



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

Patrícia de Castro Duarte

**Avaliação do metabolismo energético de cavalos em
provas de longa distância:
Accutrend[®] Plus *versus* laboratório.**

Brasília
2013



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

Avaliação do metabolismo energético de cavalos em provas
de longa distância:
Accutrend[®] Plus *versus* laboratório.

Patrícia de Castro Duarte
**Monografia apresentada para a
conclusão do curso de Medicina
Veterinária da Faculdade de
Agronomia e Medicina
Veterinária da Universidade de
Brasília.**

Orientador: Prof. Dr. Antônio
Raphael Teixeira Neto

Brasília
2013

Duarte, Patrícia de Castro
Avaliação do metabolismo energético de cavalos em provas de longa distância:
Accutrend[®] Plus *versus* laboratório.
Orientação de Dr. Antônio Raphael Teixeira-Neto – Brasília, 2013. 35p.

Monografia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina
Veterinária, 2013

1. Equino. 2. Bioquímica. 3. Portátil . 4. Enduro. I. Teixeira-Neto, Antônio
Raphael II. Avaliação do metabolismo energético de cavalos em provas de longa
distância: Accutrend[®] Plus *versus* laboratório.

Nome do Autor: Patrícia de Castro Duarte

**Título da Monografia de Conclusão de Curso: Avaliação do metabolismo energético
de cavalos em provas de longa distância: Accutrend[®] Plus *versus* laboratório.**

Ano: 2013

**É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta
monografia 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 pode ser reproduzida sem a autorização por
escrito do autor.**

Patrícia de Castro Duarte

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: DUARTE, Patrícia de Castro.

Título: Avaliação do metabolismo energético de cavalos em provas de longa distância: Accutrend® Plus *versus* laboratório.

Aprovado em: ___/___/___

Patrícia de Castro Duarte
Monografia apresentada para a conclusão do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Raphael Teixeira Neto

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Antônio Raphael Teixeira Neto

Instituição: Universidade de Brasília – UnB
Assinatura:

Julgamento: _____

Prof. Dr. Ricardo Miyasaka de Almeida

Instituição: Universidade de Brasília – UnB
Assinatura:

Julgamento: _____

Profa. Dra. Glaucia Bueno Pereira Neto

Instituição: Universidade de Brasília – UnB
Assinatura:

Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Francisco Aroaldo de Assis Duarte e Marivane Soares de Castro Duarte, que me oferecem todo o apoio, emocional e material, para que eu realize meus projetos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus e aos meus mentores que, tenho certeza, me auxiliam em tudo o que faço.

Aos meus pais, Francisco e Marivane, que tornaram possível minha formação até aqui e me ensinaram a seguir meus sonhos independente das circunstâncias.

Aos meus irmãos César e Lila, e amigas Lili e Cris, que coloremeus dias e me dão força, mesmo quando brigamos.

À minha família - avó, padrinho, madrinhas, tios, tias e primos- que participam ativamente da minha vida e sempre estão dispostos a me ajudar.

Aos meus amigos e colegas de curso, Caio (Caju), Eduardo, Mari, Ju (Loira), Júlia, Lore, Mayara, Vanessa, Cleyber, Laura, Amanda, Anderson (Japa), que sempre estiveram por perto quanto precisei, adoçando a caminhada até aqui e tornando o fardo mais leve.

Ao meu orientador, professor Raphael, e ao capitão Renato (Renatinho) que me mostraram a parte do caminho que conheciam como médicos veterinários e se engajaram em ensinar, contribuindo profundamente na minha formação profissional não só com fatos, mas com conselhos que espero lembrar pelo resto da vida.

Aos colegas de curso, especialmente das turmas 22 e 23, e aos residentes Sarah, Léo, Renan, André e Rodrigo que fizeram parte da minha vida acadêmica contribuindo com trabalho, conhecimento e descontração.

Aos colegas e ao professor Raphael, novamente, que ajudaram na coleta de dados durante o enduro e que tornaram este trabalho possível: Cleyber, Martha, Léo, Renan, Priscila, João, Alana, Lorena, Paula, Camila. E também à equipe organizadora da Prova Internacional Seletiva de Enduro Equestre para o Mundial da Inglaterra, que permitiu a realização do nosso trabalho.

Aos professores Ricardo Miyasaka e Glaucia Bueno, pela colaboração intelectual e gentileza ao ajudar na construção deste trabalho.

Aos animais, que nunca param de me surpreender e emocionar, me dando a certeza de que escolhi a profissão mais nobre que existe.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO.....	9
REVISÃO DE LITERATURA.....	10
1. PARTICULARIDADES DA ESPÉCIE EQUINA DURANTE O ESFORÇO.....	10
2. O ESFORÇO DE ENDURO.....	13
3. METABOLISMO ENERGÉTICO DURANTE O EXERCÍCIO.....	14
4. EXAUSTÃO E FADIGA MUSCULAR.....	17
5. SUBSTRATOS ENERGÉTICOS.....	17
6. MENSURAÇÃO DE GLICOSE, LACTATO, TRIGLICERÍDEOS E COLESTEROL SANGUÍNEOS.....	21
OBJETIVOS.....	23
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

RESUMO

A utilização de equipamentos humanos na medicina veterinária é bastante comum, por isso é essencial que estes sejam testados e adaptados. No presente trabalho, foram comparados os valores de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol obtidos por meio do aparelho portátil Accutrend® Plus com os valores encontrados pelos métodos laboratoriais considerados padrão para a aferição destes parâmetros de 11 equinos da raça Puro Sangue Árabe submetidos ao esforço de enduro. As coletas foram feitas em cinco momentos: T₀ (repouso), T₁ (após 66km), T₂ (160 km, ao final da prova), T₃ (2 horas após o término da prova) e T₄ (15 horas após o término da prova). Quatro amostras de sangue venoso, sendo a primeira imediatamente utilizada para a aferição dos parâmetros no aparelho portátil e as outras três – com fluoreto de sódio, com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e sem anticoagulante – foram imediatamente encaminhadas a um laboratório de referência. A análise estatística consistiu no teste t de Student, correlação de Pearson e representação gráfica de Bland e Altman (1986) para a comparação entre os dois métodos de aferição e teste de Tukey para a avaliação da variação referente ao efeito do esforço de acordo com o método laboratorial padrão para aferição dos parâmetros.

Todos os valores encontrados pelo aparelho portátil diferiram ($p < 0,05$) dos obtidos em laboratório, sendo que os valores de triglicerídeos no repouso e após a recuperação não foram determinados porque estavam abaixo da faixa de leitura do Accutrend® Plus. A variação das médias e desvios padrão de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol no decorrer do experimento aferida pelo método laboratorial corroboraram o descrito na literatura.

No presente estudo não foi encontrada boa concordância ou correlação entre os valores de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol sanguíneos mensurados pelo aparelho portátil Accutrend® Plus e pelos métodos laboratoriais de referência para estes parâmetros em cavalos submetidos ao esforço de enduro.

Palavras chave: equino, bioquímica, portátil, enduro.

ABSTRACT

The use of human equipment in veterinary medicine is quite common and they should be validated. In this study, were compared the concentration of glucose, lactate, triglycerides and cholesterol obtained through the portable device Accutrend ® Plus with the values found by laboratory standard methods. 11 Arabian horses were subjected to a long endurance ride effort. The samples were taken at 5 time points: T0 (rest), T1 (after 66km), T2 (160 km, at the end of the race), T3 (2 hours after) and T4 (15 hours after). The statistical analysis included the Student t test, Pearson correlation and graphical representation of Bland and Altman (1986) to compare both methods of determination, and evaluation of effort for the moment according to the laboratory method for measuring the parameters.

All values found by the portable device differed ($p < 0.05$) from those obtained in the laboratory, and triglyceride values at rest were not analyzed because they were below the Accutrend ® Plus range. Pearson's correlation was strong for lactate when T2 ($r = 0.7294$, $p = 0.0008$) and triglycerides in times T1 ($r = 0.9424$, $p = 0.0005$) and T2 ($r = 0.8860$, $p = 0.0003$). The variation of the mean and standard deviation of glucose, lactate, triglycerides and cholesterol between times T0 to T4 measured by laboratory method corroborate findings in the literature.

Data showed any relation between laboratory and portable device determinations for those variables and more researchers need to be done to find a way to validate these portable devices to use in horses.

Keywords: horse, biochemistry, portable, endurance ride.

INTRODUÇÃO

O cavalo é um atleta extraordinário, pois evolutivamente os mais velozes e resistentes foram selecionados devido à necessidade de fugir de predadores e caminhar longas distâncias para encontrar alimento e água. Vários fatores fisiológicos são responsáveis por esse desempenho atlético superior: alta capacidade aeróbia; grandes estoques de substratos energéticos intramusculares, especialmente glicogênio; alto volume de mitocôndrias no músculo; habilidade de aumentar a capacidade de carrear oxigênio no início do exercício por meio da contração esplênica; eficiência na locomoção e eficiente termorregulação (HINCHCLIFF e GEOR, 2004).

A prova de enduro é uma das competições mais desafiadoras do esporte equestre, e tem se tornado mais exigente quanto à velocidade, levando a um aumento no trabalho metabólico, musculoesquelético e cardiovascular dos cavalos (FRAITPONT et al., 2012). A energia que este tipo de exercício demanda é obtida preferencialmente pela via metabólica aeróbia, sendo que os principais substratos são os carboidratos e os ácidos graxos (PÖSO et al., 2004).

O carboidrato na forma de glicose é a principal fonte de energia para as células dos mamíferos (KANEKO, 2008). A glicólise anaeróbia converte glicose em energia e gera piruvato, que pode ser convertido em lactato. O tecido que representa a maior fonte de lactato é o músculo esquelético, que o libera para o plasma sanguíneo para que, em seguida, seja metabolizado no fígado (STOCKHAM e SCOTT, 2008a). Quanto aos substratos lipídicos, pode-se dizer que têm inúmeras funções no organismo animal, sendo que o colesterol e os triglicerídeos são as lipoproteínas mais estudadas na medicina veterinária (STOCKHAM e SCOTT, 2008c).

A mensuração em laboratório da glicose, do lactato, dos triglicerídeos e do colesterol em laboratório envolve métodos enzimáticos, colorimétricos e/ou espectrofotométricos (BRUSS, 2008; KANEKO, 2008 e STOCKHAM e SCOTT, 2008a). A praticidade de aparelhos portáteis para este tipo de aferição os tornou largamente utilizados não só na medicina humana, mas também na medicina veterinária, sendo que para esta última é importante atestar sua eficácia nos animais, o que vem sendo feito por vários autores (FRANCHINI et al., 2004; ALEIXO et al., 2006; BLUWOL et al., 2007; SANTOS et al., 2008; TEIXEIRA-NETO et al., 2011). Teixeira Neto et al. (2011) testaram as aferições de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol pelo aparelho portátil Accutrend Plus[®] em equinos em repouso e concluíram que o mesmo foi ineficaz na

clínica médica de equinos. Assim, com base nessas observações, objetivou-se testar a acurácia na aferição destes mesmos parâmetros pelo mesmo equipamento comparado aos métodos laboratoriais em equinos submetidos ao esforço de enduro de 160 km e no período de recuperação pós-prova.

REVISÃO DE LITERATURA

1. PARTICULARIDADES DA ESPÉCIE EQUINA DURANTE O ESFORÇO

Os cavalos foram domesticados e selecionados de acordo com suas aptidões pelos seres humanos para diversos tipos de atividades. Animais grandes e pesados foram selecionados para tracionar arados, trenós, toras de madeira, ou para fins militares, carregando armamentos ou cavaleiros medievais com armaduras pesadas. Cavalos mais leves foram selecionados para atividades que exigiam velocidade e resistência, como transporte, pastoreio e esportes. A seleção das raças proporcionou uma variedade de atividades desenvolvidas por estes animais. Puros-Sangues correm a altas velocidades (63 km/h) por distâncias de 800 a 5000 metros, Quartos de Milha fazem tiros de 400m ou menos a velocidades tão altas quanto 88 km/h e os Árabes percorrem mais de 160 km em um dia nas competições de enduro (HINCHCLIFF e GEOR, 2004). O interesse nas diferentes habilidades dessa espécie acompanhou a história da humanidade e exige a compreensão dos mecanismos responsáveis pelo trabalho, esporte ou atividade recreativa executada por eles e comandada pelos seres humanos (BAYLY, 2004).

A musculatura equina é altamente desenvolvida e adaptada para alcançar o grande potencial atlético destes animais. Enquanto a maioria dos mamíferos possui 30 a 40% de seu peso vivo composto de músculos, mais da metade do peso corporal de um cavalo adulto consiste em musculatura esquelética, que demanda aproximadamente 78% do débito cardíaco quando está em atividade (RIVERO e PIERCY, 2004). A capacidade aeróbia superior dos equinos também confere um notável desempenho atlético a esta espécie, e é indicada pelo consumo máximo de oxigênio, o qual é mais que o dobro daquele observado nos atletas humanos de elite (PÖSO et al., 2004).

Animais que são exercitados com frequência desenvolvem alta densidade capilar muscular, facilitando a chegada de oxigênio e substratos energéticos e também a remoção de metabólitos das células musculares (MACLEAY, 2004). O músculo esquelético equino também possui uma grande capacidade de estocagem de glicogênio - valores entre

600-650 mmol/kg de músculo seco em cavalos treinados – e alta capacidade oxidativa durante o exercício, no qual o consumo de oxigênio, que ao repouso pode ser tão baixo quanto 4 mL/Kg/min, aumenta para 160-200mL/Kg/min (PÖSO et al., 2004).

Pequenos estoques de gordura estão presentes no músculo dos cavalos e atuam como fonte de ácidos graxos, porém, a maior parte dos ácidos graxos consumidos provém do tecido adiposo e do fígado (MACLEAY, 2004). A oxidação de ácidos graxos durante o esforço é limitada e alcança valores máximos quando a intensidade do exercício se situa entre 40 a 60% da taxa de consumo de oxigênio máximo (VO_{2max}) em várias espécies e provavelmente também nos cavalos. O trabalho adicional acima desta intensidade de esforço é suprido pelos estoques de glicogênio muscular, que nos cavalos se encontra na concentração de aproximadamente 140 mmol/Kg, enquanto que no ser humano é de 80 a 100 mmol/kg (HINCHCLIFF e GEOR, 2004).

Outros fatores relacionados à alta capacidade aeróbia dos cavalos são o alto débito cardíaco e a reserva esplênica de 4-12L de células vermelhas, que são liberadas na circulação devido aos rápidos efeitos das catecolaminas sobre o sistema cardiovascular e a taxa metabólica. No cavalo, a alta concentração de epinefrina plasmática durante o exercício sugere que a medula adrenal tem um papel mais importante na resposta simpatoadrenal que nas outras espécies (PÖSO et al., 2004).

A via anaeróbia também é mais bem tolerada nos cavalos. O músculo esquelético equino tem maior capacidade de tamponamento comparado a outras espécies, permitindo ao cavalo aguentar maiores concentrações de lactato muscular durante o exercício. Suas hemácias possuem a capacidade de se ligar ao lactato, contribuindo com seu efluxo do músculo (PÖSO et al., 2004). O músculo em exercício produz lactato em qualquer intensidade de esforço, sendo que maiores intensidades resultam em altas concentrações de lactato devido à insuficiência de energia gerada aerobiamente e consequente aumento do metabolismo anaeróbio (HINES, 2003). Quando as fontes de energia não estão limitadas, a capacidade aeróbia depende da disponibilidade de oxigênio e a habilidade do tecido muscular utilizá-lo para a produção de energia (PÖSO et al., 2004).

A taxa de elevação sanguínea do lactato pode ser um indicador da capacidade cardiovascular e metabólica. Cavalos com as maiores capacidades aeróbias em virtude de altos débitos cardíacos tendem a ter menores valores de lactato durante o exercício de intensidade submáxima do que aqueles com menores capacidades aeróbias (HINES, 2003) . A resposta do lactato sanguíneo no exercício submáximo é o indicador mais utilizado para a avaliação de animais enduristas. Este parâmetro mensurado no esforço

moderado ou em velocidade submáxima é útil para diferenciar os animais de baixo desempenho daqueles que apresentam um bom desempenho, e para monitorar as mudanças no condicionamento durante programas de treinamento (EVANS, 2004).

As características que conferem grande desempenho atlético aos equinos estão resumidas na Figura 1.

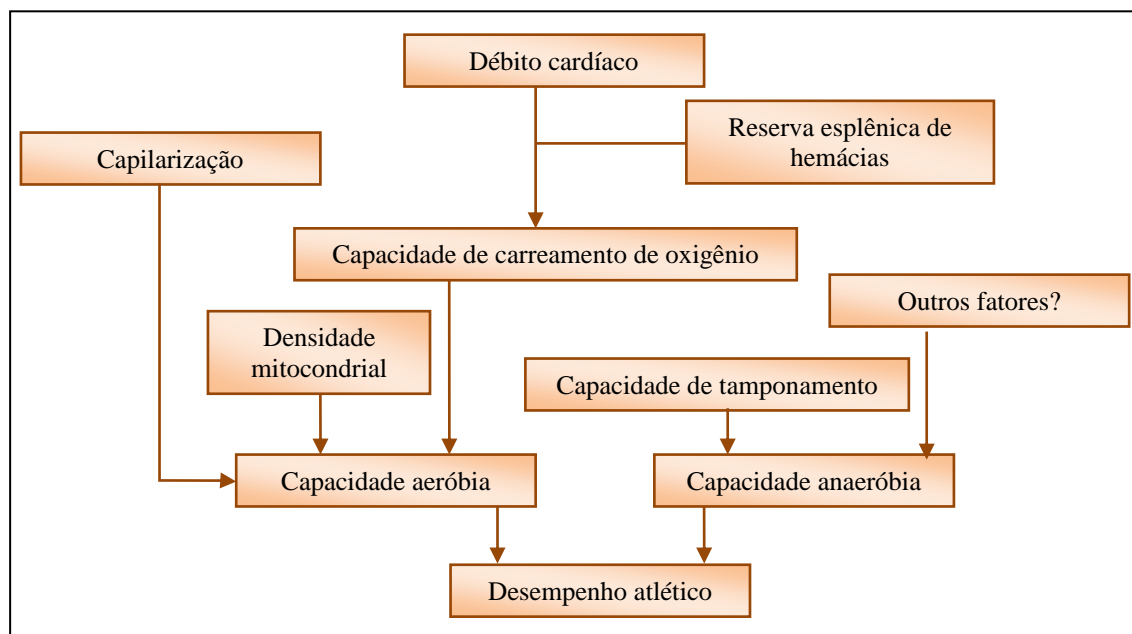


Figura 1. Desempenho atlético pelo ponto de vista das capacidades aeróbia e anaeróbia. Adaptado de Pöso et al., 2004.

Entender a forma de obtenção de energia para a contração muscular nos equinos é importante porque muitas miopatias metabólicas provêm do desajuste destes processos. A primeira forma de obtenção de ATP, porém, rapidamente esgotada, é por meio da fosfocreatina. Depois, várias vias metabólicas diferentes assumem a função, incluindo a glicogenólise, glicólise, ciclo de Krebs, β -oxidação de ácidos graxos livres, e deaminação de nucleotídeos purinas. A via que será a mais utilizada dependerá de fatores como o tipo das fibras musculares mais presentes, o número de unidades motoras recrutadas, capilarização do músculo, capacidade oxidativa e glicolítica das fibras musculares e disponibilidade de oxigênio e substratos que chegam ao músculo. A raça e a idade do cavalo, a distância e o estágio do exercício, a intensidade do exercício e o nível de condicionamento do animal, por outro lado, influenciam todos estes fatores (MACLEAY, 2004).

No repouso, quando a concentração de ácidos graxos é baixa, a glicose sanguínea pode ser responsável por cerca de 80% do oxigênio consumido pelos membros pélvicos (PÖSO et al., 2004). Durante o exercício, a glicose sanguínea pode fornecer entre 20% a

50% do substrato energético utilizado pelo músculo esquelético. Na fase inicial do esforço de intensidade moderada, a obtenção de glicose ocorre predominantemente pela glicogenólise, e essa dominância aumenta juntamente com o aumento da intensidade do esforço (WOLISKY e HICKSON, 1994). Se o exercício continua por um longo tempo, há o aumento da utilização de gorduras. A habilidade de utilizar lipídios como fonte de energia pode ser influenciada também pela dieta. Quanto maior o consumo de gordura, maior a utilização desta como fonte de energia pelos músculos (MACLEAY, 2004). A utilização da glicose plasmática e do glicogênio muscular é constante, levando ao decréscimo da concentração de glicose sanguínea e à depleção do glicogênio muscular com o prolongamento do esforço (PÖSO et al., 2004).

Em esforços de baixa a moderada intensidade, há o aumento progressivo da oxidação dos lipídios com o aumento da duração do exercício, como já citado. Os cavalos são diferentes de outras espécies, nas quais os triglicerídeos circulantes aumentam durante o exercício. Os triglicerídeos são liberados do fígado como lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), e podem ser sintetizados em resposta ao aumento da chegada de ácidos graxos para o fígado. A lipoproteína lipase localizada fora das membranas endoteliais dos capilares musculares liberam, então, os ácidos graxos dos triglicerídeos VLDL circulantes para a oxidação nos músculos (PÖSO et al., 2004).

2. O ESFORÇO DE ENDURO

O enduro equestre é um esporte internacionalmente conhecido, no qual o conjunto cavalo/cavaleiro cobrem uma distância pré-estabelecida em um tempo determinado. As distâncias variam de 20 a 160 km, sendo que as provas de um único dia, que têm entre 40 e 160 km, são mais comuns (FOSS e WICKLER, 2004). O objetivo é testar a habilidade do cavaleiro em manejar a energia e o condicionamento físico do cavalo durante a prova, vencendo o percurso, a distância, o clima, o terreno e o relógio. Cabe à delegação técnica, ao júri de campo, aos administradores, à comissão veterinária, ao chefe de equipe, aos veterinários de equipe, aos cavaliços e, principalmente, ao cavaleiro, assegurar a saúde e o bem-estar do cavalo (FEI, 2009).

A prova é dividida em fases, ou anéis, cuja extensão varia de 20 a 40 km. Inspeções veterinárias compulsórias são feitas nos animais antes do início da prova e ao final de cada anel completado, sendo que todos os dados são registrados em um cartão levado pelo cavaleiro. A inspeção inicial é detalhada, incluindo avaliação do estado de

hidratação, avaliação da marcha (o animal é trotado por 40 m indo e depois voltando na direção dos veterinários), palpação digital e testes de flexão (a critério do avaliador), registro de feridas, avaliação do tônus muscular, e quaisquer outros itens considerados relevantes pela equipe veterinária. As inspeções entre os anéis (“vet gates” ou “vet checks”) têm como principais avaliações o tempo de recuperação da taxa de batimentos cardíacos, os movimentos respiratórios, a marcha e a condição geral do cavalo (FOSS e WICKLER, 2004). O animal considerado incapaz de continuar a prova com segurança pelos veterinários oficiais é retirado da competição. Uma vez que esta decisão é tomada, não há direito de apelação, porém, o júri é obrigado a apresentar os motivos da eliminação (FEI, 2009).

Nas provas de velocidade livre, o ganhador é aquele que chega primeiro, desde que seu animal seja considerado hígido ao final da prova, na última inspeção. Ênfase é dada a todos os que chegaram ao final com cavalos em bom estado, sendo que, entre estes, o animal que apresenta melhor condição é formalmente reconhecido (FOSS e WICKLER, 2004), recebendo o título de “Best-condition”. Para este título, costuma-se avaliar os dez primeiros animais a completar a prova (FEI, 2009).

Os cavalos da raça Árabe são os mais utilizados neste esporte, e provavelmente isso se deve à composição de suas fibras musculares e sua particular habilidade em utilizar lipídios durante o exercício submáximo. No entanto, outras raças, e inclusive mulas, podem ser vistas em provas de enduro (FOSS e WICKLER, 2004).

Tanto exercícios de alta intensidade quanto de baixa intensidade podem levar à fadiga muscular. A fadiga no exercício aeróbico está mais relacionada à depleção de glicogênio, hipertermia e desequilíbrio eletrolítico, enquanto que no anaeróbico, a acidose com hiperlactatemia e a depleção de ATP e creatina fosfato são os fatores mais importantes (MACLEAY, 2004). Como se pode observar, não só fatores relacionados à disponibilidade de substratos, mas também o desequilíbrio eletrolítico, a desidratação e a hipertermia podem causar o desenvolvimento da fadiga, especialmente em esforços moderados a intensos e de longa duração, como o enduro (PÖSO et al., 2004).

3. METABOLISMO ENERGÉTICO DURANTE O EXERCÍCIO

A contração e o relaxamento muscular são processos que requerem energia para ocorrer, sendo que esta energia é obtida por meio da quebra do ATP, obtido inicialmente pela clivagem da fosfocreatina – uma via anaeróbia rápida, suplantada por outras formas

de obtenção de energia – e posteriormente pela glicogenólise, glicólise, ciclo de Krebs, β -oxidação de ácidos graxos livres e deaminação de nucleotídeos purina (MACLEAY, 2004). O ATP para a contração muscular pode ser produzido pelas vias aeróbia ou anaeróbia, lembrando que esta molécula não é uma forma de estocagem de energia, mas sim uma "moeda metabólica" produzida à medida que é necessária (PÖSO et al., 2004)

No músculo em repouso, a principal fonte de energia vem dos ácidos graxos livres provindos do tecido adiposo e os corpos cetônicos, produtos da quebra de ácidos graxos provindos do fígado. Estes são oxidados e degradados liberando acetil-coA, que entra no ciclo de Krebs e é oxidado até chegar a dióxido de carbono (CO_2). A transferência de elétrons do oxigênio (O_2) fornece energia para a síntese de ATP pela fosforilação oxidativa (NELSON e COX, 2008a).

O músculo sob esforço moderado utiliza a glicose sanguínea além dos ácidos graxos e dos corpos cetônicos. A glicose é fosforilada e então degradada por meio da glicólise, tornando-se piruvato, que é convertido em acetil-coenzima-A e oxidado pelo ciclo de Krebs e pela fosforilação oxidativa (NELSON e COX, 2008a). Após um exercício aeróbio leve, com duração de 15 a 20 minutos, o músculo começa a utilizar em maior proporção a β -oxidação de ácidos graxos livres do que a glicólise para a produção de ATP. Há pequenos estoques de gordura no músculo, porém, a maior parte é provinda do tecido adiposo ou do fígado (MACLEAY, 2004).

No músculo submetido ao esforço máximo, a demanda de ATP é maior que a capacidade de gerá-lo de forma aeróbia, devido à limitação da capacidade respiratória (NELSON e COX, 2008a). A glicólise anaeróbia produz 4 moles de ATP a partir de um mol de glicose, porém, 2 ATP são utilizados nas fosforilações iniciais, obtendo-se um saldo final de apenas 2 ATP (KANEKO, 2008). A fermentação láctica responde mais rapidamente que a fosforilação oxidativa à grande demanda por ATP, suplementando a produção basal de ATP pela oxidação aeróbia de outros substratos por meio do ciclo de Krebs e por meio da cadeia respiratória (NELSON e COX, 2008a). Comparativamente, percebe-se que a alta demanda de ATP é a maior vantagem da utilização desta última via, já que a oxidação completa de um mol de glicose até CO_2 e água rende 690 kcal e 38 moles de ATP, enquanto a mesma quantidade de glicose pela via anaeróbia gera apenas 2 moles de ATP (KANEKO, 2008). O ácido láctico, ou lactato, produzido na glicólise anaeróbia muscular baixa o pH do sarcoplasma, inibe a ação de diversas enzimas intracelulares, inclusive enzimas responsáveis pela glicólise, e impede a excitação e contração muscular, contribuindo com a fadiga (MACLEAY, 2004). Por outro lado, não

deixa de ser uma importante forma de obtenção de energia, já que a via aeróbia é limitada pelo transporte de substratos pelas membranas celulares, o número de mitocôndrias, a atividade das enzimas mitocondriais e a disponibilidade de oxigênio (PÖSO et al., 2004).

Após o término do exercício, a respiração continua em taxa elevada para fornecer O_2 extra para a fosforilação oxidativa no fígado. O ATP produzido é então utilizado na gliconeogênese, obtendo-se glicose a partir do lactato. Esta retorna ao músculo e é utilizada na reposição dos estoques de glicogênio, completando o chamado “ciclo de Cori” (NELSON e COX, 2008a), como ilustrado na Figura 2.

Dessa forma, pode-se observar que o músculo não libera glicose na corrente sanguínea, fato explicado pela ausência da enzima glicose-6-fosfatase neste tecido, mas contribui indiretamente com os níveis de glicose sanguínea por meio do ciclo de Cori (KANEKO, 2008).

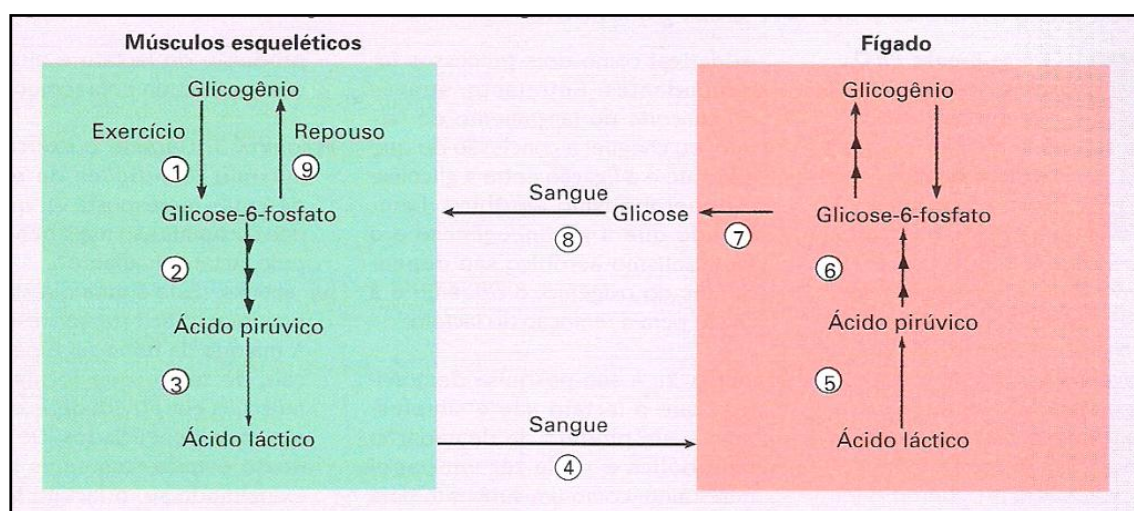


Figura 2. O ciclo de Cori. A sequência a partir do início do esforço está indicada pelos números de 1 a 9. POWERS e HOWLEY, 2005.

A regulação destes processos é mediada pelas próprias enzimas envolvidas nas reações: a glicose-6-fosfato e o ATP inibem a fosforilase, a fosforilase é ativada na presença de AMP e a gliconeogênese é estimulada pela presença de glicose-6-fosfato (MACLEAY, 2004). Os hormônios também agem sobre este metabolismo. As catecolaminas, a insulina e o cortisol aumentam a disponibilidade de substratos para a transdução de energia (PÖSO et al., 2004). O estímulo da fosforilase pela epinefrina no músculo esquelético e no fígado leva ao aumento sanguíneo de glicose e lactato (MACLEAY, 2004). No tecido adiposo, as catecolaminas ativam a lipase sensível a hormônios, que resulta no aumento da concentração plasmática de ácidos graxos livres. O efeito inibitório da insulina sobre a lipólise é atenuado à medida que a epinefrina reduz

sua liberação pelo pâncreas (PÖSO et al., 2004). O glucagon tem um papel fundamental na mobilização de substratos e manutenção da glicose sanguínea durante o esforço, especialmente nos de resistência, como o enduro. Durante o exercício, há aumento na liberação de glucagon, a qual está relacionada ao estímulo simpático e liberação de catecolaminas (McKEEVER e GORDON, 2004).

4. EXAUSTÃO E FADIGA MUSCULAR

Os problemas metabólicos mais encontrados em provas de enduro estão relacionados à desidratação, anormalidades eletrolíticas e ácido-básicas, acúmulo de calor e depleção de substratos energéticos. A exaustão ocorre em razão da soma destes fatores e pode ter prognóstico favorável se tratada no início. Complicações, como laminite e falência renal, põem em risco a vida do animal não tratado imediatamente (FOSS e WICKLER, 2004).

Os sinais clínicos da exaustão são depressão, passo fraco ou tropeços, claudicação, pouco apetite ou anorexia, desidratação, expressão facial “vidrada” e falta de vontade de beber água. Os animais apresentam as mucosas secas, podem ter congestão periférica, a taxa de batimentos cardíacos demora a retornar ao normal, os sons gastrintestinais podem estar diminuídos ou ausentes e sinais de hipertermia, miosite e flutter diafragmático sincrônico podem estar presentes. O hemograma e o exame bioquímico sanguíneo revelam aumento das proteínas e hematócrito (devido à desidratação), redução da glicemia, elevação da atividade das enzimas creatina-fosfoquinase e aspartato-aminotransferase, redução da concentração de dióxido de carbono total (alcalose respiratória), hipocalcemia, hipocloremia, hipocalemia e hipomagnesemia. O tratamento objetiva especialmente a hidratação e a reposição de substratos energéticos. O prognóstico da exaustão, caso não haja complicações, é favorável (FOSS e WICKLER, 2004).

5. SUBSTRATOS ENERGÉTICOS

Carboidratos são principalmente fonte de energia e, além disso, são precursores de intermediários essenciais ao metabolismo (KANEKO, 2008). A fonte primária de glicose para o músculo é a circulante no sangue, seguida por pequenas quantidades de glicose livre no sarcoplasma e glicogênio estocado nas células musculares. O fígado é uma

grande fonte de glicogênio fora do músculo e libera glicose na corrente sanguínea durante o esforço (MACLEAY, 2004).

A glicemia é regulada por diversos hormônios, cuja ação é determinada pela presença de receptores e transportadores nas células alvo. A insulina reduz os níveis de glicose sanguínea promovendo o consumo, utilização ou estocagem de glicose pelos hepatócitos, miócitos e adipócitos. A insulina não é necessária para o transporte de glicose para neurônios, leucócitos, eritrócitos, plaquetas ou hepatócitos. Ela influencia o consumo de glicose pelo hepatócito alterando as atividades de enzimas hepáticas que promovem a glicólise ou síntese de glicogênio, ou reduzindo a gliconeogênese. A atividade do glucagon aumenta a glicose sanguínea estimulando a gliconeogênese e a glicogenólise (STOCKHAM e SCOTT, 2008b).

As catecolaminas alteram o metabolismo da glicose por meio de diversos mecanismos. O estímulo α_2 -adrenérgico das células β pancreáticas reduz a liberação de insulina e, com isso, também a utilização de glicose pelos hepatócitos, miócitos e adipócitos. O estímulo β -adrenérgico das células β pancreáticas aumenta a liberação de insulina, porém predominam receptores α_2 -adrenérgicos nas células β pancreáticas, causando sempre a inibição da secreção de insulina pela ação das catecolaminas. O estímulo β_2 -adrenérgico dos hepatócitos aumenta a glicogenólise. O estímulo α_2 -adrenérgico na glândula pituitária aumenta a liberação do fator de liberação do hormônio do crescimento (GH), que leva ao aumento da liberação de GH, o qual age reduzindo o consumo de glicose por miócitos e adipócitos, aumentando a glicose sanguínea. A atividade do cortisol estimula a gliconeogênese e cria um estado de resistência à insulina (STOCKHAM e SCOTT, 2008b). Os processos fisiológicos que interferem nos níveis de glicose sanguínea estão representados na Figura 3.

A regulação da glicemia durante o exercício é complexa, mas as concentrações hormonais ainda são o fator predominante. O aumento na liberação de glicose hepática associada ao exercício é predominantemente mediada pela diminuição da relação insulina:glucagon, enquanto que a taxa de consumo e utilização pelo músculo são moderadas pelo aumento da epinefrina circulante (PÖSO et al., 2004).

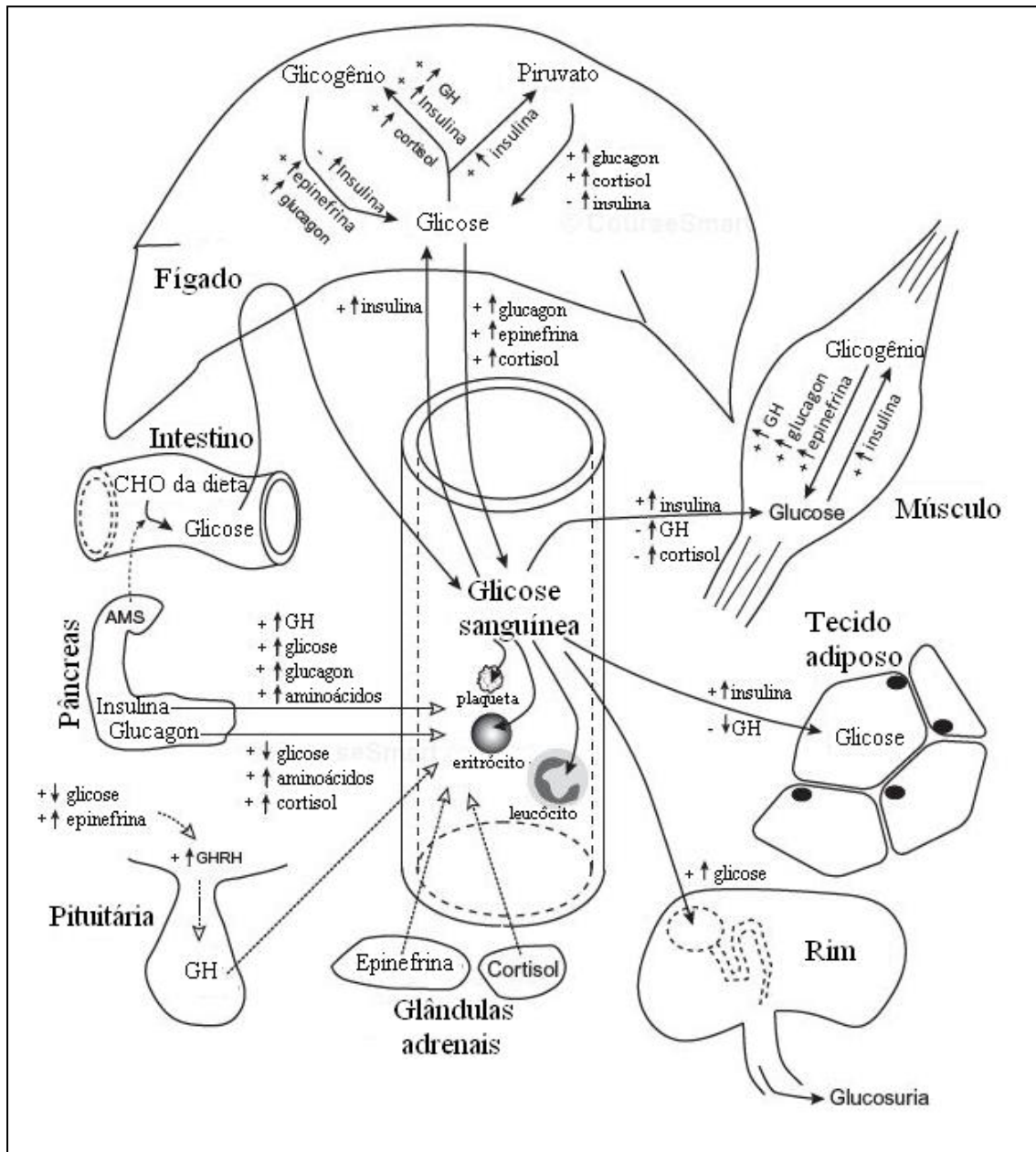


Figura 3. Processos fisiológicos que afetam a glicose sanguínea. As setas sólidas indicam o movimento da glicose. As pontilhadas representam o movimento dos hormônios ou da amilase (AMS). (Adaptado de Stockham e Scott, 2008b).

Os músculos geram lactato em todas as intensidades de esforço, mas a produção cresce exponencialmente com a intensidade do exercício (HINES, 2003). Como já citado anteriormente, o lactato produzido no músculo se difunde para o plasma durante o ciclo de Cori. O lactato produzido pelo metabolismo anaeróbico das hemácias se acumula, pois nos mamíferos, estas carecem de mitocôndria. Além disso, o lactato vindo do músculo penetra nas hemácias por três meios: difusão pela membrana, transporte via transportador monocarboxilado e transporte via canal iônico (STOCKHAM e SCOTT, 2008a).

Os lipídios mais encontrados nos animais vertebrados são ácidos graxos de cadeia

longa, triglicerídeos, fosfolipídios, colesterol e cetonas. Os triglicerídeos são de longe os lipídios mais importantes na função de estocagem de energia, enquanto os fosfolipídios e o colesterol são os mais importantes na constituição das membranas celulares (BRUSS, 2008).

Os triglicerídeos são um grupo de lipídeos caracterizados por uma estrutura de três ácidos graxos ligados a um glicerol (STOCKHAM e SCOTT, 2008c). São a principal forma de estocagem de ácidos graxos e menos solúveis que estes últimos, e por isso se ligam a proteínas quando são transportados pelo plasma formando complexos chamados de lipoproteínas (BRUSS, 2008). Em geral, as lipoproteínas carregam triglicerídeos dos intestinos e fígado para o músculo e tecido adiposo (STOCKHAM e SCOTT, 2008c).

Apesar de muitas células conseguirem sintetizar triglicerídeos, o fígado, o tecido adiposo, a glândula mamária e o intestino delgado são os mais eficientes nesse processo. O ácido graxo de cadeia longa - coenzima A (LCFA-CoA) é a unidade formadora na síntese de triglicerídeos. Para a síntese destes últimos são necessárias duas fontes de ácido graxo de cadeia longa (LCFA): o LCFA plasmático e o sintetizado localmente. Se o triglicerídeo foi sintetizado no tecido adiposo, migra para dentro da grande vesícula de estocagem que cada adipócito possui. A maior parte do triglicerídeo sintetizado no fígado será incorporado ao VLDL e exportado. Entretanto, se a quantidade excede a capacidade de exportação do fígado, o triglicerídeo se acumula em vesículas nos hepatócitos, gerando um fígado gorduroso (BRUSS, 2008).

No tecido adiposo, a síntese de triglicerídeos é principalmente controlada por hormônios, especialmente o glucagon, as catecolaminas e a insulina. Os dois primeiros atuam aumentando o cAMP intracelular, e o último, reduzindo. Quando o glucagon está aumentado e a insulina reduzida, há estímulo para a lipólise. Baixa insulina e catecolaminas elevadas reduzem os níveis de lipoproteína lipase (LPL) no tecido adiposo. Esta enzima é necessária para a captação de triglicerídeos plasmáticos na forma de LCFA para a síntese de triglicerídeos neste tecido. Níveis de insulina diminuídos reduzem a entrada de glicose nos adipócitos, resultando em menor disponibilidade de glicerolfosfato, necessário para a síntese. Níveis aumentados de cAMP no tecido adiposo também reduzem a atividade de diversas enzimas necessárias à síntese de gorduras, mas o mecanismo ainda é incerto (BRUSS, 2008).

O colesterol é o precursor de hormônios esteroides, vitamina D e ácidos biliares. Também é um constituinte de membranas celulares e micelas biliares e pode ser obtido na dieta ou ser sintetizado pelo organismo (BRUSS, 2008).

O fígado é o responsável principal pelo catabolismo e anabolismo do colesterol. Por ser um componente insolúvel, é transportado pelo plasma como parte das lipoproteínas (BRUSS, 2008). Todas as células podem potencialmente produzir colesterol, assim, fontes não hepáticas importantes são a mucosa intestinal, que sintetiza o colesterol contido nos quilomícrons, as gônadas e as glândulas adrenais (STOCKHAM e SCOTT, 2008c).

O colesterol é sintetizado no citosol e no retículo endoplasmático. Apesar dos mecanismos de regulação deste processo não serem completamente compreendidos, sabe-se que aumentando artificialmente os níveis de colesterol plasmático inibem-se indiretamente as enzimas hepáticas responsáveis pela sua síntese. Além disso, quanto maior a quantidade de colesterol consumido na dieta, menor é a quantidade sintetizada pelo fígado. Esta relação recíproca entre o colesterol consumido e a síntese hepática limita o quanto o colesterol plasmático reduz ao se diminuir também o seu consumo alimentar (BRUSS, 2008).

Um dos mecanismos indiretos de controle da síntese do colesterol é a disponibilidade de cAMP, que aumenta a atividade da enzima responsável pela síntese. A concentração intracelular hepática de cAMP é regulada pelo glucagon plasmático, que o aumenta, e pela insulina, que o diminui. Outros hormônios envolvidos são os hormônios da tireoide, que aumentam a atividade da enzima, e os glicocorticoides, que a reduzem. Alguns fármacos usados para reduzir o colesterol em humanos operam inibindo a atividade da enzima (BRUSS, 2008). Após sua síntese, o colesterol pode ser secretado no plasma como parte das lipoproteínas (principalmente VLDL), ou ser secretado nos canalículos biliares e fazer parte de micelas, ou ser degradado em ácidos biliares, e também pode ser esterificado em ácidos graxos de cadeia longa no retículo endoplasmático liso (BRUSS, 2008).

6. MENSURAÇÃO DE GLICOSE, LACTATO, TRIGLICERÍDEOS E COLESTEROL SANGUÍNEOS

Os métodos mais utilizados para a mensuração de glicose sanguínea são os que utilizam as enzimas hexoquinase, glicose desidrogenase e glicose oxidase. Os dois primeiros determinam os níveis de glicose mensurando os produtos da reação por espectrofotometria e o último é um método colorimétrico usado também nas fitas para mensuração de glicose na urina. Independente do método, os cuidados com a amostra são

determinantes na acurácia da mensuração. A glicólise realizada pelas hemácias representam aproximadamente 10% de perda de glicose por hora à temperatura ambiente, sendo que possíveis contaminações por micro-organismos aumentam ainda mais esta taxa. Para evitar estes problemas, deve-se separar o plasma ou soro das hemácias o mais rápido possível. Além disso, refrigerar a amostra ou utilizar fluoreto de sódio (10mg/mL de sangue) ajuda a preservar a glicose e tem ação anticoagulante (KANEKO, 2008). O fluoreto de sódio inibe a glicólise, pois o íon $[F^-]$ se conjuga com o íon $[Mg^{2+}]$ que é um cofator da enzima fosfopiruvato hidratase, necessária à via metabólica glicolítica, além de inibir a atividade da glicose oxidase. A glicose plasmática decresce 5% a 10% durante a primeira hora após a coleta nestes tubos, mas após este período, a glicose permanece estável por pelo menos 3 dias (STOCKHAM e SCOTT, 2008b).

O lactato se difunde dos músculos para o sangue, sendo assim, a concentração de lactato no sangue ou no plasma reflete a concentração muscular (HINES, 2003). A mensuração de lactato nos equinos é complicada porque as células vermelhas sanguíneas têm a característica de se ligarem ao lactato, e mais de 50% do lactato sanguíneo pode estar dentro delas. Apesar de haver correlação próxima entre as concentrações de lactato plasmática e do sangue total, há também uma variação individual na quantidade de lactato absorvido pelas hemácias. Devido a essa variação, é extremamente importante padronizar as amostras e o tratamento das mesmas (PÖSO et al., 2004). Além disso, é sugerido que a mensuração do lactato sanguíneo seja preferida à plasmática (HINES, 2003).

O ideal é que a coleta de sangue para a mensuração de lactato seja feita sem o uso de garroteamento, a fim de que a estagnação do sangue não eleve a concentração local de lactato. Além disso, o consumo de glicose pelas hemácias eleva a concentração de lactato. Por isso, a amostra deve ser processada imediatamente, ou o plasma deve ser separado das hemácias imediatamente, ou a coleta deve ser feita em tubos contendo fluoreto de sódio e refrigeradas para posterior processamento (STOCKHAM e SCOTT, 2008a). Para a mensuração no lactato sanguíneo, é utilizada a enzima L-lactato-desidrogenase e, posteriormente, é feita a determinação do lactato por espectrofotometria. Alguns equipamentos, como o i-STAT e o NOVA, utilizam a enzima L-lactato-oxidase (STOCKHAM e SCOTT, 2008a).

Os triglicerídeos incluem uma grande variedade de moléculas devido aos vários tipos de ácidos graxos que se ligam ao glicerol e estão principalmente inseridos em lipoproteínas ricas em triglicerídeo. O valor sérico representa os triglicerídeos totais, por

isso o soro é o tipo de amostra preferido, sendo que o mesmo vale para o colesterol. A mensuração dos triglicerídeos plasmáticos ou séricos é feita pela hidrólise usando lipase seguida pela determinação enzimática e espectrofotométrica do glicerol liberado (STOCKHAM e SCOTT, 2008c). Por esta razão, é importante atentar para a possível contaminação da amostra com glicerol provindo da rolha dos tubos, que podem conter ácidos graxos, ou sabão. Falsos valores reduzidos podem ser obtidos se a amostra contém lipase e demora em ser processada. A rápida centrifugação e análise das amostras ou o congelamento do plasma previnem a obtenção de falsos níveis baixos de triglicerídeos (BRUSS, 2008).

O colesterol é mensurado por métodos enzimáticos seguidos por espectrofotometria, em que as principais enzimas envolvidas são o colesterol esterase (hidrolisa ésteres de colesterol) e colesterol oxidase. O primeiro permite a quantificação do colesterol total, e o segundo, do colesterol livre (não esterificado). Dessa forma, para saber a concentração do colesterol éster basta fazer a subtração entre o total e o livre (BRUSS, 2008).

OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi comparar os valores das concentrações sanguíneas de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol obtidos pelo aparelho portátil Accutrend Plus[®] com os resultados obtidos pelos métodos enzimáticos e espectrofotométricos padrões, em equinos submetidos ao esforço de enduro e em sua fase de recuperação. As alterações destes parâmetros durante e após o esforço de enduro de acordo com a técnica de mensuração utilizada foi também destacada a fim de comparar as curvas que representam o aumento ou diminuição destes componentes no sangue e seu significado no metabolismo energético durante e após o exercício.

MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo do presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília sob o numero 47819/2012.

Dezoito equinos (machos e fêmeas), com idade variando entre 10 e 16 anos e massa corpórea média de $390 \pm 31,4$ kg, da raça Árabe, foram escolhidos durante o ano de

2012 para participarem da prova de seleção dos animais que comporiam a equipe brasileira no campeonato mundial de enduro do referido ano. A prova apresentava 160km de distância, e nos quilômetros 33, 66, 94, 122, 141 e ao final da prova, além da pré-largada, eram realizados exames clínicos completos (“vet-checks”) dos animais. No caso de quaisquer alterações que colocassem o animal em risco na continuidade do esforço (claudicação, fadiga) este era desclassificado ou eliminado da prova. Assim sendo, amostras de sangue de 11 animais que completaram o esforço foram obtidas a partir da venipunção jugular logo após o exame veterinário oficial. As coletas foram divididas em cinco tempos (T_0 a T_4), distribuídos da seguinte forma: em repouso, na noite anterior a largada (T_0), após 66 km de prova (T_1), ao final da prova de 160 km (T_2), duas e quinze horas após o término da prova (T_3 e T_4 , respectivamente).

Foram coletadas quatro amostras de sangue, sendo que a primeira amostra, em seringa de 3 mL, foi imediatamente utilizada para a aferição de glicose, lactato, triglicérides e colesterol no aparelho Accutrend Plus[®]. Segundo o fabricante, as mensurações são feitas por fotometria de reflexão após uma reação enzimática ocorrida no sangue em contato com a tira teste, sendo que para cada parâmetro é utilizada uma tira código antes da aferição. As amostras seguintes foram acondicionadas em tubo de pressão negativa (Vacuette[®]), sendo um sem anticoagulante para determinações bioquímicas séricas, um com EDTA para hemograma e um com fluoreto de sódio para determinação de glicose e lactato sanguíneos. Estas últimas três amostras foram encaminhadas em menos de 4 horas para o laboratório veterinário Santè, acondicionadas desde a coleta em isopor com gelo.

As amostras de sangue contendo EDTA foram utilizadas para a determinação do hemograma e da concentração de proteínas plasmáticas totais dos animais, utilizando o contador automático de células sanguíneas modelo Poch 100 iV Diff. As demais amostras foram centrifugadas a 3000rpm por 5 minutos e posteriormente foram aliquoteados soro e plasma para as demais determinações.

A concentração de lactato e glicose sanguíneos foram determinados pelo aparelho YSI 2100 STAT PLUS que realiza a mensuração por meio de eletrodos que determinam a corrente elétrica gerada pela reação catalisada pela enzima glicose-oxidase ou lactato-oxidase (PLANCHE et al., 2001). Tais amostras foram acondicionadas em tubos contendo fluoreto de sódio.

Para a determinação laboratorial de triglicérides e colesterol totais, a partir de amostras séricas (tubos sem anticoagulante), utilizou-se kits enzimáticos

(Liquiform/Labtest[®]) com o analisador bioquímico semi automático Bio2000.

O efeito do esforço sobre as variáveis bioquímicas pesquisadas foram estatisticamente avaliadas por meio de análise de variância para medidas repetidas (rmANOVA), seguido de teste Tukey quando necessário, com nível de significância de 5%, pelo programa estatístico computadorizado GraphPad InSTAT (versão 5.0).

Para a comparação entre os resultados das análises laboratoriais e os obtidos a partir do Accutrend[®]Plus, foram utilizados como métodos estatísticos o Teste T de Student com amostras pareadas e nível de significância de 5%, o teste de correlação de Pearson, com a finalidade de observar a existência de algum padrão de distribuição entre os resultados dos dois aparelhos e o método de investigação de concordância de Bland e Altman (1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores (médias [desvios padrão]) de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol sanguíneos estão apresentados na Tabela 1. Observa-se diferença significativa entre os parâmetros aferidos pelos métodos, em todos os momentos pelo teste t Student ($p < 0,05$). A correlação de Pearson (Tabela 2) mostrou-se significativa para o lactato no momento T₂ ($r=0,854$, $p=0,0008$) e para os triglicerídeos nos momentos T₁ ($r=0,9424$, $p=0,0005$) e T₂ ($r=0,8860$, $p=0,0003$). Nos outros momentos destes e em todos os momentos dos parâmetros glicose e colesterol, não foi observada correlação significativa entre os valores obtidos pelos diferentes métodos.

Houve diferença significativa ($p < 0,001$ de T₀ a T₃ e $p < 0,01$ em T₄) entre os valores de glicose encontrados pelo aparelho portátil e pelo método laboratorial, corroborando Hollis et al. (2008), que afirmaram que os glicosímetros portáteis usados para humanos não possuíam boa concordância com os padrões laboratoriais quando utilizados em cavalos devido à diferença na distribuição da glicose no plasma e nos eritrócitos das duas espécies. Os mesmos autores encontraram boa concordância entre os valores glicêmicos obtidos pelo glicosímetro humano e os métodos laboratoriais utilizando apenas o plasma sanguíneo dos animais para a aferição no aparelho portátil. Com isso, perde-se a praticidade da aferição imediata, que seria a principal vantagem deste equipamento, e acrescenta-se tempo e maiores chances de erro aos valores obtidos (HACKETT e MCCUE, 2010).

Tabela 1. Médias [desvios padrão] dos valores de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol sanguíneos, aferidos por métodos laboratoriais e equipamento portátil Accutrend®, de cavalos (n=11) em prova de enduro de 160km de distância, Brasília-DF.

Parâmetros	Métodos	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Glicose (mg/dL)	Accutrend	98,55 [17,9]***	125,09 [21,27]***	146,91 [20,88]***	153,64 [51,44]***	137,73 [43,18]**
	Laboratório	66,23 [7,06]	72,26 [10,25]	67,49 [20,69]	75,02 [12,16]	80,22 [5,97]
Lactato (mmol/L)	Accutrend	1,60 [0,44]***	2,35 [0,35]***	3,28 [0,78]***	2,73 [0,46]***	2,93 [1,97]*
	Laboratório	0,47 [0,13]	1,14 [0,17]	1,63 [0,40]	0,93 [0,22]	0,74 [0,14]
Triglicérides (mg/dL)	Accutrend	-	133,50 [87,70]*	178,91 [140,86]**	114,67 [62,61]*	-
	Laboratório	32,09 [5,50]	47,36 [14,81]	57,27 [23,68]	34,45 [7,67]	34,64 [9,43]
Colesterol (mg/dL)	Accutrend	152,88 [11,51]**	158,70 [4,83]***	161,18 [7,68]***	166,00 [9,12]***	163,45 [8,15]***
	Laboratório	106,55 [18,92]	106,00 [21,48]	114,73 [15,13]	117,18 [19,88]	103,55 [33,25]

Diferença significativa (p<0,05) **P<0,01 ***P<0,001, Student's T test

T₀ refere-se ao momento pré-prova ou basal, T₁ após 66km, T₂ ao final da prova, T₃ duas horas após a prova e T₄ 15 horas após a prova.

Tabela 2. Coeficiente de correlação de Pearson (r) e significância (p) dos valores de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol sanguíneos, aferidos por métodos laboratoriais e equipamento portátil Accutrend®, de cavalos (n=11) em prova de enduro de 160km de distância, Brasília-DF.

		T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Glicose	r	-0,2279	0,1593	0,3626	0,08560	0,3098
	p	0,5003	0,6398	0,2731	0,8024	0,3539
Lactato	r	-0,2895	0,4531	0,854	-0,1042	0,04695
	p	0,3878	0,1617	0,0008***	0,7604	0,891
Triglicerídeos	r	-	0,9424	0,8860	-0,7276	-
	p	-	0,0005***	0,0003***	0,1012	-
Colesterol	r	-0,1297	0,1860	0,5007	0,4611	-0,1814
	p	0,7596	0,6068	0,1167	0,1535	0,5935

* Diferença significativa (p<0,05) **P<0,01 ***P<0,001

A glicose no sangue total varia de acordo com o hematócrito em virtude da difusão uniforme da glicose na água. Cada 100 mL de eritrócitos tem aproximadamente 71 mL de H₂O enquanto o plasma possui 93 mL de H₂O a cada 100 mL (STOCKHAM e SCOTT, 2008b). Segundo Wess e Reusch (2000), os valores de glicose são superestimados quando o hematócrito se encontra abaixo de 30% e subestimados quando o hematócrito está acima de 55%. Contudo, as médias dos valores de hematócrito e desvios-padrão encontrados nos tempos de T₀ a T₄, no presente estudo, foram 35,20±5,28%; 45,74±3,83%; 46,07±6,81%; 43,02±6,07% e 38,21±3,81%, respectivamente. Como se pode observar, nenhum dos valores se encontra fora da faixa

de confiabilidade estabelecida pelos autores.

Bluwol et al. (2007) demonstraram que a aferição da glicose a partir do sangue total em aparelhos portáteis foi eficiente em cães. Por outro lado, Aleixo et al. (2006) sugeriram a repetição do teste de glicemia em cães, a fim de se constatar a acurácia do resultado, já que fatores como hematócrito, desidratação e quantidade da amostra podem alterá-lo.

O lactato plasmático mostrou diferença significativa ($p < 0,001$ de T_0 a T_3 e $p < 0,05$ em T_4) entre os valores encontrados pelo aparelho portátil e pelo laboratório. Teixeira-Neto et al. (2011) encontraram diferença nas aferições de glicose e lactato pelo Accutrend[®] Plus comparado aos métodos laboratoriais, de equinos no repouso. A correlação de Pearson também se mostrou fraca em ambos os parâmetros, o que não ocorreu no presente trabalho no momento T_2 do lactato. Franchini e colaboradores (2004), ao testar em atletas humanos o lactímetro portátil Accusport[®], do mesmo fabricante do utilizado no presente trabalho, constataram que o mesmo superestima os valores de lactato quando este está abaixo de 5mmol/L, e o inverso ocorre quando o valor se encontra acima de 5mmol/L. O aparelho Yellow Springs 1500 Sport foi considerado padrão para o experimento e duas equações foram sugeridas para corrigir o erro do primeiro aparelho. No presente trabalho, todos os valores de lactato encontrados nos cavalos estavam abaixo de 5mmol/L e também foram superestimados quando comparados aos resultados laboratoriais. Outro trabalho com seres humanos - voluntários submetidos ao esforço de esteira por 3 minutos a 8 km/h sem inclinação - comparou o Accutrend[®] Plus ao Yellow Springs 1500 Sport e não encontrou diferença significativa entre os aparelhos (ALVES et al., 2012).

Os valores de referência de triglicérides dos equinos em repouso, entre 4-44 mg/dL (KANEKO et al., 2008), situam-se fora do intervalo de leitura do aparelho portátil (70-600mg/dL); assim sendo, a análise estatística (t de Student e correlação de Pearson) não pôde ser realizada pelo Accutrend[®] Plus nos momentos T_0 e T_4 , indicado pela palavra "LOW" no visor, corroborando os resultados de Teixeira-Neto et al. (2011), com sangue total obtido de equinos no repouso. A diferença entre os valores encontrados pelos dois métodos de aferição nos outros momentos foi significativa ($p < 0,05$ em T_1 e T_3 , $p < 0,01$ em T_2) bem como a correlação de Pearson nos momentos T_1 e T_2 . Em seres humanos, um estudo demonstrou que o aparelho portátil Accutrend[®] GCT superestima os valores de triglicérides ao ser comparado com o padrão laboratorial, mas que há correlação positiva entre os dois métodos (BARRERO et al., 2009). Entretanto, Naylor e Durward-Akhurst

(2012) compararam o Accutrend[®] Plus com o método laboratorial na mensuração de triglicérides de equinos atendidos em um hospital-escola e não encontraram diferenças significativas entre os métodos.

Os resultados de colesterol aferido pelo Accutrend[®] Plus diferiram significativamente ($p < 0,01$ em T_0 , $p < 0,001$ de T_1 a T_4) daqueles encontrados pelos métodos laboratoriais e não revelaram correlação significativa pelo método de Pearson. Em um estudo com seres humanos, o aparelho portátil Accutrend GCT revelou valores de colesterol abaixo do encontrado pelo método laboratorial, com baixa concordância, porém, correlação forte no teste de Pearson (HIDALGO et al., 2012), diferindo do presente estudo, em que todos os valores aferidos pelo aparelho portátil superestimaram os encontrados pelo método laboratorial.

Bland e Altman (1986) sugeriram um método de representação gráfica quando se deseja comparar duas técnicas, geralmente uma bem estabelecida e outra nova. O eixo das ordenadas corresponde aos valores da diferença entre as duas técnicas e o eixo das abscissas às médias dos valores entre as duas técnicas. Os limites de confiança superior e inferior são representados por duas linhas horizontais a fim de que fique clara a faixa onde se encontram a maior parte dos resultados da diferença entre as técnicas. Este método é considerado o melhor para a comparação entre dois métodos que deveriam medir a mesma quantidade, pois considera-se que as diferenças são aceitáveis dentro de um ponto de vista clínico (HIRAKATA e CAMEY, 2009). A Figura 4 representa os valores obtidos de glicose, lactato, triglicérides e colesterol de acordo com este método. Como se pode observar, nenhum dos gráficos tem como média da diferença entre as técnicas um valor igual ou próximo de zero e seus limites de concordância representam um intervalo muito amplo devido à discrepância dos valores, não apresentando, portanto, boa concordância entre os dois métodos.

Os valores (médias [desvio padrão]) de glicose, lactato, triglicérides e colesterol pelo método laboratorial de aferição nos momentos T_0 a T_4 estão representados na Tabela 3. Para avaliação do efeito do exercício nas variáveis analisadas, os resultados foram dispostos em curvas, representadas pela Figura 5, com análise estatística realizada apenas para os resultados determinados em laboratório (média \pm desvio padrão) apesar das curvas resultantes das aferições pelo aparelho portátil também estarem representadas.

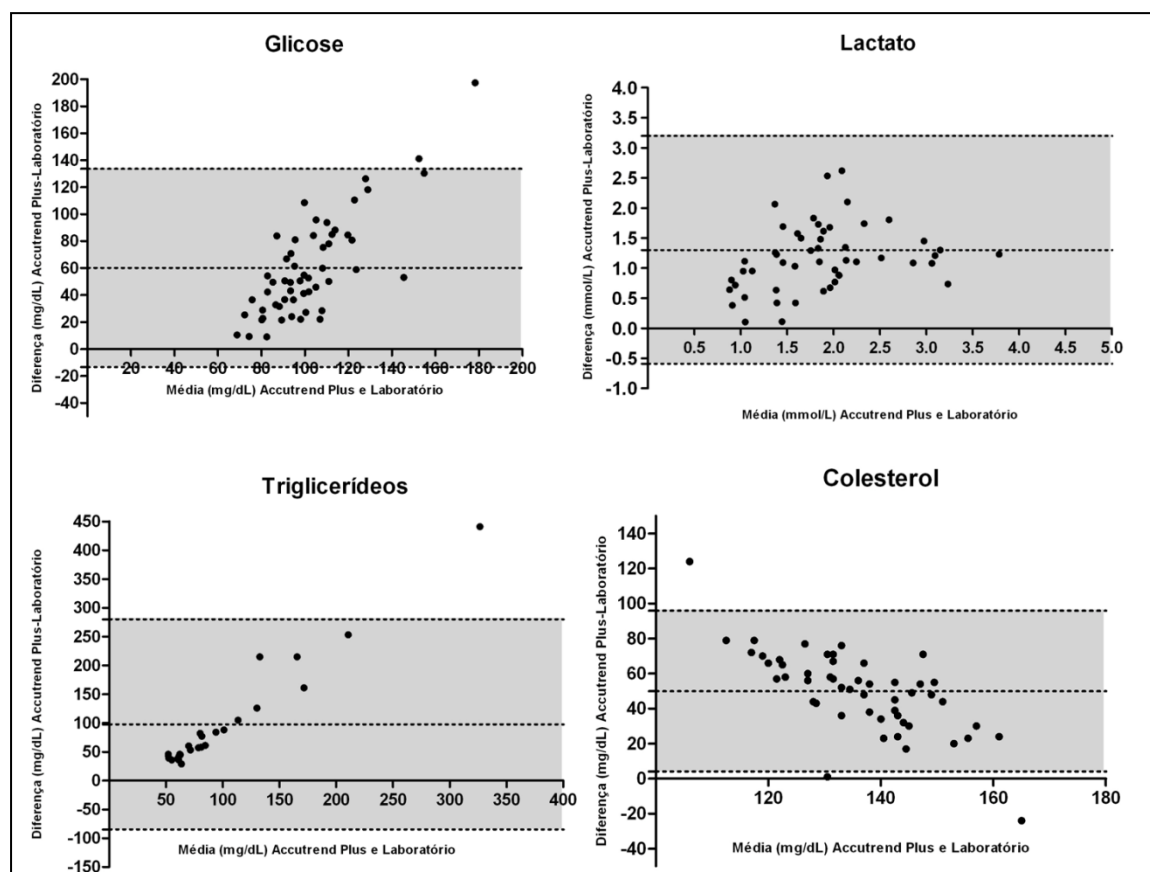


Figura 4. Representação gráfica da concordância entre o aparelho Accutrend® Plus e o método laboratorial de referência na mensuração de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol sanguíneos em cada momento (T₀ a T₄) de acordo com Bland e Altman (1986).

Tabela 3. Médias [desvios padrão] dos valores de glicose, lactato, triglicerídeos e colesterol sanguíneos, aferidos por métodos laboratoriais de cavalos (n=11) em prova de enduro de 160km de distância, Brasília-DF.

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Glicose (mg/dL)	66,23 [7,06] ^b	72,26 [10,25] ^{ab}	67,49 [20,69] ^b	75,02 [12,16] ^{ab}	80,22 [5,97] ^a
Lactato (mmol/L)	0,47 [0,13] ^d	1,14 [0,17] ^b	1,63 [0,40] ^a	0,93 [0,22] ^{bc}	0,74 [0,14] ^{cd}
Triglicerídeos (mg/dL)	32,09 [5,50] ^c	47,36 [14,81] ^{ab}	57,27 [23,68] ^a	34,45 [7,67] ^{bc}	34,64 [9,43] ^{bc}
Colesterol (mg/dL)	106,55 [18,92]	106,00 [21,48]	114,73 [15,13]	117,18 [19,88]	103,55 [33,25]

Letras sobrescritas diferentes indicam $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

T₀ refere-se ao momento pré-prova ou basal, T₁ após 66km, T₂ ao final da prova, T₃ duas horas após a prova e T₄ 15 horas após a prova.

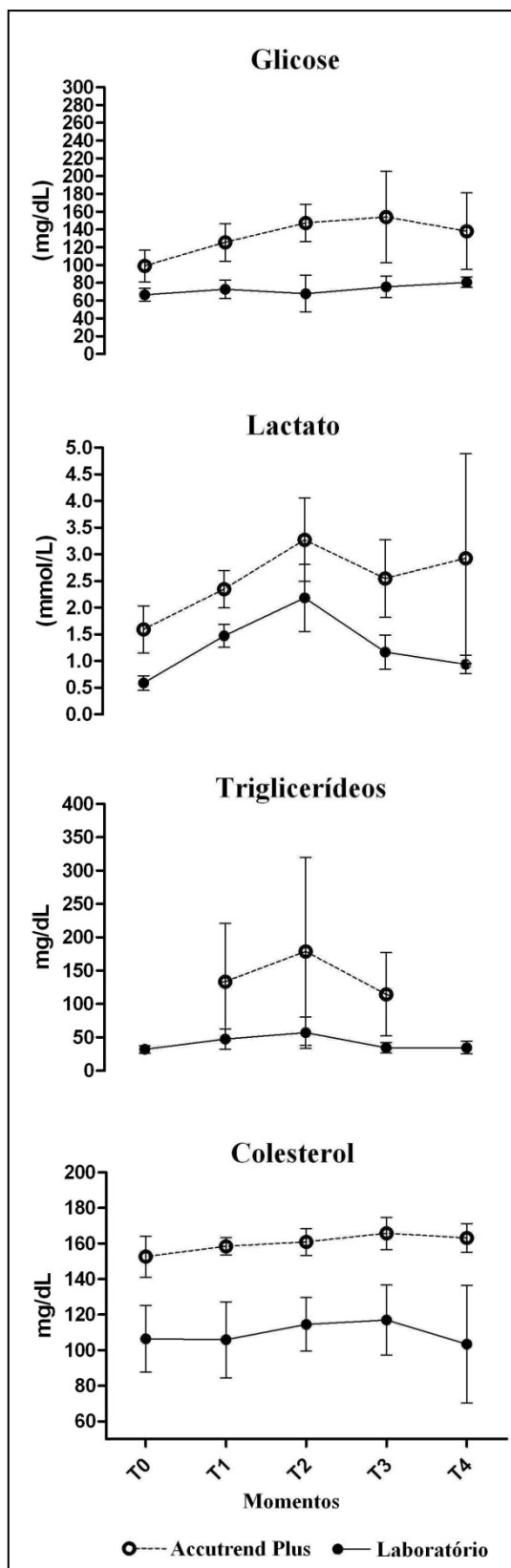


Figura 5. Representações gráficas das médias [desvio padrão] dos valores de glicose (a), lactato (b), triglicerídeos (c) e colesterol (d) sanguíneos nos tempos T₀ a T₄ pelo aparelho Accutrend® Plus e pelo método laboratorial de referência.

A glicose plasmática tende a reduzir durante esforços prolongados (maiores que três horas), enquanto que naqueles de curta duração, tanto o aumento quanto a diminuição já foram relatados, dependendo da intensidade do exercício, da nutrição e do condicionamento do cavalo (PÖSO et al., 2004). Discordando destes autores, no presente trabalho não foram observadas alterações durante o esforço que durou mais de 10 horas, entretanto, percebeu-se elevação da concentração 15 horas após o término da prova (T₄) o que provavelmente não se relaciona ao exercício em questão. Lopes et al. (2009) relataram aumento significativo da glicose sérica em cavalos de vaquejada. Teixeira e Pádua (2002) também reportaram aumento significativo da glicemia em cavalos da raça Puro Sangue Inglês após prova de corrida com valores maiores que os descritos no presente trabalho (entre 92,12 mg/dL e 107,88 mg/dL). Viu et al. (2010) observaram valores de glicose sanguínea estáveis utilizando o Accucheck[®] Glucose em cavalos antes e após prova de enduro de 120 km, com uma pequena redução aos 97 km de prova. Coelho et. al. (2011) não encontraram diferenças nos valores de glicose plasmática aferidos por métodos laboratoriais de cavalos da raça Mangalarga Marchador antes, durante e após o esforço de marcha.

A concentração de lactato determinada laboratorialmente revelou aumento significativo durante a prova (T₁ a T₃), em relação ao repouso (T₀). Tal concentração atingiu valores de pico ao final da prova (T₂), vindo a retomar valores basais somente 15 horas após o esforço (T₄). As concentrações de lactato aumentam durante os exercícios de alta intensidade, devido ao metabolismo anaeróbio, e seu pico costuma ocorrer entre 2-10 minutos após o exercício. O esforço de enduro é considerado de moderada intensidade e predominantemente aeróbio, e considera-se que sua concentração máxima de lactato sanguíneo seja de 1,6 mmol/L (PÖSO et al., 2004). Após o término do esforço, o lactato é removido principalmente por oxidação pelos músculos esqueléticos, que por serem abundantes no cavalo superam a remoção promovida pelo fígado, o qual reconverte lactato em glicose (PÖSO et al., 2004). Muñoz et al. (2010) relataram aumento significativo do lactato sanguíneo aferido por métodos laboratoriais em cavalos enduristas que completaram 91 km de prova. Viu et al. (2010) observaram aumento significativo do lactato sanguíneo aferido pelo Accucheck[®] Lactate em cavalos submetidos a prova de enduro de 120 km. Da mesma forma, Puoli-Filho et al. (2007), observaram diferença significativa pelo teste de Hartley entre o repouso e os momentos de esforço em cavalos enduristas (60 km) no lactato aferido pelo aparelho portátil Accutrend[®] Lactate.

Os valores referentes aos triglicerídeos também revelaram aumento significativo a cada etapa da prova (T_1 e T_2), com valores de pico ao final, retornando a valores basais 2 horas após o esforço (T_3). Segundo Pöso et al. (2004), durante o esforço as alterações hormonais – redução da insulina e aumento das catecolaminas, cortisol e glucagon - provocam a mobilização de substratos energéticos e liberação de ácidos graxos e glicerol do tecido adiposo para a circulação. O aumento das catecolaminas durante o esforço estimula a lipase sensível a hormônios, a qual age sobre os triglicerídeos liberando ácidos graxos na circulação, que são importantes substratos energéticos para o músculo em exercícios de resistência por reduzirem o consumo de glicose. Alguns autores (Orozco et al., 2007; Coelho et al., 2011) sugeriram que o metabolismo lipídico durante o exercício se assemelha ao observado no jejum devido às mudanças hormonais. O excesso de ácidos graxos livres na circulação observado nestas situações estimula a reesterificação dos mesmos em triglicerídeos pelo fígado, elevando suas taxas (BRUSS, 2008). Após o término do esforço, os níveis de catecolamina reduzem e os níveis de insulina aumentam conforme há o retorno alimentar, levando a um decréscimo nos níveis de triglicerídeos (HYYPÄ, 2005 apud COELHO et al., 2011). Tanto no presente estudo, quanto no de Coelho et al. (2011) com cavalos da raça Mangalarga Marchador, e no de Orozco et al. (2007), com cavalos Árabes, foi observado aumento significativo nos triglicerídeos em decorrência do esforço, sendo que os valores encontrados nos animais Marchadores foram menores que os encontrados no presente estudo, e os dos Árabes, semelhantes.

Os valores de colesterol não revelaram variação significativa durante todo experimento. Este resultado é condizente com os encontrados por Orozco e colaboradores (2007) em cavalos Árabes, sendo que neste, os valores de colesterol encontrados foram inferiores aos encontrados no presente trabalho. A síntese de colesterol é dispendiosa para o organismo e tem mecanismos de regulação que funcionam de forma a evitá-la, para que sua biossíntese apenas complemente a dieta. O hormônio glucagon inibe a síntese de colesterol, enquanto a insulina a estimula. Além disso, o excesso de colesterol intracelular inibe sua síntese, que ocorre no retículo endoplasmático, tornando os níveis sanguíneos de colesterol pouco variáveis (NELSON e COX, 2008b).

Alguns autores (OROZCO et al., 2007; COELHO et al., 2011) sugerem que o metabolismo lipídico durante o exercício se assemelhe ao observado no jejum devido às mudanças hormonais, com aumento do glucagon e redução da glicose. O jejum provoca mobilização de ácidos graxos, que são esterificados em triglicerídeos e transportados como lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), o que explica a

hipercolesterolemia observada nestas situações (ROONEY, 2004).

CONCLUSÃO

A utilização de equipamentos desenvolvidos para a medicina humana pela medicina veterinária deve ser sempre acompanhada de estudos que validem sua eficácia na espécie-alvo. Vários autores testaram a acurácia de aparelhos portáteis do tipo *point-of-care* na aferição de parâmetros sanguíneos em seres humanos e em animais domésticos, mas poucos trabalhos foram encontrados em relação aos equinos, o que reforça a necessidade de mais pesquisas a fim de validar ou invalidar definitivamente o uso desta tecnologia para esta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEIXO, G. A. S.; COELHO, M. C. O. C.; GUIMARÃES, A. L. N.; ANDRADE, M. B.; LOPES-JÚNIOR, C. G.; SILVA, R. A. A.; CAVALCANTI, H. B. Fatores que podem invalidar os resultados da mensuração dos níveis glicêmicos em cães utilizando o glicosímetro portátil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 447-454, out./dez., 2006.

ALVES, J. P. C.; BARBOSA, M. V.; SILVA, R. C. C. G.; REIS, F. A.; SILVA, A. C.; SANTOS, D. N.; BARREIROS, W. F. S.; GODOY, D. H. O.; MESQUITA, L. M.; SILVA, S. M.; SÁ, J. C.; TORRES, E.; MATIDA, A.; HERRERA, J. B. Estudo comparativo entre analisadores de lactato sanguíneo. **Educação Física em Revista**, v. 6, n. 2, mai/jun/jul/ago, 2012.

BARRERO, A. A.; FORT, A. C.; ARRIBAS, J. M.; MANERO, M. R.; EZQUERRA, E. A. Concordancia entre la determinación de triglicéridos em sangre capilar y por el método tradicional. **Medicina Clinica (Barcelona)**, v. 133, n. 10, p.375–378, 2009.

COELHO, C. S.; GAMA, J. A. N.; LOPES, P. F. R.; SOUZA, V. R. C. Glicemia e concentrações séricas de insulina, triglicérides e cortisol em equinos da raça Mangalarga Marchador após exercício físico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 31, n.9, p.756-760, setembro, 2011.

BAYLY, W. Foreword. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2004, p. xiii.

BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **Lancet**, v.1, p.307-310, 1986.

BLUWOL, K.; DUARTE, R.; LUSTOZA, M. D.; SIMÕES, D. M. N.; KOGIKA, M. M. Avaliação de dois sensores portáteis para mensuração da glicemia em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.6, p.1408-1411, 2007.

BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Elsevier, 6. ed. 2008, p.81-115.

EVANS, D. Exercise testing in the field. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2004, p. 19-31.

FEI. **Rules for endurance events**. Fédération Equestre Internationale, Switzerland, 7. ed., p. 2-27, 2009.

FOSS, M. A.; WICKLER, S. J. Veterinary aspects of endurance riding. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 1105-1117, Philadelphia, 2004.

FRAITPOINT, A.; VAN ERCK, E.; RAMERY, E.; FORTIER, G.; LEKEUX, P.; ART, T. Assessing fitness in endurance horses. **Canadian Veterinary Journal**, vol. 53, n. 3, p. 311–314, 2012.

FRANCHINI, E.; MATSUSHIGUE, K. A.; COLANTONIO, E.; KISS, M. A. P. D. Comparação dos analisadores de lactato accusport e yellow springs. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 12, n. 1, p. 39-44, jan./mar., 2004.

HACKETT, E. S.; McCUE, P. M. Evaluation of a veterinary glucometer for use in horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, vol. 24, p. 617–621, 2010.

HIDALGO, J. L.; MARTÍNEZ, I. P.; SÁNCHEZ-VILLACAÑAS, R. M.; CAMPO, J. M. C.; FERRER, A. V.; RAYO, S. M. Validity of the measurement of capillary cholesterol in the diagnosis of defined hypercholesterolemia. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, vol. 50, n. 1, p. 185-187, 2012.

HINCHCLIFF, K. W.; GEOR, R. J. Integrative physiology of exercise. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2004, p. 3-8.

HINES M. T. Clinical assessment to poor performance. In: REED, S.; BAYLY, W.; McEACHERN, R. B.; SELTON, D. **Equine Internal Medicine**. 3. ed. St. Louis: Saunders, 2nd ed., 2003, p. 163-168.

HIRAKATA, V. N.; CAMEY, S. A. Análise de concordância entre métodos de Bland-Altman. **Revista HCPA**, vol. 29, n. 3, p. 261-268, 2009.

HOLLIS A.R.; SCHAEER B. L. D.; BOSTON R. C., WILKINS, P. A. Comparison of the accu-check aviva point-of-care glucometer with blood gas and laboratory methods of analysis of glucose measurement in equine emergency patients. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, vol 22, p. 1189–1195, 2008.

KANEKO, J. J. Carbohydrate metabolism and its diseases. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. New York: Elsevier, 6. ed, 2008, p.45-80.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Appendices. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. New York: Elsevier, 6. ed., 2008, p.873-904.

LOPES, K. R. F.; BATISTA, J. S.; DIAS, R. V. C.; SOTO-BLANCO, B. Influencia das competições de vaquejada sobre os parâmetros indicadores de estresse em equinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 538-543, abr./jun., 2009.

MACLEAY, J. M. Diseases of the musculoskeletal system. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M; SELTON, D. C. **Equine Internal Medicine**. 3. ed., St. Louis: W. B. Saunders Company, 2004, p. 461- 522.

MCKEEVER, K. H. e GORDON, M. B. Endocrine alterations in the equine athlete. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2004, p. 793-814.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. Apêndice: Valores Normais e Tabelas de Conversão. In: **Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995, p. 294.

MUÑOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJÓN-RIBER, C.; CASTEJÓN, F. M. Dehydration, electrolyte imbalances and renin-angiotensin-aldosterone-vasopressin axis in successful and unsuccessful endurance horses. **Equine Veterinary Journal**, vol. 42, suppl. 38, p. 76-82. 2010.

NAYLOR, R. J.; DURWARD-AKHURST, S. A. Use of the Accutrend point-of-care monitor for blood triglyceride measurement in horses. **Veterinary Record**, publicado online em 20 de fev, doi: 10.1136/vr.100530, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lipid biosynthesis. In: **Lehninger: Principles of Biochemistry**. 5. ed., New York: W.H Freeman and Company, 2008a, p.805-850.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Hormonal Regulation and Integration of Mammalian Metabolism.. In: **Lehninger: Principles of Biochemistry**. 5. ed., New York: W.H Freeman and Company, 2008b, p.901-944.

OROZCO A.A.G., MARTINS C.B., GOMIDE L.M., QUEIROZ-NETO A. & LACERDA-NETO J.C. Alteraciones metabólicas durante entrenamiento en equinos de la Raza Pura Sangre Árabe. **Revista de Medicina Veterinaria**, vol. 13, p. 77-82, 2007.

PLANCHE, T.; KRISHNA, S.; KOMBILA, M.; ENGEL, K.; FAUCHER, J. F.; NGOUMILAMA, E.; KREMSNER, P. G.. Comparison of methods for the rapid laboratory assessment of children with malaria. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**., vol. 65, n.5, p. 599–602, 2001.

PÖSÖ, A. R., HYYPPÄ, S., GEOR, R. J. Metabolic response to exercise and training. In: : HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2004, p. 771-792.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. Metabolismo do Exercício. In: **Fisiologia do Exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e desempenho**. São Paulo: Manole, 5. ed., 2005, p. 50-70.

PUOLI-FILHO, J. N. P.; BARROS-NETO, T. L.; 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 and Animal Science**, São Paulo, v.44, n. 2, p. 122-131, 2007.

RIVERO, J. L. L.; PIERCY, R. J. Muscle physiology: responses to exercises and training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2004, p. 45-76.

ROONEY, D. K. Applied nutrition. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M; SELLON, D. C. **Equine Internal Medicine**, 3. ed., St. Louis: W. B. Saunders Company, p. 233-272, 2004.

SANTOS, T. F.; RUBIO, M. S.; NEVES, E. T. V.; SILVA, J. E. S.; GUERRA, C. R. S. B.; COELHO, W. M. D.; FONZAR, J. F. Avaliação comparativa entre o glicosímetro portátil e o método laboratorial enzimático colorimétrico na dosagem glicêmica em cães. **Revista Ciências Agrárias e da Saúde**. FEA, Andradina, v.8, p. 7-11, 2008.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Monovalent Eletrolites and osmolarity. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology**. 2. ed., Ames: Blackwell Publishing, 2008a, p. 495-558.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Glucose, ketoamines and related regulatory hormones. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology**. 2. ed., Ames: Blackwell Publishing, 2008b, p. 708-731.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Lipids. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology**. 2. ed., Ames: Blackwell Publishing, p2008c, 763-782.

TEIXEIRA, P. P.; PÁDUA, J. T. Avaliação dos níveis de cortisol, tiroxina, triiodotironina e glicose como indicativos de estresse em cavalos puro sangue inglês de corrida, antes e após a competição. **Ciência Animal Brasileira**, vol 3, n.1, p.39-48, jan./jun, 2002.

TEIXEIRA-NETO, A. R.; BOTELHO, R. G.; SOUSA, K. E.; GOMES, J. L.; LIMA, E. M. M. Ineficácia do aparelho portátil Accutrend® Plus na clínica médica de equinos. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.27, n.1, p. 017-021, 2011.

VIU, J.; JOSE-CUNILLERAS, E.; ARMENGOU, L.; CESARINI, C.; TARANCÓN, I.; RIOS, J.; MONREAL, L. Acid-base imbalances during a 120 km endurance race compared by traditional and simplified strong ion difference methods. **Equine Veterinary Journal**, vol 42, suppl. 38, p. 76-82, 2010.

WESS, G.; REUSCH, C. Evaluation of five portable blood glucose meters for use in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.216, n.2, p.203-209, 2000.

WOLINSKY, I.; HICKSON, J. F. **Nutrition in exercise and sport**. 2. ed. Texas: CRC Press Inc., 1994, p. 29-31.