



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA - FAV

Equinos finalistas de enduro – expressão do Mg^{+2} , CK, AST e LDH

JULIANA VIEIRA FLORES SALES

MONOGRAFIA DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**BRASÍLIA – DF
1º SEMESTRE/2011**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

Equinos finalistas de enduro – expressão do Mg^{+2} , CK, AST e LDH

JULIANA VIEIRA FLORES SALES

ORIENTADOR:
EDUARDO MAURICIO MENDES DE LIMA

MONOGRAFIA DE GRADUAÇÃO

BRASÍLIA – DF
1º SEMESTRE/2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Sales, Juliana Vieira Flores.

Equinos finalistas de enduro – expressão do Mg^{+2} , CK, AST e LDH/ Juliana Vieira Flores Sales, orientação de Eduardo Mauricio Mendes de Lima – Brasília, 2011. 46p.: il.

Monografia de Graduação – Universidade de Brasília – UnB/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

1. Equino atleta. 2. Enduro equestre. 3. Balanço hidroeletrólítico. 4. Musculatura estriada esquelética. 5. Exercício. I. Lima, E.M.M. II. Doutor.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SALES, J. V. F. **Equinos finalistas de enduro – expressão do Mg^{+2} , CK, AST e LDH.** Brasília. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – FAV, Universidade de Brasília – UnB, 2011, 46p. Monografia de Graduação.

CESSÃO DE DIREITOS

Nome do Autor: Juliana Vieira Flores Sales

Título da Monografia de Conclusão de Curso: Equinos finalistas de enduro – expressão do Mg^{+2} , CK, AST e LDH.

Grau: 3º Ano: 2011

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia de graduação e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação, e nenhuma parte desta monografia de graduação pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

Juliana Vieira Flores Sales.
CPF: 057.935.037-14
SQN 108 Bloco J, Apto 506
CEP: 70744-100 Brasília – DF, Brasil.
jvfsales@gmail.com

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

Equinos finalistas de enduro – expressão do Mg^{+2} , CK, AST e LDH

JULIANA VIEIRA FLORES SALES
Matrícula – 06/88029

Monografia de graduação apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários para obtenção de grau de Médico Veterinário.

APROVADA POR:

Prof.Dr. EDUARDO MAURICIO MENDES DE LIMA
Professor adjunto da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília – FAV- UnB.

Prof.Dr. ANTONIO RAPHAEL TEIXEIRA NETO
Professor adjunto da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília – FAV- UnB.

Msc. CINTHIA BEATRIZ SILVA DUMONT
Mestre em saúde animal pela Universidade de Brasília – UnB.

BRASÍLIA - DF, Julho de 2011

AGRACEDIMENTOS

A Deus e aos que o cerca pela oportunidade de nascer em uma família genial e ter saúde para poder viver em busca dos meus sonhos.

À Ana Lúcia Soares Vieira Sales e João Flores Sales aos quais devo a minha vida! Obrigada pelo carinho, ombro amigo, conselhos e amizade eterna.

À Tathyana Vieira Flores Sales e Henrique Lobo de Souza Pinheiro, obrigada pelo companheirismo, sinceridade e momentos de alegria.

À minha família meu imenso agradecimento pelo incentivo e carinho.

À professora Roberta Ferro de Godoy obrigada por todas as oportunidades, pelos ensinamentos, conselhos e por fazer parte da minha vida acadêmica sempre disposta e presente para me ajudar.

Aos professores José Renato Junqueira Borges, Antônio Raphael Teixeira Neto e Fábio Henrique Bezerra Ximenes por todos os ensinamentos e incentivos ao longo da minha jornada acadêmica.

Ao meu orientador Eduardo Maurício Mendes de Lima por me ajudar em uma época decisiva da minha vida sempre com muita paciência e determinação. Obrigada pela oportunidade de poder trabalhar com você!

À grande equipe do Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília – UnB (Hvetão) a qual convivi durante os cinco anos de faculdade. Obrigada pelo apoio, amizade, respeito e confiança.

Aos grandes amigos que eu pude fazer durante minha jornada por vários estados do país, pelos colégios que já estudei e na faculdade, gostaria de agradecer aos anos de alegria, diversão e camaradagem.

À Tuthy, Jade, Fred, Annie, Mel e aos outros animais que já fizeram parte da minha vida, por mudarem meu dia a dia transformando o mesmo em momentos de pura alegria. Serei eternamente agradecida por vocês terem cruzado o meu caminho!

Ao enduro e aos amigos que pude fazer durante as competições, obrigada pela oportunidade, confiança e momentos de descontração.

Aos cavalos, anjos de quatro patas, aos quais dedico a minha jornada e que fazem de mim uma pessoa melhor a cada dia. Minha eterna admiração a coragem, garra e inteligência que fazem destes animais seres sem igual.

“... Bom mesmo é ir a luta com determinação, abraçar a vida e viver com paixão. Perder com classe e vencer com ousadia, pois o triunfo pertence a quem mais se atreve e a vida é muito para ser insignificante. Eu faço e abuso da felicidade e não desisto dos meus sonhos. O mundo está nas mãos daqueles que tem coragem de sonhar e correr o risco de viver seus sonhos”.

(Charles Chaplin)

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| LISTA DE FIGURAS..... | viii |
| LISTA DE QUADROS..... | ix |
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | x |
| RESUMO..... | xi |
| ABSTRACT..... | xii |
| | |
| CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 1 |
| I.1 O equino atleta, a fisiologia do exercício e sua relação com a musculatura estriada esquelética..... | 1 |
| I.2 O enduro e as trocas de fluidos e eletrólitos..... | 3 |
| I.3 O íon magnésio e suas funções no organismo animal..... | 4 |
| I.4 As atividades enzimáticas das enzimas aspartato aminotransferase (AST), creatino quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH)..... | 8 |
| | |
| CAPÍTULO II: O ÍON MAGNÉSIO E SUA RELAÇÃO COM AS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS DAS ENZIMAS MUSCULARES CREATINO QUINASE, ASPARTATO AMINOTRANSFERASE E LACTATO DESIDROGENASE EM EQUINOS PURO SANGUE ÁRABE FINALISTAS DE PROVAS DE ENDURO DE 90KM..... | 11 |
| II.1 Introdução..... | 11 |
| II.2 Materiais e métodos..... | 12 |
| II.3 Resultados e discussão..... | 13 |
| II.4 Conclusão..... | 24 |
| | |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 25 |
| | |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 26 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| Figura 1: Fluxo do magnésio durante e após atividade física..... | 6 |
| Figura 2: Possíveis mecanismos pelos quais o estresse oxidativo induzido pela deficiência de magnésio prejudica o desempenho físico..... | 7 |
| Figura 3: Venopunção da veia jugular direita em equino finalista..... | 13 |
| Figura 4: Frascos para análise hematológica e bioquímica identificados..... | 13 |
| Figura 5: Exame clínico de um animal participante da prova de enduro no vet-check..... | 14 |
| Figura 6: Animal sendo “resfriado” após completar um anel em prova de enduro..... | 14 |

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Representação dos valores obtidos para equinos PSA finalistas de provas de enduro de 90 km, em repouso e após exercício. Valores seguidos de * na mesma linha apresentam diferença estatística ($p < 0,05$) a partir da aplicação do teste “U” de Mann-Whitney. Enzimas musculares: aspartato aminotransferase (AST), enzima creatino quinase (CK), enzima lactato desidrogenase (LDH).....**18**

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-----------------------------|-----------------------------------|
| °C | Graus Celsius |
| ADP | Adenosina difosfato |
| AST | Enzima aspartato aminotransferase |
| ATP | Adenosina trifosfato |
| bpm | Batimentos por minuto |
| Ca ⁺² | Íon cálcio |
| CK | Enzima creatinoquinase |
| dL | Decilítros |
| FC | Frequência cardíaca |
| g | Gramas |
| Kg | Kilogramas |
| Km | Kilômetros |
| LDH | Enzima lactato desidrogenase |
| T0 | Repouso |
| mEq/L | Miliequivalentes por litro |
| TF | Pós-exercício |
| Mg ⁺² | Íon magnésio |
| mm ³ | Milímetro cúbico |
| O ² | Oxigênio |
| PSA | Puro Sangue Árabe |
| UI/L | Unidades internacionais por litro |
| mg/dL | Miligramas por decilitro |
| NO | Óxido nítrico |
| O ₂ ⁻ | Radical superóxido |
| ONOO ⁻ | Peroxinitrito |
| OH ⁻ | Radical hidroxil |
| COX | Ciclooxigenase |
| PLA ₂ | Prostaglandina A ₂ |
| Ht | Hematócrito |

RESUMO

Nos últimos anos, devido às crescentes exigências competitivas, o equino atleta vem sendo cada vez mais requerido. As exigências por alto desempenho têm fomentado o interesse pelo estudo de lesões relacionadas ao metabolismo oxidativo devido à geração de radicais livres presentes na fisiopatologia de diversas enfermidades dos equinos. A relação entre o íon magnésio e o exercício físico tem recebido atenção significativa visto que este íon está intimamente relacionado aos processos antioxidantes no tecido muscular estriado esquelético. Além disso, dentre as principais estratégias para a detecção e acompanhamento clínico de lesões musculares, destaca-se a avaliação das atividades das enzimas creatino quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e aspartato aminotransferase (AST). A busca pelo estabelecimento de parâmetros que se relacionam entre si é um fator determinante na compreensão de alterações fisiológicas encontradas diante do esforço em equinos atletas. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo determinar como as concentrações sanguíneas do íon magnésio e as atividades enzimáticas das enzimas CK, LDH e AST comportaram-se em equinos Puro Sangue Árabe finalistas de provas de enduro de 90km e relacionar as possíveis alterações com o tipo de esforço físico desempenhado pelos animais. Para tanto, foram utilizados 14 equinos clinicamente hígidos da raça Puro Sangue Árabe, sendo 9 machos e 5 fêmeas, com idades variando entre 6 a 12 anos, submetidos a treinamento para enduro e participantes de campeonato regional da Federação Hípica de Brasília em provas de 90 km. Diante da análise dos dados, pode-se observar que todas as variáveis avaliadas sofreram aumento em relação ao repouso, verificando ainda que todas apresentaram diferenças estatísticas. Logo, em atividades envolvendo exercícios físicos, sugere-se que, além de outros fatores, as diferenças nas atividades enzimáticas das enzimas CK, LDH, AST e da concentração do íon magnésio no exercício em relação ao repouso podem ser advindas a uma alteração de permeabilidade devido a um processo inflamatório inicial. Os dados analisados podem ser utilizados como sinalizadores aos médicos veterinários que acompanham equinos em provas de enduro no intuito de monitorar e prevenir possíveis danos musculares e processos inflamatórios severos.

Palavras-chave: equino atleta, enduro equestre, balanço hidroeletrólítico, musculatura estriada esquelética, exercício.

ABSTRACT

In recent years, due to rising competitive demands, the equine athlete is being increasingly required. The demands for high performance has fostered interest in the study of oxidative metabolism related injuries due to the generation of free radicals presented in the pathophysiology of various horse diseases. The relationship between magnesium and exercise has received significant attention since this ion is closely related to antioxidant processes in skeletal muscle tissue. Moreover, among the main strategies for the detection and monitoring of clinical muscle damage, there is the evaluation of the activity of the enzymes creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH) and aspartate aminotransferase (AST). The search for the establishment of parameters that relate to each other is a determining factor in understanding the physiological changes found on athletic horses in effort. Thus, this study aimed to determine how the blood concentrations of magnesium ion and the enzymatic activities of the enzymes CK, LDH and AST behave in Arabian finalist horses in endurance races of 90km and to relate possible changes to the type of physical effort played by animals. There were used 14 clinically healthy Arabian horses, 9 males and 5 females, with ages ranging from 6 to 12 years, undergoing endurance training and participants in regional championship of the Federação Hípica of Brasília in 90 km distance rides. One can observe that all variables evaluated had an increase in relation to rest, also verifying that all had statistical differences. Thus, in activities involving physical exercise, it is suggested that, among other factors, differences in the enzymatic activities of CK, LDH, AST and the concentrations magnesium ion during exercise in relation to rest may be coming from a change of permeability due to an initial inflammatory process. The analyzed data serve as a warning to veterinarians who work with horses in endurance races to prevent possible muscle damage and severe inflammatory processes.

Keywords: equine athlete, equestrian endurance, hydroelectrolytic balance, striated skeletal muscle, exercise.

CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I.1 O equino atleta, a fisiologia do exercício e sua relação com a musculatura estriada esquelética

Em detrimento da utilização dos equinos como ferramenta primordial de trabalho na Europa e nos Estados Unidos e ao crescente destaque e interesse nos diferentes esportes equestres, os estudos sobre fisiologia do exercício se expandiram (EVANS, 2000).

Juntamente com o desenvolvimento tecnológico, a evolução da medicina esportiva em equinos no mundo apresentou aumento considerável nos últimos 20 anos com a implantação de laboratórios especializados sendo possível desenvolver e estabelecer, atualmente, complexas interações entre os sistemas musculoesquelético, neuroendócrino, respiratório e cardiovascular, possibilitando a obtenção do máximo desempenho atlético (FERRAZ, 2006).

O equino atleta moderno é utilizado em atividades esportivas diversas, as quais requerem desempenho superior em razão das exigências competitivas cada vez maiores. Por isso, através de um treinamento rigoroso e frequentemente incorreto, os equinos são submetidos ao estresse, nem sempre obtendo resultados desejados e aumentando, com isso, o aparecimento de patologias e lesões relacionadas às atividades esportivas (RESENDE, 2005).

Segundo McKeever et al. (1999), a habilidade atlética é determinada por quatro fatores principais: genética, ambiente, saúde e treinamento dos quais, após as influências genéticas, o treinamento seria o mais importante para determinar o sucesso esportivo do equino atleta.

A realização do treinamento e de provas por parte dos cavalos de enduro equestre deve obedecer a padrões de acompanhamento, uma vez que estes animais podem sofrer alterações metabólicas extremas. Devido a este fato, destaca-se a importância do controle veterinário que prima pela preservação da vida, saúde e bem-estar do cavalo. Em levantamento realizado com equinos participando de provas de enduro, determinou-se que de 7117 largadas, apenas 50% dos competidores conseguiram terminar as provas e outros 30% foram eliminados, sendo 63% por claudicações, 37% por problemas metabólicos e os 20% restantes por outros motivos (BURGER e DOLLINGER, 1998).

As principais lesões nesta espécie estão relacionadas aos aparelhos cardiorrespiratório e locomotor tornando necessária a utilização de marcadores clínico-laboratoriais na prevenção e tratamento das lesões (DIAS, 2008).

De acordo com Resende (2005), a modalidade de trabalho do cavalo atleta geralmente determina e estabelece os grupos musculares mais envolvidos sendo os músculos glúteos e lombares frequentemente afetados em animais de salto, adestramento e cavalos de sela, já o Mangalarga Marchador, além destes grupos, desenvolve frequentes lesões musculares em membros tórácicos. O Quarto de milha, por sua vez, é acometido por afecções nos músculos semimembranoso e o semitendinoso. Enquanto cavalos de enduro, que são exercitados por períodos prolongados podem apresentar maior número e diversidade de músculos afetados por afecções (RESENDE, 2005).

Para Silveira (2005), nos últimos anos, tem sido dada muita importância as lesões relacionadas com o metabolismo oxidativo devido à geração de radicais livres que tem sido incriminado na fisiopatologia de diversas enfermidades dos equinos visto que conforme cita Jiménez et al. (2005) a maioria dos radicais livres é extremamente reativa, altamente tóxica e capaz de reagir com diversas moléculas orgânicas tais como lipídeos, proteínas, além de ácidos nucleicos.

Durante a atividade física há um aumento no consumo de oxigênio molecular com consequente aumento na produção de radicais livres (KINUNNEN et al., 2005), por isso, o exercício tem sido associado ao aparecimento e desenvolvimento de enfermidades de cavalos atletas relacionados ao estresse oxidativo (MOFFARTS et al, 2005).

As lesões oxidativas podem ocorrer quando há excesso de produção de radicais livres e ou quando os sistemas antioxidantes celulares se tornam ineficazes no controle e eliminação destas substâncias (SILVEIRA, 2005). Sendo identificado como estresse oxidativo, justamente, o desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a defesa gerada pelos antioxidantes (URSO e CLARKSON, 2003).

A relação entre estresse oxidativo e as alterações hematológicas oriundas do exercício que promovem injúrias dos componentes sanguíneos tem sido alvo de estudo devido à sua importância no desenvolvimento de patologias que geram comprometimento da higidez e do desempenho atlético em equinos (WHITE et al., 2001; KINUNEN et al., 2005). Entre as lesões relacionadas com a atividade física e o estresse oxidativo estão aquelas que envolvem o tecido muscular esquelético e a

utilização de marcadores da lesão muscular, tais como, as atividades das enzimas creatino quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH) (HARRIS e MAYTHEW, 1998).

Mills et al. (1997) citam que a musculatura esquelética é particularmente sensível a injúria oxidativa devida à alta exposição ao oxigênio e a alta proporção de ácidos graxos livres em suas biomembranas, podendo esse processo ser responsável pelo aumento da atividade enzimática de CK e AST.

I.2 O enduro e as trocas de fluídos e eletrólitos

O enduro é considerado uma atividade esportiva predominantemente aeróbica, de intensidade variável e esforço prolongado (DINIZ, 2006) no qual dentre as funções fisiológicas durante as provas, há a termorregulação corporal que nos equinos é mantida por meio da sudorese (CARLSON, 1985).

Boffi et al. (2003) observaram que em equinos participantes de provas de enduro de até 160 km, a energia utilizada foi gerada pela via aeróbica em aproximadamente 94% dos casos, a uma frequência cardíaca máxima de 150 a 160 batimentos por minuto.

A perda de calor por parte dos animais é de extrema importância, pois segundo Marlin e Nankervis (2002) a conversão da energia química armazenada em energia mecânica durante o esforço é relativamente ineficiente no cavalo sendo 20% transformada em movimento e 80% liberada na forma de calor.

Em geral, as trocas de fluidos e eletrólitos que ocorrem no exercício de longa duração e baixa intensidade são similares ao que ocorre durante o exercício de alta intensidade, porém com menor magnitude. Ao contrário do exercício de alta intensidade, durante o exercício prolongado a perda progressiva de fluidos e eletrólitos (através da pele, pulmões ou pelo rim) são uma ameaça muito maior para a manutenção dos fluidos corpóreos e homeostasia (SCHOTT e HINCHCLIFF, 1993), podendo chegar, segundo Flaminio et al. (1996) a ser de 10 a 15 litros por hora.

Portanto, as perdas ocorrem de forma mais lenta durante o exercício de longa duração, mas são mais elevadas nesse tipo de exercício (ECKER, 1995), confirmado por Coenen (2005) quando observou que equinos praticantes de exercícios de curta duração e alta intensidade, especialmente em condições climáticas de temperatura e umidade elevadas apresentam menores perdas de fluidos.

Uma particularidade dos exercícios de alta intensidade se refere ao aumento da concentração de adrenalina no sangue produzindo com isso, suor mais diluído em comparação aos exercícios de longa duração e de baixa intensidade.

Em relação à osmolaridade do plasma, o cavalo apresenta um suor hipertônico em relação a maioria dos íons (FLAMINIO e RUSH, 1998). Grandes quantidades de íons sódio, potássio e cloro e pequenas quantidades de íons magnésio e cálcio são perdidas no suor equino (Di FILIPPO et al., 2009) sendo que em exercícios prolongados, o suor resulta em perda de fluido e eletrólito tanto do compartimento extracelular como do intracelular (FLAMINIO e RUSH, 1998).

Os eletrólitos apresentam várias funções no organismo animal sendo a principal, a de manutenção das forças osmóticas para o equilíbrio de líquidos entre os compartimentos intra e extracelulares. Na célula, os eletrólitos atuam na condução nervosa e despolarização de fibras musculares, tornando possível a contração muscular (FAN et al., 1994).

I.3 O íon magnésio e suas funções no organismo animal

Conforme Cardoso (2006), o íon magnésio é um constituinte importante de ossos, dentes, membrana celular e cromossomos, além disso, Lukaski (2004) cita o mesmo como um mineral importante em várias reações celulares, participando de quase todas as ações anabólicas e catabólicas sendo que cerca de 300 sistemas enzimáticos são dependentes da presença de magnésio. Algumas destas atividades incluem a glicólise e o metabolismo protéico e lipídico. Em adição, o íon está envolvido em numerosos processos que afetam a função muscular incluindo o consumo de oxigênio, a produção de energia e o balanço eletrolítico.

Tem como principal função estabilizar a estrutura de ATP no músculo e em outros tecidos moles constituindo substrato para as enzimas que utilizam ATP e do complexo Mg-ATP. Outros papéis importantes desempenhados pelo mineral seriam: a participação no metabolismo de cálcio, potássio, fósforo, zinco, cobre, sódio, ácido clorídrico, acetilcolina, óxido nítrico, para enzimas, na homeostasia intracelular e para ativação da tiamina. Quanto à fisiologia muscular, por ser considerado como "bloqueador natural do canal de cálcio", pois quando há ausência do mesmo, o cálcio intracelular eleva-se podendo resultar em câimbras musculares, hipertensão e vasoespasmos coronarianos e cerebrais (COZZOLINO, 2005).

De acordo com Nielsen e Lukaski (2006) a relação entre o magnésio e o exercício físico tem recebido uma atenção significativa visto que o efeito do exercício sobre a utilização e requisitos de magnésio e a relação da deficiência de magnésio e da suplementação sobre o desempenho no exercício tem sido avaliadas numerosas vezes (Mc DONALD e KEEN, 1988; LUKASKI, 2001).

Em suma, a importância do magnésio se deve tanto a geração de energia aeróbia quanto anaeróbia, seja como complexo Mg-ATP, ou como um cofator enzimático (FOOD AND NUTRITION BOARD, 1997).

Para Bohl e Volpe (2002), durante a atividade física o magnésio é redistribuído no organismo. O tipo de exercício e o seu estado nutricional influenciam a natureza desta redistribuição. Os autores supracitados afirmam ainda que, em exercícios de alta intensidade e curto prazo, a concentração sérica de magnésio aumenta temporariamente em 5 a 15%, retornando ao normal dentro de 24 horas, sendo este aumento associado ainda com a diminuição no volume plasmático.

Publicações recentes, da medicina, também citaram, que em exercícios físicos moderados (80 km com duração de 18hs) (STENDIG-LINDBERG et al., 1999) houve aumento da concentração de magnésio no soro sanguíneo.

Em estudos realizados desde o final da década passada até o presente momento, a perda de massa muscular estaria relacionada ao aumento de magnésio sérico logo após o exercício (NIELSEN e LUKASKI, 2006) com isso, ao invés da diminuição do volume plasmático, a ruptura de fibras musculares foi sugerida como a causa do aumento da concentração de magnésio sérico encontrada no pós exercício (STENDIG-LINDBERG et al., 1999) sendo esta sugestão conforme Stendig-Lindberg et al. (1989) suportada pela constatação de um pequeno aumento concomitante dos níveis séricos da enzima creatino quinase (STENDIG-LINDBERG et al., 1989). Outro possível contribuinte para o aumento sérico ou plasmático do íon magnésio consiste na transferência deste do músculo para o fluido extracelular durante a contração.

Independentemente da natureza do efeito, a mudança de magnésio extracelular aparentemente reflete que o corpo está respondendo ao exercício, redistribuindo o íon magnésio para os locais com aumento de necessidade metabólica, bem como para a produção de energia e combate ao estresse oxidativo (BOHL e VOLPE, 2002). O magnésio transfere-se do soro em direção aos adipócitos e a musculatura esquelética ativa durante a atividade física (Figura 1A). Logo após o exercício aeróbio, ocorre redistribuição do magnésio dos tecidos para a circulação (Figura 1B). O grau de dano

muscular, que gira em função da intensidade e duração da atividade realizada, é um fator na liberação de magnésio do músculo esquelético. Apesar dos mecanismos de reabsorção tubular amenizarem as perdas de magnésio pela urina, a excreção de magnésio urinário após o exercício fica aumentada em relação à anterior ao exercício (NIELSEN e LUKASKI, 2006).

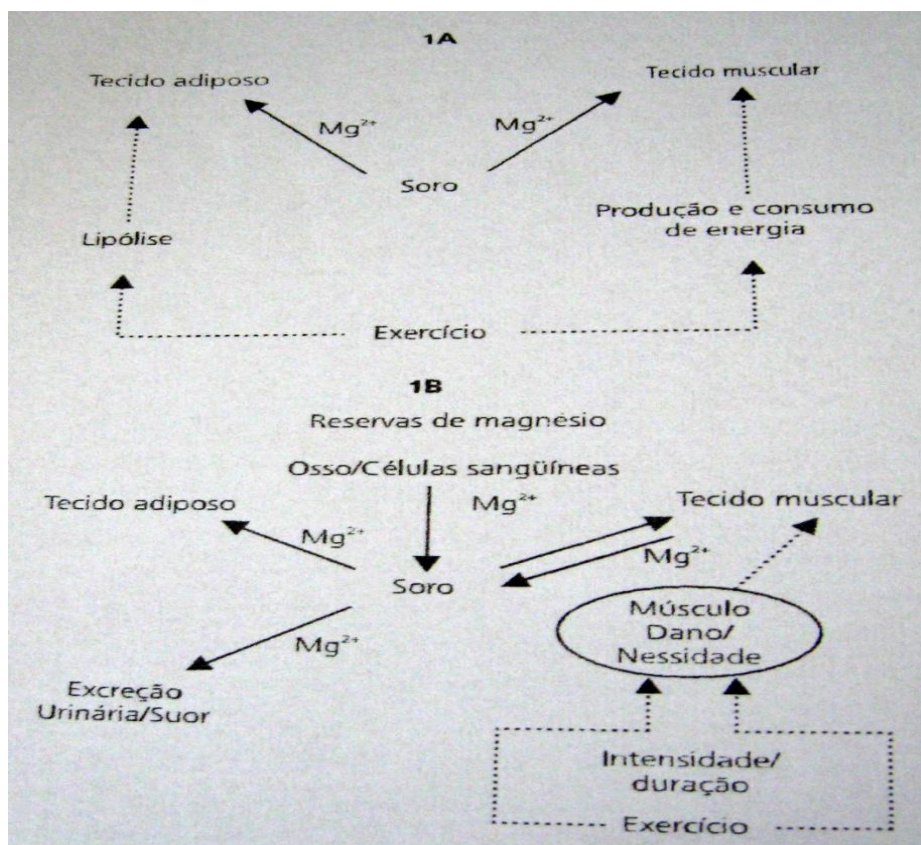


Figura 1: Fluxo do magnésio durante e após atividade física (AMORIM e TIRAPEGUI, 2008).

A importância da perda de magnésio interferindo na performance durante o enduro foi parcialmente abordada por Lewis (1995) o qual mencionou que o magnésio juntamente com o íon cálcio parece estar envolvido na patogênese da síndrome de exaustão do cavalo, flutter diafragmático sincrônico e cólica. Além disso, foi constatado por Freedman et al. (1992) que a deficiência de magnésio deixa as membranas celulares mais permeáveis que em grandes proporções é um ponto chave nas alterações celulares que ocorrem na deficiência de magnésio (ASTIER et al., 1996).

Na carência deste íon foi observada maior atividade de canais de íon Ca^{2+} nas membranas do retículo sarcoplasmático, aumentando a saída do íon para o sarcoplasma,

e, conseqüentemente, a sua concentração intracelular (BRILLA e LOMBARDI, 1995). Esse aumento do íon cálcio intracelular, ativa a enzima fosfolipase A₂ que libera ácido araquidônico a partir de fosfolipídios (SCHNEIDER e OLIVEIRA, 2004).

Em adição, a deficiência deste íon também está associada a um aumento da produção de óxido nítrico e a ocorrência de infiltração celular por células polimorfonucleares sendo assim a resposta inflamatória potencializada, o que sugere a existência de um ciclo vicioso entre este, inflamação e estresse oxidativo, que, durante o exercício físico, traduz-se em lesões musculares (AMORIM et al., 2007). O grau de dano muscular é um fator importante na liberação de magnésio do músculo esquelético (NIELSEN et al., 2006).

Estudos realizados em roedores têm demonstrado que a restrição dietética de Mg²⁺ está relacionada a um aumento da resposta imune (inflamação) (WOLF et al 2003) além disso, em outra pesquisa conduzida por Bussièrre et al (2002), em ratos deficientes de Mg²⁺ foram encontrados altos níveis de interleucina 6 (IL-6), sendo esta citocina a principal estimuladora da produção da maioria das proteínas da fase aguda da resposta imune.

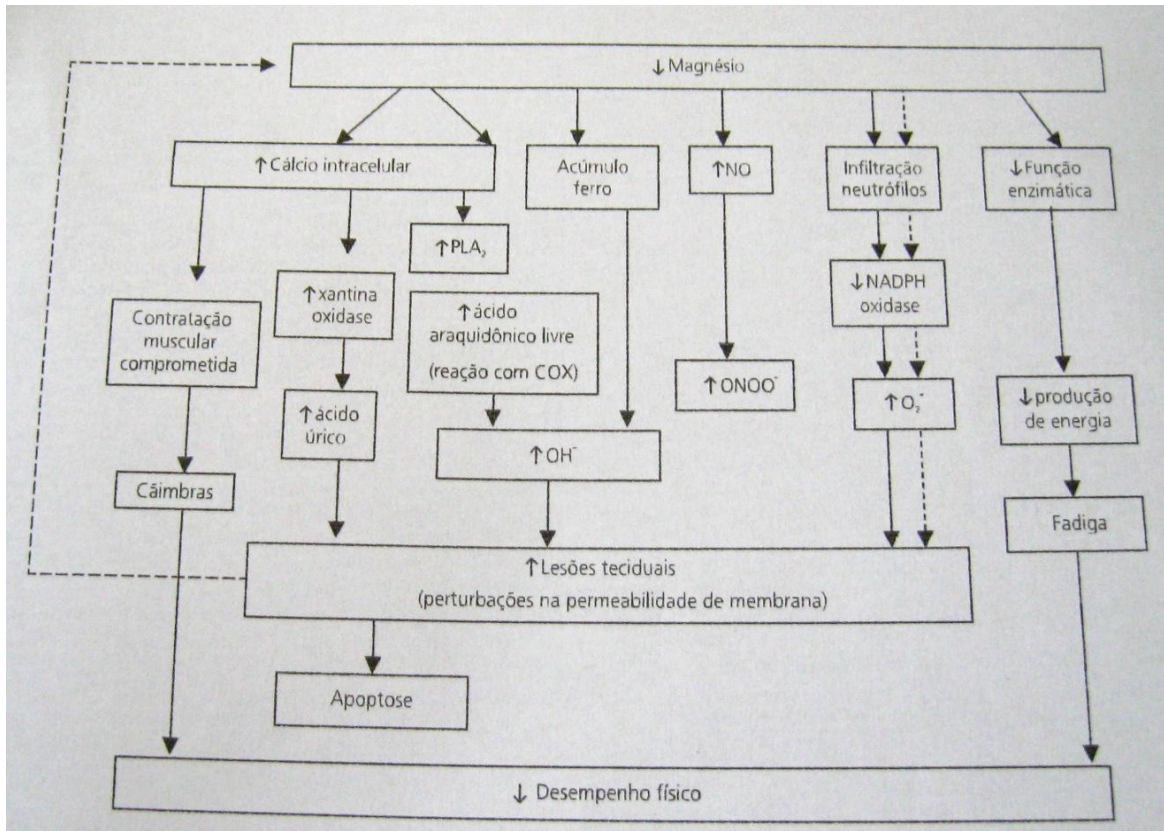


Figura 2: Possíveis mecanismos pelos quais o estresse oxidativo induzido pela deficiência de magnésio prejudica o desempenho físico. NO : óxido nítrico, O₂⁻: radical superóxido, ONOO⁻ : peroxinitrito, OH⁻ : radical hidroxil, COX : ciclooxigenase, PLA₂: prostaglandina A₂ (AMORIM e TIRAPEGUI, 2008).

I.4 As atividades enzimáticas das enzimas aspartato aminotransferase (AST), creatino quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH)

Segundo Harris e Mayhew (1998) dentre as principais estratégias para a detecção e acompanhamento clínico de lesões musculares, destaca-se a avaliação da atividade de enzimas marcadoras de injúria muscular no soro ou plasma. Mudanças nas atividades dessas enzimas no plasma podem ocorrer por várias razões como: alterações na permeabilidade da membrana celular, necrose celular, bloqueio ou diminuição na excreção da enzima, aumento da síntese e diminuição da sua produção. Na maior parte das vezes, não há diminuição na taxa de eliminação e sim, aumento do influxo para o plasma que causa alterações detectáveis, devido a defeitos principalmente na integridade da membrana que contém a enzima, sendo assim, detectadas em maiores concentrações no sangue. Dentre estas enzimas, observa-se que o aumento das atividades enzimáticas das enzimas creatino quinase (CK), a aspartato aminotransferase (AST) e a lactato desidrogenase (LDH) são usadas para detectar lesões musculares (KANEKO et al., 1997) embora esta última seja menos específica para avaliação de alterações do tecido muscular (HODGSON e ROSE, 1994).

Em cavalos, as lesões musculares possuem vários fatores predisponentes, como o aquecimento insuficiente do animal antes da atividade física, as claudicações, o exercício extremo e o treinamento inadequado (SNOW e VALBERG, 1994).

A maioria dos cavalos apresenta valores normais das atividades enzimáticas das enzimas musculares no momento da lesão e, por isso, podem ser interpretados como animais falso negativos para a lesão muscular (ART et al., 2002).

A enzima creatino quinase (CK) é a mais fidedigna quando se pensa na indicação de lesão muscular (KANEKO et al., 1997). Essa enzima catalisa a fosforilação da adenosina difosfato (ADP) do fosfato de creatina, tornando a adenosina trifosfato (ATP) disponível para a contração muscular (SILVA, et al., 2007), sendo encontrada principalmente no músculo esquelético, miocárdio e cérebro (ARGIROUDIS et al., 1982).

O pico de atividade da enzima CK no equino gira em torno de 3 a 6 horas (THOMASSIAN et al., 2007) e de acordo com Harris e Mayhew (1998) como não há uma troca significativa dessa enzima entre o fluido cerebrospinal e o sangue, os aumentos significativos na atividade plasmática total da CK constituem injúrias que afetam diretamente a musculatura esquelética ou cardíaca.

O aumento da atividade sérica da CK indica se a necrose muscular é ativa ou se ocorreu recentemente; já o persistente aumento de CK indica que a necrose muscular continua ativa. (SILVA et al, 2007).

A enzima aspartato aminotransferase (AST), que catalisa a transaminação de L-aspartato e alfacetoglutarato em oxalacetato e glutamato, é encontrada em quase todos os tecidos e devido a isso, sua atividade sérica não é específica, porém o músculo e o fígado podem ser considerados as maiores fontes (SILVA, et al., 2007). O pico de atividade enzimática costuma ser em torno de 12 a 24 horas (THOMASSIAN et al., 2007).

A enzima lactato desidrogenase (LDH) catalisa a reação reversível de L-lactato para piruvato (SILVA et al., 2007) é formada por um conjunto de peptídeos que geram cinco isoenzimas, entretanto, diferentes tecidos contêm concentrações variadas de isoenzimas de LDH, o que permite a separação por eletroforese para a caracterização de cada tecido e identificação de lesões, sendo que o treinamento físico pode afetar a proporção de isoenzimas de LDH na musculatura esquelética (HARRIS e MAYHEW, 1998).

É encontrada, como citado anteriormente, na maioria dos tecidos e em maior quantidade na musculatura esquelética, considerada assim como a AST, uma enzima não específica (SIGHIERI et al., 1985), apresentando pico de atividade enzimática de cerca de 24 horas (THOMASSIAN et al., 2007).

De acordo com Ribeiro et al. (2004) durante uma prova de resistência em trilha previamente demarcada de 76km de extensão, no Pantanal de Mato Grosso, com velocidade de 6-8 km/h com duração de dois dias (38 km/dia) na qual se utilizaram 15 equinos, de raças distintas e 5 muares, as concentrações séricas de LDH, tanto em equinos como em muares, apresentaram acentuada queda no início do segundo dia de prova. Ao término da prova, as concentrações séricas eram similares àquelas observadas no primeiro dia. A grande variação nos valores de LDH descritos na literatura (OOSTERBAAN et al., 1991) talvez seja devido à menor especificidade desta enzima e situações que ocorram durante as provas de resistência.

Valores elevados nas atividades de CK e AST indicam lesões musculares, pois têm sido observados em enfermidades como a rabdomiólise (HODGSON e ROSE, 1994).

De acordo com Da Cás et al. (2000), mediante análise de 60 amostras de soro de animais da raça Crioula, puderam verificar que a CK e AST são mais informativas e

elucidativas quando da avaliação da função muscular comparativamente à LDH. Embora a CK seja mais específica como indicativo de necrose muscular do que a AST, a determinação simultânea de AST e CK em equinos representa valioso potencial diagnóstico e prognóstico, em razão das diferentes taxas de retorno a níveis basais de suas atividades no soro ou no plasma. Em outro estudo realizado por Leal et al. (2006) em equinos submetidos à orquiectomia houve aumento significativo das atividades enzimáticas da CK, AST e LDH.

Em suma, fazendo-se uma correlação com os manuscritos citados anteriormente, o exercício prolongado em cavalos que participam de provas de enduro pode levar a um aumento do estresse oxidativo resultando em lesão, fadiga muscular e diminuição do desempenho atlético (KINNUNEN et al., 2005) assim, micro lesões nas fibras musculares podem ocorrer devido ao exercício, acarretando alterações na permeabilidade das miofibrilas e extravasamento enzimático. Logo, um aumento sérico nas atividades destas enzimas tem relação direta com uma alteração de permeabilidade nas miofibrilas. Além disso, pela enzima CK ser mais específica, ou seja, quase não é encontrada em outros tecidos, pode-se perceber o quão a musculatura estriada esquelética pode ter sido lesionada pela grande diferença dos valores da atividade enzimática no pré e pós- exercício.

CAPÍTULO II: O ÍON MAGNÉSIO E SUA RELAÇÃO COM AS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS DAS ENZIMAS MUSCULARES CREATINO QUINASE, ASPARTATO AMINOTRANSFERASE E LACTATO DESIDROGENASE EM EQUINOS PURO SANGUE ÁRABE FINALISTAS DE PROVAS DE ENDURO DE 90KM

II.1 Introdução

Os equinos atletas são intensamente solicitados nas atividades esportivas, sendo expostos a longos períodos de treinamento com intensidades variadas e pequenos intervalos de repouso. Além disso, participam de competições em que velocidade e resistência são fatores de grande importância, pela alta exigência fisiológica, o que promove um desgaste físico exacerbado (JACKSON, 1997).

Desde a década de 60, as determinações do hemograma e dos exames bioquímicos tornaram-se fundamentais na avaliação do equino atleta (CORRÊA et al., 2010). Normalmente, estes animais possuem aptidão física e são submetidos a programas nutricionais e de treinamentos que visam aprimorar o seu desempenho, entretanto, anormalidades como anemia, hipoproteinemia e deficiências vitamínicas e minerais podem influenciar no desempenho destes animais (HODGSON e ROSE, 1994).

O magnésio constitui um mineral essencial e cofator para mais de 400 reações enzimáticas tendo como principais atividades o controle da atividade neuronal e da excitabilidade cardíaca, a transmissão neuromuscular, a contração muscular, o tonus vasomotor, a pressão arterial além de outras (ALTURA, 1991).

Segundo Woods et al. (1992) na medicina humana, devido as funções do magnésio serem consideradas críticas nos eventos celulares este ion tem atraído o interesse dos cientistas com pesquisas em exercicios físicos e cardiologistas.

Quanto às enzimas, as de maior uso na avaliação do sistema muscular esquelético no equino são a aspartato aminotransferase (AST), a creatino quinase (CK) e a lactato desidrogenase (LDH) sendo por esse motivo utilizadas para detectar lesões musculares (KANEKO et al., 1997).

A busca pelo estabelecimento de parâmetros que se relacionam entre si é um fator determinante no entendimento de alterações fisiológicas encontradas diante do esforço para equinos atletas. Desta forma o trabalho em questão teve como objetivo

determinar como as concentrações sanguíneas do íon magnésio e das atividades enzimáticas das enzimas musculares creatino quinase, aspartato aminotransferase e lactato desidrogenase comportam-se em equinos Puro Sangue Árabe finalistas de provas de enduro de 90km, visando ainda relacionar as possíveis alterações com o tipo de esforço físico desempenhado pelos animais.

II.2 Materiais e métodos

O presente trabalho foi devidamente avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília sob o protocolo UnB DOC nº 111.913/2009. No trabalho em questão, foram utilizados 14 equinos, clinicamente hígidos sendo; 9 machos e 5 fêmeas, da raça Puro Sangue Árabe, com idades variando entre 6 a 12 anos, submetidos a treinamento para enduro e participantes de campeonato regional da Federação Hípica de Brasília, em quatro provas de 90 km.

As coletas de sangue venoso para análise hematológica e bioquímica foram realizadas através de venopunção da veia jugular direita (Figura 3), com tubos BD Vacutainer® com e sem anticoagulante sendo imediatamente identificadas (Figura 4) e depositadas em recipiente com gelo e água por um período máximo de quatro horas até seu processamento sendo uma coleta da amostra no repouso (T0) e outra imediatamente após exercício prolongado de enduro (TF). A avaliação no T0 teve como base os animais no próprio haras, em dias previamente estabelecidos, aproximadamente uma semana antes da prova de enduro, evitando-se que os animais fossem exercitados, sendo realizado exame clínico completo e mensuração do peso corpóreo por meio da balança MGR 3000 Toledo. A avaliação no TF ocorreu no local de realização da prova, ao término do último anel da competição, cinco minutos após a inspeção veterinária oficial (vet-check).

Os dados obtidos para o íon magnésio e as atividades enzimáticas das enzimas musculares CK, AST e LDH foram submetidos ao teste “U” de Mann-Whitney visando identificar a ocorrência de diferença estatística entre os parâmetros no TF em relação ao T0, com nível de significância de 5%, já os valores quantitativos do peso, hematócrito e proteína plasmática total foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Sminorv e posteriormente ao teste “T” de Student, com nível de significância de 5%.

O hematócrito e a proteína plasmática total foram quantificados por meio do emprego de contador automático de células (Abacus Junior Vet. Diatron – São Paulo, SP, Brasil). Vale ainda ressaltar que a higidez foi comprovada por avaliação clínica e hematológica através da realização de hemograma completo e testes bioquímicos empregando analisador semi-automático (Bio 2000 – Bio plus, São Paulo, SP, Brasil) e ainda fazendo uso do conjunto de reagentes (Labtest – Sistema de Diagnósticos Ltda – Belo Horizonte, MG, Brasil) realizados no Medicalvet Laboratório Veterinário S.A.



Figura 3: Venopunção da veia jugular direita em equino finalista.



Figura 4: Frascos para análise hematológica e bioquímica identificados.

II.3 Resultados e discussão

O enduro equestre é um dos sete esportes hípicos regulamentados pela FEI – Federação Equestre Internacional, sendo, o esporte que mais cresce em número de eventos por ano e já ocupa a terceira posição. Trata-se de uma corrida de longa distância, com o percurso, denominado trilha atingindo 160 km em sua versão mais longa. A trilha é separada em anéis (etapas), cada um medindo entre 15 e 40 km. No meio destes, existem os pontos de apoio no qual, é feito o resfriamento dos cavalos assim como a administração de eletrólitos e suplementos. Ao final de cada anel há um controle veterinário oficial (o "vet-check") (Figura 5) (DUMONT, 2011) onde animais claudicantes, com frequência cardíaca acima de 64 bpm, ou mesmo aqueles que apresentam distúrbios metabólicos são eliminados da prova.

Vale ressaltar que antes de passar pelo vet-check o animal é “resfriado”, ou seja, os participantes jogam água no corpo do animal, principalmente nos pontos de grandes vasos para auxiliar na termorregulação do mesmo (Figura 6), pois já foi demonstrado que o acúmulo excessivo de calor tem efeito deletério no desempenho da atividade física (GEOR e McCUTCHEON, 1998).

Como as quatro provas foram realizadas em épocas do ano diferentes os animais acabaram se deparando com condições climáticas diversas sendo a termorregulação afetada por esse fator.



Figura 5: Exame clínico de um animal participante da prova de enduro no vet-check.



Figura 6: Animal sendo “resfriado” após completar um anel em prova de enduro.

Recentemente, visando atingir melhoras nos programas de treinamento e obter maior rendimento e condicionamento dos animais, vem-se aprimorando as pesquisas na área de hematologia veterinária (OROZCO, 2006).

Como resultados da avaliação clínica e hematológica, foram observados os seguintes valores, no repouso (T0) e após o exercício (TF) respectivamente: frequência cardíaca (FC), $34,71 \pm 3,50$ bpm e $51,78 \pm 6,08$ bpm; temperatura retal, $36,9 \pm 0,4^\circ\text{C}$ e $38,0 \pm 0,6^\circ\text{C}$; peso, $377,00 \pm 23,64\text{kg}$ e $369,85 \pm 26,63\text{kg}$; hematócrito, $37,29 \pm 3,29\%$ e $45,9 \pm 7,08\%$; proteína plasmática total, $7,10 \pm 0,24$ g/dL e $7,60 \pm 0,59$ g/dL; plaquetas, $156.714,29 \pm 38.698,89/\text{mm}^3$ e $202.000 \pm 45.802,30/\text{mm}^3$; leucócitos $8.712,86 \pm 1.616,54/\text{mm}^3$ e $14.971,43 \pm 2.297,30/\text{mm}^3$. Comprovando-se assim a higidez dos animais empregados no presente estudo.

A aferição da frequência cardíaca é um dos testes mais simples a ser executado e de grande valia durante o exercício físico em equinos atletas, pois visa quantificar a intensidade do trabalho, monitorar condicionamento físico e, assim, analisar o efeito do exercício físico sobre o sistema cardiovascular (THOMASSIAN, 2007) apresentando uma relação linear com o exercício de intensidade crescente (TRILK et al., 2002) assim, é esperado que a frequência cardíaca aumente durante o exercício, em resposta a atividade simpática devido à liberação de catecolaminas, que irão aumentar significativamente o volume sistólico e por sua vez o débito cardíaco, melhorando significativamente a oxigenação tecidual (CAIADO, 2010) o que corrobora com o encontrado neste trabalho, sendo possível observar um aumento de aproximadamente 33% da FC do TF em relação ao T0 devido as intensidades de exercício as quais os animais foram submetidos nas provas de enduro sendo em muitas situações expostos a velocidade de até 20km/h nos anéis. Antes dos animais passarem ao vet-check para exame clínico alguns chegavam a 100 bpm ao passo que outros chegavam com a frequência cardíaca em torno de 64 bpm, essa diferença pode ser devida ao treinamento e capacidade de adaptação de alguns animais frente a outros.

Em relação à temperatura, para Flaminio et al. (1996) o trabalho contínuo e o movimento vão promover um aumento de 3 a 4°C na temperatura corpórea, visto que aproximadamente 70 a 80% da produção de energia será eliminada na forma de calor. Desta forma foi possível observar neste trabalho um aumento de aproximadamente 2,9% da temperatura corporal nos animais avaliados.

Além disso, seguindo a citação do mesmo autor de que a forma mais eficiente para a dissipação do calor é através do suor o que resulta em grande perda de fluídos e eletrólitos foi possível observar uma perda de peso corpóreo de aproximadamente 2,2%, com diferença estatística ($p < 0,05$) entre T0 e TF, coincidindo com achados de FILHO et al (2007) e estando próximo ao valor encontrado por SCHOTT et al. (1997) em cavalos que haviam realizado provas de 80 e 160km de distância, com perdas de 3 ou 4% e de Dusterdieck et al. (1999), simulando provas de 60km em esteira, também com perdas de 3%. Essa diminuição e perda de peso indicariam um processo de desidratação, visto que, para Kingston et al. (1997), a mensuração da perda de peso corporal seria uma forma confiável de se estimar a perda de fluidos por meio do suor em equinos submetidos a exercícios prolongados.

De acordo com achados de Dumont (2011) o percentual reduzido de peso corpóreo encontrado no presente trabalho indicaria que o exercício realizado não

produziu maiores perdas ou ainda que devido a uma suplementação com pastas eletrolíticas durante os anéis da prova os animais acabaram repondo parte dos fluídos perdidos por meio da sudorese o que corrobora com Schott II et al. (1999) e Teixeira Neto et al. (2004) que fizeram menção ao fornecimento de eletrólitos em forma de pasta hipertônica o qual atenuaria as perdas de peso corpóreo por induzir o aumento do consumo voluntário de água.

Em relação ao hematócrito (Ht) foi observado aumento de 18,8% no TF em relação ao T0 com diferença estatística ($p < 0,05$) no trabalho em questão corroborando com achados de Teixeira Neto et al. (2004) também em avaliações durante competições de enduro.

A explicação para esse fenômeno fisiológico decorrente do exercício pode estar relacionada como cita Caldeira et al. (2005) à contração esplênica, sendo que, após a realização do mesmo e durante o período de recuperação o baço readquire o volume de hemácias que foi liberado para a circulação sanguínea (RUBIO et al., 1995) ou como relata Kingston (2004) devido as perdas substanciais de fluidos durante competições de enduro resultando com isso na redução do volume plasmático, sendo a contração esplênica relacionada para este autor a exercícios de alta intensidade e curta duração.

Segundo Flaminio (1998) o aumento na concentração da proteína plasmática é um indicador preciso da desidratação sendo mais seguro que o hematócrito, pois o mesmo pode estar afetado pela contração esplênica que acontece durante o exercício. Assim, modificações nas concentrações especialmente de albuminas, globulinas e fibrinogênio, podem ocorrer em consequência do exercício (BAYLY e KLINE, 2006).

Em equinos de enduro, há um aumento em torno de 25% deste parâmetro, devido às perdas de líquidos corporais no suor, efeito reversível uma vez que o animal seja hidratado ou ingira água. Entretanto, em cavalos de corrida, este aumento seria de, no máximo, até 15% (BAYLY e KLINE, 2006).

Neste estudo, embora a concentração de proteína plasmática total não tenha apresentado aumento significativo visto que como cita Hodgson e Rose (1994) os valores fisiológicos se encontram entre 5,5 – 7,5 g/dL, foi observada diferença estatística entre os parâmetros ($p < 0,05$) no TF em relação ao T0 corroborando com os dados de Teixeira Neto et al. (2004) e Filho et al. (2007). Possivelmente os valores se mantiveram dentro da normalidade pelo percentual reduzido de perda de peso corpóreo, ou seja, os equinos deste estudo não apresentaram um grau de desidratação significativo se comparados aos estudos de Schott et al. (1997) e Dusterdieck et al. (1999)

provavelmente devido a suplementação a base de pastas eletrolíticas durante as provas de enduro.

Com relação ao leucograma foi observado leucocitose por neutrofilia e linfopenia o que pode ser explicado por Santos (2006) que citou que a resposta hematológica frente ao exercício físico é consequência dos níveis plasmáticos aumentados de cortisol, decorrente do estresse estando correlacionada com a concentração de adrenalina, velocidade e frequência cardíaca do animal. O exercício provoca aumento transitório da concentração plasmática de catecolaminas, ACTH e cortisol em resposta a estimulação do eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal, visto que as catecolaminas promovem mobilização de eritrócitos e linfócitos provenientes do baço enquanto o ACTH e cortisol estimulam a produção de neutrófilos e migração de granulócitos para os tecidos. A contagem de leucócitos pode aumentar entre 10 e 30% dependendo da intensidade e duração do exercício.

Em complemento, Thrall et al. (2007) elucida que o estresse fisiológico, se deve, principalmente a desidratação e dor tendo como alteração principal a linfopenia, pois, os esteróides podem induzir a morte programada de linfócitos e alterações no seu padrão de recirculação. Além disso, a duplicação da população de neutrófilos circulantes não havendo desvio a esquerda, a menos que haja uma doença inflamatória simultânea foi considerada a segunda alteração.

Quadros de leucocitose com neutrofilia foram detectados em equinos após exercício por Robson et al. (2003) e Krumrych (2006) sendo que o último autor considera a atividade física como fator estressante responsável pelo aumento do número de leucócitos.

Numerosos estudos demonstram aumento transitório dos leucócitos após o exercício (OROZCO et al., 2006; FERRAZ et al., 2009). Este aumento pode ser chamado de pseudoleucocitose, visto que não há produção de novas células (resultante do aumento da secreção de adrenalina) (HOROHOV et al. 1996).

No presente trabalho foi observado aumento de 22,4% das plaquetas no TF em relação ao T0. Segundo Kestin et al. (1993) como anteriormente observado nos homens, as plaquetas mostram um aumento estatisticamente significativo após uma corrida, mas nem sempre retornam aos níveis de repouso no prazo de 60 min após a corrida. Isto pode ser devido a diferentes cargas de trabalho, como foi possível constatar que a reatividade plaquetária de equinos é alterada pelo exercício,

mas os efeitos do exercício na função plaquetária são controversos e mais investigações devem ser realizadas a fim de obter uma melhor compreensão dessas modificações.

Em relação ao íon magnésio e as atividades enzimáticas das enzimas musculares obteve-se o seguinte quadro para equinos PSA finalistas de provas de enduro de 90 km, em repouso e após exercício.

Quadro 1: Representação dos valores obtidos para equinos PSA finalistas de provas de enduro de 90 km, em repouso e após exercício.

| Parâmetros | Repouso (T0) | Pós-exercício (TF) |
|-----------------------------|----------------|--------------------|
| Íon Magnésio (mg/dL) | 1,98 ± 0,31 | 2,4± 0,44* |
| Enzima AST (UI/L) | 313,91 ± 67,48 | 455,17± 88,87* |
| Enzima CK (UI/L) | 179,98± 57,01 | 1046,35± 104,76* |
| Enzima LDH (UI/L) | 403,01± 109,41 | 679,31±163,05* |

Valores seguidos de * na mesma linha representam diferença estatística ($p < 0,05$) a partir da aplicação do teste “U” de Mann-Whitney. Enzimas musculares: aspartato aminotransferase (AST), enzima creatino quinase (CK), enzima lactato desidrogenase (LDH).

Diante da análise dos dados dos equinos finalistas de provas de enduro de 90 km pode-se observar que todas as variáveis avaliadas sofreram aumento significativo em relação ao repouso (Quadro 1).

Os efeitos do exercício sobre a atividade das enzimas musculares do plasma dependem diretamente do tipo de trabalho do animal, da intensidade, da duração e do ambiente (ANDERSON, 1976). Segundo Santos (2002), podem ocorrer mudanças na atividade sérica das enzimas musculares por diversas razões como por: alteração na permeabilidade da membrana celular, depuração diminuída, síntese reduzida ou aumentada ou por necrose celular.

Geralmente discretos aumentos dessas enzimas após o exercício não estão associados com a lesão dos miócitos, mas sim com o aumento da permeabilidade da membrana desta célula. Porém, caso haja lesão em nível ultraestrutural durante o exercício, um aumento marcante na concentração dessas enzimas seria observado, de

maneira que, a avaliação da magnitude e do tempo de curso dessas alterações auxiliaria identificar o tipo da lesão muscular (SANTOS, 2002).

Neste contexto em equinos, as lesões a nível muscular possuem vários fatores predisponentes, como o aquecimento insuficiente do animal antes da atividade física, claudicações, exercício extremo e o treinamento inadequado (SNOW e VALBERG, 1994).

A atividade sérica de AST no T0 foi de $313,91 \pm 67,48$ UI/L o que está de acordo com Hodgson e Rose (1994) que observaram valores entre 150 a 400 UI/L e Cardinet III (1997), valores entre 226 a 366 UI/L em contraposição, Toledo et al (2001) relataram valores entre 178,9 a 215,2 UI/L de cavalos no repouso, Meyer et al (1995) entre 35 e 100UI/L e Fernandes (1994), $132,2 \pm 8,8$ UI/L em cavalos da raça Árabe antes de provas de enduro. A elevação significativa da atividade sérica da AST observada logo após o término do exercício foi associada ao processo fisiológico de transferência de fluido do espaço intravascular para o espaço extravascular, observado durante o exercício máximo e, conseqüentemente, resultando em maior atividade enzimática desta enzima por diminuição do volume plasmático (HODGSON e ROSE, 1994).

Os valores referentes à atividade enzimática da enzima CK dependem imensamente da duração e do tipo de esforço (OVERGAARD et al., 2004). Quanto a atividade sérica de CK no T0 foi notado neste trabalho o valor de $179,98 \pm 57,01$ UI/L o que está de acordo com Hodgson e Rose (1994) que relataram valores entre 100 a 300 UI/L sendo que valores menores foram relatados por Meyer et al (1995) (86 e 140UI/L), Fernandes (1994) (84,29 UI/L) nos cavalos árabes e Toledo et al. (2001) que observaram valores de 66,5 a 81,3 UI/L.

Observou-se que o valor da atividade enzimática da enzima LDH neste trabalho foi de $403,01 \pm 109,41$ UI/L apresentando discrepância com valores encontrados por Toledo et al. (2001) de 167 a 190,9 UI/L para cavalos PSI em repouso. Porém, de acordo com Thomassian et al. (2007), valores mais elevados de LDH, como foi encontrado neste trabalho, podem estar relacionados ao grupo de animais utilizados e suas respectivas características que podem interferir na atividade das enzimas musculares visto que Toledo et al. (2001) utilizaram equinos da raça PSI no estudo além disso, a controversa nos valores do presente trabalho para com o estudo de Toledo et al. (2001) pode ter ocorrido devido a falta de especificidade desta enzima a qual pode ser encontrada na maioria dos tecidos principalmente no fígado, nos músculos, eritrócitos, células intestinais e tecido renal (SIGHIERI et al., 1985).

Em adição, Oosterbaan et al. (1991), citou que estados não patológicos também podem causar elevação na atividade tanto da AST quanto da LDH, assim como os métodos de coleta das amostras, método de processamento e equipamento utilizado para a determinação da atividade enzimática podem justificar essa discrepância entre os achados do trabalho e de Toledo et al., (2001).

Foi possível observar, no presente estudo, que houve aumento de atividade enzimática principalmente relacionado à enzima CK a qual apresentou um acréscimo de aproximadamente 83% em relação ao T0. A enzima CK como dita anteriormente constitui-se a mais específica em relação ao tecido muscular sendo de acordo com Harris e Mayhew (1998) o aumento de sua atividade plasmática intimamente relacionada a injúria muscular esquelética ou cardíaca. Foram observados aumentos das atividades enzimáticas em relação às enzimas LDH de aproximadamente 41% e AST de 31% no TF em relação ao T0, porém devido às mesmas serem enzimas não específicas (HODGSON e ROSE, 1994) visto que são encontradas em vários tecidos não apresentam tanta importância quando comparada a CK.

Fazendo uma análise do percentual dos aumentos das atividades enzimáticas das enzimas supracitadas pode-se observar que as que se elevaram mais foram CK e LDH, isso se deve a localização destas enzimas a nível celular visto que conforme Thomassian et al. (2007) como a CK e a LDH estão localizadas no citossol celular quando há alteração de permeabilidade ou grau de lesão muscular as mesmas extravasam diretamente, já a AST como está localizada dentro das mitocôndrias, para haver um aumento de atividade desta enzima deverá haver lesão a nível mitocondrial, por este motivo, Harris e Mayhew (1998) e Overgaard et al. (2004) citam que as enzimas CK ou LDH, liberadas no sangue, são indicadores de perda de integridade do sarcolema, cuja extensão de resposta pode estar relacionada a inúmeros fatores, dentre eles a distância percorrida pelo animal.

Fazendo-se uma associação entre atividade física e consumo de oxigênio molecular, Kinunnen et al. (2005) citaram que o exercício gerou um aumento do consumo do mesmo com conseqüente aumento da produção de radicais livres e Moffarts et al (2005) complementaram que a atividade física tem estado associada ao aparecimento e desenvolvimento de enfermidades de cavalos atletas relacionadas ao estresse oxidativo. Além disso, Halliwell (2006) cita que a atividade física aumenta tanto a produção de radicais livres como a utilização de antioxidantes e que a deficiência dietética de antioxidantes e outras substâncias essenciais podem causar

estresse oxidativo visto que, Clanton et al. (1999) citam que durante o exercício físico, tanto a atividade aeróbica quanto anaeróbica podem aumentar respectivamente 20 e 50 vezes o consumo energético do tecido muscular.

Os radicais livres de oxigênio levam a perda de integridade da membrana e a diminuição de funções celulares por meio da peroxidação de lipídeos poliinsaturados (ARABADJIS et al., 1993), seguida de inativação enzimática e elevação de cálcio ionizado (Ca^{2+}), que, por sua vez, ativa vários processos degradativos nas células musculares durante o trabalho (MALIS e BOVENTRE 1988).

Enfim entende-se que o aumento da produção de radicais livres devido ao consumo de oxigênio pode gerar perda de integridade da membrana o que justifica o aumento das atividades enzimáticas das enzimas CK, AST e LDH, porém, não pode ser afirmado se houve ou não estresse oxidativo nestes animais.

Sugere-se que a permanência destes animais entre os finalistas em detrimento do grupo dos desclassificados seja devido ao estresse oxidativo apresentado pelos últimos. Entretanto, corroborando Urso e Clarkson (2003), o procedimento mais adequado para a avaliação de estresse oxidativo corresponderia à realização de mais de um método devido à complexidade deste fenômeno.

Além disso, pode-se inferir que descartando afecções a nível metabólico e relacionadas a claudicações que podem ter desclassificado alguns animais das provas e observando a citação de McArdle et al. (2002) de que com um treinamento físico regular, as células musculares se adaptam a um eventual incremento na produção de radicais livres com melhora da ação dos mecanismos de proteção reduzindo assim o surgimento de lesões sugere-se que de fato o treinamento constituiu um fator decisivo à classificação de alguns animais em relação a outros.

Em relação ao íon magnésio foi observado neste estudo que houve um aumento de 17,5% em relação ao repouso apresentando diferença estatística. Em humanos, Bohl e Volpe (2002) citaram que exercícios de alta intensidade e de curta duração aumentaram a concentração sérica do íon magnésio em 5% a 15%, a pequena discrepância encontrada neste estudo em relação ao dos autores acima mencionados pode ter relação com a espécie alvo e o tipo de exercício.

Inicialmente devido à intensa sudorese apresentada pelos equinos de provas de enduro, poder-se-ia esperar que houvesse uma diminuição do valor do mesmo, pois segundo Hinchcliff et al. (2008), o magnésio é encontrado em maior quantidade no suor (5 mEq/L) do que no plasma e fluido intersticial (1,1 mEq/L). Desta forma o exercício



levaria a uma intensa perda de suor e com isso este íon seria eliminado, podendo, em casos extremos, levar o animal a hipomagneseemia (FLAMINIO e RUSH, 1998). De outra forma deve ser ressaltado que o magnésio é um íon de extrema importância na contração muscular sendo a célula muscular, o local de maior concentração de íons magnésio (34 mEq/L) em relação ao plasma (1,1 mEq/L) (HINCHCLIFF et al, 2008).

Logo, com o aumento do esforço durante uma prova de enduro, por exemplo, pode-se sugerir a deflagração de um processo inflamatório inicial nas células musculares com conseqüente alteração de permeabilidade assim, o íon magnésio diminuiria a concentração nas células musculares e aumentaria a mesma a nível sérico, corroborando os dados obtidos para os animais deste estudo. Esta suposição foi de encontro com a de Nielsen e Lukaski (2006) os quais citaram que a perda de massa muscular seria correspondente ao aumento do magnésio sérico logo após o exercício e que o grau de dano muscular, que por sua vez é uma função da intensidade e duração da atividade realizada, é um fator importante na liberação do magnésio do músculo esquelético.

A redistribuição do magnésio entre o compartimento extra e intracelular durante o exercício físico tem sido relatada (CORDOVA, 1992). Atualmente, entende-se que o exercício pode provocar alterações associadas na homeostase do magnésio, contribuindo assim para a mudança de status imune após o mesmo (LAIRES e MONTEIRO, 2001).

Na atividade física, em humanos, a deficiência de magnésio está positivamente correlacionada ao aumento da peroxidação lipídica e à diminuição da atividade antioxidante (NIELSEN e LUKASKI, 2006), promovendo o aumento da produção de radicais livres, levando assim a alterações nas membranas celulares e ao aumento na concentração de cálcio intracelular. A ação conjunta desses mecanismos facilitaria a suscetibilidade a lesões prejudicando o desempenho, além disso, a resposta inflamatória estaria aumentada na deficiência de magnésio, sugerindo a existência de um ciclo vicioso entre este, inflamação e estresse oxidativo, que, no desempenho físico, traduz-se em lesões musculares mais sérias (AMORIM e TIRAPEGUI, 2008).

Existem algumas semelhanças entre a resposta inflamatória causada pela deficiência de magnésio e alterações induzidas pelo exercício na função imune. Por um lado, uma série de investigações têm demonstrado que a deficiência de magnésio esteve associada a um estado de ativação de células imunológicas (MOOREN et al., 2005).

Exercícios exaustivos induzem a ativação do sistema imune, indicado pelo aumento na contagem de granulócitos e uma linfopenia pós-exercício. Além disso, o

peptídeo quimiotático induzido pela passagem de cálcio celular foi reforçado no pós-exercício, enquanto o estresse oxidativo e a fagocitose foram diminuídos. Estes resultados sugerem que o magnésio é um importante modulador da função das células imunes em condições *in vitro*. No entanto, uma suplementação de magnésio parece ser incapaz de impedir qualquer alteração associada ao exercício na função de células imunológicas em atletas com o status do magnésio equilibrado (MOOREN et al., 2005).

Segundo Rayssiguier et al. (1993) e Rock et al. (1995) em estudos com roedores, a deficiência de magnésio reforça a formação de espécies reativas de oxigênio e peroxidação lipídica. Os níveis de citocinas como a interleucina 6, que orquestram a resposta inflamatória são reforçadas em ratos com deficiência de magnésio (WEGLICKI et al., 1992). Além disso, exemplos de respostas exacerbadas a bactérias de vida e fator de ativação plaquetária foram demonstrados em ratos com deficiência de magnésio (MALPUECH-BRUGERE et al., 1998).

Em suma, fazendo-se uma correlação com os textos supracitados, devido à atividade física, há um processo inflamatório inicial o que faz com que as membranas celulares tornem-se mais permeáveis e o íon magnésio que se encontra em maior concentração no meio intracelular extravase ao meio extracelular, como o mesmo é considerado o bloqueador natural dos canais de cálcio, sua saída acaba ocasionando aumento de cálcio intracelular.

Como o íon magnésio é considerado um modulador da resposta imune, sua carência acarretará em última instância um aumento das proteínas de fase aguda na circulação acarretando um aumento da resposta inflamatória, além disso, em se tratando de um cofator participante de mecanismos antioxidantes, que atua a nível muscular, é extremamente importante se for levado em consideração que o exercício físico leva ao consumo de oxigênio e assim ao aumento de radicais livres os quais estão relacionados ao surgimento de afecções nos cavalos atletas.

Quanto se pensa em íons deve ser ressaltado também que a maioria das trocas entre os mesmos se dá por diferenças de concentração (HINCHCLIFF et al., 2008), assim, pode-se pensar que o aumento sérico do íon magnésio teve uma relação com a intensa compensação plasmática, visto que grande quantidade de íons magnésio foram perdidos pela sudorese, ou seja, apresentaram sua concentração diminuída a nível sérico.

Além disso, pode-se destacar também que o uso de eletrolíticos antes dos anéis das provas de enduro e nos intervalos entre os mesmos, ou seja, a suplementação de vários eletrólitos pode levar a um aumento da concentração deste íon a nível plasmático imediatamente após a prova, porém essa hipótese pode ser deixada em segundo plano se for levada em consideração a intensa perda de íons durante uma prova devido à sudorese, por mais suplementado que o animal seja esse mecanismo, por si só, não conseguiria aumentar a concentração plasmática dos íons magnésio servindo simplesmente como um mecanismo complementar.

No presente trabalho houve diferença estatística evidenciada entre os valores do íon magnésio e das atividades enzimáticas das enzimas AST, CK e LDH no repouso e pós exercício. Indicando assim um possível processo inflamatório inicial durante o exercício sendo que seus aumentos poderiam servir conseqüentemente como alerta de uma possível lesão muscular advindo de exercícios prolongados, assim como, de exercícios associados a altas velocidades.

II.4 Conclusão

A metodologia utilizada no presente trabalho foi considerada eficiente e de simples emprego, podendo assim ser utilizada pelos médicos veterinários que acompanham os animais em provas de enduro como mecanismo de controle e prevenção de lesões musculares severas. Podendo ainda auxiliar no acompanhamento do animal e atuando efetivamente no programa de treinamento, determinando assim o estabelecimento de parâmetros quantitativos. Subsidiando ainda a possibilidade do emprego de suplementação de eletrólitos antes e após a prova.

As atividades enzimáticas das enzimas AST, LDH e CK e a concentração do íon magnésio apresentaram aumento no pós-exercício em comparação ao repouso sendo assim dados quantitativos que poderiam ser facilmente empregáveis em equinos PSA finalistas de provas de enduro.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O combate aos radicais livres a partir de mecanismos antioxidantes tem sido cada vez maior fonte de pesquisas e discussão. Neste ponto o magnésio constitui um íon que vem se destacando principalmente na medicina humana, pois além de ser um cofator importante nos processos antioxidantes, sua deficiência está diretamente relacionada à inflamação e a baixa atividade do sistema imune. Logo, pensando-se em exercício físico e especificadamente neste estudo, provas de enduro, como foi sugerido aumento com diferença estatística da concentração sérica do íon magnésio e das atividades enzimáticas das enzimas musculares entre repouso e pós-exercício, devido à além de outros fatores, alteração de permeabilidade advinda de um processo inflamatório inicial pode-se pensar que esses aumentos podem servir de alerta para prevenir os equinos participantes das provas de enduro de possíveis danos musculares e processos inflamatórios mais severos acompanhados, por exemplo, de câimbras musculares caso, procedimentos médicos veterinários como suplementação a base de eletrólitos, repouso e esquemas de treinamentos não forem adaptados a cada animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTURA, B.M. **Basic biochemistry and physiology of magnesium: A brief review.** Magnesium and Trace Elements v.10, p. 167-171, 1991.

AMORIM, A.G.; PIRES, I.S.O.; TIRAPEQUI, J. **Indicators of oxidative stress in rats submitted to physical training and to a magnesium-deficient diet.** Proceedings of the 54th Annual Meeting of the American College of Sports Medicine; 2007 Jun; New Orleans, USA; 2007. Med Sci Sports Exerc. v.39, Supl 1, p.292, 2007.

AMORIM, A.G.; TIRAPEGUI, J. **Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio** Rev. Nutr., Campinas v.21, n.5, p. 563-575, 2008.

ANDERSON, M.G. **The effect of exercise on the lactic dehydrogenase and creatine kinase isoenzyme composition of horse.** Res. Vet. Sci. v.20, n.2, p.191-196, 1976.

ARABADJIS, P.G.; TULLSON, P.C.; TERJUNG, R.L. **Purine nucleoside formation in rat skeletal muscle fiber types.** Am. J. Physiol., Baltimore, v. 264, p. 1246-1251, 1993.

ARGIROUDIS, S.A.; KENT, J.E.; BLACMORE D.J. **Observations of the isoenzymes of creatina kinase in equine serum and tissues.** Equine Vet. J. v.14, p. 317-321, 1982.

ART, T.; AMORY, H.; LEKEUX, P. **Affections Musculaires et Intolerance à l'Effort.** Pathogénie et Approche Diagnostique. Pratique Vétérinaire Equine, v. 32, p. 59-64, 2002.

ASTIER, C; ROCK, E; LAB, C; GUEUX, E; MAZUR, A; RAYSSIGUIER, Y. **Functional alterations in sarcoplasmic reticulum membranes of magnesium-deficient rat skeletal muscle as consequences of free radicalmediated process.** Free Rad Biol Med. v.20, n.5, p. 667-74, 1996.

BAYLY, W.M.; KLINE, K.A. **Hematología y bioquímica.** In: BOFFI, F.M. Fisiología del ejercicio en equinos. Buenos Aires: Inter-médica. Cap. 10, p. 145-151, 2006.

BOFFI, F.M.; CITTAR, J.; MURIEL, M.; BALSUS, G. **Comparación entre velocidad, frecuencia cardiaca y consumo de oxígeno en equinos SPC.** In: CONFERENCIAS INTERNACIONALES DE CABALLOS DE DEPORTE, Curitiba, Brasil. 2003.

BOHL, C.H.; VOLPE, S.L. **Magnesium and exercise.** Grit Ver Food Sci Nutr. v.42, p. 533-563, 2002.

BRILLA, L.R.; LOMBARDI, V.P. **Magnesium in sports physiology and performance.** In: Wolinski I, Driskell A, editors. Sports nutrition: minerals and electrolytes. Boca Raton: CRC Press, 1995.

BURGER, D.; DOLLINGER, S. **Raisons d'elimination, etat de santé et carrier sportive des chevaux dans les raids d'endurance en Europe et dans les pays arabes: aproche statistique.** Practice Veterinary Equine, v.30, p. 91-97, 1998.

BUSSIÈRE, F.I.; GUEUX, E.; ROCK, E.; GIRARDEAU, J.P.; TRIDON, A.; MAZUR, A.; RAYSSIGUIER, Y. **Increased phagocytosis and production of reactive oxygen species by neutrophils during magnesium deficiency in rats and inhibition by high magnesium concentration.** Br J Nutr. v. 87, n. 2, p. 107-13, 2002.

CAIADO, J.C.C. **Lactacidemia e concentrações séricas de aspartato aminotransferase e creatinoquinase em equinos da raça quarto de milha usados em provas de laço dupla.** Tese de Mestrado, Centro Universitário Vila Velha, Vila Velha, ES. 56p., 2010.

CALDEIRA, D.; ROCHA, R.; ALBERTI, L. **Influência da esplenectomia na capacidade física de ratos.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter., v.27, p.34-40, 2005.

CARDINET III, G.H. **Skeletal Muscle Function.** In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical biochemistry of domestic animals. San Diego: Academic Press. p. 426-429, 1997.

CARDOSO, M.A. **Nutrição Humana: Nutrição e Metabolismo.** II.Série. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan S.A. Cap. 15, p. 237, 2006.

CARLSON, G.P. **Medical problems associated with protracted heat and work stress in horses.** Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. v.7, p.542-550, 1985.

CLANTON, T.L.; ZUO, L.; KLAWITTER, P. **Oxidants and skeletal muscle function: physiologic and pathophysiologic implications.** Proc Soc Exp Biol Med. v.222, n.3, p. 253-62, 1999.

COENEN, M. **Exercise and stress: impact on adaptive processes involving water and electrolytes.** Livest. Prod. Sci., v.92, p.131-145, 2005.

CORDOVA, A. **Changes on plasmatic and erythrocytic magnesium levels after high intensity exercises in men.** Physiol Behav. v.52, p. 819-821, 1992.

CORRÊA, K.S.; MATTOSO, C.R.S; SILVA, C.F.G.K.T.; LAGOS, M.S.; TAKAHIRA, R.K.; LOPES, R.S. **Enzimas musculares e eletrólitos em equinos submetidos a esforço físico prolongado, suplementados com acetato de tocoferol e selênio.** Vet e Zootec. v.17, n.1, p. 85-93, 2010.

COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes.** Barueri: Ed Manole, Cap. 22, p. 459, 2005.

DA CÁS, E.L.; ROSAURO, A.C.; SILVA, C.A.M. **Concentração sérica das enzimas creatino quinase, aspartato aminotransferase e hidrogenase láctica em equinos da raça crioula.** Cien. Rural, v.30, p. 625-629, 2000.

Di FILIPPO, P.A.; GOMIDE, L.M.W.; OROZCO, C,A,G.; SILVA, M.A.G.; MARTINS, C.B.; LACERDA NETO, J.C.; SANTANA, A.E. **Alterações**

hemogasométricas e eletrolíticas de cavalos da raça árabe durante prova de enduro de 60 km. *Ciência Animal Brasileira*, v. 10, n. 3, p. 840-846, 2009.

DIAS, D.C.R. **Influencia do exercício e da suplementação com vitamina E e selênio sobre o hemograma, atividade de enzimas marcadoras de lesão muscular e índice de peroxidação de biomoléculas em cavalos de hipismo clássico submetidos a provas de salto.** Tese de mestrado. Universidade Federal da Bahia. Salvador, BA. 119p., 2008.

DINIZ, M.P. **Perfil eletrocardiográfico de equinos de salto criados em São Paulo.** Tese de Mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP. 135p, 2006.

DUMONT, C.B.S. **Determinação de parâmetros eletrocardiográficos, hidroeletrólíticos e do equilíbrio ácido base em equinos puro sangue árabe submetidos a exercício de enduro.** Tese de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, DF. 115p., 2011.

DUSTERDIECK, K.F.; SCHOTT II, H.C.; EBERHART, S.W.; WOODY, K.A.; COENEN, M. **Electrolyte and glycerol supplementation improve water intake by horses performing a simulated 60 km endurance ride.** *Equine Vet. J. New Market*, 30, p. 418-424, 1999.

ECKER, G.L. **Fluid and Ion regulation: a primer on water and ion losses during exercise.** *Eq. Vet. Education*. v.7, n.4, p. 210-214, 1995.

EVANS, D.L. **Training and fitness in athletic horses.** Sydney: RIRDC, p.64, 2000.

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

FERNANDES, W.R. **Alterações dos Parâmetros do Eletrocardiograma e da Crase Sanguínea em Equinos das Raças Árabe e Mangalarga, bem como Mestiços, submetidos à Prova de Enduro.** Tese de doutorado Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 73p., 1994.

FERRAZ, G.C. **Respostas endócrinas, metabólicas, cardíacas e hematológicas de equinos submetidos ao exercício intenso e à administração de cafeína, aminofilina e clenbuterol.** Tese de doutorado - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP. 111p., 2006.

FERRAZ, G.C.; TEIXEIRA NETO, A.R.; D'ANGELIS, F.H.F.; LACERDA NETO, J.C.; QUEIROZ NETO A. **Alterações hematológicas e cardíacas em cavalos Árabes submetidos ao teste de esforço crescente em esteira rolante.** *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* v.46, n.6, p.431-437, 2009.

FILHO, J.N.P.P.; NETO, T.L.B.; RODRIGUES, P.H.M.; GARCIA, H.P.L. **Parâmetros fisiológicos do desempenho de cavalos de alta performance hidratados voluntariamente com água ou solução isotônica contendo carboidrato.** *Brazilian*

Journal of Veterinary Research animal Science., São Paulo, v. 44, n. 2, p. 122-131, 2007.

FLAMÍNIO, M.J.B.; RUSH, B.R. **Fluid and electrolyte balance in endurance horses.** Vet. Clin. North Am. Equine Pract., Philadelphia, v. 14, p. 147-158, 1998.

FLAMINIO, M.J.B.M.; GAUGHAN, E.M.; GILLESPIE, J.R. **Exercise Intolerance in Endurance Horses.** Vet. Clin. Of North Am. Eq. Pract. v.12, n.3, p.565-578, 1996.

FOOD AND NUTRITION BOARD, Institute of Medicine. **Dietary references intakes of calcium, magnesium, phosphorus, vitamin D, and fluoride.** Washington (DC): National Academy Press, 448p., 1997.

FREEDMAN, A.M.; MAK, I.T.; STAFFORD, R.E.; DICKENS, B.F.; CASSIDY, M.M.; MUESING, R.A. **Erythrocytes from magnesium-deficient hamsters display an enhanced susceptibility to oxidative stress.** Am J Physiol. v.262, n.6, p. 1371-1375, 1992.

GEOR, R.J.; McCUTCHEON, L.J. **Hydration effects on physiological strain of horses during exercise- heat stress.** J. Appl. Physiol. v.84, n.6, p. 2042-2051, 1998.

HALLIWELL, B. **Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life.** Plant Physiol. v.141, n.3, p. 312-22, 2006.

HARRIS, P.A.; MAYHEW, I.G. **Musculoskeletal disease.** In: REED, S.M.; BAYLY, W.M. (eds.) Equine Internal Medicine, Philadelphia: W.B. Saunders, p. 371-426, 1998.

HINCHCLIFF, K.W.; GEOR, R.J.; KANEPS, A.J. **Equine Exercise Physiology** Saunders Elsevier, p.328-349, 2008.

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

HOROHOV, D.W.; KEADLE, T.L.; POURCIAU, S.S.; LITTLEFIELD-CHABAUD, M.A.; KAMERLING, S.G.; KEOWEN, M.L.; FRENCH, D.D.; MELROSE, P.A. **Mechanism of exercise-induced augmentation of lymphokine activated killer (LAK) cell activity in the horse.** Vet. Immunol. Immunopathol. v.53, n.3-4, p. 221-233, 1996.

JACKSON, S.G. **Trace minerals for the performance horse: known biochemical roles and estimates of requirements.** Continuing Education, v.50, p. 668-674, 1997.

JIMÉNEZ, M.H.; CERRILLA, M.E.O.; PERALTA, M.C.; HARO, J.G.H., DÍAZCRUZ, A.; PERRUSQUÍA, R.G. **Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos.** Interciencia, v. 30, n.12, p. 728-734, 2005.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals.** 5 ed. San Diego: Academic Press, p. 932, 1997.

KESTIN, A.S.; VALERI, C.R.; KURI, S.F. **The platelet function defect of cardiopulmonary bypass.** Blood. v.82, n.1, p. 107-117, 1993.

KINGSTON, J.K.; GEOR, R.J.; McCUTCHEON, L.J. **Rate and composition of sweat fluid losses are unaltered by hypohydration during prolonged exercise in horses.** J. Appl. Physiol. v.83, p. 1133-1143, 1997.

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. Saunders, p. 939-948, 2004.

KINNUNEN, S.; HYYPPÄ, S.; LAPPALAINEN, J.; OKSALA, N.; VENOJÄRVI, M.; NAKAO, C.; HÄNNINEN, O.; SEN, C. K.; ATALAY, M. **Exercise-induced oxidative stress and muscle stress protein responses in trotters.** European Journal of Applied Physiology, v. 93, n. 4, p. 496-501, 2005.

KRUMRYCH, W. **Variability of clinical and haematological indices in the course of training exercise in jumping horses.** Bull. Vet. Inst. Pulawy v.50, p. 391-396, 2006.

LAIRES, M.J.; MONTEIRO, C. **Magnesium status: Influence on the regulation of exercise-induced oxidative stress and immune function in athletes.** In: Advances in Magnesium Research, eds Rayssiguier Y, Mazur A, Durlach J. Eastleigh: John Libbey. p. 433-441, 2001.

LEAL, B.B.; ALVES, G.E.S.; ROSCOE, M.P.; PAGLIOSA, G.M.; FARIA, E.P.; LIMA, J.T.M.; FALEIROS, R.R.; MARVAL, C.A.D. **Efeitos terapêuticos de um composto à base de vitamina E e selênio em equinos submetidos a orquiectomia em condições de campo.** A Hora Veterinária, v. 26, n.153, p. 21-24, 2006.

LEWIS, L.D. **Feeding and care of horses for athletic performance.** Equine Clinical Nutrition: Feeding and care, Media, Philadelphia: Williams e Wilkins, p. 239-281, 1995.

LUKASKI, H.C. **Magnesium, zinc, and chromium nutrition and athletic performance.** Can J Appl Physiol n.26 , p.13-22, 2001.

LUKASKI, H.C. **Vitamin and mineral status: effects on physical performance.** Nutrition. v.20, n.7-8, p.632-644, 2004.

MALIS, C.D.; BOVENTRE, J.V. **Susceptibility of mitochondrial membranes to calcium and reactive oxygen species: implications for ischemic and toxic tissue damage.** Progress Clin. Biol. Res., v. 282, p. 235-259, 1988.

MALPUECH-BRUGERE, C.; ROCK, E.; ASTIER, C.; NOWACKI, W.; MAZUR, A.; RAYSSIGUIER, Y. **Exacerbated immune stress response during experimental magnesium deficiency results from abnormal cell calcium homeostasis.** Life Sci. v.63, p. 1815-1822, 1998.

MARLIN D.; NANKERVIS, K. **Equine exercise physiology** Blackwell Publishing, Oxford, Reino Unido, 2002.

McARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. **Fundamentos de fisiologia do exercício**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 98-119, 188-198, 266-297, 366-386, 2002.

McDONALD, R.; KEEN, C.L. **Iron, zinc and magnesium nutrition and athletic performance**. Sports Med. v.5, p. 171- 184, 1988.

McKEEVER, K.H.; AGANS, J.M.; GEISER, S.; SCALI, R.; GUIRNALDA, P.D.; KEARNS, C.F.; LORIMER, P.J. **Effect of recombinant erythropoietin administration on red cell volume, aerobic capacity and indices of performance in Standardbred horses** In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 16, North Carolina, p. 163-167, 1999.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Exames Laboratoriais e Enzimologia Clínica**. In: Medicina de laboratório veterinária. São Paulo: Roca, p. 9, 1995.

MILLS, P.C.; SMITH, N.C.; HARRIS, R.C.; HARRIS, P. **Effect of allopurinol on the formation of reactive oxygen species during intense exercise in the horse**. Research in Veterinary Science, v.62, p. 11-16, 1997.

MOFFARTS, B.; KIRSCHVINK, N.; ART, T.; PINCEMAIL, J.; LEKEUX, P. **Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidants status in trained thoroughbred horses**. The Veterinary Journal, v.169, n.1, p. 65-74, 2005.

MOOREN, F.C.; GOLF, S.W.; VOLKER, L.K. **Alterations of ionized Mg⁺² in human blood after exercise**. Life science, v.77, p. 1211-1225, 2005.

NIELSEN, F.H.; LUKASKI, H.C. **Update on the relationship between magnesium and exercise**. Magnes Res. v.19, n.3, p.180-189, 2006.

NIELSEN, F.H.; MILNE, D.B.; KLEVAY, L.M.; GALLAGHER, S.; JOHNSON, L. **Dietary magnesium deficiency induces heart rhythm changes, impairs glucose tolerance, and decreases serum cholesterol in post menopausal women**. J Am Coll Nutr. 2006.

OOSTERBAAN, M.M.S.O.; WENSING, T.; BARNEVELD, A. **Heart rate, blood biochemistry and performance of horse competing in a 100 km endurance ride**. Veterinary Record, London, v.128, n.8, p. 175-179 , 1991.

OROZCO, C.A.G.; MARTINS, C.B.; D'ANGELIS, F.H.F.; FREITAS, E.V.V.; CHRISTOVÃO, F.G.; QUEIROZ NETO, A; LACERDA NETO, J.C. **Efeito do exercício sobre variáveis hematológicas de equinos antes e após participação em prova de enduro de 40 km**. Ars Vet. v.22, n.3, p. 179-183, 2006.

OVERGAARD, K.; FREDSTED, A.; HYLDAL, A.; INGEMANN-HANSEN, T.; GISSEL, H.; CLAUSEN, T. **Effects of running distance and training on Ca²⁺**

content and damage in human muscle. Med. Sci. Sports e Exerc., Hagerstown, v. 36, n.5, p.821-829, 2004.

RAYSSIGUIER, Y.; GUEUX, E.; BUSSIÈRE, L.; DURLACH, J.; MAZUR, A. **Dietary magnesium affects susceptibility of lipoproteins and tissues to peroxidation in rats.** J Am Coll Nutr. v.12, p. 133-137, 1993.

RESENDE, A.M. **Miosites no cavalo atleta.** Anais do II Simpósio Internacional do Cavalo Atleta. IV Semana do Cavalo. Belo Horizonte . Universidade Federal de Minas Gerais, p. 56-75, 2005.

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

ROBSON, P.J.; ALSTON, T.D.; MYBURGH, K.H. **Prolonged suppression of the innate immune system in the horse following an 80 km endurance race.** Equine Vet. J. v.35, n.2, p. 133-137, 2003.

ROCK, E.; ASTIER, C.; LAB, C.; VIGNON, X.; GUEUX, E.; MOTTA, C.; RAYSSIGUIER, Y. **Dietary magnesium deficiency in rats enhances free radical production in skeletal muscle.** J Nutr. v.125, p. 1205-1210, 1995.

RUBIO, M.D.; MUÑOZ, A.; SANTISTEBAN, R. **Comparative hematological study of two breeds of foals (Andalusian and Arab) subjected to exercise of progressive intensity.** J. Vet. Med. Sci., v.57, p.311-315, 1995.

SANTOS, S.A.; CRISPIM, S.M.A.; SOARES, A.C.; MAURO, R.A.; PEREIRA, M.; SERENO, J.R.B. **Grazing patterns of pantaneiro horses. An element of adaptability to the pantanal região, Brazil.** Instituto de Zootecnia Facultad de Veterinaria. Servicio de Publicaciones. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. 14014 Córdoba, España. Archivos de Zootecnia v. 51, n. 193-194, p. 129-138, 2002.

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

SCHNEIDER, C.D.; OLIVEIRA, A.R. **Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de adaptação ao treinamento físico.** Rev Bras Med Esp. v.10, n.4, p. 308-13, 2004.

SCHOTT II, H.C.; DÜSTERDIECK, K.F.; EBERHART, S.W.; WOODY, K.A.; REFSAL, K.R.; COENEN, M. **Effects of electrolyte and glycerol supplementation on recovery from endurance exercise.** Equine Exercise Physiology 5. Equine Veterinary Journal Supplement, Newmarket, v. 30, p. 384-393, 1999.

SCHOTT, H.C.; McGLADE, K.S.; MOLANDER, H.A.; LEROUX, A.P.; HINES, M.T. **Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses during and after recovery from 50- and 100-mile endurance rides.** Am. J. Vet. Res. v.58, p. 303-309, 1997.

SCOTT, H.C.; HINCHLIFF, K.W. **Fluids, Electrolytes, and Bicarbonate.** Vet. Clin. of North Am. Eq. Pract. v.9, n.3, p. 577-604, 1993.

SIGHIERI, C.; LONGA, A.; MARIANI A.P. **Preliminary observations on the creatine kinase isoenzymes in equine blood serum by polyacrylamide-gel isoelectro focusing. Influence of physical exercise.** Arch Vet. Ital. p. 36-45, 1985.

SILVA, I.A.C.; 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.** Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.59, n.1, p.250-252, 2007.

SILVEIRA, V.F. **Malondialdeído, vitamina E, cortisol, hemograma e enzimas musculares em equinos da raça Árabe submetidos ao exercício em esteira de alta velocidade.** Tese de mestrado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 92p., 2005.

SNOW, D.H.; VALBERG, S.J. **Muscle Anatomy, Physiology and Adaptations to Exercise and Training.** In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. The athletic horse. Philadelphia: Saunders. p. 145-179, 1994.

STENDIG-LINDBER, G.; SHAPIRO, Y.; TEPPERBERG, M.; MORAN, D. **Not only strenuous but also sustained moderate physical effort causes magnesium deficiency.** Trace Elem Electroly. v.16, p. 156-161, 1999.

STENDIG-LINDBER, G.; SHAPIRA, Y.; GRAFFE, E.; SCHOENBERGER, E.; WACKER, W.E. **Delayed metabolic changes after strenuous exertion in trained young men.** Magnes Res. v.2, p. 211-218, 1989.

TEIXEIRA-NETO, A.R.; FERRAZ, G.C.; MATAQUEIRO, M.I.; LACERDA-NETO, J.C.; QUEIROZ-NETO, A. **Electrolyte reposition on physiologic variables of horses submitted to 30 and 60 km endurance rides** Ciência Rural, Santa Maria, v. 34, n.5, p. 1505-1511, 2004.

THOMASSIAN, A.; CARVALHO, F.; WATANABE, M.J.; SILVEIRA, V.F.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J.L.M. **Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira.** Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, v. 44, n.3, p. 183-190, 2007.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Interpretação da resposta leucocitária nas doenças.** In: Ibid. (Eds), Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Roca, São Paulo. p. 127-140, 2007.

TOLEDO, P.S.; DOMINGUES JÚNIOR, M.; FERNANDES, W.R.; FERNANDES, W.R.; MANGONE, M. **Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatina quinase, gamaglutamiltransferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da**

raça P.S.I. submetidos a exercícios de diferentes intensidades. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 8, n. 2, p. 73-77, 2001.

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.

URSO, M.L.; CLARKSON, P.M. **Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation.** Toxicology, v. 189, p. 41-54, 2003.

WEGLICKI, W.B.; PHILLIPS, T.M.; FREEDMAN, A.M.; CASSIDY, M.M.; DICKENS, B.F. **Magnesium-deficiency elevates circulating levels of inflammatory cytokines and endothelin.** Mol Cell Biochem. v.110, p. 169-173, 1992.

WHITE, A.; ESTRADA, M.; WALKER, K.; WISNIA, P.; FILGUEIRA, G.; VALDÉS, F; ARANEDA, O.; BEHN, C.; MARTÍNEZ R. **Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horses.** Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular e Integrative Physiology, v. 128, n.1, p. 99-104, 2001.

WOLF, F.I.; TORSELLO, A.; FASANELLA, S.; CITTADINI, A. **Cell physiology of magnesium.** Mol Aspects Med. v. 24, n. 1-3, p.11-26, 2003.

WOODS, K.L.; FLETCHER, S; ROFFE, C; HAIDER, Y. **Intravenous magnesium sulphate in suspected acute myocardial infarction: results of the second Leicester Intravenous Magnesium Intervention Trial (LIMIT-2).** Lancet. v.339, n.8809, p. 1553-1558, 1992.