareado ($p \leq 0,05$)

Os valores médios das frequências cardíacas aferidos quando os animais galopavam na velocidade 8m/s e ao final do tempo transcorrido nessa velocidade não diferiram entre si ($p > 0,05$), sendo que os animais alcançaram sua frequência cardíaca máxima, mesmo aumentado a intensidade do exercício esse valor não aumentaria.

De acordo com Art et al., (1990a), a frequência cardíaca e a concentração de lactato correlacionam-se diretamente com a velocidade, esse dois parâmetros estão fortemente relacionada ao esforço físico. Asheim et al. (1970) registraram valores de frequência cardíaca superiores durante o trabalho de trote rápido e galope em relação ao repouso. Os valores da frequência cardíaca não são alterados com o treinamento, porém pode-se aumentar a velocidade que o equino alcança sua frequência cardíaca máxima. GEHLEN et al. (2006) avaliando equinos de CCE treinados e não treinados e a influência do treinamento na função cardíaca perceberam que a frequência cardíaca não foi significativamente diferente entre os animais de ambos os grupos. No entanto,

observaram decréscimo mais rápido dos batimentos cardíacos durante a recuperação nos animais treinados quando comparado aos não treinados. Pode-se afirmar que os equinos deste estudo não apresentavam bom condicionamento físico, pois a média da frequência cardíaca após 30 minutos de repouso foi maior ($p < 0,05$) que a apresentada antes do exercício, não ocorrendo completa recuperação dos animais nesse período.

A relação entre frequência cardíaca e intensidade do exercício é influenciada pelo treinamento e o nível de condicionamento físico, sendo um dos índices mais utilizado em equinos o V200, intensidade do exercício em que o animal atinge frequência cardíaca de 200 bpm (EVANS, 2008). A média do V200 calculada nesse estudo foi de $8,9 \pm 1,2$ m/s, semelhante ao valor encontrado por Ferreira (2012) que avaliou equinos de CCE em esteira de alta velocidade em teste progressivo, apresentaram valor médio de $8,65 \pm 1,38$ m/s.

4.6 Hematócrito e Proteína Plasmática Total (PPT)

O valor médio do hematócrito no último galope do teste foi de $53,21 \pm 4,75$ % (Tabela 7), semelhante ao valor médio observado por Muñoz et al. (1997), de 52,81%, avaliando equinos da raça Andaluz em teste em esteira de alta velocidade.

Tabela 7. Valores médios \pm desvio padrão do hematócrito (%) e PPT (g/dL) antes (repouso), ao final do último galope a 8 m/s e 10 e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

	Repouso	8 m/s	Após 10 min	Após 30 min
Hematócrito (%)	$33,9 \pm 2,1^c$	$53,2 \pm 4,8^a$	$43,0 \pm 6,0^b$	$35,3 \pm 4,9^c$
PPT (g/dL)	$6,1 \pm 0,4^b$	$7,2 \pm 0,5^a$	$6,5 \pm 0,6^b$	$6,3 \pm 0,3^b$

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si em teste t pareado ($p \leq 0,05$)

O acréscimo nos valores do hematócrito verificado após o exercício em esteira é resultante do estímulo simpático que mobiliza eritrócitos armazenados no baço, que apresenta a capacidade de armazenar aproximadamente 33% do volume de eritrócitos do organismo, com a finalidade de aumentar a capacidade sanguínea de transporte de oxigênio (KINGSTON, 2004). Após 30 minutos do término do exercício, os valores de hematócrito se igualavam aos valores do início de teste, mostrando a redistribuição dos eritrócitos e devido à ingestão de água nesse período, o aumento do volume plasmático.

Incrementos nos percentuais de hematócrito foram observados à medida que a intensidade do exercício aumentou (Tabela 7). Andrews et al. (1995) e Bayly & Kline (2007) observaram em equinos de corrida, considerada uma modalidade de esforço intenso, aumentos nas porcentagens de hematócrito chegando a valores de 65 a 70%. Em exercício físico de baixa intensidade, com frequência cardíaca abaixo de 150 bpm, observam-se menores variações nos valores de hematócrito o que foi atribuído a uma contração esplênica de menor intensidade, provavelmente associada a um estímulo simpático também menor (LEKEUX et al., 1991) (Figura 13). No entanto, estas variáveis isoladamente, são incapazes de prever o nível de treinamento ou de desempenho de equinos (LINDNER, 2000), demonstram apenas a intensidade do exercício praticado e em provas de longa duração, o grau de desidratação do equino.

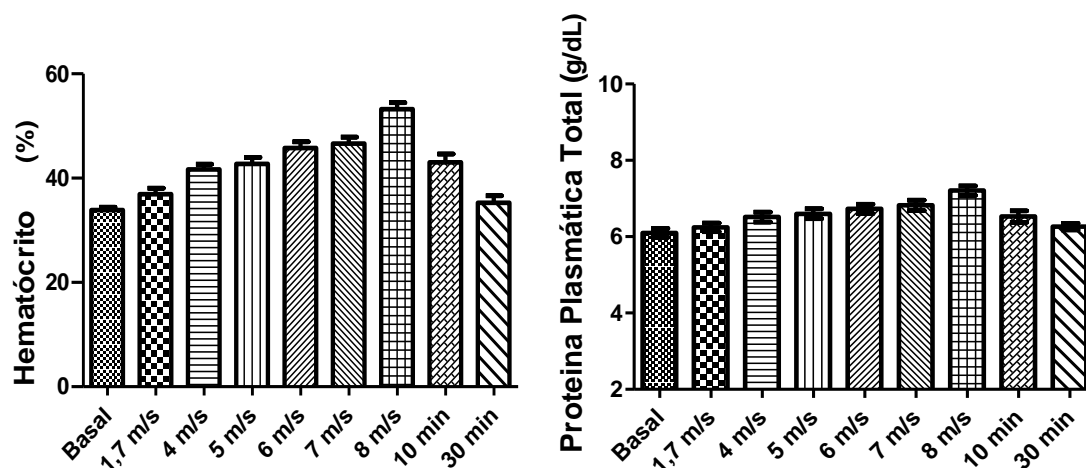


Figura 13. Valores de hematócrito (%) e PPT (g/dL) antes, nas velocidades 1,7; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 e 8,0 m/s e 10 e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

Houve aumento ($p < 0,05$) no valor médio de PPT quando os equinos estavam na velocidade de 8 m/s comparando com os valores em repouso e durante a recuperação (Tabela 7) corroborando com os valores encontrados por Art et al. (1990a) que verificaram aumento significativo na concentração de proteínas plasmáticas totais em equinos submetidos a provas de salto quando comparados aos valores basais e pós-prova. Rose et al. (1980) observaram aumento de proteínas plasmáticas totais de $68,0 \pm 4,7$ dg/l para $73,1 \pm 6,2$ g/l em equinos após a prova de salto.

As variações de concentrações de proteínas plasmáticas totais têm sido utilizadas como um indicador das variações de volume plasmático. O aumento dessas concentrações ocorre possivelmente em função da perda de fluidos do compartimento vascular pelo suor. Com o aumento de intensidade do exercício, há um aumento não linear de proteínas plasmáticas totais (HARRIS & SNOW, 1988).

A existência de uma correspondência entre o condicionamento físico e o tempo de duração do exercício de alta intensidade para que ocorra elevação nos níveis de proteínas plasmáticas totais foi observada por Hinchcliff et al. (2002). O condicionamento promove uma redução na concentração plasmática de proteínas totais durante o repouso, no final do período de aquecimento e durante o início da atividade de alta intensidade. Porém, não causa variação na concentração de proteínas plasmáticas após o exercício intenso.

4.7 Bioquímica Sanguínea

4.7.1 Glicose

No presente estudo, a concentração plasmática de glicose apresentou redução ($p < 0,05$) durante o exercício em esteira de alta velocidade e após 30 minutos de recuperação os valores de glicose plasmática voltaram aos seus valores fisiológicos (Tabela 8).

A redução dos valores plasmáticos de glicose apresentada é consequência da intensidade do exercício e do tempo de duração da atividade física. Em exercícios de alta intensidade e curta duração foi relatado queda na glicemia (RALSTON, 2002), e em exercícios de alta intensidade e longa duração, foi relatado aumento na glicemia de

equinos (FERRAZ et al., 2010). Este aumento é devido a maior glicogenólise induzida pela necessidade de glicose dos tecidos e liberação de catecolaminas (SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN et al., 2006). Porém, a glicemia durante o exercício não reflete de maneira fidedigna o metabolismo de carboidratos, pois sua concentração é resultado do consumo de glicose pelos tecidos e sua reposição hepática, dependente do balanço entre estes dois processos (ANDERSON, 1975).

A concentração de glicose varia de acordo com o consumo desta pelos músculos e a taxa de glicogenólise e gliconeogênese. O exercício físico é acompanhado por variações na regulação hormonal da glicemia (JABLONSKA et al., 1991). Esta diminuição está provavelmente ligada ao aumento da secreção de insulina pelo pâncreas causando maior exposição das proteínas transportadoras de glicose (GLUT-4) na membrana celular, além da maior captação de glicose pelos músculos durante a contração muscular (GOODYEAR & KHAN, 2002).

Tabela 8. Valores médios \pm desvio padrão da glicose plasmática (mg/dL) antes (repouso), ao final do último galope a 8 m/s e 10 e 30 minutos após o exercício, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

	Repouso	8 m/s	Após 10 min	Após 30 min
Glicose plasmática (mg/dL)	109,5 \pm 15,8 ^b	79,6 \pm 16,4 ^a	95,2 \pm 19,7 ^{a,b}	109,9 \pm 11,3 ^b

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si em teste t pareado ($p \leq 0,05$)

Ferraz et al. (2008), relataram que as concentrações de glicose aumentaram significativamente após exercício intenso em equinos exercitados em esteira rolante, confirmando a atividade de hormônios que regulam a atividade energética, como as catecolaminas que têm seus níveis aumentados durante o exercício e o glucagon que é ativado pela queda da glicemia durante o exercício intenso, corroborando com os resultados encontrados nesse estudo.

4.7.2 Enzimas séricas (CK e LDH)

Houve diferença ($p < 0,05$) na concentração sérica de CK 6 horas após o teste de esforço físico, sendo a maior concentração de creatinaquinase com média igual a 416 U/L (Tabela 9). A partir das 3 horas após o exercício a creatinaquinase começa a aumentar excedendo os valores de referência descritos por Rose & Hodgson (1994b) que varia de 100 a 300 UI/L. Benesi et al. (2009), avaliando equinos BH jovens relataram médias de 82 (U/L) para CK, bem abaixo da média encontrada nesse estudo. Após o aumento inicial encontrado, os valores da atividade de CK diminuíram como é relatado na literatura, que aponta pico de atividade desta enzima de 6 a 12 horas após o exercício ou a lesão muscular, devido essa enzima ter alto peso molecular o que diminui sua passagem para a corrente sanguínea (TEIXEIRA-NETO et al., 2008). Entretanto o rápido declínio na atividade da CK no soro indica a ausência de alterações permanentes na integridade das células musculares (SNOW et al., 1982). Boffi et al. (2007) relataram valores de CK aproximados de 1.500 a 10.000 U/L em equinos com lesões musculares extensas decorrentes de miopatias. Sendo assim, o aumento dos valores de CK foi devido ao exercício e não pelas biópsias musculares, pois seus valores não tiveram muito acréscimo como ocorre em caso de lesões musculares.

Tabela 9. Valores médios \pm desvio padrão da LDH (U/L) e CK (U/L) ao final do último galope a 8 m/s, às 3h, 6h, 12h e 24h após o teste, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

	Enzimas séricas				
	8 m/s	3 h	6 h	12 h	24 h
LDH (U/L)	624 \pm 112,4 ^a	654 \pm 130,4 ^a	651 \pm 105,1 ^a	615 \pm 135,9 ^a	613 \pm 100,9 ^a
CK (U/L)	243 \pm 32,0 ^b	356 \pm 131,7 ^{a,b}	416 \pm 138,1 ^a	303 \pm 74,1 ^b	283 \pm 102,1 ^b

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si em teste t pareado ($p \leq 0,05$)

Segundo Harris et al. (1998) o efeito do exercício físico na atividade enzimática de CK em cavalos saudáveis, depende do condicionamento físico do animal, da intensidade do exercício, da duração e do ambiente, e fatores intrínsecos como idade, raça e sexo (MUÑOZ et al., 2002). O aumento nos níveis de CK pós-exercício é considerado diretamente proporcional a duração do exercício e inversamente proporcional ao preparo físico do equino, afirmado por Anderson et.al., 1975, que considerou que a extensão da variação dos níveis de CK apresenta uma relação inversa ao condicionamento físico do cavalo e uma relação direta com a duração do exercício.

O tipo, a intensidade e a duração do exercício são fatores que influenciam o aumento das atividades séricas das enzimas CK, sendo que vários estudos indicam aumento significativo destas atividades após exercício de alta intensidade (ART et al., 1990 e LEKEUX et al.,1991). Porém, alguns autores relatam não haver alteração da mesma após exercícios leves ou até intensos (HARRIS et al., 1998).

Poucos autores estabeleceram uma relação entre a atividade sérica da enzima CK e o desempenho. Anderson (1975) relatou que o acréscimo da atividade enzimática estaria relacionado com a aptidão do animal a determinada atividade física, no entanto, Muñoz et al. (2002) relataram que o treinamento diminui o aumento da atividade enzimática decorrente do exercício. Fazio et al. (2011), em trabalho com Puro Sangue de Corrida e trotadores, relataram que o treinamento aumenta a atividade sérica basal das enzimas CK e atribuíram este aumento a mudanças na permeabilidade celular dos miócitos associadas a resposta do metabolismo anaeróbio ao estímulo do treinamento.

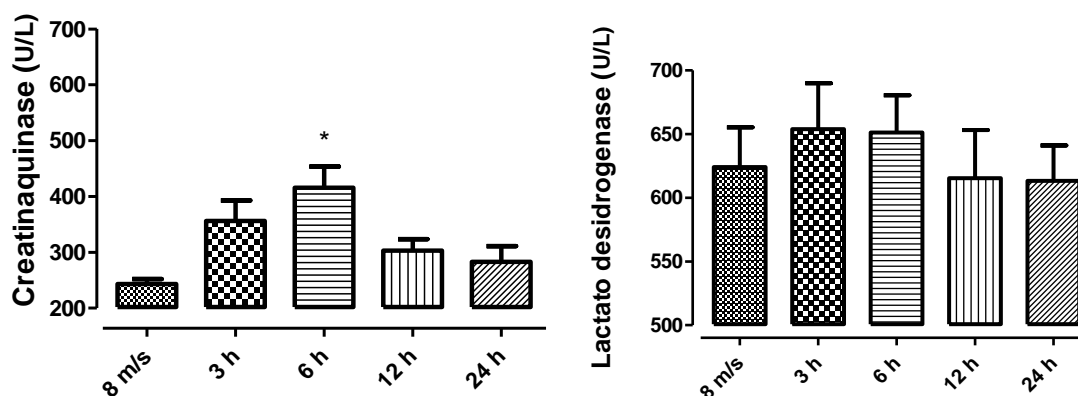


Figura 14. Valores de LDH (U/L) e CK (U/L) ao final do último galope a 8 m/s, às 3h, 6h, 12h e 24h após o teste, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

O acréscimo na atividade da CK nesse trabalho pode ter sido favorecido também pelo aumento da concentração de íons-hidrogênio, pois ela depende da presença desses íons para sua atividade e favorece a manutenção da homeostasia celular pelo controle do pH, atribuída à sua capacidade tampão.

Não houve diferença ($p > 0,05$) nos valores séricos de LDH durante a recuperação dos equinos após o teste físico até 24 horas após o esforço. Art et al. (1990a) avaliaram a concentração enzimática de equinos de salto antes e após um campeonato verificaram elevação significativa na atividade enzimática de CK, LDH e AST após a prova. Rose, Purdue e Hensley (1977) constataram aumento da concentração de LDH 30 minutos após uma prova de enduro de 100 km. No entanto, essa elevação coincidia com a elevação na concentração de proteínas plasmáticas totais e foi atribuída à desidratação.

Com o treinamento, as subunidades M da enzima LDH se convertem em H, que possuem maior afinidade pelo lactato e conseqüentemente, o oxida com maior rapidez no músculo. Porém, estudos mostram que a diminuição dos valores de lactato muscular em equinos treinados não é causada pelo aumento de sua oxidação pela H-LDH e sim pela sua maior depuração para o sangue (FAVERO et.al., 1999), sendo assim, a rápida diminuição dos valores de lactato observada nesse estudo não pode ser atribuída a essa mudança nas subunidades dessa enzima.

Brandi et.al. (2010) avaliaram equinos Árabes em esteira rolante simulando uma prova de enduro de 80 km antes e após alimentação com óleo de soja observaram que após a alimentação com óleo, os parâmetros bioquímicos avaliados, concentração sérica de CK e LDH, diminuíram, comprovando o direcionamento do metabolismo energético para a oxidação lipídica, pois essas enzimas atuam amplamente no metabolismo energético anaeróbio, favorecendo a constante reposição de ATP ao longo do exercício, o aumento da atividade da LDH incrementaria a geração de NAD enfatizando a fosforilação oxidativa, o que não foi observado no estudo, pois não houve aumento dos valores dessa enzima, sendo assim, o metabolismo aeróbio não estava sendo favorecido durante o teste de esforço.

4.8 Hemogasometria

A redução do pH pós exercício nos equinos nesse estudo (Tabela 10) são consistentes com os autores utilizando equinos com intensidade de exercícios semelhantes (TAYLOR et al., 1995). Aguilera-Tejero et al. (2000) verificaram que exercício intenso resulta em alterações significativas do equilíbrio ácido-básico, com elevação significativa dos níveis de lactato após o exercício devido às alterações provocadas pela liberação de energia muscular, principalmente pela via anaeróbia, podem levar a uma acidose metabólica. Essas variações da concentração de lactato são compensadas por variações na concentração de bicarbonato. A diminuição do pH dá-se na medida que os mecanismos tampões orgânicos não são mais suficientes para a manutenção do equilíbrio ácido básico sanguíneo (PICCIONE et al., 2004).

Alguns autores atestam que o lactato seria o responsável pela queda de pH observada durante exercícios intensos (BÖNING & MAASSEN, 2008). Porém, em pH fisiológico, o lactato não está dissociado, não sendo responsável pela acidose ocorrida durante o exercício. Stewart (1981) salienta que a concentração de H^+ e HCO_3^- são variáveis dependentes do equilíbrio ácido-base, isto é, eles não são fatores causadores. Em vez disso, o estado ácido-base é determinada pelos efeitos independentes de dióxido de carbono (pCO_2), a concentração de tampões de ácidos fracos, principalmente, os aminoácidos de proteínas de plasma, e a diferença de íons forte [SID]. Neste método, o lactato é um componente significativo do SID, porém, não é o único fator envolvido nas alterações de pH (GLADDEN, 2004).

Tabela 10. Valores médios \pm desvio padrão obtidas do pH, HCO_3^- (mmol/L), pCO_2 (mmHg/L), TCO_2 (mmol/L), sO_2 (%), pO_2 (mmHg), BE ecf (mmol/L) e Temperatura Retal ($^\circ\text{C}$) antes (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

	Hemogasometria	
	Repouso	Após exercício
pH	7,40 \pm 0,03 ^a	7,26 \pm 0,06 ^b
HCO_3^- (mmol/L)	28,60 \pm 1,47 ^a	21,00 \pm 2,64 ^b
pCO_2 (mmHg)	46,24 \pm 3,65 ^a	47,84 \pm 2,54 ^a
TCO_2 (mmol/L)	30,00 \pm 1,60 ^a	22,00 \pm 2,76 ^b
sO_2 (%)	63,00 \pm 6,22 ^a	58,00 \pm 10,29 ^a
pO_2 (mmHg)	33,00 \pm 2,78 ^b	41,00 \pm 5,87 ^a
BE ecf (mmol/L)	4,0 \pm 1,50 ^a	-5,0 \pm 3,67 ^b
Temperatura Retal ($^\circ\text{C}$)	37,00 \pm 0,0 ^b	39,70 \pm 0,86 ^a

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si em teste t pareado ($p \leq 0,05$)

Os valores de HCO_3^- após o teste foi menor ($p < 0,05$) comparado com os valores antes do teste, os valores encontrados foram $21,00 \pm 2,64$ e $28,60 \pm 1,47$ mmol/L, respectivamente. Sendo o resultado após o teste menor que os relatados por Piccione et al. (2004) de 24-25 mmol/L para provas de salto e do que os 13 mmol/L relatados por Ferraz et al. (2010) para provas de polo, esse último apresentou maior intensidade.

A diminuição do pH é relacionada ao fato que, nos tecidos, a difusão de dióxido de carbono para a corrente sanguínea faz com que a reação ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$) se desloque para a direita, o que acarreta aumento das concentrações de H^+ (PRATTE, 2006). A diminuição do pH no exercício de intensidade máxima está relacionada, segundo Watanabe et al. (2006), ao aumento na concentração de H^+ ocasionado pela predominância do metabolismo anaeróbio durante exercício de característica máxima. Pode-se observar que após o exercício intenso ocorreu diminuição nas concentrações de bicarbonato. Durante o exercício de intensidade máxima o bicarbonato e o pH são proporcionais. Isto se deve, provavelmente, ao fato de que o bicarbonato é mobilizado para o tamponamento dos prótons (H^+) acumulados (CARLSON, 1995).

Os valores encontrados no presente trabalho antes do exercício para as pressões parciais de O_2 e CO_2 foram $33,00 \pm 2,78$ e $46,24 \pm 3,65$ mmHg, respectivamente, foram um pouco menores para pO_2 e pCO_2 do relatado na literatura por Art et al. (1990b) sendo esses valores 40,3 e 47 mmHg, respectivamente. Piccione et al. (2004) observaram valores para essas variáveis de pO_2 de 37-45 e pCO_2 de 39-41 mmHg e Silva et al. (2009) de pO_2 de 37-43 mmHg.

Após a realização do teste de esforço houve aumento da pO_2 decorrente da utilização acentuada de oxigênio. No entanto, os valores de pCO_2 permaneceram iguais o que difere dos resultados encontrados na literatura que mostra aumento dessa variável após exercício devido ao aumento da produção de dióxido de carbono nas células musculares em exercício (AINSWORTH, 2008). A este fato, soma-se a incapacidade dos equinos de realizar uma hiperventilação compensatória por que eles apresentam um acoplamento entre os galões do galope e os ciclos respiratórios, impedindo assim o

aumento significativo da frequência respiratória (ATTENBURROW; GOSS, 1994). Esse resultado, do $p\text{CO}_2$ não elevar no final do exercício, sugere que os equinos ao final do último galope fizeram hiperventilação corroborando com o comportamento dessa variável durante a recuperação (ART et al., 1990b; AGUILERA-TEJERO et al., 2000).

Os valores da saturação de oxigênio não diferiram entre si antes ou após o exercício ($p>0,05$) mesmo os animais apresentarem aumento da temperatura e queda de pH após o exercício o que causaria o chamado efeito Bohr, que é o desvio da curva de saturação da oxihemoglobina a direita causada por esse dois fatores (AINSWORTH, 2008) e da menor pressão parcial de oxigênio (FENGER et al., 2000). Como após o exercício a $p\text{O}_2$ foi maior que antes do exercício, isso pode ter compensado a menor afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, assim o valor da $s\text{O}_2$ não diferiu entre os tempos. TERZI (1992) relatou que a porcentagem de saturação de hemoglobina depende da pressão parcial de oxigênio e, por isso, quanto maior a pressão parcial de oxigênio mais fortemente saturada a hemoglobina se encontrará (FENGER et al., 2000).

As limitações pulmonares ao exercício é bem relatada em equinos (BAYLY et al., 1983) e incluem aumento no gradiente de pressão de oxigênio alvéolo-pulmonar e hipoxemia arterial durante exercício intenso (WAGNER et al., 1995). A diminuição na difusão alvéolo-capilar que ocorre nos cavalos em atividade física intensa se deve as elevadas velocidades do fluxo sanguíneo pelas ramificações arteriais pulmonares. O aumento acentuado do débito cardíaco durante o exercício causa redução acentuada no tempo de transito capilar e, conseqüentemente, diminuição no tempo de equilíbrio do O_2 , com impedimento da difusão (WILKINS et al., 2001). WAGNER et al. (1989) e WATANABE et al. (2006), relataram hipoxemia arterial em testes com protcole com incrementos de velocidade a cada um minuto como foi feito nesse estudo, porém, os equinos não apresentaram hipoxemia, ao contrário, a $p\text{O}_2$ foi maior após o teste ($p<0,05$) mostrando que os equinos fizeram hiperventilação antes da coleta do sangue para a análise. A hiperventilação é necessária tanto para a regulação da pressão parcial de oxigênio no sangue arterial como para o controle da temperatura corpórea (TAYLOR et al. 1995).

Os valores de antes do exercício das variáveis de BE, HCO_3^- e TCO_2 assim como sua queda após o exercício foram semelhantes ao relatado na literatura para exercícios de intensidades moderada a alta (AGUILHERA-TEJERO et al., 2000; PICCIONE et al., 2004; FERRAZ et al., 2010).

SOBIECH et al. (2005) mostrou que a diminuição no excesso de base no sangue arterial é relacionada à baixa concentração de bicarbonato, o que foi observado nesse trabalho, que ocorreu diminuição dos valores de BE e HCO_3^- pós o exercício. Relativo ao exercício, o comportamento do excesso/déficit de base acompanha a variação do íon bicarbonato. O HCO_3^- representa aproximadamente 95% do TCO_2 , por isso os valores de TCO_2 foram menores após o exercício comparado com o resultado em repouso ($p<0,05$), pois os valores do HCO_3^- também diminuiram após o teste. O CO_2 dissolvido no plasma corresponde a apenas 5 % do valor do TCO_2 (LINDNER et al., 2006).

4.9 Eletrólitos Plasmáticos

A hipercalemia induzida pelo exercício de alta intensidade é uma das mudanças mais acentuadas que ocorrem no equilíbrio iônico durante exercício. Lindinger et al. (1995) observaram valores aproximados de 8 mmol/L de potássio plasmático em atletas humanos, afirmaram que esse aumento ocorreu devido ao maior efluxo de K^+ durante a despolarização do retículo sarcoplasmático comparado com a taxa de recaptção desse íon pela bomba Na/K ATPase. Valores mais altos foram observados em equinos após

exercício extenuante em esteira de alta velocidade, sendo os valores 10 mmol/L, aproximadamente (HARRIS & SNOW, 1992). Diferenciando do resultado encontrado nesse estudo, que após o exercício extenuante a média dos valores de potássio plasmático foi de $5,50 \pm 0,23$ mmol/L, ocorrendo aumento significativo em relação ao valor encontrado antes do exercício que foi de $3,80 \pm 0,20$ (Tabela 11).

Tabela 11. Valores médios \pm desvio padrão obtidas do Na (mEq/L), K (mEq/L) e Ca (mmol/L) antes (repouso) e ao final do último galope a 8 m/s, em equinos submetidos a teste de velocidade incremental até a fadiga em esteira de alta velocidade.

	Eletrólitos plasmáticos	
	Repouso	Após exercício
K ⁺ (mEq/L)	$3,80 \pm 0,20^b$	$5,50 \pm 0,23^a$
Na ⁺ (mEq/L)	$137 \pm 1,35^b$	$142 \pm 2,77^a$
Ca ²⁺ (mmol/L)	$1,76 \pm 0,05^a$	$1,55 \pm 0,05^b$

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si em teste t pareado ($p \leq 0,05$)

Aumentos dos valores de potássio plasmático podem contribuir para o desenvolvimento de fadiga muscular, porém existem mecanismos regulatórios para atenuar esses aumentos. As respostas regulatórias incluem a captação de K⁺ pelos eritrócitos dentro do espaço vascular, bem como distribuição para tecidos menos ativos durante o exercício, principalmente, músculo não exercitados da cabeça. A captação pelos eritrócitos pode ser responsável pelo sequestro de aproximadamente 10% do K⁺ liberados durante o exercício extenuante (LINDINGER et al., 1995).

Em relação aos equinos, os maiores valores no plasma de K⁺ provavelmente refletem a utilização de uma maior porcentagem de massa total de músculo esquelético durante exercício comparando com atletas humanos. Os equinos também possuem menos músculo não exercitado disponível para absorção K⁺. Portanto, esses distúrbios iônicos podem contribuir para a fadiga muscular nesta espécie. Perda continuada de K⁺ do músculo ativo causa desequilíbrio no potencial de membrana, levando a um declínio progressivo no seu potencial de repouso. Como consequência, a despolarização do retículo sarcoplasmático é acompanhada por um aumento do potencial de ação e uma velocidade progressivamente menor deste, o que pode levar à menor libertação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático durante a contração muscular (LINDINGER et al., 1995).

Após o término do exercício, os valores plasmáticos de K⁺ diminuem rapidamente devido a rápida recaptção pelo músculo esquelético que estava ativo durante o exercício (LINDINGER et al., 1995). Porém há a liberação do K⁺ absorvido na corrente sanguínea pelos músculos não exercitados. A recuperação dos valores de potássio plasmático ocorre após 15 minutos do final do esforço físico (SCHOTT et al., 2002). As elevações deste cátion no plasma constituem o principal estímulo para a liberação de aldosterona, fazendo com que seja eliminado na urina e prevenindo seu aumento excessivo (PRATT, 2006).

Durante exercício intenso, o volume plasmático diminui devido à mudança do líquido extracelular para o interstício e para o interior das células. Este deslocamento do fluido causa hemoconcentração e aumentos na concentração de inúmeros componentes do plasma, incluindo Na⁺ e K⁺. No entanto, a concentração de Na⁺ plasmática diminui devido ao efluxo de água no músculo esquelético ativo, enquanto que as concentrações de K⁺ aumentam (VAN BEAUMONT et al., 1973). Estudos com equinos discordam dessas afirmações, Schott et al. (2002) mostraram um aumento

aproximado de 6 % da concentração de Na^+ após exercício extenuante em relação ao valor em repouso, consistente com uma perda maior de água do que de Na^+ a partir do plasma. Como foi observado nesse estudo, ocorreu aumento nos valores plasmáticos de sódio após o exercício em comparação aos valores em repouso, sendo eles respectivamente, $142 \pm 2,77$ e $137 \pm 1,35$ mmol/L, ocorrendo um aumento de 3,6 %. Essas mudanças indicaram que a perda de água do plasma através de tecidos ativos ultrapassou a perda de Na^+ . O músculo inativo é considerado como um reservatório de água durante o exercício extenuante.

Quanto às concentrações de cálcio ionizado no sangue venoso durante o exercício, apresentaram diminuição após o teste de esforço físico em relação aos observados com o animal em repouso, os valores foram $1,55 \pm 0,05$ e $1,76 \pm 0,05$ mmol/L, respectivamente. Diminuição das concentrações de Ca^{2+} está associada à mobilização deste íon para a contração muscular (GEISER et al., 1995).

5 CONCLUSÕES

O exercício intenso não causou alteração nos valores de respiração máxima mitocondrial, ainda que com elevadas concentrações de lactato, mostrando que o metabolismo anaeróbio estava bastante ativo, o ciclo do ácido tricarboxílico ainda permaneceu fornecendo energia para a contração muscular. Com os resultados pode-se concluir que ocorreu aumento da atividade de enzimas oxidases não mitocondriais após o exercício, pois a taxa de respiração não mitocondrial foi maior em relação à observada com o animal em repouso.

O exercício físico intenso causa variações marcantes em parâmetros hematológicos, bioquímicos e fisiológicos em equinos iniciantes de Concurso Completo de Equitação. Os parâmetros hematológicos avaliados, hematócrito e proteína plasmática total, têm suas médias aumentadas juntamente com o aumento da intensidade do esforço físico, voltando aos parâmetros basais logo após o término do exercício.

Dos parâmetros bioquímicos analisados, os valores médios de lactato tiveram aumento exponencial quando houve o aumento da velocidade, porém não voltou aos valores fisiológicos no tempo estipulado para recuperação, o mesmo ocorreu com a frequência cardíaca, respostas correspondentes à equinos iniciantes na modalidade esportiva. A concentração sérica de glicose é reduzida pela atividade física desempenhada no teste de velocidades incrementais e voltam a glicemia fisiológica pouco tempo após o término do exercício.

Pelos resultados expostos pode-se concluir que o teste de velocidades incrementais até a exaustão caracterizou estímulo suficiente para o extravasamento celular da enzima CK, que teve seu pico após 6 horas da realização do teste.

O exercício causou redução nos do pH, HCO_3^- e BE, porém os valores de pO_2 e pCO_2 não diferiram antes e após o exercício, provavelmente porque os animais fizeram hiperventilação ao final do teste de esforço.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AINSWORTH, D. M. Lower airway function: responses to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R.J. W.B. **Equine Exercise Physiology**, Saunders: Londres, p.193-211, 2008.
- ANDERSON, M.G. The effect of exercise on blood metabolite levels in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 7, n. 1, p. 27-33, 1975.
- ANDREWS, F. M.; GEISER, D.R.; WHITE, S.L.; WILLIAMSON, L.H.; MAYKUTH P.L.; GREEN, E.M. Haematological and biochemical changes in horses competing in a 3 star horse trial and 3-day-event. **Equine Veterinary Journal**, v. 20, p. 57-63, 1995.
- ANTONUTTO, G.; DI PRANPERO, P. E. The concept of lactate threshold: A short review. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 35, p. 6-12, 1995.
- ART, T.; AMORY, H.; DESMECHT, D.; LEKEUX, P. Effect of show jumping on heart rate, blood lactate and other plasma biochemical values. **Equine Veterinary Journal**, v. 9, p. 78-82, 1990a.
- ART, T.; DESMECHT, D.; AMORY, H.; DELOGNE, O.; BUCHET, M.; LEROY, P.; LEKEUX, P. A field study of post-exercise values of blood biochemical constituents in jumping horses: relationship with score, individual and event. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 37, n. 3, p. 231-239, 1990b.
- ASHEIM, A.; KNUDSEN, O.; LINDHOLM, A.; RÜLCKER, C., SALTIN, B. Heart rates and blood lactate concentrations of Standardbred horses during training and racing. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 157, n. 3, p. 304-312, 1970.
- ATTENBURROW, D. P.; GOSS, V. A. The mechanical coupling of lung ventilation to locomotion in the horse. **Medical Engineering & Physics**, v. 16, n. 3, p. 188-192, 1994.
- AZEVEDO, J.F. **Testes de Esforço Progressivo e Testes do Lactato Mínimo a campo e em esteira de alta velocidade em equinos de Concurso Completo de Equitação**. 2012. 73p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.
- BAYLY, W. M.; GRANT, B. D.; BREEZE, R. G.; KRAMER, J. W. The effect of maximal exercise on acid-base balance and arterial gas tension on Thoroughbred horses. **Equine Exercise Physiology**, v.1, p. 400-408, 1983.
- BAYLY, W. M.; HODGSON, D. R.; SCHULZ, D. A. Exercise-induced hipercapnia in the horse. **Journal of Applied Physiology**, v. 67, p. 1958-1966, 1989.
- BAYLY, W.; SCHOTT, H.; SLOCOMBE, R. Ventilatory responses of horses to prolonged submaximal exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 18, p. 23-28, 1995.
- BENARD, G.; BELLANCE, N.; JAMES, D.; PARRONE, P.; FERNANDEZ, H.; LETELLIER, T.; LETELLIER, T.; ROSSIGNOL, R. Mitochondrial bioenergetics and structural network organization. **Journal Cell Science**, v.120, p. 838-848, 2007.
- BENARD, G., ROSSIGNOL, R. Ultrastructure of the mitochondrion and its bearing on function and bioenergetics. **Antioxid Redox Signal**, v. 10, n.8, p. 1313-1342, 2008.

BENDAHAN, D.; KEMP, G.J.; ROUSSEL, M.; COZZONE, P.J. FUR, Y. L.; ATP synthesis and proton handling in muscle during short periods of exercise and subsequent recovery. **Journal of Applied Physiology**, v.94, p.2391-2397, 2003.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**, 5ª ed. São Paulo:Elsevier, 2004, p. 1082.

BOFFI, F. **Fisiologia del Ejercicio em Equinos**. 1ª ed. Buenos Aires : Inter-Médica, 2007, p 320.

BÖNING, D.; MAASSEN, N. Last word on point:counterpoint: lactic acid is/is not the only physicochemical contributor to the acidosis of exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 105, n. 1, p. 368, 2008.

BOTTINELLI, R.; CANEPARI, M.; REGGIANI, C.E.; STIENEN, G.J.M. Miofibrillar ATPase activity during isometric contraction and isomyosin composition in rat single skinned muscle fibres. **Journal of Physiology**. v. 481, p.663-675, 1994.

BRAND, M. D.; BRINDLE, K. M.; BUCKINGHAM, J. A.; HARPER, J. A.; ROLFE, D. F.; STUART, J. A. The significance and mechanism of mitochondrial proton conductance. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 23, n.6, p.4-11, 1999.

BRANDI, R. A.; FURTADO, C. E.; MARTINS, E. N.; FREITAS, E.V.V.; QUEIROZ-NETO, A.; LACERDA-NETO, J. C. Parâmetros bioquímicos de equinos submetidos à simulação de prova de enduro recebendo dietas com adição de óleo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.2, p.313-319, 2010.

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

CARLSON, G. P. Fluid, electrolyte, and acid-base balance. In: KANEKO, J. J.; HAENEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5ª ed. San Diego : Academic Press,1997, p. 485-516.

CARLSON, G. P. Interrelationships between fluid, electrolyte and acid-base balance during maximal exercise. **Equine Veterinary Journal**, v.18, p. 261- 265, 1995.

CHILIBECH, P.D.; SYROTUIK, D.G.; BELL, G.J. The effect of strength training on estimates of mitochondrial density and distribution throughout muscle fibres. **European Journal of Physiology**,. v. 80, p.604-609, 1999.

CLAYTON, H.M. **Conditioning sport horses**. Sport Horse Publication, Saskatoon, Saskatchewan, Canada, p. 45–60, 1991.

COENEN, M. Exercise and stress: impact on adaptive processes involving water and electrolytes. **Livestock Production Science**, v. 92, p. 131-145, 2005.

COGGAN, A.R. Plasma glucose metabolism during exercise in humans. **Sports Medicine**, v. 11, n. 2, p. 102-124, 1991.

CONCEIÇÃO, M.; LAPOSY, C. B.; MELCHERT, A.; LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; TAKAHIRA, R. K. Hemograma e bioquímica sérica de equinos da raça Quarto de Milha antes e após o exercício. **Veterinária Notícias**, v. 7, n.2, p. 87-92, 2001.

- CUNNINGHAM, J. G. Equilíbrio ácido-básico. In: _____. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 436-442, 1999.
- DAUSSIN, F.N.; ZOLL, J.; PONSOT, E.; DUFOUR, S.P.; DOUTRELEAU, S.; LONSDORFER, E.; VENTURA-CLAPIER, R.; METTAUER, B.; PIQUARD, F.; GENY, B.; RICHARD, R. Training at high exercise intensity promotes qualitative adaptations of mitochondrial function in human skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v.104, p.436-1441, 2008.
- DAWSON D. M.; GOODFRIEND, T. L.; KAPLAN, N. O. Lactic dehydrogenases: functions of the two types. **Science**, v. 143, p. 929-933, 1964.
- DAY, T. K. Blood gas analysis. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 32, p. 1031-1048, 2002.
- DEARO, A. C. O. Fluidoterapia em Grandes Animais - Parte I. Água Corpórea, Indicações e Tipos de Fluidos. **Revista de Educação Continuada do CRMV- SP**, v. 4, p. 03-08, 2001.
- DELDAR, A.; FREGIN, F. G.; BLOOM, J. C.; DAVINIPOUR, Z. Change in selected biochemical constituents of blood collected from horses participating in a 50-mile endurance ride. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, p. 2239- 2243, 1982.
- DERMAN, K.D.; NOAKES, T.D. Comparative aspects of exercise physiology. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia: Saunders, 1994, p. 13-25.
- DIAS, I.M.G.; BERGMANN, J.A.G.; REZENDE, A.C.C.; CASTRO, G.H.F. Formação e estrutura populacional do equino Brasileiro de Hipismo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p.647-654, 2000.
- DONOVAN, C. M.; BROOKS, G. A. Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. **American Journal of Physiology**, v.244, p. 83-92, 1983.
- DUBOWITZ, V.; SEWRY, C.A.; FITZSIMMONS, R.B. **Muscle Biopsies a Practical Approach**, 2ª ed, Baillere Tindall, London, Philadelphia & Toronto, 1985, 720 p.
- EATON, M.D. Energetics and performance. In: HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia : Saunders.1994, p. 49-62.
- EATON, M.D.; EVANS, D.L.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. Maximal accumulated oxygen deficit in Thoroughbred horses. **Journal of Applied Physiology**, v. 78, n. 4, p. 1564-1568, 1995.
- EDGAR, D.; TRIFUNOVIC, A. Mitochondria: The Dark Side. In: Stocchi, V.; DE FEO, P.; HOOD, D.A. **Role of Physical Exercise in Preventing Disease and Improving the Quality of Life**. Italia: Springer, 2007, p. 115-132.
- ENGEL, W.K.; CUNNINGHAM, G.G. Rapid examination of muscle tissue. **Neurology**, v.13, p.919-923, 1963.
- ERICKSON, H. H. Respiração e exercício. In: SWENSON, M. J.; REECE, O. W. **Dukes-Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 227-296.

ESSEN-GUSTAVSSON, B., KARLSTROM, K.; LINDHOLM, A. Fibre types, enzyme activities and substrate utilisation in skeletal muscles of horses competing in endurance rides. **Equine Veterinary Journal**, v.16, p.197–202, 1984.

ESTABROOK, R. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP/O ratios. **Methods Enzymol.** v. 10, p.41-47, 1967.

EVANS, D. L. Exercise testing in the field. In: HINCHCLIFF, K. W.; GEOR, R. J.; KANEPS, A. J. **Equine Exercise Physiology- The Science of Exercise in Athletic Horse**. 1ª ed. Elsevier. Philadelphia, p.12-27, 2008.

FAN, L. C. R.; LOPES, S. T. A.; COSTA, P. R. S.; KRAUSE, A.; DUTRA, V.; CARVALHO, C. B. Anion gap no sangue venoso de eqüinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 24, p. 101-104, 1994.

FAVERO, T.G.; STAVRIANEAS,S.; KLUG,G.A. Training-induced alterations in lactate Dehydrogenase reaction kinetics in rats: A re-examination. **Experimental Physiology**, v.84, p. 989-998, 1999.

FAZIO, F.; ASSENZA, A.; TOSTO, F.; CASELLA, S.; PICCIONE, G.; CAOLA, G. Training and haematochemical profile in Thoroughbreds and Standardbreds: A longitudinal study, **Livestock Science**, v. 141, p. 221–226, 2011.

FEI **Fédération Equestre Internationale** :
<http://www.fei.org/disciplines/eventing/about-eventing> acessado em 30/05/2012

FENGER, C. K.; MCKEEVER, K. H.; HINCHCLIFF, K. W.; KOHN, C. W. Determinants of oxygen delivery and hemoglobin saturation during incremental exercise in horses **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, p. 1325-1332, 2000.

FERRAZ, G. C.; D'ANGELIS, F. H. F.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; FREITAS, E. V. V.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Limiar sangüíneo de lactato reflete a resposta da glicose em cavalos submetidos a teste de exercício progressivo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n.1, p. 256-259, 2008.

FERRAZ, G. C.; SOARES, O. A. B.; FOZ, N. S. B.; PEREIRA, M. C.; QUEIROZ-ETO, A. The workload and plasma ion concentration in a training match session of high-goal (elite) polo ponies. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, s. 38, p 191-195, 2010.

FERREIRA, A.M.R. **Análise histoquímica e imuno-histoquímica de macromoléculas da matriz extracelular e dos tipos de fibras do músculo glúteo médio eqüino**. 2000. 196p. Tese (Doutorado em Patologia Experimental) – Faculdade de Medicina – Universidade Federal Fluminense.

FERREIRA, A.M.R. **Estudo enzimo-histoquímico e histomorfométrico nos músculos tibial anterior e gastrocnêmico e cardíaco no camundongo distrófico mdx**.1994. 167p. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) – Faculdade de Medicina – Universidade Federal Fluminense.

FOREMAN, J.H.; GRUBB, T.L.; BENSON, G.J.; FREY, L.P.; FOGLIA, R.A.; GRIFFIN, R.L. Acid-base and electrolyte effects of shortening steeplechase in a three-day-event. **Equine Veterinary Journal**, v. 22, p. 85-90, 1996.

FRAYN, K.N. **Metabolic regulation: a human perspective**. 3ª ed. Wiley-Blackwell, 2012. 371 p.

- FREESTONE, J. F.; GOSSET, K.; CARLSON, G. P. Exercise induced alterations in the serum muscle enzymes, erythrocyte potassium and plasma constituents following feed withdrawal or furosemide and sodium bicarbonate administration in the horse. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 5, p. 40-45, 1991.
- FREGIN, G.F.; THOMAS, D.P. Cardiovascular response to exercise in the horse: a review. In: SNOW, D.H.; PERSSON, S.G.B.; ROSE, R.J. **Equine Exercise Physiology**. Cambridge: Burlington, p. 76-90, 1982.
- GEHLEN, H.; MARNETTE, S.; ROHN, F. E.; ELLENDORF, F.; STADLER, P. Echocardiographic comparison of left ventricular dimensions and function after standardized treadmill exercise in trained and untrained healthy Warmblood horses. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v. 3, n.1, p.3-11, 2006.
- GEISER, D. R.; ANDREWS, F. M.; ROHRBACH, B. W.; WHITE, S. L.; MAYKUTH, P. L.; GREEN, E. M.; PROVENZA, M. K. Blood ionized calcium concentrations in horses before and after the cross-country phase of 3-day event competition. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 11, p. 1502-1505, 1995.
- GLADDEN, L. B. Lactate metabolism: a new paradigm for the third Millennium. **Journal of Physiology**. v.558, n. 1, p. 5-30, 2004.
- GNAIGER, E. Capacity of oxidative phosphorylation in human skeletal muscle: new perspectives of mitochondrial physiology. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.41, p. 1837-1845, 2009.
- GNAIGER, E. **Mitochondrial Pathways and Respiratory Control An Introduction to OXPHOS Analysis. Mitochondria Physiology Network**. OROBOROS MiPNet Publications, Innsbruck. 2012, p. 64.
- GOKCE, G.; CITIL, M.; GUNES, V.; ATALAN, G. Effect of time delay and storage temperature on blood gas acid-base values of bovine venous blood. **Research in Veterinary Science**, v. 76, p. 121-127, 2004.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. 198p.
- GOODYEAR, L. J.; KAHN, B. B. Exercise , glucose transport and insulin sensitivity, **Annual review in Medicine**, v. 49, p. 235-261, 1998.
- GUHL, A.; LINDNER, A.; VON WITTKE, P. Use of relationship between blood lactate and running speed to determine the exercise intensity of horses. **The Veterinary Record**, v. 139, n. 5, p. 108-110, 1996.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Os compartimentos líquidos corporais: líquido extracelular, intracelular e edema. In: _____. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 250-264.
- HAMLIN, M.J.; SHEARMAN, J.P.; HOPKINS, W.G. Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. 4, p. 383-388, 2002.
- HANZAWA, K.; KAI, M.; HIRAGA, A.; WATANABE, S. Fragility of red cells during exercise is affected by blood pH and temperature. **Equine Veterinary Journal**, v 30, p. 610-611, 1999.

- HARRIS, P A.; MARLIN, D. J; GRAY, J. Plasma aspartate aminotransferase and creatine kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. **The Veterinary Journal**, v. 155, p. 295-304, 1998.
- HARRIS, P.; MARLIN, D. J.; DAVIDSON, H.; RODGERSON, J.; GREGORY, A.; HARRISON, D. Practical assessment of heart rate response to exercise under field conditions. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v.4, n.1, p.15-21, 2007.
- HARRIS, P.; SNOW, D. H. The effect of high intensity exercise on the plasma concentration of lactate, potassium and other electrolytes. **Equine Veterinary Journal**, v. 20, p. 109-111, 1988
- HINCHCLIFF, K.W.; LAUDERDALE, M. A.; DUTSON, J.; GEOR, R. J.; LACOMBE, V. A.; TAYLOR, L. E. High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n.1, p. 9-16, 2002.
- HINTON, M. The biochemical and clinical of exhaustion in the horse. **Annual Report / Centre for Tropical Veterinary Medicine**, v. 18, p.169-172, 1978.
- HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Effects of a nine-month endurance training programme on muscle composition in the horse. **Veterinary Record**, v.121, p. 271-274, 1987.
- HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse: Principles and practice of equine sports medicine**. 1^a ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, p. 245-258, 1994.
- HOLLMAN, W. Historical remarks on the development of the aerobic-anaerobic threshold up to 1966. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, p. 109-116, 1985.
- HOOD, D. A.; IRRCHER, I.; LJUBICIC, V.; JOSEPH, A. M. Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, p.2265-2275, 2006.
- HOPPELER, H.; FLUCK, M. Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and function. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.35, n.1, p.95-104, 2003.
- HOROWITZ, J.F.; KLEIN, S. Lipid metabolism during endurance exercise. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, p.558-563, 2000.
- HOUP, T. R. Equilíbrio Ácido-básico. In: REECE, W. O. **Dukes-Fisiologia dos Animais Domésticos**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2006, p. 147-160.
- HUSSNI, C. A.; NICOLETTI, J. L. M. Alterações do pH, da PO₂ e da PCO₂ arteriais e da concentração de lactato sanguíneo de cavalos da raça árabe durante exercício em esteira de alta velocidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 320-326, 2006.
- HYYPPÄ, S. Endocrinal responses in exercising horses. **Livestock Production Science**, v. 92, p. 113-121, 2005.
- ISLAS, A.; RIVERO, J. L. L.; QUEZADA, M.; MORA, G.; AEDO, V.; BRIONES, V.; MARIN, L. Características histoquímicas de las fibras del músculo gluteus medius en equinos de tiro. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 28, n. 1, p. 83-91, 1996.
- JABLONSKA, E.M.; ZIOLKOWSKA, M. S.; GILL, J.; SZYKULA, R.; FAFF, J. Changes in some haematological and metabolic indices in young horses during the first year of jump-training. **Equine Veterinary Journal**, v. 23, n. 4, p. 309-311, 1991.

- JACOBS, R.A.; MEINILD, A.; NORDBORG, N.B.; LUNDBY, C. Lactate oxidation in human skeletal muscle mitochondria. **American Journal of Physiology- Endocrinology and Metabolism**, v. 304, p. 86-94, 2013.
- JOHNSON, P. J. Physiology of body fluids in the horse. **The Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v. 14, p. 01-22, 1998.
- JOHNSON, P.J. Electrolyte and acid-base disturbances in the horse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.11, n.3, p.491-514, 1995.
- JUDSON, G.J; FRAUENFELDER, H.C.; MOONEY, G.J. Biochemical changes in Thoroughbred racehorses following submaximal and maximal exercise. In: SNOW, D.H.; PERSSON, S.G.B.; ROSE, R.J. **Equine Exercise Physiology**. Cambridge: Granta Editions, p. 408-415, 1983.
- JUEL, C. Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. **Physiological Reviews**, v. 77, n. 2, p. 321-358, 1997.
- KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5^a ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.
- KINGSTON, J.K. Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training. IN: HINCHCLIFF, K.W.; KANEPS, A.J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery: Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete**, Philadelphia: W.B.Saunders. p.940-948, 2004.
- KLINE, K.H.; LAWRENCE, L.M.; NOVAKOFSKY, J.; BECHTEL, P.J. Changes in muscle fiber variation within the middle gluteal of young and mature horses as a function of sampling depth. **Equine Exercise Physiology**, v. 2, p. 271-277, 1987.
- KOWALTOWSKI, A.J.; DE SOUZA-PINTO, N.C.; CASTILHO, R.F.; VERCESI, A.E. Mitochondria and reactive oxygen species. **Free Radical Biology & Medicine**, v.4, p.333-343, 2009.
- KRAMER, R.H.; ROSEN, S.; McDONALD, K.A. Basement membrane components associated with the extracellular matrix of the lymph node. **Cell Tissue Research**, v.252, 1988, p. 367
- LACOMBE, V.A.; HINCHCLIFF, K.W.; TAYLOR, L.E. Interactions of substrate availability, exercise performance, and nutrition with muscle glycogen metabolism in horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 223, n. 11, p. 1576-1585, 2003.
- LEKEUX, P.; ART, T. The respiratory system: anatomy, physiology, and adaptations to exercise and training. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, p. 81-127, 1994.
- LEKEUX, P.; ART, T.; LINDEN, A.; DESMECHT, D.; AMORY, H. Heart rate, hematological and serum biochemical responses to show jumping. **Equine Exercise Physiology**, v. 3, p. 385-390, 1991.
- LELEU, C.; COTREL, C. Body composition in young Standardbreds in training: relationships to body condition score, physiological and locomotor variables during exercise. **Equine Veterinary Journal**, v.38, n. 36, p. 98-101, 2006.
- LINDHOLM, A.; PIEHL, K. Fiber composition, enzyme activity and concentrations of metabolites and electrolytes in muscles of Standardbred horses. **Acta Veterinaria Scandinavica** v.15,p.287-309, 1974.

- LINDNER, M. I. Acid-base physiology during exercise and in response to training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders, p. 872-897, 2004.
- LINDNER A.; DAG ERGINSOY S.; KISSENBECK S.; MOSEN H.; HETZEL U.; DROMMER W.; CHAMIZO V. E.; RIVERO J. L. L. Effect of different blood-guided conditioning programmes on skeletal muscle ultrastructure and histochemistry of sport horses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.10, p 374-386. 2012.
- LINDNER, A. Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of port horses in practice. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 151, p. 611-618, 2000.
- LINDNER, A.; DAG, S.; MARTI-KORFF, S.; QUIROZ-ROTHER, E.; RIVERO, J.L.L.; DROMMER, W. Effects of repeated biopsying on muscle tissue in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. 6, p. 619-624, 2002.
- LINDNER, A.; SIGNORINI, R.; BRERO, L.; ARN. E.; MANCINI. R.; ENRIQUE, A. Effect of conditioning horses with short intervals at high speed on biochemical variables in blood. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p. 88-92, 2006.
- LINDNER, M.I., MCKELVIE, R.S., HEIGENHAUSER, G.J.F. K⁺ and Lac distribution in humans during and after high-intensity exercise: role in muscle fatigue and attenuation. **Journal of Applied Physiological**. v.78, p. 765-777, 1995.
- LÓPEZ-RIVERO, J. L. ; PIERCY, R.J. Muscle physiology: responses to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K. L. KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sport Medicine and Surgery**. Saunders Elsevier Ltd, Edinburgh, UK. 2004, p. 45–76.
- LÓPEZ-RIVERO, J.L. Performance diagnosis and evaluation of fitness in horses by use of muscle biopsies. **Laboratory Diagnosis for Sport Horses**. 1^aed. Wageningen Pers, Netherlands, 1998, p 48-54.
- LÓPEZ-RIVERO, J.L.; AGUERA & MONTERDE J.G.; RODRIGUEZ-BARBUDO, M.V.; MIRÓ, F. Comparative study of muscle fiber type composition in the middle gluteal muscle of Andalusian, Thoroughbred and Arabian horses. **Journal Equine Veterinary Science**, v.9, p.337-340,1989.
- LOPEZ-RIVERO, J.L.; SERRANO, A.L.; DIZ, A.M; GALISTEO, A.M. Variability of muscle fibre composition and fibre size in the horse gluteus medius: an enzyme-histochemical and morphometric study. **Journal of Anatomy**. v.181, p.1-10, 1994.
- LÓPEZ-RIVERO, J.L.L. Muscle biopsy as a tool for assessing muscular adaptation to training in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, p. 1412-1416, 1996.
- LÓPEZ-RIVERO, J.L.L.; SERRANO, A.L.; HENCKEL, P. Activities of selected aerobic and anaerobic enzymes in the gluteus medius muscle of endurance horses with different performance records. **The Veterinary Record**, v.137, p.187–192, 1995.
- LUTHI, J.M.; HOWALD, H.; CLASSEN, H.; ROESLER, K.; VOCK, P.; HOPPELER, H. Structural changes in skeletal muscle tissue with heavy-resistance exercise. **International Journal of Sports Medicine**. v.7, p.123-127, 1986.
- MACLEAY, J.M.; SORUM, S.A.; VALBERG, S.J.; MARSH, W.E.; SORUM, M.D. Effect of ration and exercise on plasma creatine kinase activity and lactate concentration in Thoroughbred horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 11, p. 1390-1395, 2000.

- MANSMANN, R. A.; CARLSON, G. P.; WHITE, N. A.; MILNE, D. N. Synchronous diaphragmatic flutter in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 165, p. 265-270, 1974.
- MANSO FILHO, H.C.; MANSO, H.E.C.C.; FERREIRA, L.M.C.; SANTIAGO, T.A.; WANDERLEY, E.K.; ABREU, J.M.G. Porcentagem de gordura de cavalo criados em região tropical. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 3, p.239-243, 2009.
- MARLIN, D.; NANKERVIS, K. Indicators of performance. IN: MARLIN, D.; NANKERVIS, K. **Equine Exercise Physiology**. Great Britain: Blackwell, 2002, p. 245-260.
- McGOWAN, C. Clinical pathology in the racing horse: the role of clinical pathology in assessing fitness and performance in the racehorse, **Veterinary Clinics in North America: Equine Practice**, v. 24, n. 2, p. 405-421, 2008.
- McGOWAN, C.M.; GOLLAND, L.C.; EVANS, D.L.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. Effects of prolonged training, overtraining and detraining on skeletal muscle metabolites and enzymes. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, p. 257-263, 2002.
- McKEEVER, K. H. Body fluids and electrolytes: response to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: W B Saunders, 2004, p. 853-871.
- McKEEVER, K.H.; HINCHCLIFF, K. W.; REED, S. M.; ROBERTSON, J. T.; Plasma constituents during incremental treadmill exercise in intact and splenectomized horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 25, n. 3, p. 233-236, 1993.
- MONTEIRO, P.; OLIVEIRA, P.J.; GONCALVES, L.; PROVIDENCIA, L.A. Mitochondria: role in ischemia, reperfusion and cell death. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v.22, p.233-254, 2003.
- MONTES, G. S.; JUNQUEIRA, L. C. U.. The use of the Picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 1-11, 1991.
- MULLEN, P.A.; HOPES, R.; SEWELL, J. The biochemistry, haematology, nutrition and racing performance of two-year-old thoroughbreds their training and racing season. **Veterinary Record**, v. 104, n. 5, p. 90-95, 1979.
- MUÑOZ, A.; RIBER, C.; SANTISTEBAN, R.; LUCAS, R. G.; CASTEJÓN, F. M. Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabian breeds, **Equine Veterinary Journal, Suppl**, v. 34, p. 245–251, 2002.
- MUÑOZ, A.; SANTISTEBAN, R.; RUBIO, M. D.; VIVO, R.; AGÜERA, E. I; ESCRIBANO; B. M.; CASTEJÓN, F. M. The use of functional indexes to evaluate fitness in andalusian horses. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v. 59, n. 9, p. 747-750, 1997.
- MUÑOZ, R.; SANTISTEBAN, M.D.; RUBIO, C.; RIBER, C.; AGÜERA, E.I.; CASTEJÓN, F.M. Relationship between slope of the plasma lactate accumulation curve and working capacity in andalusian horses. **Acta Veterinary Brno**, v.68, p.41-50, 1999.
- MURAKAMI, M.; TAKAGI, S. Effects of continuous long distance running exercise on plasma enzyme levels in horses. **Experimental Reports of Equine Health Laboratory**, v. 11, p. 106-118, 1974.

- MYERS, J.; ASHLEY, E. Dangerous curves. A perspective on exercise, lactate, and the anaerobic threshold. **Chest**, v. 111, n. 3, p. 787-795, 1997.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger: Princípios de Bioquímica**, 5^a ed. , Editora Sarvier, 2011.
- NICHOLLS, D. G. Mitochondrial membrane potential and aging. **Aging Cell**, v.3, n.1, p. 35-40, 2004.
- NICHOLLS, D. G., FERGUSON S. J. **Bioenergetics**, 3^a ed., Academic press, London, 2002.
- Nutrient requirements of the horse**. 6th Revised edn. Washington D.C.: National Academy Press, p.8, 2007.
- NYMAN, G.; BJORK, M.; FUNKQUIST, P.; PERSSON, S. G. B.; WAGNER, P. D. Ventilation-perfusion relationship during graded exercise in the Standardbred trotter. **Equine Veterinary Journal**, v. 18, p. 63-69, 1995.
- PAGAN, J.D.; GEOR, R.J.; HARRIS, P.A.; HOEKSTRA, K.; GARDNER, S.; HUDSON, C.; PRINCE, A. Effects of fat adaptation on glucose kinetics and substrate oxidation during low-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal**, v.34, p.33-38, 2002.
- PAGAN, J.D.; HARRIS, P.A. The effects of timing and amount of forage and grain on exercise response in thoroughbred horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 30, p. 451-457, 1999.
- PAN, L.G.; FORSTER, H.V.; BISGARD, G.E.; KAMINSKI, R.P.; DORSEY, S.M.; BUSCH, M.A. Hyperventilation in ponies at the onset of and during steady-state exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 54, n. 5, p. 1394-1402, 1983.
- PERSSON, S. D. G. On blood volume and working capacity of horses: Studies of methodology and physiological and pathological variations, **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 19, n. 9, p. 189, 1967.
- PERSSON, S. G. B.; ESSEN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A.; McMIKEN, D. F.; THORNTON, J. R. Cardiorespiratory and metabolic effects of training of Standardbred yearlings. In: SNOW, D. H., PERSSON, S. G.B., ROSE, J. R. **Equine Exercise Physiology**. Burlington Press, Cambridge. 1983. p. 458-469a.
- PERSSON, S.G.B. Evaluation of exercise tolerance and fitness in the performance horse. In: SNOW, D.H.; PERSSON, S.G.B.; ROSE, R.J. **Equine Exercise Physiology**. Cambridge: Granta, 1983. p. 441-457b.
- PESCE, A.; MCKAY, R. H.; STOLZENBACH, F.; CAHN, R. D.; KAPLAN, N. O. The comparative enzymology of lactic dehydrogenases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 239, p. 1753-1761, 1964.
- PETTE, D. The adaptive potential of skeletal muscle fibers. **Journal of Applied Physiology**, v. 27, p. 423-448, 2002.
- PHILIP, A.; MACDONALD, A. L.; WATT, P. W. Lactate – a signal coordinating cell and systemic function. **The Journal of Experimental Biology**, v. 208, p. 4561-4575, 2005.
- PHILLIPS, S.M.; GREEN, H. J.; TARNOPOLSKY, M. A.; GANT, S. M. Increased clearance of lactate after short-term training in men. **Journal of Applied Physiology**, v. 79, n. 6, p. 1862-1869, 1995.

- PICCIONE, G.; ASSENZA, A.; FAZIO, F.; PERCIPALLE, M.; CAOLA, G. Assesment of anaerobic threshold in the galloper using a standardized exercise field test. **Veterinary Medicine – Czech**, v. 49, n. 8, p. 291-297, 2004.
- PINA, I. L.; APSTEIN, C. S.; BALADY, G. J.; BELARDINELLI, R.; CHAITMAN, B. R.; DUSCHA, B. D.; FLETCHER, B. J.; FLEG, J. L.; MYERS, J. N.; SULLIVAN, M. J. Exercise and heart failure: A statement from the American Heart Association Committee on exercise, rehabilitation, and prevention. **Circulation**, v.107, p. 1210-1225, 2003.
- POOLE, D. C.; ERICKSON, H. H. Heart and vessels: function during exercise and response to training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders, 2004. p. 699-727.
- POOLE, R.C.; HALESTRAP, A.P. Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. **American Journal of Physiology**, v. 264, n. 4, p. 761-782, 1993.
- PÖSÖ, A. R. Monocarboxylate transporters and lactate metabolism in equine athletes: a review, **Acta Veterinaria Scandinavia**, v. 43, n. 2, p. 63-74, 2002.
- PÖSÖ, A.R., LAMPINEN, K.J., RÄSÄNEN, L.A. Distribution of lactate between red blood cells and plasma after exercise. **Equine Veterinary Journal**, v.18, p. 231-234, 1995.
- PRATT, C.W.; CORNELLY, K. **Bioquímica Essencial**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 716 p.
- RALSTON, S. Insulin and glucose regulation, **The Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 18, p. 295–304, 2002.
- RASMUSSEN, U.F.; KRUSTRUP, P.; BANGSBO, J.; RASMUSSEN, H.N. The effect of high-intensity exhaustive exercise studied in isolated mitochondria from human skeletal muscle. **European Journal of Physiology**, v. 443, p. 180-187, 2001.
- RIVERO, J. L. L.; DIZ, A. M.; MONTEVERDE, J. G.; AGÜERA, E. Intramuscular distribution of fibre types in the gluteus medius of the horse: A histochemical analyses. **Anatomy Histology and Embriology**, v. 22, p. 223-240, 1993.
- RIVERO, J. L. L.; RUZ, M.C.; SERRANO, A. L.; DIZ, A. M. Effects of the 3 month endurance training programme on skeletal muscle istochemistry in andalusian, Arabian and Anglo-Arabian horses. **Equine Veterinary Journal**, v.27, p.51-59, 1995a.
- RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; BARREY, E.; VALETTE, J. P.; JOUGLIN, M. Analysis of myosin heavy chains at the protein level in horse skeletal muscle. **Journal of Muscle Research Cell Motility**, v.20, p. 2121-2122, 1999.
- RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; HENCKEL, P. Activities of selected aerobic and anaerobic enzymes in the gluteus medius of endurance horses with different performance records. **Veterinary Research**, v. 137, p. 187-192, 1995b.
- RIVERO, J.L.L.; RUZ, M.C.; SERRANO, A.L.; DIZ, A.M. Effects of a 3 months endurance Training programme on skeletal muscle histochemistry in Andalusian Arabian and Anglo-Arabian horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 27, p. 51-59, 1995c.
- ROBINSON, E. N. **Current therapy in equine medicine**. 5ª ed. Philadelphia: Saunders, 2003, 960 p.

ROSE, R.J.; HODGSON, D.R. An overview of performance and sports medicine. In: HODGSON, D.R. and ROSE, R.J. **The athletic horses: principles and practice of equine sports medicine**. 1 ed. Philadelphia: Saunders. cap. 4, p.3-25, 1994a.

ROSE, R.J.; HODGSON, D.R. Hematology and biochemistry. In: HODGSON, D.R.; ROSE, R. J. (Eds.). **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia: Saunders, 1994. p. 63-78b.

ROSE, R.J.; ILKIW, J. E.; ARNOLD, K. S. Plasma biochemistry in the horse during 3-day event competition. **Equine Veterinary Journal**, v. 12, n. 3, p. 132-136, 1980.

ROSE, R.J.; PURDUE, R.A.; HENSLEY, W. Plasma biochemistry alterations in horses during an endurance ride. **Equine Veterinary Journal**, v. 9, n. 3, p. 122-136, 1977.

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

ROTTENBERG, H.; WU, S. Quantitative assay by flow cytometry of the mitochondrial membrane potential in intact cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.16, p. 393-404, 1998.

RYAN, C.; RADZIUK, J. Distinguishable substrate pools for muscle glyconeogenesis in lactate-supplemented recovery from exercise. **American Journal of Physiology**, v. 269, n. 3, p. 538-550, 1995.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2002. 265p

SANTIAGO, J.M.; ALMEIDA, F.Q.; SILVA, L.L.F.; MIRANDA, A.C.T.; AZEVEDO, J.F.; OLIVEIRA, C.A.A.; CARRILHO, S.S. Hematologia e bioquímica sérica de equinos de concurso completo de equitação em treinamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p.383-392, 2013.

SCHALM, O.W. Equine Hematology: the erythrocytes and plasma. **Equine Practice**, v. 1, n. 2, p. 37-42, 1979.

SCHOTT, H. C.; BOHART, G. V.; EBERHART S. W. Potassium and lactate uptake by noncontracting tissue during strenuous exercise. **Equine Veterinary Journal**. v.34, p 532-538, 2002.

SCHOTT, H. C.; McGLADE, K. S.; MOLANDER, H. A.; LEROUX, A. J.; HINES, M. T. Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses competing in 50- and 100-mile endurance rides. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, p. 303-309, 1997.

SCHUBACK, K.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B. Muscle anaerobic response to a maximal treadmill exercise test in Standardbred trotters. **Equine Veterinary Journal**, v. 30, n. 6, p. 504-510, 1998.

SEAHORN, J. L.; SEAHORN, T. L. Fluid therapy in horses with gastrointestinal disease. **The Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 19, p. 665-679, 2003.

SEEHerman H. J.; MORRIS, E. A. Application of a standardised treadmill exercise test for clinical evaluation of fitness in 10 Thoroughbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v.22, n.9, p. 26-34, 1990.

- SEJERSTED, O. M. Electrolyte imbalance in body fluids as a mechanism of fatigue during exercise. In: LAMB, D. GISOLFI, C. V. **Energy Metabolism (Perspective in exercise science and sports medicine)**. Dubuque: Brown and Benchmark, 1992, p. 149-205.
- SERRANO, A. L.; RIVERO, J. L. L. Myosin Heavy Chain profile of equine Gluteus medius following prolonged draught exercise training and detraining. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 21, p. 235-245, 2000a.
- SERRANO, A.L.; QUIROZ-ROTHER, E.; RIVERO, J.L.L. Early and long-term changes of equine skeletal muscle in response to endurance training and detraining. **Pflugers Arch**, v.441, p. 263-274, 2000b.
- SHEARMAN, J. P.; HAMLIN, M. J.; HOPKINS, W. G. Effect of tapered normal and interval training on performance of Standardbred pacers. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, p. 395-399, 2002.
- SILVA, M. A. G.; MARTINS, C. B.; GOMIDE, L. M. W.; ALBERNAZ, R. M.; QUEIROZ-NETO, A.; LACERDA-NETO, J. C. Determinação de eletrólitos, gases sanguíneos, osmolalidade, hematócrito, hemoglobina, base titulável e anion gap no sangue venoso de equinos destreinados submetidos a exercício máximo e submáximo em esteira rolante, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1021-1027, 2009.
- SIMÕES, H. G. **Respostas metabólicas e hormonais durante os testes de determinação do limiar anaeróbio individual e lactato mínimo**. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de São Carlos, 2000.
- SKELTON, M.S.; KREMER, D.E.; SMITH, E.W.; GLADDEN, L.B. Lactate influx into red blood cells of athletic and non athletic species. **American Journal of Physiology**, v. 268, n. 5, p. 1121-1128, 1995.
- SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M. M.; SPIERENBURG, A. J.; VAN DEN BROEK, E. T. W. The workload on riding-school horses during jumping, **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p. 93-97, 2006.
- SMITH, J.A.; KOLBUCH-BRADDON, M.; GILLAM, I.; TELFORD, R.D.; WEIDEMANN, M.J. Changes in the susceptibility of red cells to oxidative and osmotic stress following submaximal exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 70, n. 5, p. 427-436, 1995.
- SNOW, D. H.; BILLETER, R.; JENNY, E. Myosin types in equine skeletal muscle. **Research in Veterinary Science**, v. 30, p. 381-382, 1981.
- SNOW, D. H.; GUY, P. S. Muscle fibre type composition of a number of limb muscle in different types of horse. **Research in Veterinary Science**, v.28, p. 173-144, 1980.
- SNOW, D. H.; GUY, P.S. Percutaneous needle muscle biopsy in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 8, p. 150-155, 1976.
- SNOW, D. H.; VALBERG, S. J. Muscle anatomy, physiology, and adaptations to exercise. In: ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994, p. 49-62.
- SNOW, D.H.; MUNRO, C.D.; NIMMO, M. A. Effects of nandrolenephenylpropionate in the horse: Resting animal. **Equine Veterinary Journal**, v.14, p.219- 223. 1982.

- SNOW, D.H.; VALBERG, S. J. Post-race blood biochemistry in Thoroughbred. In: SNOW, D.H.; PERSSON, S.G.B.; ROSE, R.J. **Equine Exercise Physiology**. Burlington: Cambridge, 1983. p. 389-399.
- SOBIECH, P.; STOPYRA, A.; KULETA, Z.; ZBANYSZEK, M.; MILEWSKI, S. Acid-base balance parameters of arterial, venous and capillary blood in sheep. **Bulletin of Veterinary Institute Pulawy**, v. 49, p. 125-127, 2005.
- SPEIRS, V. C. Arteriovenous and arteriocentral venous relationships for pH, pCO₂ and actual bicarbonate in equine blood samples. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, p. 199-203, 1980.
- STEVENSON, R.W.; MITCHELL, D.R.; HENDRICK, G.K.; RAINEY, R.; CHERRINGTON, A.D.; FRIZZELL, R.T. Lactate as substrate for glycogen resynthesis after exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 62, n. 6, p. 2237-2240, 1987.
- STEWART, P. A. Modern quantitative acid-base chemistry. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 61, p. 1444-1461, 1983.
- TAYLOR, L. E.; FERRANTE, P. L.; KRONFELD, D. S.; MEACHAM, T. N. Acid-base variables during incremental exercise in sprint-trained horses fed a high-fat diet, **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 7, p. 2009-2018, 1995.
- TEIXEIRA-NETO, A. R.; FERRAZ, G. C.; MOSCARDINI, A. R. C.; BALSAMÃO, G. M.; SOUZA, J. C. F.; QUEIROZ-NETO, A. Alterations in muscular enzymes of horses competing long-distance endurance rides under tropical climate. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.3, p.543-549, 2008.
- TERRENCE, G.; FREY MANNELLA, C. A. The internal structure of mitochondria. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 25, p.319-324, 2000.
- TERZY, R. G. G. Transporte de oxigênio. In Equilíbrio Ácido-Básico e Transporte de Oxigênio. São Paulo: Editora Manole LTDA., 1992. cap.5, p.142-179.
- THOMAS, D.P.; FREGIN, F.; GERBER, N. H.; AILES, N. B. Cardiorespiratory adjustments to tethered-swimming in the horse. **Pflügers Archiv European Journal of Physiology**, v. 385, n. 1, p. 65-70, 1980.
- TRIGO, P.; CASTEJON, F.; RIBER, C.; MUÑOZ, A. Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides, **Equine Veterinary Journal Suppl.** v. 38, p. 142-146, 2010.
- TRILK, J. L.; LINDNER, A. J.; GREENE, H. M., ALBERGHINA, D., WICKLER, S. J. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, p. 122-125, 2002.
- TURCOTTE, L. P. Mitochondria: biogenesis, structure, and function-symposium introduction. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.35, n.1, p.82-85, 2003.
- TURRENS, J.F. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. **Bioscience Reports**, v. 17, p. 3-8, 1997.
- VÄIHKÖNEN, L.K.; PÖSÖ, A.R. Interindividual variation in total and carrier mediated lactate influx into red blood cells. **American Journal of Physiology**, v. 274, n. 4, p. 1025-1030, 1998.
- VAN BEAUMONT, W., STRAND, J.C., PETROFSKY, J.S., HIPSKIND, S.G., GREENLEAF, J.E. Changes in total plasma content of electrolytes and proteins with maximal exercise. **Journal Applied Physiology**, v. 34, p. 102-106, 1973.

- VAN LOON, L.J.; GREENHAFF, P.L.; CONSTANTIN-TEODOSIU, D.; SARIS, W.H.; WAGENMAKERS, A.J. The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilisation in humans. **Journal of Physiology**, v.536, p.295-304, 2001.
- VOLFINGER, L.; LASSOURD, V.; MICHAUX, J.M.; BRAUN, J.P.; TOUTAIN, P.L. Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of amount of creatine kinase released. **American Journal Physiology**, v. 266, n. 2, p. 434-441, 1994.
- VOSS, B.; MOHR, E.; KRZYWANEK, H. Effects of aqua-treadmill exercise on selected blood parameters and on heart-rate variability of horses. **Journal of Veterinary Medicine: series A**, v. 49, n. 3, p. 137-143, 2002.
- VOTION, D.M.; GNAIGER, E.; LEMIEUX, H., MOUTHYS-MICKALAD, A.; SERTE, N. D. Physical fitness and mitochondrial respiratory capacity in horse skeletal muscle. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4 p 1-12, 2012.
- VOTION, D.M.; FRAIPONT, A.; GOACHET, A.G.; ROBERT, C.; VAN ERCK, E.; AMORY, H.; CEUSTERS, J.; DE LA REBIÈRE DE POUYADE, G.; FRANCK, T.; MOUTHYS-MICKALAD, A.; NIESTEN, A.; SERTEYN, D. Alterations in mitochondrial respiratory function in response to endurance training and endurance racing. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n.38, p. 268–274, 2010.
- VOTION, D.V.; NAVET, R.; LACOMBE, V.A.; SLUE, F.; ESÉN-GUSTAVSSON, B.; HINCHCLIFF, K.W.; RIVERO, J.L.L.; SERTEYN, D.; VALBERG, S. Muscle energetic in exercising horses. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v.4, p.105-118, 2007.
- WAGNER, P. D.; ERICKSON, B. K.; KUBO, K.; HIRAGA, A.; KAI, M.; YAMAYA, Y.; RICHARDSON, R.; SEAMAN, J. Maximum oxygen transportation and utilization before and after splenectomy. **Equine Veterinary Journal**, v. 18, p. 82-89, 1995.
- WAGNER, P. D.; GILLESPIE, J. R.; LANDSGRENN, G. L.; FEDDE, M. R.; JONES, B. W.; DeBOWES, M.; PIESCHL, R. L.; ERICKSON, H. H. Mechanism of exercise-induced hypoxemia in horses. **Journal of Applied Physiology**, v. 66, p. 1227-1233, 1989.
- WAHREN, J.P.; FELIG, P.; HENDLER, R.; AHLBORG, G. Glucose and amino acid metabolism during recovery after exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 34, p. 838-845, 1973.
- WALLACE, K. B.; EELLS, J. T.; MADEIRA, V. M.; CORTOPASSI, G.; JONES, D. P. Mitochondria-mediated cell injury. Symposium overview. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 38, n.1, p. 23-37, 1997.
- WATANABE, M. J.; THOMASSIAN, A.; TEIXEIRA-NETO, F. J.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; NICOLETTI, J. L. M. Alterações do pH, da PO₂ e da PCO₂ arteriais e da concentração de lactato sanguíneo de cavalos da raça árabe durante exercício em esteira de alta velocidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, p. 320-326, 2006.
- WEIBEL, E.R.; HOPPERLER, H. Review Exercise-induced maximal metabolic rate scales with muscle aerobic capacity. **The Journal of Experimental Biology**, v.208, p. 1635-1644, 2005.
- WILKINS, P. A.; GLEED, R. D.; KRIVITSKI, N. M.; DOBSON, A. Extravascular lung water in the exercising horse. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p.2442-2450, 2001.

WILLIAMSON, H. Normal and abnormal electrolyte levels in the racing horse and their effect on performance. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 45, n. 4, p. 335-340, 1974.

YAMANO S.; ETO D.; SUGIURA T. Effect of growth and training on muscle adaptation in Thoroughbred horses. **American Journal of Veterinary Research**. v. 63, p. 1408-1412, 2002.

ZOLL, J. Preserved response of mitochondrial function to short-term endurance training in skeletal muscle of heart transplant recipients. **Journal of the American College of Cardiology**. v. 42, n. 1, 2003.

7 ANEXOS

Tabela 1: Valores das concentrações de Hematócrito (%) dos equinos, ao longo dos testes de esforço físico e do período de recuperação pós teste.

Animal	Teste							Recuperação	
	Basal	1,7 m/s	4 m/s	5 m/s	6 m/s	7 m/s	8 m/s	10 min	30 min
1	37	35	40	42	45	39	51	33	33
2	34	33	-	33	39	37	50	40	32
3	36	38	44	44	46	49	53	45	34
4	33	39	42	43	44	46	56	34	35
5	33	37	40	43	45	47	52	43	35
6	32	35	40	40	43	45	47	39	32
7	33	30	38	40	42	44	48	40	29
8	30	35	38	40	46	47	53	44	36
9	33	33	37	39	40	45	50	42	32
10	31	33	39	40	46	48	48	40	31
11	34	39	45	47	49	50	59	47	38
12	36	43	47	48	51	54	63	51	40
13	37	43	48	49	49	49	57	52	49
14	35	44	44	50	56	53	58	52	38
Média	34	37	42	43	46	47	53	43	35
D.P.	2,065	4,131	3,450	4,463	4,296	4,498	4,585	5,806	4,802

Tabela 2: Valores das concentrações de Proteína Plasmática Total (PPT) dos equinos, ao longo dos testes de esforço físico e do período de recuperação pós teste.

Animal	Teste							Recuperação	
	Basal	1,7 m/s	4 m/s	5 m/s	6 m/s	7 m/s	8 m/s	10 min	30 min
1	5,6	5,6	5,8	6,0	6,0	5,6	6,4	5,4	6,0
2	5,8	5,6	-	6,0	6,0	6,4	6,8	6,2	6,0
3	7,4	6,8	7,2	7,2	7,4	7,4	8,0	7,0	6,6
4	6,2	6,2	6,6	6,6	6,8	6,8	7,4	6,2	6,4
5	6,0	6,2	6,4	6,4	6,6	6,8	7,2	6,6	6,2
6	6,0	6,0	6,0	6,2	6,4	6,6	7,0	6,0	6,0
7	6,0	6,3	6,6	6,8	7,0	7,0	7,3	6,6	6,1
8	6,2	6,2	6,4	6,4	6,6	6,6	7,0	6,6	6,4
9	6,0	6,0	6,0	6,2	6,2	6,4	6,6	6,0	5,8
10	5,6	6,0	6,2	6,2	6,8	7,0	7,0	6,2	6,0
11	6,0	6,3	6,5	6,8	6,9	7,0	7,6	6,9	6,4
12	6,2	6,6	6,8	7,1	7,0	7,2	7,2	7,1	6,6
13	6,1	6,5	6,8	7,0	7,0	7,0	7,4	7,2	6,2
14	6,3	7,1	7,4	7,5	7,5	7,7	8,0	7,4	7,0
Média	6,1	6,2	6,5	6,6	6,7	6,8	7,2	6,5	6,3
D.P.	0,414	0,401	0,447	0,458	0,446	0,487	0,448	0,539	0,311

Tabela 3: Valores das concentrações de Lactato plasmático (mmol/L) dos equinos, ao longo dos testes de esforço físico e do período de recuperação pós teste.

Animal	Teste							Recuperação	
	Basal	1,7 m/s	4 m/s	5 m/s	6 m/s	7 m/s	8 m/s	10 min	30 min
1	0,39	0,57	0,57	1,15	2,10	2,66	8,64	1,37	0,81
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,49	0,62	1,25	1,56	2,98	4,12	16,89	14,80	4,19
4	0,61	0,66	0,91	1,26	2,30	3,32	14,76	8,84	3,46
5	0,44	0,49	1,29	1,49	2,58	3,06	17,97	12,36	4,96
6	0,54	0,69	0,86	0,98	2,38	4,26	16,89	11,81	4,05
7	0,29	0,37	0,62	0,99	1,69	3,66	8,25	7,30	2,46
8	0,33	0,60	0,77	2,03	2,93	5,44	14,58	9,22	3,24
9	0,30	0,47	0,62	0,65	1,44	3,12	9,66	6,82	3,20
10	0,29	0,22	0,33	0,81	1,83	3,48	9,06	6,40	1,28
11	0,32	0,36	0,48	0,73	0,82	1,38	7,46	3,32	2,11
12	0,31	0,33	0,41	0,69	0,95	1,94	5,61	2,18	1,00
13	0,53	0,59	1,18	2,53	5,00	6,59	17,97	15,00	12,81
14	0,37	0,41	0,74	0,80	2,10	3,95	6,00	3,68	1,70
Média	0,40	0,48	0,79	1,21	2,25	3,69	12,09	8,48	3,71
D.P.	0,110	0,143	0,309	0,567	1,064	1,334	4,645	4,154	2,982

Tabela 4: Valores das concentrações de Glicose (mg/dL) plasmática dos equinos, ao longo dos testes de esforço físico e do período de recuperação pós teste.

Animal	Teste							Recuperação	
	Basal	1,7 m/s	4 m/s	5 m/s	6 m/s	7 m/s	8 m/s	10 min	30 min
1	118	100	102	104	112	97	92	91	97
2	120	106	-	85	97	92	113	107	112
3	102	116	116	90	89	81	80	100	126
4	131	119	112	105	103	107	73	91	118
5	124	126	107	84	78	78	74	121	118
6	112	123	114	99	90	71	73	81	126
7	131	141	118	99	101	99	86	102	115
8	112	145	110	106	110	89	93	118	121
9	90	123	97	97	83	68	58	75	101
10	100	119	95	92	95	86,6	75	91	107
11	107	126	117	104	91	90	61	77	94
12	110	99	100	95	97	88	88	97	103
13	103	98	98	80	81	78	96	127	108
14	73	87	82	80	79	75	53	55	93
Média	110	116	105	94	93	86	80	95	110
D.P.	15,207	16,015	10,259	8,932	10,498	10,750	15,787	18,933	10,846

Tabela 5: Valores das Frequências Cardíacas (bpm) dos equinos, ao longo dos testes de esforço físico e do período de recuperação pós teste.

Animal	Teste								Recuperação	
	Antes	1,7 m/s	4 m/s	5 m/s	6 m/s	7 m/s	8 m/s 1'	8 m/s	10'	30'
1	37	70	99	125	144	165	186	199	84	55
2	38	54	130	152	164	154	177	212	-	-
3	52	97	137	157	182	199	201	216	129	92
4	56	83	117	130	150	153	163	190	104	72
5	135	95	89	107	111	137	221	226	108	88
6	50	105	136	157	174	179	206	211	122	90
8	45	84	88	108	139	144	169	195	120	85
9	40	79	110	129	144	153	171	213	99	74
10	41	81	126	155	182	188	193	201	99	68
11	54	86	137	152	169	179	210	221	101	78
12	42	65	110	131	147	166	177	197	99	59
13	62	113	155	176	190	204	207	224	130	99
14	33	54	90	140	148	155	155	190	114	71
Média	45	80	117	142	160	170	183	206	109	76
D.P.	8,972	17,086	22,652	20,262	18,803	19,881	19,142	12,426	11,655	11,925

Tabela 6: Valores da Hemogasometria dos equinos, antes e no último momento do teste de esforço físico.

Animal	Teste															
	TR °C		pH		pCO ₂ (mmHg)		pO ₂ (mmHg)		BE ecf (mmol/L)		HCO ₃ (mmol/L)		TCO ₂ (mmol/L)		s O ₂ (%)	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	37,00	38,90	7,50	7,31	35,30	47,60	36,00	39,00	4,00	-3,00	27,30	23,20	28,00	25,00	75,00	61,00
2	37,00	39,40	7,39	7,36	49,40	44,90	34,00	50,00	5,00	0,00	29,80	24,80	31,00	26,00	64,00	78,00
3	37,00	40,20	7,38	7,18	48,70	51,90	33,00	42,00	4,00	-9,00	28,80	18,80	30,00	20,00	61,00	53,00
4	37,00	39,70	7,41	7,25	45,80	47,10	38,00	45,00	5,00	-6,00	29,20	20,20	31,00	21,00	72,00	65,00
5	37,00	40,60	7,39	7,20	48,60	51,20	34,00	38,00	4,00	-8,00	29,10	19,10	31,00	20,00	64,00	45,00
6	37,00	39,70	7,40	7,24	47,50	49,90	37,00	35,00	4,00	-6,00	29,20	20,50	31,00	22,00	69,00	47,00
7	37,00	37,00	7,37	7,27	42,80	43,80	33,00	30,00	0,00	-7,00	24,90	20,10	26,00	21,00	63,00	49,00
8	37,00	40,50	7,40	7,22	47,50	49,70	31,00	37,00	5,00	-7,00	29,40	19,50	31,00	21,00	60,00	45,00
9	37,00	40,00	7,38	7,29	46,30	42,70	32,00	41,00	3,00	-6,00	27,60	19,90	29,00	21,00	59,00	61,00
10	37,00	39,80	7,37	7,28	48,60	47,90	33,00	54,00	3,00	-4,00	28,40	21,70	30,00	23,00	60,00	76,00
11	37,00	40,20	7,39	7,30	47,60	49,20	33,00	43,00	4,00	-2,00	29,00	23,30	30,00	25,00	62,00	62,00
12	37,00	40,20	7,42	7,33	43,00	48,80	32,00	40,00	3,00	0,00	27,80	24,90	29,00	26,00	63,00	60,00
13	37,00	39,40	7,39	7,11	46,60	47,90	28,00	40,00	3,00	-14,00	28,20	14,90	30,00	16,00	52,00	48,00
14	37,00	39,60	7,41	7,32	49,70	47,20	28,00	36,00	7,00	-2,00	31,70	23,60	33,00	25,00	52,00	55,00
Média	37,00	39,70	7,40	7,26	46,24	47,84	33,00	41,00	4,00	-5,00	28,60	21,00	30,00	22,00	63,00	58,00
D.P.	0	0,862	0,031	0,065	3,650	2,545	2,777	5,873	1,505	3,673	1,466	2,643	1,604	2,763	6,219	10,287

Tabela 7: Valores íons plasmáticos dos equinos, antes e no último momento do teste de esforço físico.

Animal	Teste					
	Na (mEq/L)		K (mEq/L)		iCa (mmol/L)	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	136	139	3,90	5,40	1,67	1,58
2	135	136	4,30	5,20	1,81	1,46
3	136	144	3,70	5,60	1,75	1,51
4	138	142	3,90	5,30	1,72	1,48
5	139	146	3,30	5,40	1,83	1,62
6	135	141	3,80	5,70	1,74	1,56
7	136	142	3,70	5,40	1,79	1,68
8	137	142	3,70	5,80	1,79	1,54
9	136	141	3,70	5,20	1,75	1,54
10	135	141	3,90	5,50	1,82	1,59
11	139	145	3,60	5,80	1,81	1,58
12	136	138	3,80	5,60	1,73	1,55
13	138	145	3,80	6,00	1,73	1,53
14	136	139	3,70	5,40	1,68	1,52
Média	137	142	3,80	5,50	1,76	1,55
D.P.	1,348	2,771	0,208	0,230	0,049	0,054

Tabela 8: Valores de Creatinaquinase (U/L) dos equinos, na última etapa de esforço físico e no período de recuperação pós teste.

Animal	8 m/s	3 h	6 h	12 h	24 h
1	287	299	441	347	612
2	228	314	326	247	268
3	254	385	313	364	282
4	263	423	397	384	297
5	210	253	687	351	227
6	294	329	694	445	251
7	236	387	321	273	365
8	182	221	611	179	202
9	276	300	319	353	327
10	245	451	368	302	258
11	274	771	359	310	216
12	204	270	292	255	231
13	220	321	411	250	218
14	232	262	278	180	207
Média	243	356	416	303	283
D.P.	32,034	131,668	138,067	74,109	102,072

Tabela 9: Valores de Lactato desidrogenasa (U/L) dos equinos, na última etapa de esforço físico e no período de recuperação pós teste.

Animal	8 m/s	3 h	6 h	12 h	24 h
1	455	457	660	458	799
2	554	615	547	474	773
3	509	723	591	578	469
4	545	645	548	595	499
5	687	656	881	878	610
6	740	660	749	909	576
7	621	618	613	652	758
8	536	474	574	433	541
9	895	564	615	613	605
10	705	704	758	727	622
11	684	1004	765	537	675
12	507	556	471	592	501
13	640	708	659	608	547
14	660	770	687	562	610
Média	624	654	651	615	613
D.P.	112,42	130,38	105,05	135,86	100,86

Tabela 10: Peso corporal (Kg), espessura da gordura subcutânea na garupa (cm) e percentual de gordura (%).

Animal	Peso corporal	Espessura de gordura da garupa	Gordura corporal*
1	468	0,53	11,13
2	470	0,31	10,10
3	447	0,67	11,79
4	456	0,21	9,63
5	522	0,73	12,07
6	524	0,49	10,94
7	534	0,78	12,31
8	520	0,28	9,96
9	497	0,31	10,10
10	516	0,21	9,63
11	511	0,30	10,05
12	420	0,21	9,63
13	520	0,80	12,40
14	512	0,31	10,10
Média	494	0,44	10,70
D.P.	33,936	0,215	1,010

* $\hat{y} = 8,64 + 4,70 X$ ($r^2 = 0,86$)

D.P.: Desvio Padrão

Tabela 11. Valores de V2, V4 e V200 dos equinos avaliados durante teste de esforço máximo.

Animal	V2	V4	V200
1	6,6	9,1	8,7
2	-	-	9,3
3	5,1	7,4	7,5
4	6,0	8,8	11,5
5	5,6	7,9	8,9
6	5,8	8,4	7,9
7	6,4	8,4	-
8	5,1	6,9	9,7
9	7,1	9,5	10,3
10	6,5	8,2	8,2
11	-	-	7,7
12	8,8	11,6	9,3
13	4,2	6,0	7,9
14	6,1	8,2	-
Média	6,1	8,4	8,9
D.P.	1,2	1,5	1,2

Tabela 12. Valores da respirometria mitocondrial antes e após o teste de esforço máximo.

	Respiração Mitocondrial (Fluxo de O ₂ pmol/s*mg)											
	Controle respiratório		Respiração máxima		Respiração mitocondrial		Complexo I		Complexo II		Respiração não mitocondrial	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	2,14	2,33	89,26	81,00	89,26	76,96	75,48	39,02	67,27	13,18	0,00	4,03
2	2,08	3,38	55,84	81,01	52,44	79,34	20,41	36,75	8,89	14,99	3,40	1,68
4	2,64	1,45	155,98	134,84	151,08	125,72	85,32	68,35	43,31	41,94	4,90	9,12
5	1,89	2,96	118,45	151,19	118,45	151,19	106,46	127,86	-	119,77	-	-
6	1,42	3,07	71,32	76,68	69,38	76,68	20,64	49,15	-	42,19	1,94	-
7	1,49	2,05	67,09	153,99	58,57	142,26	17,69	83,66	-	43,46	8,52	11,73
8	1,75	1,97	120,21	154,75	112,80	148,18	111,28	98,78	101,37	93,19	7,40	6,58
11	2,78	2,79	118,84	118,47	114,66	112,60	58,81	63,05	23,54	28,53	4,18	5,87
13	2,47	1,74	121,86	82,23	119,42	78,42	62,22	62,11	30,61	48,84	2,44	3,81
14	0,96	0,98	106,62	114,54	106,53	111,66	71,32	64,83	50,24	54,47	0,08	2,87
Média	1,96	2,27	102,55	114,87	99,26	110,30	62,96	69,36	46,46	50,06	3,65	5,71
D.P.	0,55	0,73	29,44	31,10	29,62	29,31	32,59	26,45	28,44	31,57	2,79	3,15

Tabela 13: Valores dos hemogramas dos equinos, obtidos durante a avaliação de hígidez.

	Animais														Média	D.P.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Hemácias (10 ⁶ /mm ³)	7,57	8,33	7,57	8,31	7,51	7,39	7,15	7,47	7,52	7,26	8,45	7,48	7,71	7,53	7,6	0,349
Hematócrito (%)	35,0	35,0	33,0	36,0	33,0	33,0	33,0	31,0	34,0	30,0	35,0	35,0	35,0	36,0	34	1,791
Hemoglobina (g/dL)	12,2	12,4	11,7	12,5	11,6	11,8	11,6	10,9	11,9	10,6	12,3	12,6	12,5	12,9	12,0	0,655
VGM (fm ³)	47	43	44	43	45	46	46	43	46	44	43	49	47	50	45	2,277
CHGM(g/dL)	34,3	34,3	34,9	34,8	34,3	34,8	35,1	33,8	34,8	33,6	33,8	34,2	34,2	34,3	34,4	0,455
RDW (%)	16,0	16,0	16,7	17,0	16,4	15,8	15,7	15,9	16,0	16,2	15,8	16,5	15,5	15,1	16,0	0,493
Proteína Total (g/dL)	6,2	6,2	7,0	6,8	6,2	6,2	6,1	5,8	6,0	5,8	6,2	6,2	6,0	6,6	6,2	0,346
Plaqueta (10 ³ /mm ³)	147	165	134	92	139	148	129	136	89	80	119	83	146	70	119,8	30,788

Tabela 14A e 14B: Valores da leucometria dos equinos, obtidos durante a avaliação de hígidez.

14A: Valores relativos

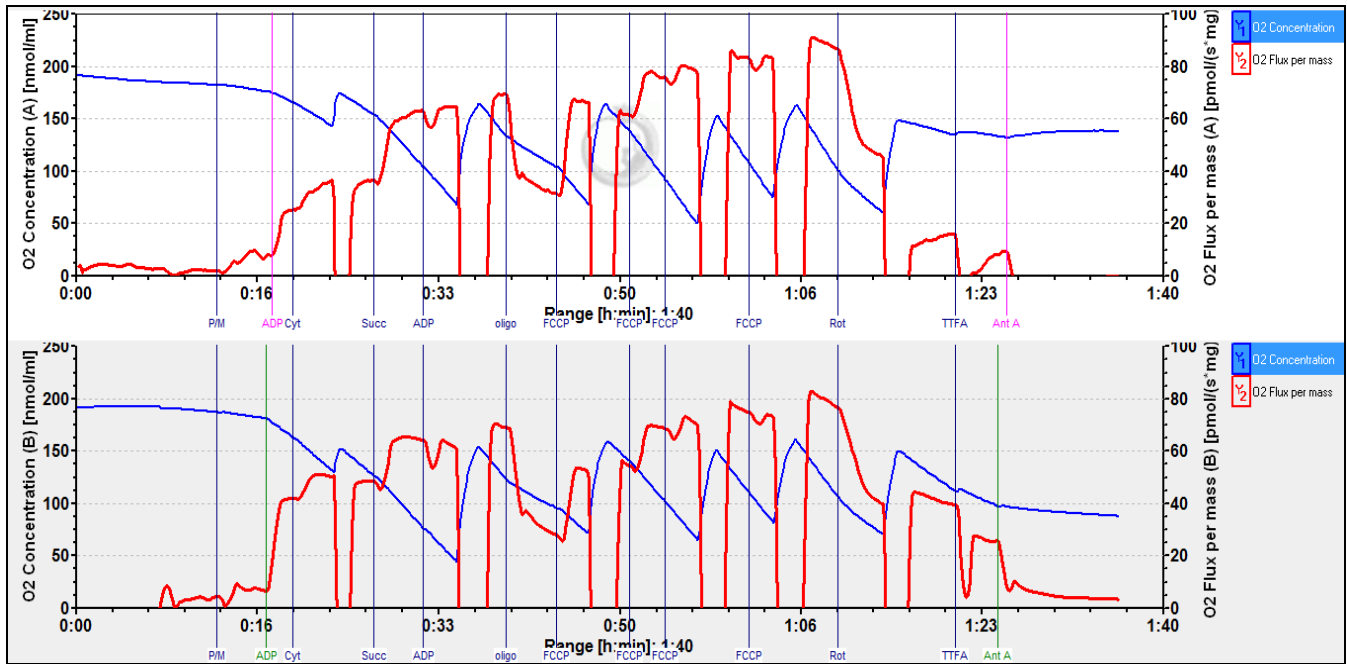
	Animais														Média	D.P.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Bastonetes (cels/ μ L)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	86	0	174	83	25	50,820
Segmentados (cels/ μ L)	5.561	4.745	5.307	5.330	3.894	4.980	4.674	3.362	4.134	5.518	4.300	4.485	5.394	4.897	4756	638,090
Linfócitos (cels/ μ L)	2.241	1.533	2.436	2.132	2.376	2.573	2.788	4.510	3.276	3.382	3.526	2.070	2.697	2.739	2734	718,682
Monócitos (cels/ μ L)	332	730	696	492	792	498	492	82	312	0	258	207	261	166	380	235,435
Eosinófilos(cels/ μ L)	166	292	246	246	66	166	246	246	78	0	430	69	174	415	203	122,161
Basófilos (cels/ μ L)	0	0	0	0	132	83	0	0	0	0	0	69	0	0	20	40,807

14B: Valores absolutos

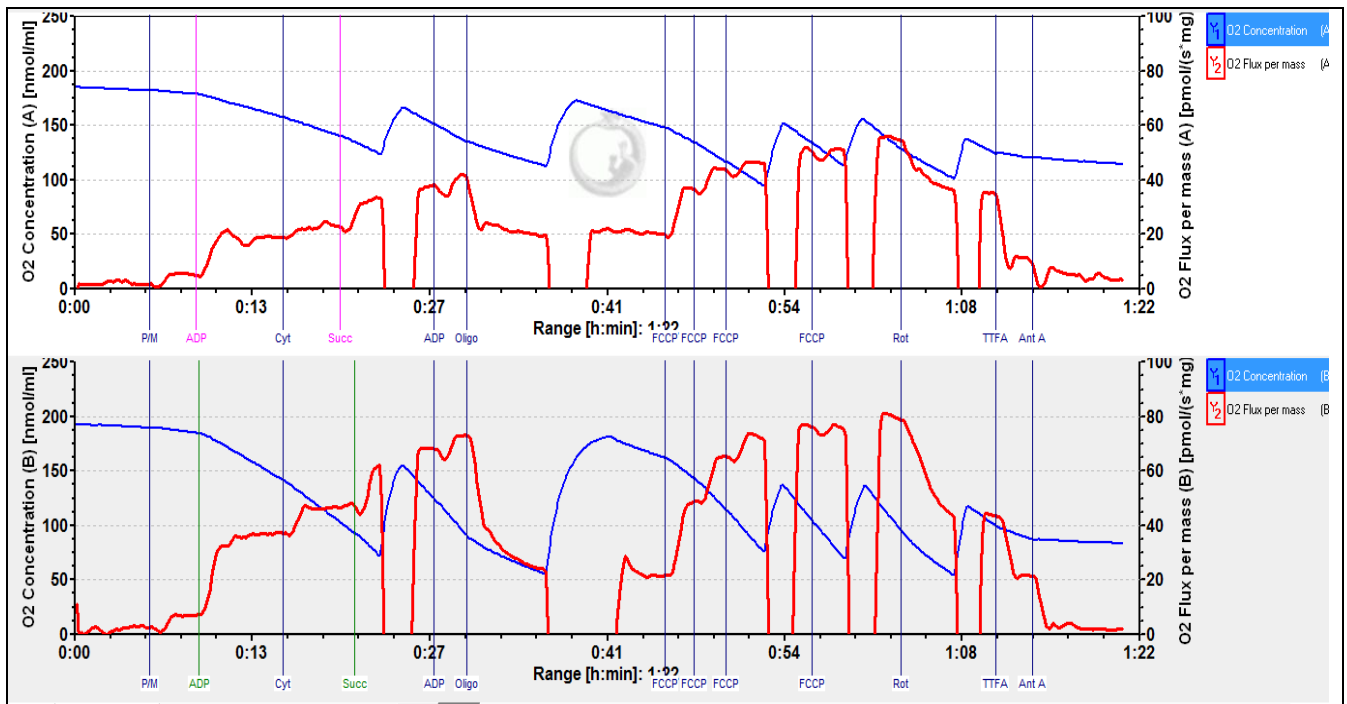
	Animais														Média	D.P.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Bastonetes (cels/ μ L)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	0,589
Segmentados (cels/ μ L)	67	65	61	65	59	60	57	41	53	62	50	65	62	56	59	6,805
Linfócitos (cels/ μ L)	27	21	28	26	36	31	34	55	42	38	41	30	31	33	34	8,134
Monócitos (cels/ μ L)	4	10	8	6	12	6	6	1	4	0	3	3	3	2	5	3,270
Eosinófilos(cels/ μ L)	2	4	3	3	1	2	3	3	1	0	5	1	2	5	3	1,452
Basófilos (cels/ μ L)	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0,589

Tabela 15: Respirometria mitocondrial dos equinos antes e após exercício.
(Programa DatLab)

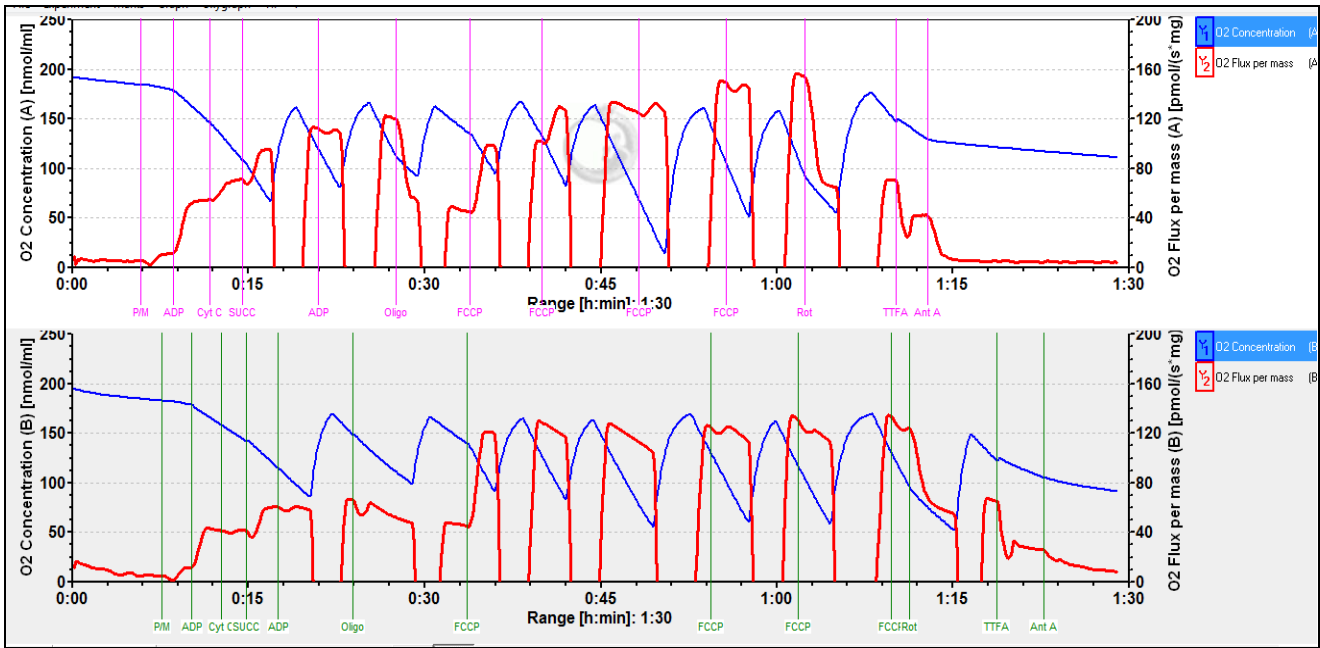
Animal 1



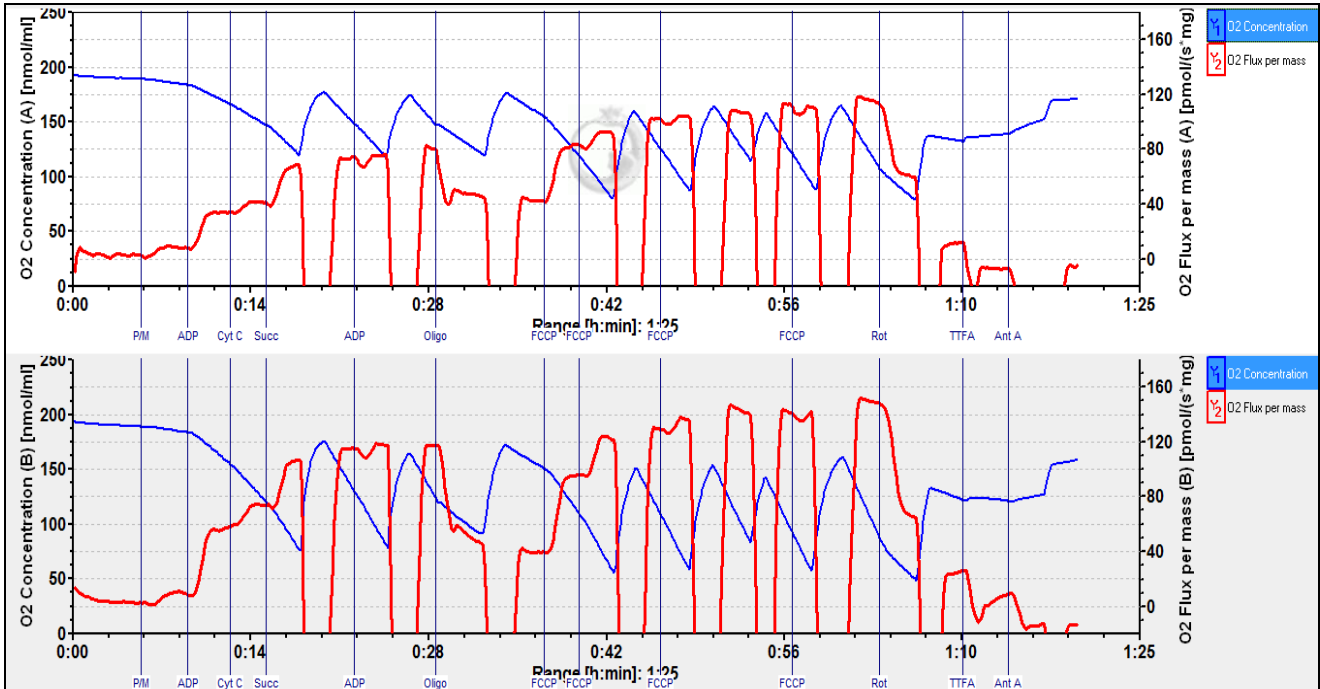
Animal 2



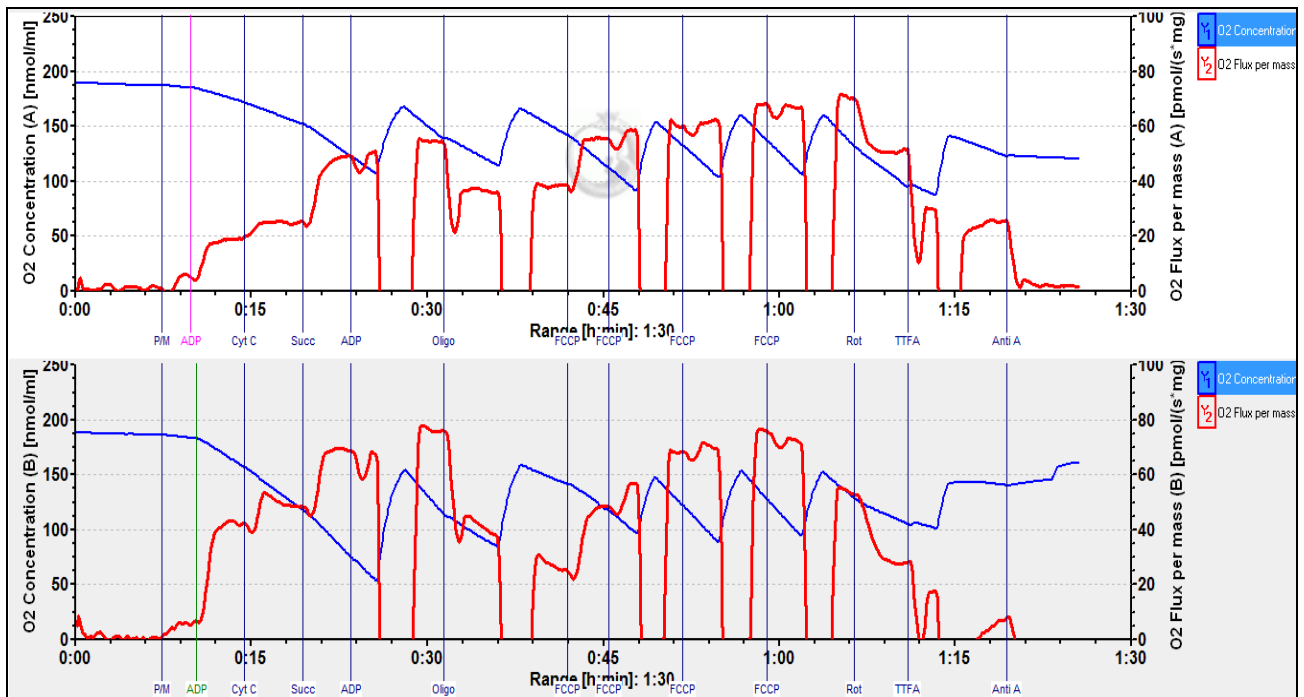
Animal 4



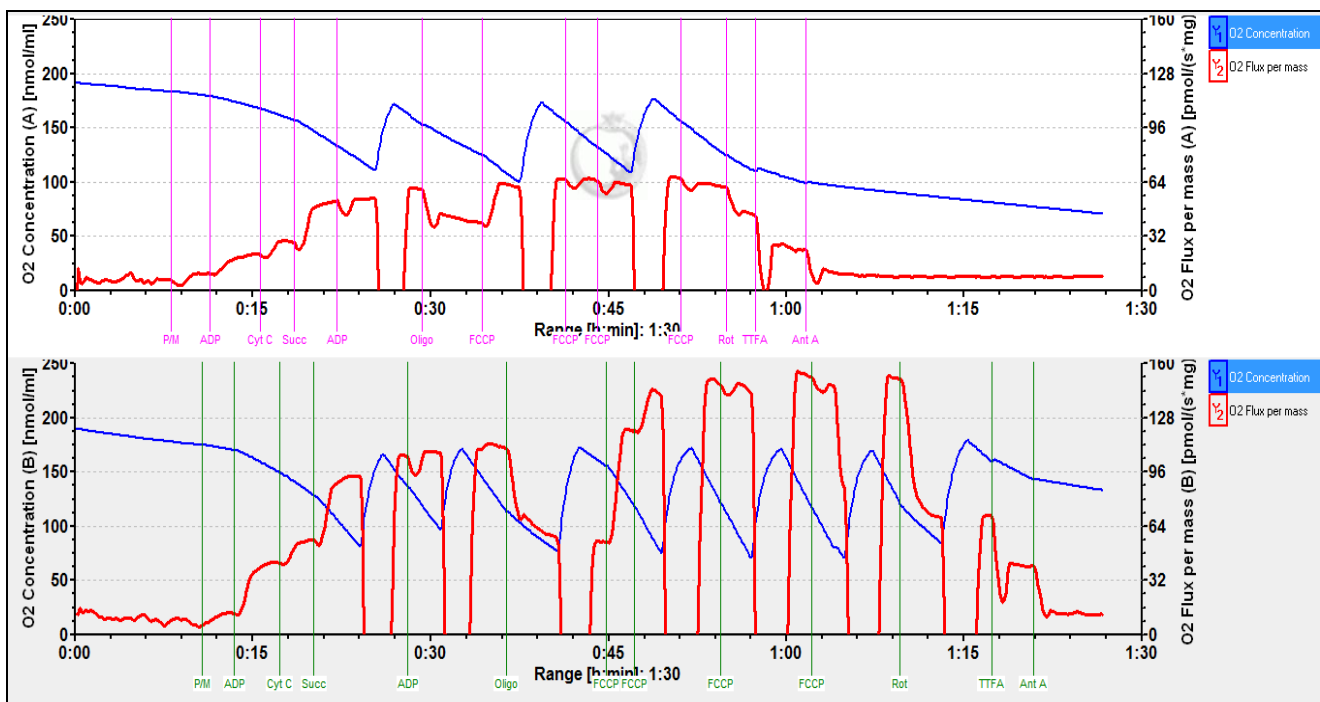
Animal 5



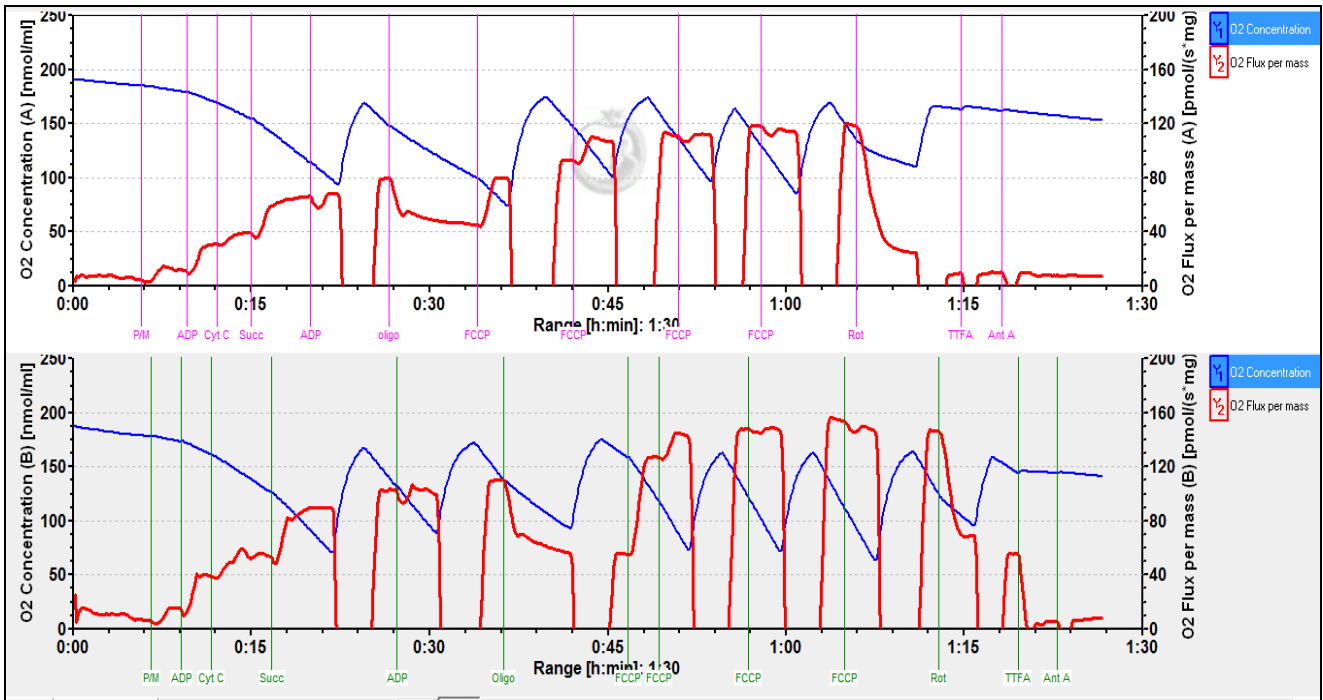
Animal 6



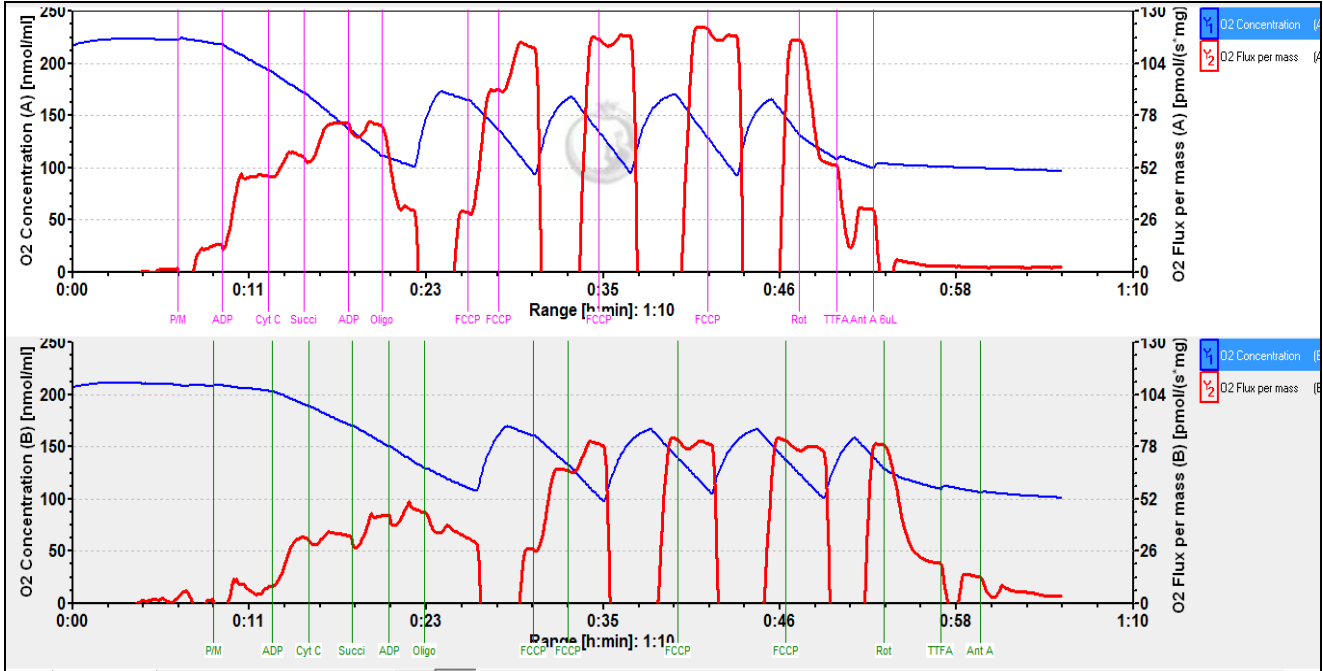
Animal 7



Animal 8



Animal 13



Animal 14

