

## UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

### TITO ALVES SANTIAGO

METABOLISMO ENERGÉTICO EM CAVALOS DURANTE SIMULAÇÃO DE PROVA DE VAQUEJADA



## UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

### TITO ALVES SANTIAGO

# METABOLISMO ENERGÉTICO EM CAVALOS DURANTE SIMULAÇÃO DE PROVA DE VAQUEJADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do Grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador: Professor Doutor Hélio Cordeiro Manso Filho. Co-Orientadora: Professora Doutora Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso.

#### Ficha catalográfica

### S235m Santiago, Tito Alves

Metabolismo energético em cavalos durante simulação de prova de vaquejada / Tito Alves Santiago. -- 2010. 65 f. : il.

Orientador: Hélio Cordeiro Manso Filho. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) — Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, 2010.

#### Referências.

- 1. Equino 2. Bioquímica 3. Exercício 4.Lactato
- 5. Glutamina 6. Alanina I. Manso Filho, Hélio Cordeiro, orientador II. Título

CDD 636.10896

#### **AGRADECIMENTOS**

Aos meus Orientadores Prof. Dr. Hélio Cordeiro Manso Filho e Prof<sup>a</sup>. Dra. Helena Emília Manso.

Rui Guerra Barreto

IRCA Nutrição Animal

**BIOPA** 

Clodomir e sua equipe no Hospital Veterinário (UFRPE)

Daniel Santiago

Erika Korinfsky Wanderley

Edna Chérias

Bruno Lima, Aline, Marília e outros amigos que ajudaram a concluir o projeto.

#### **RESUMO**

O presente experimento é resultado de um teste padrão de simulação de vaquejada ou TSV, utilizando-se treze cavalos da raça Quarto de Milha (puros e mestiços), com o objetivo de caracterizar o perfil dos metabólitos sangüíneos associados ao armazenamento e a utilização de energia. Do total dos animais testados, nove eram "de puxar" e quatro "de esteira", idade entre cinco e dez anos, machos e fêmeas, que estavam competindo regularmente. Os eqüinos estavam recebendo concentrados com níveis de garantia máximos de 14% para proteína bruta e 4% para Extrato Etéreo e capim elefante (*Pennisetum purpureum*).

Determinou-se a atividade sérica da Alanina, Glutamina e Glutamato, enzimas (Creatina Quinase e Aspartato aminotransferase), lipídeos, lactato, glicose e uréia, parâmetros clínicos fisiológicos (freqüência cardíaca e respiratória) e variáveis hematológicas, hematócrito e proteína plasmática total. Os valores foram determinados nos momentos pré-teste (jejum), imediatamente após o término da simulação (T0), e com 15 (T +15), 30 (T +30) e 240 (T +240) minutos após a finalização da simulação. Para os eqüinos "de esteira", existem dois tempos pós-exercício – o T0C1 e T0C2 – pois estes cavalos realizaram duas vezes a corrida. Os resultados foram submetidos à análise da variância para medidas repetidas (*one-way* ANOVA), O método de Tukey foi utilizado para a comparação múltipla entre as médias, e ambos com nível de significância estabelecido em (P<0,05).

Nos cavalos "de puxar", houve variação significativa na FC, FR, [PPT], [HT], [GLI], [LAC], [ALA] e [CREAT]. Já no TSV dos cavalos "de esteira", foram registradas variações significativas (P<0,05) na FC, FR, [PPT], [HT], [GLI], [LAC], [COL<sub>T</sub>] e [GLN]. A simulação assemelhou-se a um exercício de alta intensidade e curta duração, do tipo anaeróbico, e comprovou que os dois tipos de cavalos gastam energia de forma diferenciada, exigindo, portanto, treinamentos e dietas específicos.

Palavras chave: equino, exercício anaeróbico, lactato, alanina e glutamina.

#### **ABSTRACT**

The present research is the result of a Vaquejada Simulation Test (VST), developed to evaluate the possible changes ocurring in horses physiological and metabolic adaptations. Were used thirteen horses, however nine were "puxar" horses and three were "esteira" horse. These two groups did different types of exercise. It was evaluated: heart rate, respiratory rate, hematocrit, total plasma protein, glucose, lactate, urea, creatine, triglicerides, total cholesterol and HDL, creatine kinase and aspartate aminotransferase, glutamate, glutamine and alanine. Samples were collected at: pré-test (fastining sample), immediately after VST (T0), and at 15 (T +15), 30 (T +30) and 240 (T +240) minutes after the VST. However "esteira" horses did collection two times after two rounds, T0 C1 and T0 C2. Presented results were submitted to ANOVA (P<0.05) and Tukey Test (P<0.05). "Puxar" horses presented significant differences in FC, FR, [PPT], [HT], [GLI], [LAC], [ALA] and [CR]. "Esteira" horses presented significant changes (P<0.05) in FC, FR, [PPT], [HT], [GLI], [LAC], [COLT] and [GLN] parameters. The VST demonstrated that horses performed anaerobic exercise, but "puxar" and "esteira" horses spent energy differently, when they were compared. This defferenciation between both groups of horses indicate that they need specific nutrition and training in order to develop their fitness for best performance.

Keywords: equine, anaerobic exercise, lactate, alanine e glutamine.

#### LISTA DAS ABREVIATURAS

ADP – Adenosina difosfato

ALA- Alanina

ALT - Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

ATP - Adenosina trifosfato

BIOPA - Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal

CCE - Concurso Completo de Equitação

CK – Creatina quinase

COLHDL – Colesterol alta densidade lipoproteínas (High Density Lipoproteins)

COLT – Colesterol total

CR - Creatinina

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

FC - Freqüência Cardíaca

FR – Freqüência Respiratória

GLN - Glutamina

GLU - Glutamato

GLI - Glicose

HT – Hematócrito

LAC – Lactato

PH - Potencial Hidrogeniônico

PPT – Proteína plasmática total

PSA – Puro Sangue Árabe

PSI – Puro Sangue Inglês

QM – Quarto de Milha

RNA - Ácido Ribonucleico

TRG - Triglicerídeos

TSV – Teste Padrão de Simulação de Vaquejada

UFRPE – Universidade Federal Rural de Pernambuco

UR – Uréia

Vo2max - Volume máximo de oxigênio

## **SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 O local da experimentação e os animais	18
3.2 Colheitas de sangue	18
3.3 Teste padrão de simulação de vaquejada (TSV)	19
3.4 Processamento das amostras	19
3.5 Análise estatística	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Resultados nos cavalos "de puxar"	21
4.1.1 Freqüência cardíaca e respiratória após o TSV	21
4.1.2 Concentração de lactato e glicose no plasma após o TSV	22
4.1.3 Percentagem do hematócrito e concentração das proteínas	
plasmáticas totais no sangue dos animais após o TSV	23
4.1.4 Concentração do colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeos	
no sangue dos animais após o TSV	24
4.1.5 Concentração de uréia e creatinina no sangue dos animais após o	
TSV	24
4.1.6 Concentração de glutamina, glutamato e alanina no sangue dos	
animais após o TSV	25
4.1.7 Concentração de creatina quinase e aspartato aminotransferase no	
sangue dos animais após o TSV	25
4.2 Resultados nos cavalos "de puxar"	26
4.2.1 Frequência cardíaca e respiratória após o TSV	26
4.2.2 Concentração de lactato e glicose no plasma após o TSV	27
4.2.3 Percentagem do hematócrito e concentração das proteínas	
plasmáticas totais no sangue dos animais após o TSV	28
4.2.4 Concentração do colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeos	
no sangue dos animais após o TSV	29
4.2.5 Concentração de uréia e creatinina no sangue dos animais após o	
TSV	29

4.2.6 Concentração de glutamina, glutamato e alanina no sangue dos	
animais após o TSV	29
4.2.7 Concentração de creatina quinase e aspartato aminotransferase no	
sangue dos animais após o TSV	30
5 CONCLUSÕES	31
6 ANEXOS	32
6.1 Figuras	32
6.2 Tabelas	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

## 1 INTRODUÇÃO

A "pega de gado" ou "pega de boi na caatinga" é uma tradição que existe desde os tempos do Brasil Colônia, quando os vaqueiros, montados em seus cavalos e vestidos com gibões de couro, embrenhavam-se nas matas cerradas em busca dos bois para trazê-los aos senhores de engenho. Com o avanço das fazendas e suas cercas, a atividade começou a desaparecer. Porém, os vaqueiros mantiveram o costume local e, de uma simples prática de trabalho, a vaquejada – como é conhecida hoje - evoluiu para um evento sócio-cultural e tornou-se, em seguida, um grande evento esportivo, tipicamente nordestino. O Rio Grande do Norte é apontado como o Estado que deu o primeiro passo para essa prática competitiva. Atualmente, porém, podem-se encontrar vaquejadas do Estado do Pará ao Rio de Janeiro, movimentando a economia e gerando um grande número de empregos na Equideocultura.

A prova de vaquejada ocorre numa pista de areia, medindo 150m x 40m (tamanho oficial), na qual dois vaqueiros a cavalo têm que perseguir um boi até emparelhá-lo entre os cavalos e conduzi-lo ao objetivo (duas últimas faixas de cal do parque de vaquejada), onde o animal deve ser derrubado. Cada um dos cavalos tem uma função diferenciada durante a prova, sendo um denominado "de esteira", que apenas acompanha o boi durante os 100 primeiros metros da pista, e um denominado "de puxar", que tem a função de levar o vaqueiro que vai derrubar o boi na faixa.

Durante a corrida, o cavalo de "puxar" realiza um galope, entre seis e oito metros por segundo (em torno de 40-60% Vo<sub>2 max</sub>, por corrida), que é finalizado com uma curta arrancada até derrubar o boi na faixa. Já o cavalo de "esteira" desenvolve apenas o galope a essas velocidades. Porém, esse último cavalo realiza ainda mais corridas, porque, normalmente, cada cavalo de "esteira" ajuda na corrida de outros três ou mais cavalos de "puxar".

Dados científicos sobre os cavalos de vaquejada ainda são poucos, sendo necessário um estudo mais aprofundado das práticas de manejo que são aplicadas a esse importante grupo de animais, considerando a dimensão que a atividade tomou no país e a necessidade de se desenvolver procedimentos adequados para esse tipo de esporte. Sabe-se que os animais da raça Quarto de Milha são os mais utilizados nas vaquejadas. No entanto, eles podem ser portadores de sérias enfermidades genéticas, que estão associadas a problemas no sistema músculo-esquelético. Dentre essas enfermidades, a miopatia por excesso de armazenamento de polissacarídeos (PSSM) é a mais séria por reduzir a performance, podendo levar a morte dos animais nos casos mais graves.

Apesar dos avanços na determinação da performance de cavalos de vaquejada, com o uso da patologia clínica, ainda são escassas as informações fisiológicas e patológicas na literatura científica para melhorar o treinamento dos cavalos atletas, em pleno século XXI. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o metabolismo energético desses animais, por meio da simulação de uma prova de vaquejada, caracterizando o perfil dos metabólitos sangüíneos associados ao armazenamento e utilização de energia.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A boa performance atlética dos cavalos de vaquejada depende de uma série de fatores, como nutrição e condicionamento físico, que estão intrinsecamente ligados ao nível de execução dos exercícios pelos animais atletas. Nos últimos anos, cientistas e técnicos têm pesquisado mais esses elementos, a exemplo de Votion et al. (2008), que afirmaram: "Treino e estado nutricional também são importantes fatores que interferem no metabolismo energético". McMiken (1983) chama a atenção para a capacidade do animal de converter energia química em energia mecânica, que é função do músculo. "Embora diferentes atributos fisiológicos e comportamentais sejam demonstrados pelos vários tipos de eqüinos de competição, o sucesso da corrida depende da habilidade metabólica do animal".

O nível de glicogênio, presente nos animais, também é importante para estabelecer a sua condição física, e será determinante para desencadear o tipo de metabolismo durante um exercício. Costa et al. (2001) explicam que existem dois tipos de metabolismo utilizado no trabalho muscular durante treinamentos: o aeróbico e o anaeróbico. "O metabolismo aeróbico envolve a quebra completa do carboidrato e da gordura até a água e dióxido de carbono e, por requerer oxigênio, tem este nome. Já no metabolismo anaeróbico, a glicose e as reservas de glicogênio são convertidas em ácido láctico, produzindo uma pequena quantidade de adenosina trifosfato (ATP). Nesta reação, não há necessidade da presença de oxigênio e só envolve o metabolismo da glicose e do glicogênio. As gorduras não são utilizadas nesse tipo de metabolismo, pelo menos primariamente".

Porém, Votion et al. (2008) explicam que, com o prolongamento da atividade física, os lipídeos passam a ser a principal fonte de energia. As reservas de gordura no corpo do cavalo são o tecido adiposo, principalmente os próximos ao coração, aos rins e ao trato intestinal. Na literatura nacional, porém, pouco se relata sobre o assunto. Sabe-se que a gordura estocada em cavalos - cerca de sete e oito por cento do seu corpo – pode ser medida utilizando aparelho de ultrassom. Manso Filho et al. (2009) relatam a utilização dessa medida ultrassônica para estimar mais precisamente a massa gorda e a massa corporal livre de gordura. Neste mesmo trabalho, publicaram que cavalos de vaquejada têm, em média, 10,82% de massa gorda.

Devido a sua lenta mobilização e a presença em grande quantidade no organismo, os lipídeos são fonte de energia para os exercícios de média a longa duração. Para que ocorra uso eficiente desta fonte de energia pelo equino atleta, são necessários de três a quatro meses de

treinamento até que o cavalo possa utilizar eficientemente os lipídeos como fonte energética no seu metabolismo (COSTA et al., 2001).

Quando o exercício é de baixa intensidade (25% VO2max), o caminho principal utilizado para obtenção de energia é a oxidação de ácidos graxos não-esterificados. Já em exercício de moderada intensidade (65% VO2max), a contribuição da oxidação do glicogênio muscular, glicose sanguínea e triglicérides é maior. No exercício de moderada a alta intensidade (85% VO2max), a contribuição do glicogênio muscular aumenta exponencialmente e a relativa contribuição dos demais substratos diminui substancialmente (JOSÉ-CUNILLERAS & HINCHCLIFF, 2003). A incapacidade de realização de glicólise anaeróbica pela depleção dos estoques de glicogênio muscular afeta negativamente o desempenho atlético (LACOMBE et al., 1999).

Num esporte como vaquejada, marcado por modificações explosivas de força e velocidade, o cavalo necessita de uma grande quantidade de glicogênio muscular armazenada, que será utilizada durante a prova. Em eqüinos da raça Puro Sangue Inglês, Spinha de Toledo et al. (2001) observaram elevações nos valores de glicose sanguínea submetidos a exercícios de diferentes intensidades, e concluíram que o aumento da glicemia é proporcional a intensidade do exercício. À medida que a intensidade do exercício anaeróbico aumenta, a glicemia tende a elevar (TRILK et al., 2002). Este aumento é decorrente de uma maior demanda orgânica por glicose plasmática.

A queima do estoque de glicogênio é um importante causador de fadiga muscular e, para evitá-la, é possível aumentar o seu estoque muscular através da melhora do condicionamento físico (FOREMAN et al., 1990). Outro mecanismo que resulta em fadiga é o esgotamento de líquidos e eletrólitos através da sudorese elevada (SCHOTT & HINCHCLIFF, 1993). Há ainda outro fator determinante para a fadiga, que é o acúmulo de lactato no músculo durante o exercício anaeróbico, podendo eventualmente exceder a capacidade celular, resultando em diminuição do pH e afetando o mecanismo de contração (FERRAZ et al., 2008).

Acredita-se que sempre há produção de lactato, independentemente do nível de exercício que o cavalo é submetido. Porém, Costa et al. (2001) explicam que os níveis de lactato no plasma aumentam exponencialmente durante os exercícios submáximos. E Gomide et al. (2006) complementam: "Animais submetidos a um grande esforço físico desenvolveram acidose metabólica". A mensuração da concentração de lactato no sangue pós-exercício em cavalos de esporte revela sua condição atlética, por isso é tão importante dosá-lo durante as provas de vaquejada. Quando a concentração da lactose está baixa indica que o animal tem

potencial para a prática do esporte. McGowan (2008) concluiu, a partir dessas mensurações, que equídeos atletas possuem maior habilidade muscular em oxidar o lactato.

Para Couroucé (1998) e Kobayashi (2007), sua concentração sanguínea é uma variável de fácil aferição, mesmo em condições de campo com aparelhos portáteis, servindo como indicador do grau de condicionamento físico de cavalos. O lactato pode proporcionar uma fonte valiosa de energia química que se acumula como resultado do exercício intenso, desde que seja aproveitado, como no Ciclo de Cori (figura 1), que consiste na conversão do lactato em piruvato, produzido em tecidos musculares durante um período de privação de oxigênio, e posteriormente em glicose. Este processo no figado é desencadeado pela alanina, que é importante precursora da neoglicogênese hepática (ALAN et al., 1976).

Nos equinos, esses processos ocorrem largamente no fígado e, em menor proporção, no córtex renal. A proteína, por sua vez, não é um combustível normalmente importante para funcionamento do músculo. Apesar disto, há um aumento significativo na taxa de catabolismo de aminoácidos durante o exercício. Isto é secundário ao aumento exercício-induzido em diversos processos metabólicos, tais como a neoglicogênese hepática e o Ciclo do Ácido Cítrico (figura 2). Há alguma evidência de que as concentrações básicas do aminoácido no plasma e no músculo podem ser mais elevadas no animal treinado do que nos não treinados.

Com exercício de curta duração e alta intensidade, a transaminação do glutamato pela enzima alanina aminotransferase conduz aos níveis aumentados de alanina no plasma, que será convertida diretamente à piruvato. Segundo Babij et al. (2004), dos aminoácidos secretados pelo músculo esquelético durante um exercício, aproximadamente 42% é alanina. Ao mesmo tempo, as concentrações do glutamato do plasma são significativamente diminuídas. Assim, à exceção da alanina, os níveis de aminoácidos livres do músculo ficam mantidos estáveis ao longo de um período do exercício.

Wagenmakers et al. (1998), afirmam que a glutamina é mais importante do que a alanina nos humanos, como precursora da neoglicogênese. Ela estimula a produção de glicose no Ciclo do Ácido Cítrico, importante para reabastecer o músculo durante exercícios anaeróbicos, além de atuar como regulador da síntese do DNA e RNA nas células do sistema imunológico e sistemas do metabolismo energético nos mamíferos. Wagenmakers et al. (2000) explicam que a glutamina funciona como veículo transportador de cadeias carbônicas e nitrogênio dos músculos para os lugares onde estão ocorrendo neoglicogênese. Ela pode ser sintetizada pela maioria dos tecidos musculares dos eqüídeos, a partir do glutamato e da amônia, por meio da enzima glutamina sintetase.

Graham et al. (2000) estudaram a suplementação da glutamina em humanos para avaliar seu efeito anaplerótico no músculo esquelético. Seus dados mostraram que a ingestão da glutamina aumentou o *pool* de intermediários do Ciclo de Krebs (figura 3) depois de dez minutos de exercício a 70% do VO²max. O fornecimento de glutamina uma vez ao dia na dieta de atletas humanos causou uma diminuição na quantidade de amônia produzida e excretada no sangue após exercícios de 80% de freqüência cardíaca máxima de intensidade (BASSINI-CAMERON et al., 2008).

Para Newsholme (2001), a glutamina é considerada um aminoácido condicionalmente essencial em algumas espécies, quando há condições inflamatórias, como infecção ou ferimento. É o aminoácido livre mais abundante na circulação do espaço intracelular, além de ser precursor da síntese de aminoácidos, nucleotídeos, ácidos nucléicos, açúcares aminados, proteínas e muitas outras moléculas biologicamente importantes (SMITH, 1990). Segundo Watford (2000), a glutamina é também o mais importante transportador de nitrogênio entre os tecidos.

Cynober (1999) explica que a glutamina é o principal substrato energético de células de proliferação rápida, como enterócitos intestinais e linfócitos ativados porque "aumenta a resposta linfocítica à estimulação de mitógenos" (TAUDOU et al., 1983) e "alivia a bacteremia e a endotoxemia (O'DWYER et al., 1987). Segundo Lobley et al. (2001), as células da mucosa do trato digestivo, assim como outras células de proliferação rápida, têm uma exigência obrigatória de glutamina, que pode envolver o seu papel como fornecedora de metade da exigência de N para a síntese de purina e pirimidina via ação da carbamoilfosfato sintetase II do citosol.

Haussinger et al (1994) e Smith (1990) também acreditam que a glutamina pode atuar como sinal ou regulador de demandas metabólicas, aumentando a síntese de proteína e diminuindo a degradação de proteína no músculo esquelético e estimulando a síntese de glicogênio no fígado. Aliado ao fato de que o metabolismo do glutamato no lúmen intestinal é maior que o da glutamina no sangue arterial e que a presença de altas concentrações de glutamato no lúmen têm efeito de apenas 25% sobre a utilização intestinal de glutamina, Reeds et al. (2000) concluíram que o glutamato dietético tem papéis funcionais importantes no intestino que, aparentemente, são diferentes daqueles da glutamina arterial.

Em situações de estresse ou durante ferimentos, a glutamina pode ser componente dietético essencial para a manutenção do metabolismo, da estrutura e da função intestinal (FOX et al., 1988). Lobley et al. (2001) afirmaram que, sob condições de elevada degradação de proteína, como infecção, inflamação, início da lactação ou subnutrição, a glutamina pode

atuar como um regulador metabólico para aumentar a síntese de proteína e reduzir o catabolismo protéico. Assim, a glutamina é considerada um aminoácido condicionalmente essencial sob certas condições clínicas como traumas, estresse, septicemia, câncer e esforço físico intenso. É um importante substrato celular não só por ser um aminoácido, mas por também ser fonte de energia, de nitrogênio e de carbono, para a síntese de outras moléculas.

Em repouso, os diferentes tipos de fibras musculares apresentam diferentes concentrações de glutamina, dependendo do estado nutricional e do grau de condicionamento físico. Os músculos que apresentam quantidades mais elevadas desse aminoácido são os de composição mista de fibras como o vasto lateral (40-50% de fibras tipo 1 e 50-60% do tipo 2) e o predominantemente oxidativo fibras tipo 1. A atividade mais elevada de glutamina sintetase (GS) e a maior disponibilidade de ATP para síntese de glutamina nessas fibras talvez expliquem a maior concentração desse aminoácido nas fibras oxidativas (CEDDIA, 2000).

O processo da neoglicogênese acontece com mais freqüência nas fibras do tipo 2A e B, presentes em 90% dos músculos glúteos dos animais Quarto de Milha. Por isso, é importante conhecer o tipo de fibra predominante em cada raça para, aí então, determinar o tipo de exercício mais adequado. De acordo com Ribeiro (2006), as fibras são classificadas de acordo com suas propriedades contráteis e oxidativas: tipo 1, que é lenta oxidativa; tipo 2A, que é rápida oxidativa; e tipo 2B, que é rápida glicolítica. Jose-Cunilleras e Hinchcliff (2003) explicam que a quantidade de glicogênio muscular varia de acordo com o tipo de fibra, sendo que as de contração rápida tipo 2 A e B têm maior conteúdo de glicogênio que a fibra de contração lenta tipo 1.

O músculo esquelético é o principal sítio de produção e é o maior responsável pela manutenção dos níveis plasmáticos de glutamina. A concentração plasmática de Gln diminuída tem sido relacionada à imunossupressão, septicemia, traumas intensos, cirurgias, grandes queimaduras e exercício intenso. Nesses casos, a glutamina passa a ser empregada para neoglicogênese, formação de uréia no fígado e manutenção do equilíbrio ácido-básico devido à ação renal, afetando a função de células como macrófagos e linfócitos, que utilizam glutamina como fonte de energia (CASTELL, 1997). A queda na concentração de glutamina após atividade física é dependente da duração, tipo e intensidade do exercício. Observa-se um decréscimo transitório após exercícios intensos e depois de treinamento exaustivo variando entre 15.7% a 55%.

O desenvolvimento dos músculos é altamente associado ao tipo de exercício que o animal realiza. "Quando um animal desloca-se ao passo, apenas uma pequena percentagem de fibras musculares do tipo oxidativas é recrutada. Quando a velocidade de deslocamento

aumenta, como no cânter ou galope, aumenta progressivamente o número de fibras recrutáveis" (COSTA et al., 2001). "Desta forma, quanto mais rápido se contrai a fibra muscular, maior será o requerimento das vias anaeróbicas de produção de energia" (Ribeiro, 2006).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 O local da experimentação e os animais

Foram utilizados 13 cavalos de vaquejada, sendo nove animais de "puxar" e quatro de "esteira", da raça Quarto de Milha (puros e mestiços), todos adultos, de ambos os sexos, incluindo machos castrados, com peso variando entre 450 a 550 kg, e idade entre cinco e dez anos, que estavam competindo regularmente. Todos os animais estavam clinicamente saudáveis e eram mantidos estabulados em boxes individuais, com livre acesso a água e sal mineralizado, arraçoados com capim Elefante (*Penisetum purpureum*; ~10Kg/animal/dia) e concentrado comercial (5,0Kg/animal/dia; níveis de garantia do concentrado: proteína bruta 14%, extrato etéreo 4%, fibra bruta 12,0%). O manejo sanitário foi o adotado no haras, todavia, os animais tiveram os resultados dos exames de diagnóstico do mormo e da anemia infecciosa eqüina negativos.

Os animais de "puxar" e os de "esteira" foram avaliados separadamente, pois desenvolvem diferentes tipos de exercício, com relação à duração e à intensidade. Os animais estavam alocados no parque de vaquejada Rui Guerra, na cidade de Limoeiro (PE), localizado nas seguintes coordenadas geográficas: Oeste 35°27'780", Sul 07°53'666" e altitude de 152 metros acima do mar. Durante o período da simulação da prova, a temperatura ambiente variou entre 28,3°C e 38,5°C e a umidade relativa do ar entre 18 e 51%.

As frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR) dos animais foram aferidas em cada tempo de coleta sanguínea, mediante ausculta, utilizando estetoscópio na região toráxica esquerda, e pela inspeção visual do movimento toráxico, respectivamente, segundo técnica decrita por Speirs (1999).

#### 3.2 Colheitas de sangue

Os trabalhos foram iniciados às cinco horas da manhã, com a coleta de sangue dos animais em jejum (pré-teste). Em seguida, os animais foram alimentados com ração concentrada, divididos em dois grupos e, após três horas, submetidos a uma prova de vaquejada. Cada dupla de eqüinos corria três bois e, ao final do exercício, eram submetidos imediatamente a uma nova coleta chamada T0; depois de 15 minutos, chamada T +15; após 30 minutos, T +30; e após 240 minutos, T +240. Para os eqüinos "de esteira" existiram dois

tempos pós exercício – o T0C1 e T0C2 – pois estes cavalos realizaram duas vezes a corrida (correram seis bois, cada cavalo). As amostras foram coletadas por meio de venopunção da jugular, com Agulhas BD Vacutainer <sup>®</sup>, medindo 40 x 9 mm.

Para cada tempo de coleta foram utilizados quatro tubos tipo "Vacutainer<sup>®</sup>", sendo um com tampa vermelha (*z serum clot activator*) para obtenção de soro para as enzimas séricas; um com tampa verde (heparina de lítio), a fim de aferir hematócrito; um com tampa roxa (k3 EDTA) para triglicerídeos, colesterol, ureia e creatinina; e um com tampa cinza (fluoreto de sódio) para verificação da glicose, lactato e aminoácidos. Nesse caso, os tubos continham fluoreto de sódio, que atuam inibindo o consumo de glicose pelos eritrócitos.

#### 3.3. Teste padrão de simulação de vaquejada (TSV)

Foi realizado um teste padrão de simulação de vaquejada ou TSV, em uma pista típica para o esporte, composta de areia, medindo 90 metros até a faixa de pontuação, mais 10 metros de faixa e 50 metros de área de desaceleração, largura de 15 metros no início e 45 metros no final (figura 4). Os cavalos "de puxar" correram três bois. Já os animais "de esteira" foram submetidos a uma segunda simulação, e correram seis bois cada, no total. Diferentemente do "de puxar", ao cavalo "de esteira" é permitido participar de várias corridas, já que sua função é conduzir o vaqueiro a pegar o rabo do boi na saída do brete e entregar ao vaqueiro puxador, seguindo sempre ao lado dele, ajustando o boi até a faixa, onde ele deve que ser derrubado.

#### 3.4 Processamento das amostras

As amostras de sangue total foram acondicionadas em caixa isotérmica com gelo até o momento da centrifugação. Os constituintes sanguíneos analisados foram: hematócrito [HT], proteína plasmática total [PPT], glicose [GLI], alanina [ALA], glutamina [GLN], glutamato [GLU], uréia [UR], creatinina [CR], creatina quinase [CK], aspartato aminotransferase [AST], colesterol total [COL<sub>T</sub>], colesterol HDL [COL<sub>HDL</sub>] e triglicérideos [TRG].

Os exames foram divididos em grupos, uma parte sendo realizada na Universidade Federal Rural de Pernanbuco (UFRPE), e outra parte – glicose, proteína plasmática e lactato – aferida no mesmo dia e local, imediatamente após a simulação da prova de vaquejada, utilizando aparelhos portáteis como glicosímetro (Accu Check®), refratômetro manual e dosador de lactato (Accutrend lactate analyzer®) para cada elemento, respectivamente.

A creatinina foi determinada pelo método do picrato alcalino, utilizando kit comercial Human do Brasil®. Para a determinação de uréia e creatina quinase, utilizou-se o método enzimático colorimétrico (reação de Berthelot modificada), do kit comercial Katal®. Aspartato aminotransferase pirúvica foi determinado utilizando-se o método Reitman – Frankel, a partir do kit comercial da marca Human do Brasil®.

O colesterol total foi determinado a partir do soro, utilizando método enzimático colorimétrico com fator clareante de lipídeos, contidos em kit comercial Human do Brasil®. Os níveis de colesterol<sub>HDL</sub> foram avaliados por uso de kit comercial Doles®, contendo sistema para determinação do colesterol sérico. Os triglicerídeos foram determinados por método enzimático a partir do uso de kit comercial Laborlab®. A realização das provas bioquímicas seguiu a orientação de cada fabricante dos kits. A leitura das absorbâncias foram realizadas no aparelho BioSystems BTS – 310.

O método utilizado para análise da glutamina, glutamato e alanina, descrito por Kowalski et al. (1997), no qual as amostras desproteinizadas-neutralizadas, expressas em µmol/ml de sangue, foram descongeladas, colocadas em tubos de *eppendorf* e homogeneizadas. Em seguida, foi feita a leitura no espectrofotômetro em 340nm, por duas vezes consecutivas. Após a leitura, 0,005 ml da enzima desidrogenase glutâmica foi acrescentada a solução e, em seguida, as amostras foram levadas à geladeira por 30 minutos. Ao retirá-las da geladeira, foi feita uma leitura novamente por duas vezes consecutivas. Todo este processo foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal (BIOPA).

#### 3.5 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise da variância para medidas repetidas (*one-way* ANOVA), com nível de significância estabelecido em P<0,05, através do programa SigmaStat® 3.0 para Windows®. O método de Tukey foi utilizado para a comparação múltipla entre as médias, sendo o nível de significância estabelecido em P<0,05.

### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela primeira vez na literatura médica veterinária, um trabalho de pesquisa descreve as modificações metabólicas e fisiológicas ocorridas em um teste padrão de simulação de vaquejada (TSV) em condições controladas. Observou-se que, durante o TSV, os treze eqüinos apresentaram respostas fisiológicas nitidamente semelhantes, justificadas pela alimentação adequada e o bom condicionamento físico. Cada dupla de eqüinos correu três bois a uma velocidade média de 7m/s. Todos os resultados encontrados nos cavalos "de puxar" e "de esteira" estão expressos nas tabelas e gráficos no anexo deste trabalho.

No caso dos cavalos "de puxar", que desenvolveram exercícios de alta intensidade e curta duração, basicamente anaeróbicos, observou-se uma significativa mudança na frequência respiratória e freqüência cardíaca, que tiveram variação estatística de (P<0,05). Essa variação também foi percebida nos níveis de glicose, hematócrito, lactato e alanina, que apresentou a modificação mais significativa entre os aminoácidos.

Nos animais "de esteira", que desenvolveram exercícios de alta intensidade e média duração, também anaeróbicos, ocorreram alterações semelhantes nos níveis de glicose, hematócrito e frequências respiratória e cardíaca (P<0,05). No entanto, neste grupo de cavalos, também foram registradas variações estatísticas significativas nos níveis de glutamina, lactato e proteínas plasmáticas totais (P<0,05).

No início da simulação da prova de vaquejada, ocorre diminuição na relação ATP/ADP em cada animal testado, estimulando a glicose anaeróbica e aumentando em até cem vezes a produção de moléculas de piruvato, a partir da alanina e glutamina. Em exercícios de intensidade baixa ou moderada, a grande maioria do piruvato produzido penetra na mitocôndria para participar do Ciclo de Krebs. Nos exercícios de moderada ou alta intensidade e curta duração, como a vaquejada, o piruvato permanece no citosol e será transformado em glicose, em menores proporções e com maior gasto de ATP.

#### 4.1 Resultados nos cavalos "de puxar"

#### 4.1.1. Frequência cardíaca e respiratória após o TSV

A frequência cardíaca (FC) no T0 foi de 84,0 bpm, mais que o dobro do que foi registrado durante o repouso (36,0 bpm). No T +30, ou seja, 30 minutos após o término do

exercício, a FC é praticamente igual ao pré-teste, sendo indicativo de boa forma física dos animais testados (figura 5). A média de batimentos cardíacos por minuto ao fim do percurso (T0) nesse grupamento de cavalos foi de 84,0 bpm. Utilizando-se a fórmula citada no NRC (2007) – (0,833 x bpm)–(54,7) - para evidenciar o consumo de oxigênio durante exercício, estimou-se que os animais desafiados consumiram cerca de 16,1 ml O²/kg BW/min e utilizaram aproximadamente 35,0 kcal/min de energia, em média.

A média da frequência respiratória (FR) no pré-teste era de 18,6 movimentos/minuto, chegando ao pico de 48,8 m/m no T +15, indicando esforço físico acentuado (figura 6). Bacila (2003) explica que um dos fenômenos mais característicos do esforço é a aceleração da atividade respiratória do animal, que tem como consequência o aumento da ventilação pulmonar e da oferta de oxigênio ao organismo.

### 4.1.2. Concentração de lactato e glicose no plasma após o TSV

A concentração de lactato [LAC] no T0, imediatamente após o término do exercício, era de 14,2 mmol/L. Souza et al. (2008) observaram que o pico da [LAC] sérico dos animais que treinam curtas distâncias ocorreu logo após o exercício, exatamente o que ocorreu no presente experimento. No T +15, 15 minutos após o término do exercício, a [LAC] caiu pela metade (8,7 mmol/L) e, no T +30, era de apenas 3,0 mmol/L. A rápida metabolização do [LAC] pós-exercício indica que os animais dispunham de um bom condicionamento físico e não tiveram lesão muscular durante a simulação da prova de vaquejada.

Os dados corroboram com Thomassian (2007), que obteve resultados semelhantes em eqüinos da raça árabe em teste progressivo de esteira, quando a concentração de [LAC], 30 minutos após o término do exercício, era semelhante ao do repouso. A [LAC] aumenta no plasma devido à difusão e/ou transporte ativo do músculo esquelético em atividade (HODGSON & ROSE, 1994). O ponto de mudança de aerobiose para anaerobiose é por volta de 4,0 mmol/L de lactato (CASSOU et al., 2008).

Medindo [LAC] em cavalos que competiam em concurso completo de equitação (CCE), Gomide et al. (2006) obtiveram o valor de 11,5 mmol/L, após a fase do *cross country*. Este resultado está abaixo do obtido nesta simulação, indicando um esforço maior para a realização de provas de vaquejada em detrimento de CCE.

A concentração de glicose [GLI] manteve-se relativamente estável durante todo o tempo, com uma média de 5,0 mmol/L, porém, a [GLI] aumentou ao fim da atividade física (6,0 mmol/L no T0), corroborando com o trabalho de Balarin et al. (2005), que observaram

uma elevação de glicose plasmática para os exercícios de trote e galope, relacionando esse aumento a uma maior requisição pelos tecidos (figura 7). Spinha de Toledo et al. (2001) também observaram elevação dos valores de glicose em eqüinos Puro Sangue Inglês (PSI), submetidos a exercícios de diferentes intensidades, e puderam concluir que o aumento de glicose é proporcional à intensidade do exercício. Segundo Hodgson & Rose (1994), a mobilização de glicose é devida ao aumento da atividade simpática, relacionada à intensidade do exercício e aumento do glucagon plasmático.

# 4.1.3. Percentagem do hematócrito e concentração das proteínas plasmáticas totais no sangue dos animais após o TSV

O hematócrito [HT] passou de 31,2% a 44,0% entre a fase pré-teste e o T0, provavelmente por conta de uma hemoconcentração, baixando em seguida para 37,0% e 32,0% (T +15 e T +30, respectivamente). O percentual médio de [HT] encontrado foi idêntico ao encontrado por Teixeira Neto et al. (2004) nos eqüinos da raça Puro Sangue Árabe (PSA) treinados para enduro. Naylor et al. (1993) e Lacerda Neto et al. (1999) explicam que, na fase inicial do exercício, ocorre expansão do volume plasmático, em função do desvio de líquidos e proteínas, originários do sistema linfático e interstício para o espaço intravascular.

No T +30, ou seja, 30 minutos após o exercício, observa-se que o [HT] é igual ao da fase pré-teste, sendo indicativo de uma leve desidratação dos animais testados, mesmo tendo acesso a água antes e após a simulação (figura 8). Mckeever (1993) descreveu o aumento de hematócrito em cavalos submetidos a diversas intensidades de exercícios. O hematócrito apresentou rápida elevação durante a primeira fase do teste, realizado em esteira de exercício a 4 m/s. Na segunda fase do teste, com velocidades de 5, 6 e 7 m/s, o aumento também ocorreu, mas lentamente, em conseqüência da redução do volume plasmático.

O aumento na concentração das proteínas plasmáticas totais [PPT] – de 6,5 a 7,2 g/dL entre a fase pré-teste e o T0 - é justificado pela perda de fluidos do compartimento vascular. O grau de variação depende da intensidade do exercício. Neste caso específico, não houve variações significativas, por tratar-se de um exercício de curta duração (figura 9). No T +15 e T +30, os níveis mantiveram-se estáveis em 6,4 e 6,5 g/dL, respectivamente. Porém, os resultados demonstraram que esse grupo de animais pode necessitar de suporte extra de fluidos e eletrólitos mesmo tendo livre acesso a água, evitando assim a instalação de síndrome de exaustão, principalmente em dias quentes e de competição (TAYLOR, 1996). Elevados

valores da [PPT] poderiam refletir alto grau de desidratação, segundo Martins et. al. (2005) e Santos (2006).

# 4.1.4. Concentração do colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeos no sangue dos animais após o TSV

Com relação aos lipídeos, a concentração de triglicerídeos [TRIG] apresentou maior variação, que passou de 25,8 mmol/L na fase pré-teste para 42,1 mmol/L no T +15, mas não foram variações estatísticas significativas como nos níveis de Colesterol Total [COLT] – média de 71,0 mmol/L – e Colesterol HDL [COLHDL] – média de 34,0 mmol/L. A média dos resultados não difere pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Essa ausência na variação das concentrações de [COLT], [COLHDL] e [TRIG] era esperada, pois esses animais realizaram exercícios de alta intensidade e curta duração, tipicamente anaeróbicos, que pouco utilizam essas fontes de energia durante o exercício (figura13). Em recente publicação, Manso Filho et al. (2009) observaram que os cavalos de vaquejada acumulam pouca gordura corporal, indicando claramente o tipo de atividade física desses animais.

#### 4.1.5. Concentração de uréia e creatinina no sangue dos animais após o TSV

Foi observada variação estatística significativa nos níveis de creatinina [CR] durante a simulação, que manteve uma média de 2,4 µmol/L (figura 11). A excreção de [CR] é realizada exclusivamente pela via renal, de forma que níveis altos indicariam uma deficiência na função renal ou ainda dano muscular e exercício intenso (CARDOSO, 2008). Todavia, durante os exercícios intensos, a elevação da creatinina pode estar associada à utilização de compostos protéicos como fonte de energia para o trabalho muscular, o que poderia ser esperado, pois os cavalos "de puxar" realizaram intenso trabalho muscular durante o TSV.

Com relação à uréia [UR], também não foi observada variação significativa durante os testes, indicando o bom funcionamento do sistema renal dos cavalos atletas (figura 12). Neste experimento, a [UR] manteve uma média de 28,0 mmol/L, o que sugere uma boa função glomerular durante o experimento (KERR, 2003). Kerr & Snow (1983) afirmaram que os níveis séricos de uréia não se alteram em animais desidratados (hemoconcentração).

# 4.1.6. Concentração de glutamina, glutamato e alanina no sangue dos animais após o TSV

Durante a simulação da prova de vaquejada, ocorreram mudanças substanciais na concentração de um aminoácido: a alanina [ALA], que teve uma elevação significativa – passando de 289,0 µmol/L no pré-teste para 358,0 µmol/L no T0, chegando a 408,3 µmol/L no T +15. Esse resultado corrobora com o de Wagenmakers et al. (2000) que, avaliando humanos, registraram que, nos primeiros dez minutos de exercício, a alanina aumenta de 50 a 60% no organismo, enquanto a glutamina decresce de 50 a 70%. Essa disponibilidade de [ALA] é importante, pois esse aminoácido é largamente utilizado na neoglicogênese, podendo contribuir para elevação da [GLI] no sangue.

Apesar de não ter sido registrada variação significativa nos níveis de glutamina [GLN] - média de 254,0 μmol/L - e glutamato [GLU] – média de 91,0 μmol/L, pode-se dizer que todos os aminoácidos podem ser utilizados na neoglicogênese, o que significa que os animais precisaram de mais glicose do que dispunham no organismo para executar as atividades (figura 14).

# 4.1.7. Concentração de creatina quinase e aspartato aminotransferase no sangue dos animais após o TSV

Após a fase pré-teste, a creatina quinase [CK] teve uma elevação não significativa (P>0,05), passando de 0,9 para 1,1 uKat/L entre o pré-teste e o T0. Esse resultado é condizente com o trabalho de Santos (2006), que não observou variação significativa na enzima [CK] em 17 cavalos da raça Brasileiro de Hipismo, e diferente da avaliação de Perez et al. (1997), quando foram registradas variações significativas em cavalos, durante rodeio. Em T +15, os valores retornaram aos níveis próximos ao início do exercício para, em seguida, passarem para 0,9 e 1,1 uKat/L no T +30 e T +240, respectivamente.

No caso do aspartato aminotransferase (AST), não foram observadas variações significativas (P>0,05). A [AST], entre T0 e T +15, passou de 0,6 para 0,8 uKat/L, sugerindo que houve esforço muscular durante a prova (figura 10). Porém, pela mensuração da atividade desta enzima, observa-se que o esforço não foi suficiente para quebrar a integridade da fibra muscular dos eqüinos em resposta a esse tipo de prova.

Avaliando cavalos da raça árabe em teste de esteira, Thomassian (2007) obteve elevação sérica nos níveis de [AST] entre o tempo de repouso e o tempo imediatamente após

o término do exercício, diferentemente do que ocorreu neste experimento. Esta elevação foi associada ao processo fisiológico de transferência de fluido do espaço intravascular para o espaço extravascular, observado durante o exercício máximo e, consequentemente, resultando em maior concentração dessa enzima por diminuição do volume plasmático. O comportamento da [CK], no entanto, manteve-se idêntico ao deste experimento comparando pelos gráficos, concordando com Toledo et al. (2001), que observaram elevação significativa da [CK] em exercícios moderados e intensos com cavalos da raça PSI.

McGowan (2008) avaliou cavalos durante exercício em uma esteira com inclinação por sete semanas e não observou elevação da [CK] e [AST], em até 1 hora após o teste, e concluiu que o aumento das enzimas no músculo não é registrado em exercícios submáximos. Interessante, e possivelmente mais importante, em todos estes estudos eram os cavalos individuais identificados com aumentos marcados nos valores das enzimas, associados com possível dano patológico do músculo.

#### 4.2. Resultados nos cavalos "de esteira"

#### 4.2.1. Frequência cardíaca e respiratória após o TSV

As frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR) dos cavalos "de esteira" tiveram resultados semelhantes aos dos cavalos "de puxar", ou seja, significativa elevação no início do teste e retorno aos níveis normais em seguida. Esse comportamento revela uma rápida recuperação dos animais em relação ao tempo de repouso, o que caracteriza que os animais utilizados na simulação estavam bem condicionados para o tipo de exercício que desenvolviam (figuras 15 e 16).

A FR variou de 18,0 movimentos/ minuto na fase pré-teste para 67,0 m/m (T0 C1), 63,0 m/m (T0 C2), 47,0 m/m (T+15), 27,5 m/m (T+30) e 17,5 m/m (T+240). A diferença foi o tempo de permanência dos cavalos "de esteira" com as frequências elevadas, considerando que eles executaram o exercício duas vezes mais que os cavalos "de puxar". Segundo Costa et al. (2001), um coração bem condicionado de um cavalo de corrida, da raça PSI, pode reduzir a freqüência de 240 batimentos por minuto (bpm) para 150 – 180 bpm após um minuto de repouso. No presente experimento, os cavalos "de esteira" reduziram de 95,0 para 47,0 bpm após 15 minutos de repouso. A rápida redução da FC pós-exercício é característica de cavalos atletas.

Considerando que a frequência cardíaca (FC) nos cavalos "de esteira" foi mais elevada do que nos cavalos "de puxar" – média de 95,0 bpm – e considerando a equação citada no NRC (2007), verificou-se que o consumo de oxigênio desses animais também foi mais elevado – cerca de 24,5 ml O²/kg BW/min –, assim como o consumo de energia, em torno de 80 kcal/min de energia. A FR de 100 movimentos por minuto no T0 indica que o exercício é de média intensidade (NRC, 2007), porém, há que se considerar o nível do condicionamento físico dos animais testados como variável importante para determinar a intensidade. No presente estudo, como os animais testados eram atletas que competiam regularmente, a taxa de batimentos cardíacos em torno de 95,0 bpm já é indicativo de alta intensidade.

#### 4.2.2. Concentração de lactato e glicose no plasma após o TSV

A concentração do lactato [LAC] apresentou uma elevação significativa entre o término do primeiro e do segundo exercício, T0 C1 e T0 C2, respectivamente, passando de 8,9 mmol/L para 11,6 mmol/L. Esses valores indicam que os cavalos utilizados nessa simulação desenvolveram exercícios de alta intensidade. A [LAC] aferida no T0 é um pouco inferior a obtida por Mukai et al. (2007) para cavalos PSI, que foi de 22,5 mmol/L. Watanabe et al. (2006), avaliando cavalos da raça árabe em crescentes velocidades, observaram um aumento nos níveis plasmáticos de [LAC] cinco minutos após o fim do exercício, diferentemente do que ocorreu neste experimento. Esses autores relatam que o fato se deve ao marcado fluxo de lactato do músculo para a corrente sanguínea, mesmo após o término da atividade física.

Em contrapartida, no presente experimento, ocorreu a regressão da [LAC] nos períodos T +15 e T +30, indicando que não houve dano muscular. A rápida remoção da circulação do lactato sugere uma adaptação de animais com bom preparo físico (VÄIHKÖNEN & PÖSÖ, 1998), prevenindo a fadiga (JUEL, 1997). A glicose [GLI] manteve-se praticamente sem alterações, com média de 5,6 mmol/L (figura 17). Essa mensuração requer a coleta de amostra em tubos contendo fluoretos (geralmente o oxalato), pois bloqueiam a glicólise nas hemácias, evitando o consumo de glicose da amostra (KERR, 2003). No presente experimento, foi utilizado este tipo de tubo.

A concentração da glicose [GLI] encontrado na fase pré-teste, de 4,5 mmol/L, foi semelhante ao resultado relatado no trabalho de Mohri et al. (2004), que obtiveram o valor de 4,9 mmol/L em cavalos da raça Akhal-Teke. Aferindo a [GLI] ao fim da atividade física, Stefanon et al (1999) encontraram resultados mais altos em cavalos de trote trabalhados em

exercício intenso, quando comparados com animais que realizaram atividade de baixa intensidade. Nesse mesmo trabalho, o pico foi observado 15 minutos após o fim do exercício, o que difere do resultado encontrado no atual experimento, onde o maior índice foi de 6,8 mmol/L, obtido no T0 C2.

Isso pode ser devido à variação do condicionamento físico do animal e/ou da intensidade de exercício (FARRIS et al., 1995), alterando o início da neoglicogênese, frente ao maior requerimento energético para a manutenção da atividade muscular (RIBEIRO et al., 2004). Segundo Orozco et al. (2007), o aumento da [GLI] no plasma é diretamente proporcional à intensidade do exercício e ao nível de treinamento dos animais; animais mal condicionados apresentam a [GLI] reduzida após os exercícios.

# 4.2.3. Percentagem do hematócrito e concentração das proteínas plasmáticas totais no sangue dos animais após o TSV

Os resultados obtidos do hematócrito [HT] e da proteína plasmática total [PPT] nos cavalos "de esteira" foram semelhantes aos dos cavalos "de puxar", ou seja, discreta elevação no T0 com relação ao pré-teste (figuras 18 e 19). As elevações nos níveis do [HT] e da [PPT] no T0 – de 32,5% para 43,2% e de 6,1 para 7,0 g/dL, respectivamente – corroboram com os trabalhos de diversos autores (BELLI et al., 2008; PUOLI FILHO et al., 2007; MARTINS et al., 2005; SANTOS, 2006), que afirmam que a elevação desses parâmetros deve-se à contração esplênica e desidratação pós-exercício. Teixeira Neto et al. (2004) também relacionam o aumento nas [PPT] com a desidratação. Hinchcliff et al. (2002) sugerem que o condicionamento promove uma redução na concentração de [PPT] durante o repouso no final da atividade de alta intensidade.

O aumento no valor do [HT] indica uma significativa hemoconcentração, ainda podendo ser atribuída à mobilização da reserva de eritrócitos do baço, destinada a favorecer a capacidade transportadora de oxigênio do sangue para satisfazer a maior demanda metabólica promovida pelo aumento do trabalho muscular (PEREZ et al., 1997; PUOLI FILHO et al., 2007; SANTOS, 2006). O percentual médio encontrado de [HT] no presente estudo para animais em repouso – 32,5% - foi um pouco abaixo do relatado por Orozco et al. (2007) para éguas de reprodução, porém vazias, da raça Brasileiro de Hipismo (BH), que obtiveram 36,7%.

# 4.2.4. Concentração do colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeos no sangue dos animais após o TSV

Diferentemente do observado nos cavalos "de puxar", ocorreram variações significativas na concentração do colesterol total  $[COL_T]$  no sangue dos cavalos "de esteira" (P<0,05), o que pode ser explicado pela maior duração do exercício destes animais. A concentração de triglicerídeos [TRG] passou de 27,9 mmol/L na fase de repouso para 42,9 mmol/L no T +240, tendo seu pico no T +30, com 69,5 mmol/L, enquanto o colesterol HDL  $[COL_{HDL}]$  manteve uma média de 48,8 mmol/L (figura 23).

Ambos não apresentaram variação estatística significativa (P>0,05), como indicativo de que, durante as fases experimentais, os animais utilizam pouca energia proveniente das gorduras de reserva. Este resultado pode dever-se à utilização de cavalos atletas em boas condições de treinamento. COSTA et al. (2001) explicam que os lipídeos tendem a ser mais requisitados para a geração de energia em provas de longa duração.

#### 4.2.5. Concentração de uréia e creatinina no sangue dos animais após o TSV

A concentração de uréia [UR] e creatinina [CR] no presente experimento mantiveram uma média de 27 mmol/L e 2,2 μmol/L, respectivamente, indicando que não houve variação significativa (P>0,05), como mostra as figuras 21 e 22. Esses metabólitos estão associados ao metabolismo protéico, e variações em suas concentrações podem estar associadas à utilização de fontes protéicas com substratos para a produção de energia, o que não ocorre nos cavalos "de esteira". Avaliando o metabolismo energético em cavalos durante simulação de prova de marcha, Wanderley (2009) também não registrou variação significativa. Existe uma elevação fisiológica da concentração de uréia e creatinina no pós-exercício, que pode estar associada ao aumento do catabolismo protéico e à hemoconcentração.

# 4.2.6. Concentração de glutamina, glutamato e alanina no sangue dos animais após o TSV

O único metabólito que apresentou variação substancial nos cavalos "de esteira", e não variou significativamente nos cavalos "de puxar", foi a glutamina [GLN], que teve um decréscimo maior, passando de 289,0 μmol/L em jejum, para 179,0 μmol/L no T0 C1 e 215,0 μmol/L no T0 C2. Estes animais passaram mais tempo com a FC e FR elevadas, gastando

energia, indicando que o aminoácido [GLN] possui um papel importante na neoglicogênese, doando um radical amina do ácido glutâmico ao ácido pirúvico, que será transformado em alanina e, posteriormente, em glicose. Poso (1987) demonstrou que, em estudos com cavalos de corrida, observou-se um grande aumento de alanina no plasma após exercícios de alta intensidade, o que também ocorre em humanos.

A [ALA] apresentou elevação, passando de 247,6 μmol/L, durante repouso, para 349,7 μmol/L, no T0 C1, e 434,4 μmol/L, no T0 C2, decrescendo em seguida (figura 24). Esse resultado foi semelhante ao dos cavalos "de puxar", contudo, os cavalos "de esteira" necessitaram de mais energia do que dispunham armazenados, resultando em um aumento da [ALA] no plasma.

# 4.2.7. Concentração de creatina quinase e aspartato aminotransferase no sangue dos animais após o TSV

A concentração de creatina quinase [CK] e aspartato aminotransferase [AST] não apresentou variação estatística significativa (P>0,05), justificada pelo treinamento adequado, aliado ao bom condicionamento físico dos animais, ou seja, os resultados confirmam a integridade muscular dos cavalos testados (PEREZ et al., 1997; HARRIS et al., 1998; RIBEIRO et al., 2004). No presente experimento, foram observados valores de [CK] variando de 1,8 uKat/L, na fase pré-teste, para 1,3 μKat/L, no T0 C1, e 1,4 μKat/L, no T0 C2 (figura 20).

Teixeira Neto et al. (2004) observaram valores bem superiores - de 4,3 e 5,6 μKat/L – em cavalos árabes antes e após enduro de 70 km. Os mesmos autores relatam que os maiores valores foram encontrados em animais eliminados da prova. Essa diferença é justificada pelo fato de que, numa prova de vaquejada, o desgaste muscular é menos intenso que em uma prova de enduro. Os níveis de [AST] neste estudo variaram de 1,5 μKat/L, na fase pré-teste, para 1,0 μKat/L, no T0 C1, e 1,1 μKat/L, no T0 C2.

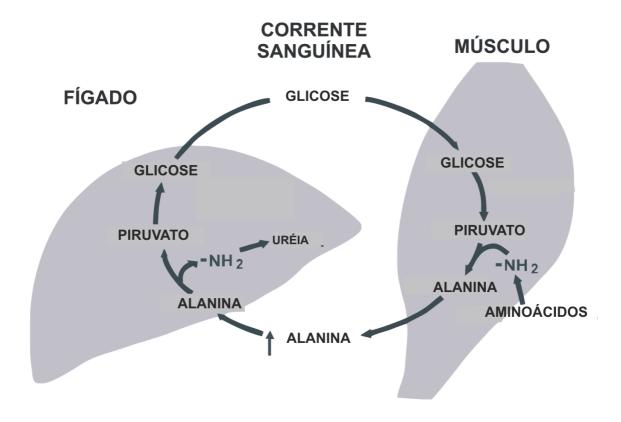
### **5 CONCLUSÕES**

Os resultados deste experimento permitem concluir que:

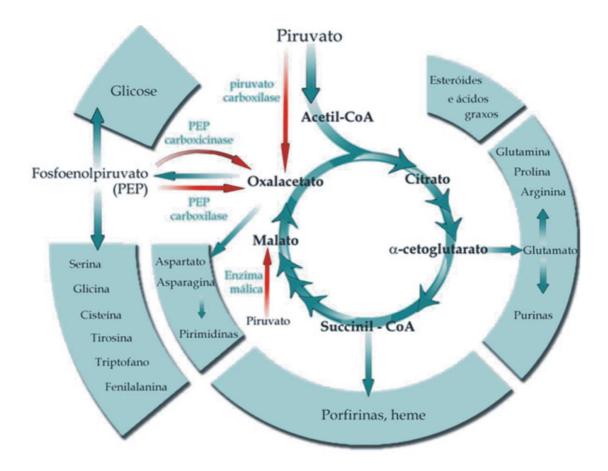
- 1. O TSV foi executado com facilidade e é de fácil repetição.
- 2. Durante o TSV, os animais desenvolveram exercícios de diferentes intensidades, porém, ambos anaeróbicos.
- 3. Os cavalos "de esteira" gastam mais energia para realizar a prova do que os cavalos "de puxar".
- 4. São necessários treinamentos específicos e dieta especial para cada tipo de cavalo de vaquejada, pois eles utilizam energia de forma diferenciada.

#### **6 ANEXOS**

### 6.1 Figuras



**Figura 1:** Esquema geral do Ciclo de Cori, que mostram a direção das reações metabólicas envolvidas no ciclo numa situação de esforço físico (*Adaptação: Daniel Santiago*)



**Figura 2:** Imagem ilustrativa do Ciclo do Ácido Cítrico (Principles of Biochemistry, Lehninger, 2004, 4th ed., cap. 16, fig 15, figura adaptada e traduzida para o português por Maurício C. Cabral-da-Silva, Ph.D)

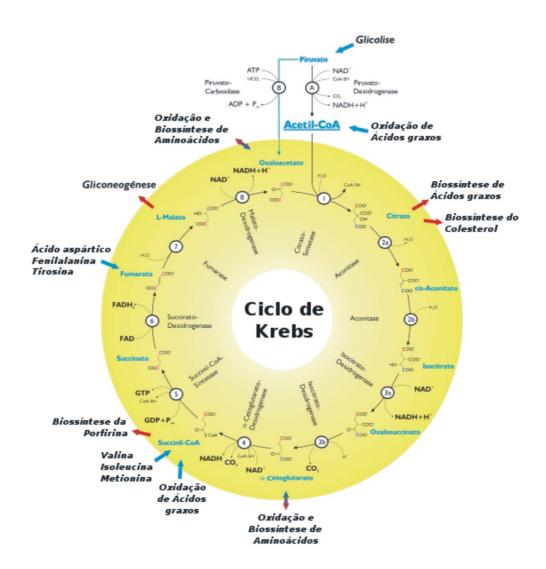


Figura 3: Esquema que demonstra a via metabólica do Ciclo de Krebs (Adaptação: Daniel Santiago)

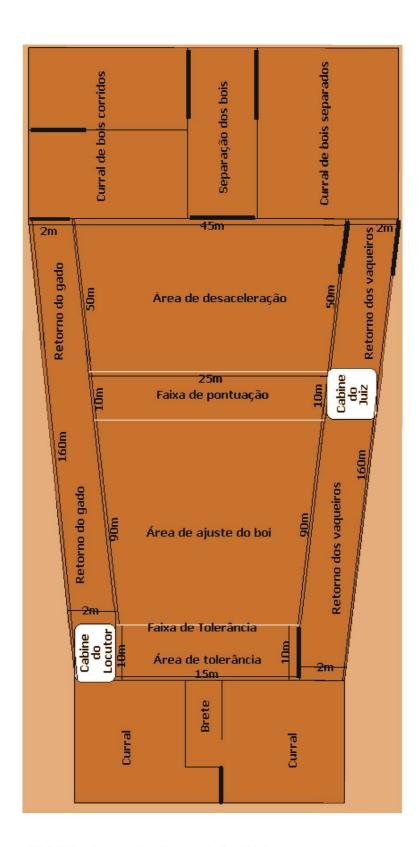
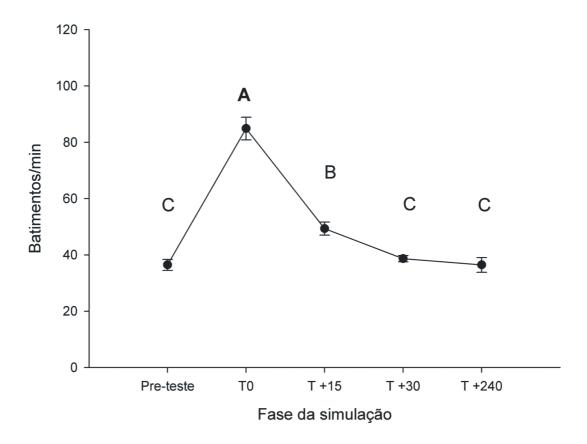
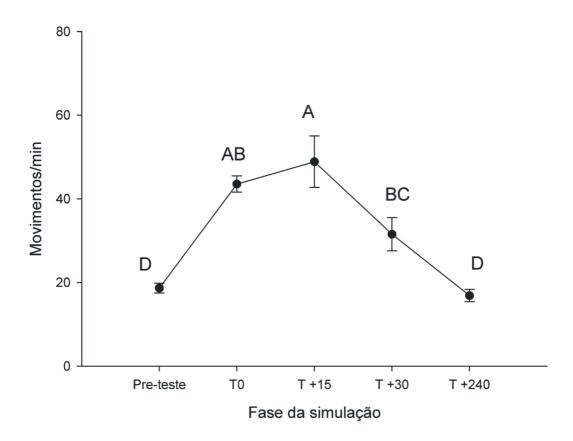


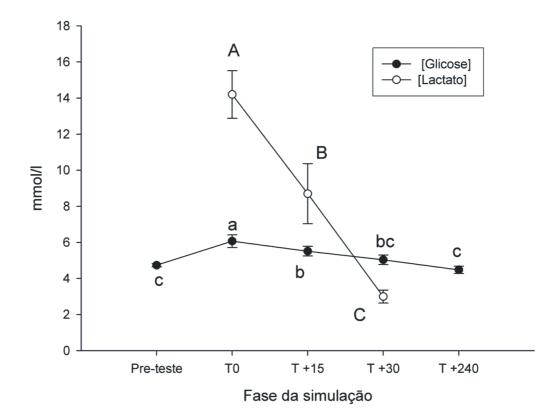
Figura 4: Medidas de uma pista de vaquejada oficial (Fonte: www.minasvaquejada.com.br)



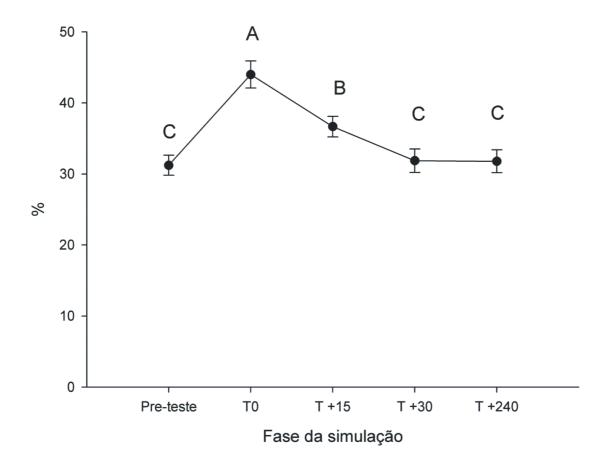
**Figura 5:** Variação média na frequência cardíaca (FC) dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T +15), 30 (T +30) e 240 (T +240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



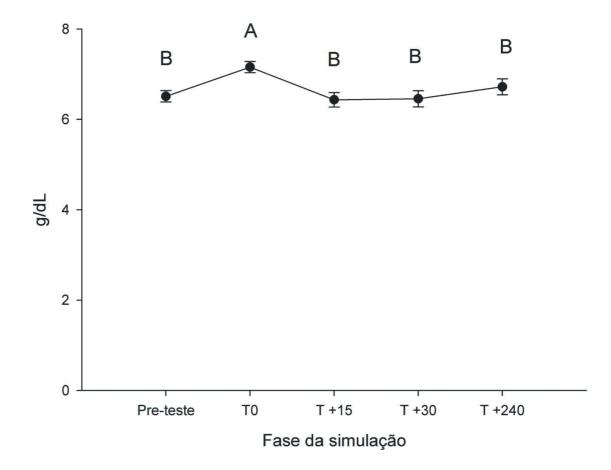
**Figura 6:** Variação média na frequência respiratória (FR) dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T +15), 30 (T +30) e 240 (T +240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 7:** Variação média na concentração plasmática da glicose (Glc) e do lactato (LAC) dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T +15), 30 (T +30) e 240 (T +240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 8:** Variação média na percentagem do hematócrito (HT) dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 9:** Variação média na concentração das proteínas plasmáticas totais (PPT) dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T +15), 30 (T +30) e 240 (T +240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

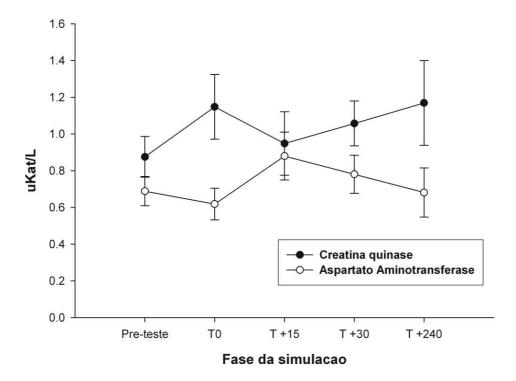


Figura 10: Variação média na concentração sérica da creatina quinase (CK) e do aspartato aminotransferase (AST) dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T +15), 30 (T +30) e 240 (T +240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

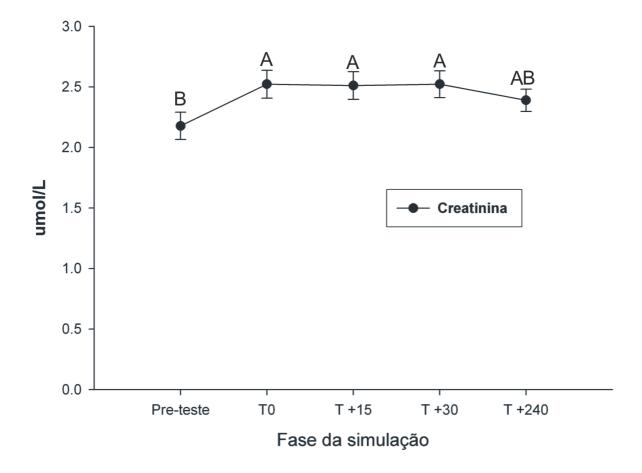
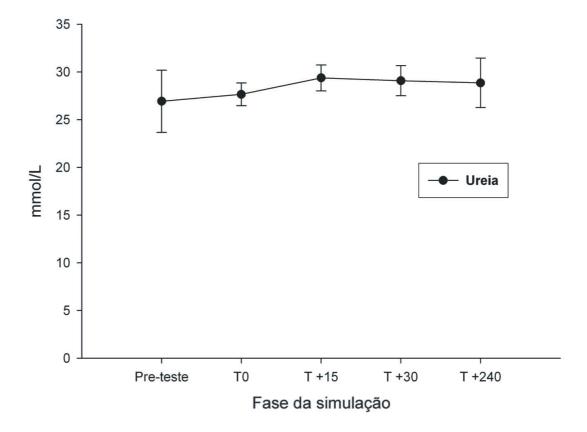


Figura 11: Variação média na concentração sérica da creatinina (Cr) dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T +15), 30 (T +30) e 240 (T +240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 12:** Variação média na concentração da uréia (UR) sérica dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

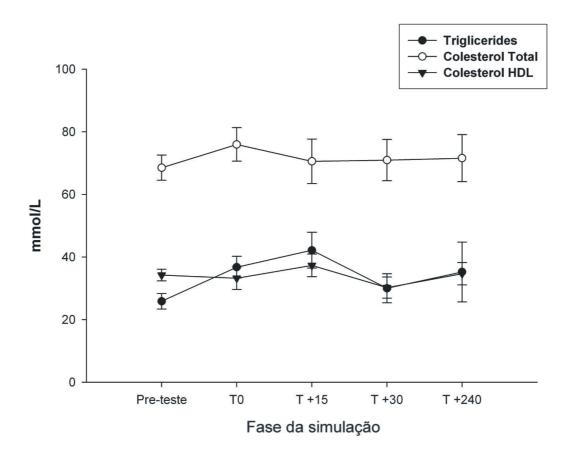
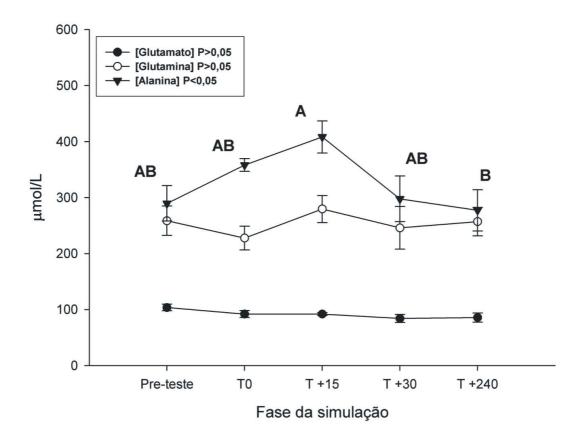


Figura 13: Variação média na concentração sérica de triglicérides (TRG), colesterol total (COL<sub>T</sub>) e colesterol HDL (COL<sub>HDL</sub>) dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 14:** Variação média na concentração sérica de glutamato (Glu), glutamina (Gln) e alanina (Ala) dos cavalos "de puxar" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da simulação (T0) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

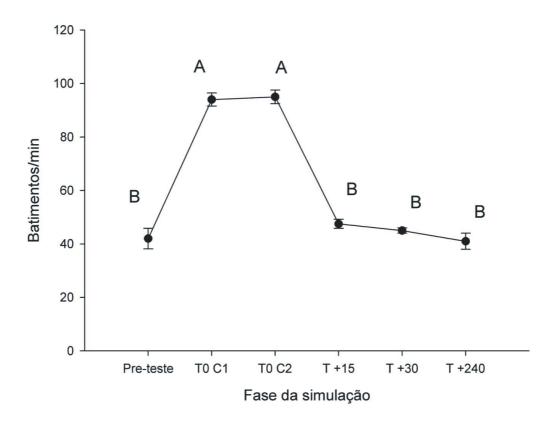
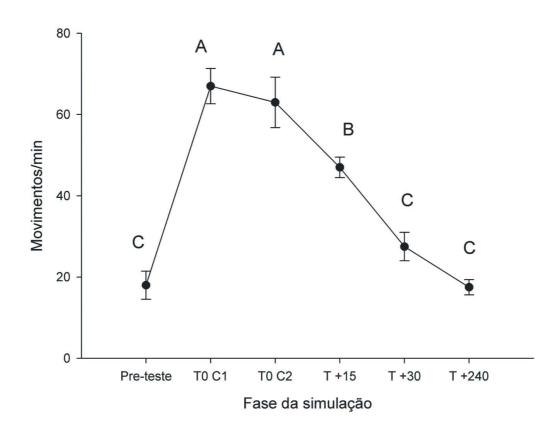
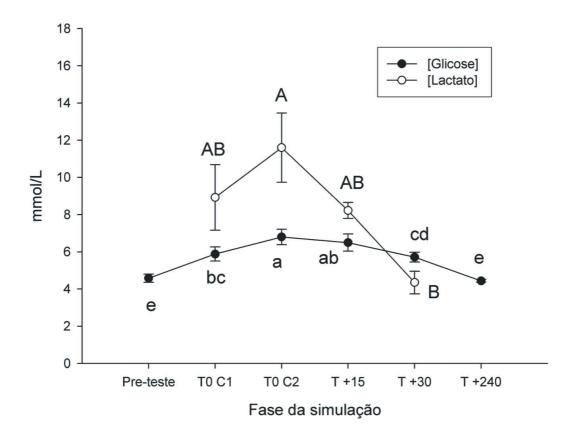


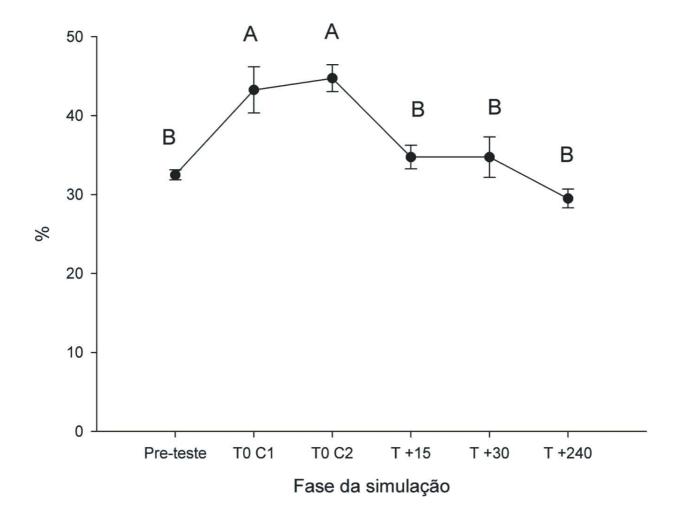
Figura 15: Variação média na frequência cardíaca (FC) dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2, respectivamente) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



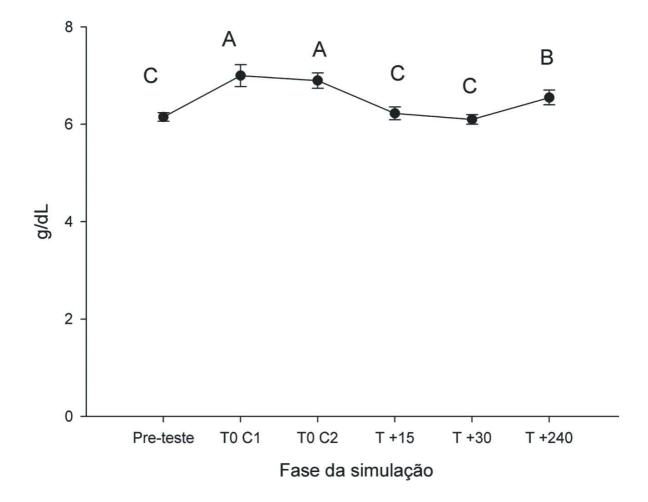
**Figura 16:** Variação média na frequência respiratória (FR) dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2, respectivamente) e com 15 (T +15), 30 (T +30) e 240 (T +240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



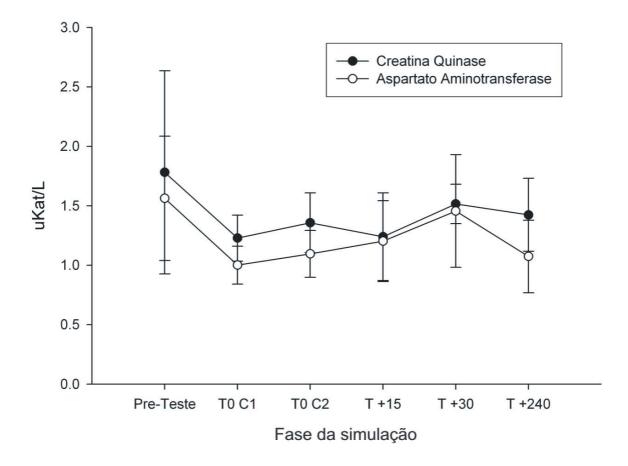
**Figura 17:** Variação média na concentração plasmática da glicose (GLc) e do lactato (LAC) dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2, respectivamente) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 18:** Variação média na percentagem do hematócrito (HT) dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2, respectivamente) e com 15 (T +15), 30 (T +30) e 240 (T +240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 19:** Variação média na concentração das proteínas plasmáticas totais (PPT) dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2, respectivamente) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 20:** Variação média na concentração sérica da creatina quinase (CK) e do aspartato aminotransferase (AST) dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2, respectivamente) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

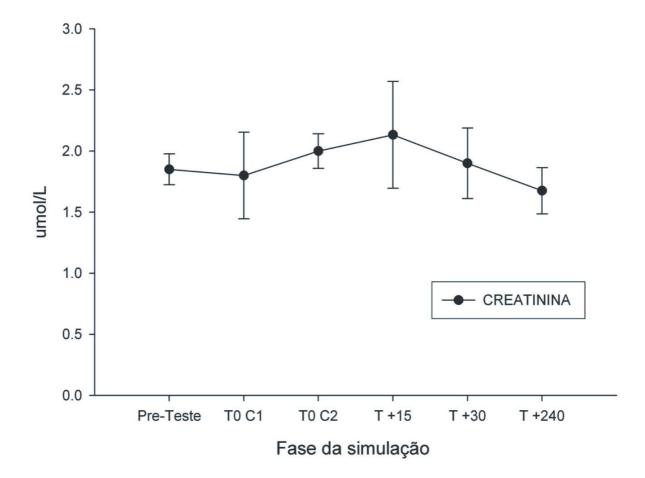
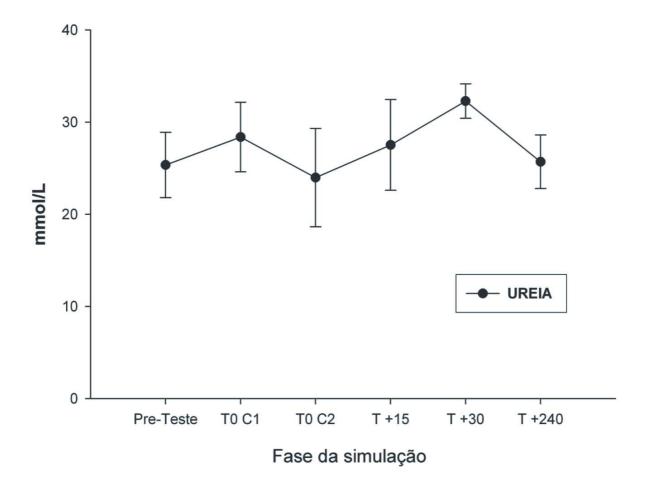
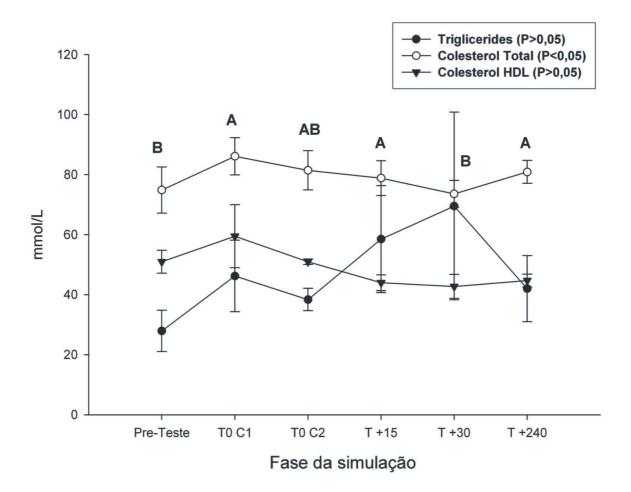


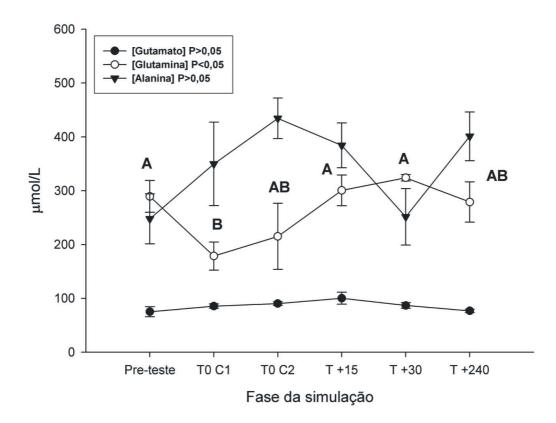
Figura 21: Variação média na concentração sérica da creatinina (Cr) dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2, respectivamente) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 22:** Variação média na concentração da uréia (UR) sérica dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2, respectivamente) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 23:** Variação média na concentração sérica de triglicérides (TRG), colesterol total (COLT) e colesterol HDL (COLHDL) dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2, respectivamente) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



**Figura 24:** Variação média na concentração sérica de glutamato (Glu), glutamina (Gln) e alanina (Ala) dos cavalos "de esteira" com os animais em jejum (pré-teste), imediatamente após o fim da primeira e da segunda simulação (T0 C1 e T0 C2,respectivamente) e com 15 (T+15), 30 (T+30) e 240 (T+240) minutos de repouso após o fim da segunda simulação da prova de vaquejada. Observação: médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## **5.2** Tabelas

	CAV	ALOS "DE PU			
Resultados	Pré Teste	T0	T +15	T +30	T +240
Frequência Cardíaca	36,4 bpm	84,8 bpm	49,3 bpm	38,6 bpm	36,4 bpm
Frequência Respiratória	18,6 m/m	43,5 m/m	48,8 m/m	31,5 m/m	16,8 m/m
Glicose	4,7 mmol/L	6,1 mmol/L	5,5 mmol/L	5,0 mmol/L	4,5 mmol/L
Lactato	-	14,2 mmol/L	8,7 mmol/L	3,0 mmol/L	-
Hematócrito	31,2%	44,0%	36,7%	31,9%	31,8%
Proteína Plas mática Total	6,5 g/dL	7,2 g/dL	6,4 g/dL	6,5 g/dL	6,7 g/dL
Creatina Quinase	0,9 μKat/L	1,1 μKat/L	0,9 μKat/L	1,1 μKat/L	1,2 μKat/L
Aspartato Aminotransferase	0,7 μKat/L	0,6 μKat/L	0,9 μKat/L	0,8 μKat/L	0,7 μKat/L
Albumina	3,1 g/L	3,3 g/L	3,4 g/L	3,3 g/L	3,4 g/L
Creatinina	2,1 μmol/L	2,5 μmol/L	2,5 μmol/L	2,5 μmol/L	2,3 μmol/L
Uréia	26,9 mmol/L	27,7 mmol/L	29,4 mmol/L	29,1 mmol/L	28,9 mmol/L
Triglicerídeos	25,9 mmol/L	36,7 mmol/L	42,2 mmol/L	36,0 mmol/L	35,2 mmol/L
Colesterol Total	68,5 mmol/L	75,9 mmol/L	70,5 mmol/L	70,9 mmol/L	71,5 mmol/L
Colesterol HDL	34,2 mmol/L	33,2 mmol/L	37,3 mmol/L	30,2 mmol/L	34,7 mmol/L
Glutamato	103,8 μmol/L	92,1 μmol/L	91,9 μmol/L	84,2 μmol/L	85,8 μmol/L
Glutamina	258,7 μmol/L	227,7 μmol/L	279,6 μmol/L	246,0 μmol/L	257,1 μmol/L
Alanina	289,7 μmol/L	358,2 μmol/L	408,3 μmol/L	297,8 μmol/L	277,3 μmol/L

Tabela 1: Resultados encontrados nos cavalos "de puxar"

		CAVALOS "D	E ESTEIRA"			
Resultados	Pré Teste	T0 C1	T0 C2	T +15	T +30	T +240
Frequência Cardíaca	42,0 bpm	94,0 bpm	95,0 bpm	47,5 bpm	45,0 bpm	41,0 bpm
Frequência Respiratória	18,0 m/m	67,0 m/m	63,0 m/m	47,0 m/m	27,5 m/m	17,5 m/m
Glicose	4,6 mmol/L	5,9 mmol/L	6,8 mmol/L	6,5 mmol/L	5,7 mmol/L	4,4 mmol/L
Lactato	-	8,9 mmol/L	11,6 mmol/L	8,2 mmol/L	4,3 mmol/L	-
Hematócrito	32,5%	43,3%	44,8%	34,8%	34,8%	29,5%
Proteína Plas mática Total	6,2 g/dL	7,0 g/dL	6,9 g/dL	6,2 g/dL	6,1 g/dL	6,6 g/dL
Creatina Quinase	1,8 µKat/L	1,2 μKat/L	1,4 μKat/L	1,2 μKat/L	1,5 μKat/L	1,4 μKat/L
Aspartato Aminotransferase	1,6 μKat/L	1,0 μKat/L	1,0 μKat/L	1,2 μKat/L	1,5 μKat/L	1,1 μKat/L
Albumina	3,0 g/L	3,7 g/L	3,5 g/L	2,7 g/L	2,7 g/L	2,9 g/L
Creatinina	1,8 µmol/L	1,8 µmol/L	2,0 μmol/L	2,1 μmol/L	1,9 µmol/L	1,6 µmol/L
Uréia	25,3 mmol/L	28,3 mmol/L	23,9 mmol/L	27,5 mmol/L	32,2 mmol/L	25,7 mmol/L
Triglicerídeos	27,9 mmol/L	46,2 mmol/L	38,4 mmol/L	58,5 mmol/L	69,5 mmol/L	42,0 mmol/L
Colesterol Total	74,8 mmol/L	86,1 mmol/L	81,4 mmol/L	78,8 mmol/L	73,6 mmol/L	80,9 mmol/L
Colesterol HDL	51,0 mmol/L	59,5 mmol/L	51,0 mmol/L	44,0 mmol/L	42,7 mmol/L	44,7 mmol/L
Glutamato	75,1 μmol/L	85,6 μmol/L	90,2 μmol/L	100,1 μmol/L	86,7 μmol/L	76,8 μmol/L
Glutamina	289,4 μmol/L	178,5 μmol/L	215,2 μmol/L	300,5 μmol/L	324,0 μmol/L	279,0 μmol/L
Alanina	247,6 μmol/L	349,7 μmol/L	434,4 μmol/L	384,1 μmol/L	251,5 μmol/L	401,0 μmol/L

Tabela 2: Resultados encontrados nos cavalos "de esteira"

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAN, J. et al. Alanine and glutamine synthesis and release from skeletal muscle. **The Journal of Biological Chemistry**, USA, v.251, n.3, p. 836-843, 1976.

BABIJ, P. et al. Changes in blood ammonia, lactate and amino acids in relation to workload during bicycle ergometer exercise in man. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, London, v.50, n.3, p. 405-411, 2004.

BACILA, M. Músculo e contração muscular. In: **Bioquímica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Ed. Robe, p. 583, 2003.

BALARIN, M. R. S. et al. Avaliação da glicemia e da atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gama-glutamiltransferase e lactato desidrogenase em eqüinos Puro Sangue Inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Ciências Agrárias.** Londrina, v.26, n.2, p.211-218, abr./jun. 2005.

BASSINI-CAMERON, A. et al. Glutamine protects against blood ammonia increase in soccer players in an exercise intensity dependent way. **British Journal of Sports Medicine**, v.42, p. 260-266, 2008.

BELLI, C. B. et al. Solução concentrada de albumina equina na fluidoterapia em equinos com desidratação leve a moderada. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.60, n.1, p.30-35, 2008.

CARDOSO, C. A. Comparação de kits comerciais na dosagem de constituintes bioquímicos do sangue em equinos. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)** - Universidade Federal de Viçosa, 123p., 2008.

CASSOU, F. et al. Concentrações de lactato sanguíneo em cavalos Puro Sangue Inglês durante treinamento com velocidade progressiva. **IX Conferência Anual Abraveq**, Anais do IV Congresso Internacional de Medicina Veterinária, São Paulo: FEI/CBH, 2008.

CASTELL, L M & NEWSHOLME, E A. The effects of oral glutamine supplementation athletes after prolonged, exhaustive exercise. **Nutrition**, v.13, p. 738-42, 1997.

CEDDIA R. B. et al. Metabolismo da glutamina no músculo esquelético. In CURI, R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. **Sprint**, RJ, 2000.

COSTA, H. E. et al. Exterior e treinamento do cavalo. **Imprensa Universitária/ UFRPE**, Recife, p. 75-93, 2001.

COUROUCÉ, A. Endurance and sprint training. Conference on Equine Sports Medicine and Science, **Córdoba** [s.n.], p.190-202, 1998.

CYNOBER, L. A. Glutamine metabolism in stressed patients (abstract). **Proceedings of international Congress on amino acids,** Germany, 1999.

FARRIS, J. W. et al. Glucose infusion increases maximal duration of prolonged treadmill exercise in Standardbred horses. **Equine Veterinary Journal**, London, n.18, p. 357 – 361, 1995.

FERRAZ, G. C. et al. Blood lactate threshold reflects glucose responses in horses submitted to incremental exercise test. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.60, n.1, p.256-259, 2008.

FOREMAN, J. H. et al. Muscle responses of Thoroughbreds to conventional race training and detraining. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago. v.51, n.6, p.909-913, jun. 1990.

FOX, A.D. et al. Dexamethasone administration induces increased glutamine specific activity in the jejunum and colon. **J. Surg**. Res 44:391-396, 1988.

GOMIDE, L. M. W. et al. Concentração sanguínea de lactato em equinos durante prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural,** Santa Maria, v.36, n.2, p.509-513, mar-abr, 2006.

GRAHAM T. E.; SGRO, V.; FRIARS, D.; GIBALA, M. J. Glutamate ingestion: the plasma and muscle free amino acid pools of resting humans. **American Journal of Endocrinology and Metabolism**. v.278, p.83-89, 2000.

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**, London, v.155, p.295-304, 1998.

HAUSSINGER, D. et al. Regulation of cell function by cellular hydration state. **Am. J. Physiol**. 267: E343-E355, 1994.

HINCHCLIFF, K. W. et al. High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses. **Equine Veterinary Journal**, London, v.34, n.1, p.9-16, jan, 2002.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Hematology and biochemistry. **The athletic horse** Saunders, Philadelphia, p. 63-78, 1994.

JOSE-CUNILLERAS, E.; HINCHCLIFF, K. W. Carbohydrate metabolism in exercising horses. **Equine and Comparative exercise Physiology**, v.1, n.1. p. 23-32, 2003.

JUEL, C. Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. **Physiological Revews**, Bethesda, v.77, n.2, p.321-358, Apr. 1997.

KAWALSKI, T. J. et al. Rat adipose tissue amino acid metabolism in vivo as assessed by microdialysis and arteriousvenous thechniques. **American Journal Physiology Endocrinology and Metabolism**, v.273, n.2, p.617 – 622. 1997.

KERR, M. G. Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematologia. São Paulo: **Roca**, 436p, 2003.

KERR, M. G.; SNOW, D. H. Plasma enzymes activities in endurance horses. In: Equine exercise physiology: proceedings. **International Conference**, Cambridge, Granta Editions, p. 432-440, 1983.

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

LACERDA NETO, J. C.; MARQUES, L. C. Utilização de parâmetros clínicos e bioquímicos na avaliação de equinos submetidos a exercício de baixa intensidade e média duração. **Veterinária Notícia**, v.5, p.77-82, 1999.

LACOMBE, V. A. et al. Exercise that induces substantial muscle glycogen depletion impair subsequent anaerobic capacity. **Equine Veterinary Journal,** London, v.30, p.293-297, 1999.

LOBLEY, G.E. et al. Glutamine in animal science and production. **J. Nutrition**. 131:255S-2531S, 2001.

MANSO FILHO, H. C. et al. Percentagem de gordura de cavalos criados em região tropical. **Acta Scientiae Veterinária**, v.37, n.3, p.239-243, 2009.

MARTINS, C. B. et al. Determinação de valores bioquímicos em equinos antes e após a participação em prova de enduro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária,** Niterói, v.12, n.1/3, p.62-65, jan./dez., 2005.

McGOWAN, Catherine. Clinical Pathology in the Racing Horse: The Role of Clinical Pathology in Assessing Fitness and Performance in the Racehorse. Vet Clin Equine, Finland, v.24, p. 405–421, 2008.

McMIKEN, D. F. An energetic basis of equine performance. **Equine Veterinary Journal**, London, v.15, n.2, p.123 – 133, 1983.

McKEEVER, K.H. et al Plasma constituents during incremental treadmill exercise in intact and splenectomized horses. **Equine Veterinary Journal,** v.25, n3, p.233-236, may 1993.

MOHRI, M et al. Serum biochemistry of Iranian Turkmen (Akhal-Teke) horses. **Comparative Clinical Pathology,** v.13, p. 128-131, 2004.

MUKAI, K. et al. Heart rate and blood lactate responses in Thoroughbred horse during a race. **Journal Equine Science.** v.18, p.153-160, 2007.

NAYLOR, J. R. J. et al. Equine plasma and blood volumes decrease with dehydration but subsequently increase with exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.75, n.2, p.1002-1008, 1993.

NEWSHOLME, P. Why is L-Glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, post-injury, surgery or infection **J.Nutrition**. 131:2515S-2522S, 2001.

Nutrient requirements of horses (NRC). 6. ed. rev. Washington, US, [s.n.], p. 22-26, 2007.

O' DWYER, S. T. et al. 5-Fluorouracil toxicity on small intestine mucosa but not while blood cells is decreased by glutamine. **Clin. Res.** 387a: 10-16, 1987.

OROZCO, C. A. G. et al. Alteraciones metabólicas durante entrenamiento em equinos de laraza Pura Sangre Árabe. **Revista de Medicina Veterinária**, Colômbia, n.13, Colômbia, p. 77-82, enero/junio, 2007.

PEREZ, R. et al. Actividad física y câmbios cardiovasculares y bioquímicos del caballo chileno a la competência de rodeo. **Archivos de Medicina Veterinária**, Valdivia, v.29, n.2, 1997.

POSO, A.R. et al Metebolic responses to exercice in racehorse: changes in plasma alanine concentration **Journal of applied physiology**, v.63 issue 6 p.2195-2200. 1987

PUOLI FILHO, J. N. P. et al. Parâmetros fisiológicos do desempenho de cavalos de alta performance hidratados voluntariamente com água ou soluções isotônicas contendo carboidrato. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science,** São Paulo, v.44, n.2, p.122-131, 2007.

REEDS, P.J. et al. Intestinal glutamate metabolism. J. Nutrition. 130:978S -982S, 2000.

RIBEIRO, M. A. Avaliação da capacidade atlética de cavalos da raça Árabe submetidos a exercícios aeróbicos em esteira ergométrica. **Dissertação de Mestrado em Cirurgia** 

**Veterinária.** Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, p. 109, 2006.

RIBEIRO, C. R. et al. Avaliação de constituintes séricos em eqüinos e muares submetidos à prova de resistência de 76 km, no Pantanal do Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural, S**anta Maria, v.34, p. 1081-1086, 2004.

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

SCHOTT, H. C.; HINCHCLIFF, K. W. Fluids, electrolytes, and bicarbonate. **Veterinary Clinics of North American:** equine practice, v.9, p.577-604, 1993.

SMITH, R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. **J. Parent. Enter. Nutr.**, 14: 40S-44S, 1990.

SOUZA, L. B. F. ET al. Perfil sérico do lactato em equinos da raça puro sangue inglês submetidos a diferentes distâncias. **Conferência Anual Abraveq.** Anais do IX Congresso Internacional de Medicina Veterinária, São Paulo: FEI/CBH, 2008.

SPEIRS, V. C. Exame clínico de equinos. **Artmed**, Porto Alegre, 366p, 1999.

SPINHA DE TOLEDO, P. et al. Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase e glicemia de cavalos da raça PSI submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v.8, n.2, p.73-7, 2001.

STEFANON, B. et al. Plasma lactate and purine derivatives accumulation after exercise of increasing intensity in Standard bred Horses. **Journal of Equine Veterinary Science,** Wildemar, v.19, n.7, p. 463-468, 1999.

TAUDOU, G. et al. Influence of amino acid deficiency and RNA aminoacylation on DNA synthesis and DNA polymerase activity during secondary immune response in vitro. **Mol. Immunology.**, v20, p255, 1983.

TAYLOR, P. A guide to the management of emergencies at equine competitions. **British Equine Veterinary Association Manual**. Editor: Sue Dyson, Newmarket UK, 1996.

TEIXEIRA NETO, A. R. et al. Reposição eletrolítica sobre as variáveis fisiológicas de cavalos em prova de enduro de 30 e 60 km. **Ciência Rural,** Santa Maria, v.34, n.5, p.1505-15-11, set/out, 2004.

THOMASSIAN, A. et al. Atividade sérica da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science,** São Paulo, v.44. n.3, p. 183-190, 2007.

TOLEDO, P. S. et al. Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatina quinase, gamaglutamiotransferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça PSI submetidos a exercícios de diferente intensidade. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.8, n.2, p. 73-77, 2001.

TRILK, J. L. et al. Lactate-guided conditioning programmed to improve endurance performance. **Equine Veterinary Journal**, London, v.34, p.122-125, 2002.

VÄIHKÖNEN, L. K.; PÖSÖ, A. R. Interindividual variation in total and carrier mediated lactate influx into red blood cells. **American Journal of Physiology,** Baltimore, v.274, n.4, p.1025-1030, Apr, 1998.

VOTION, D. M. et al. Muscle energetic in exercising horses. **Equine and Comparative Exercise Physiology,** v.4, n.3/4, p. 105 – 118, 2008.

WAGENMAKERS, A.J. Amino acid metabolism in exercise. R.J. Maughan, pp. 119-132, **Blackwell Science Ltd**, Oxford, UK, 2000.

WAGENMAKERS, A.J. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. **Exerc. Sport Sci. Rev.**, v.26, p.287-314, 1998.

WANDERLEY, E. K. Metabolismo energético em cavalos durante simulação de prova de marcha. **Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária**, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

WATANABE, M. J. et al. 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, n.3, p.320-320, 2006.

WATFORD, M. Glutamine and glutamate metabolism across the liver sinusoid. **Suplement the Journal of Nutrition**. v130: 98S-987S, 2000.