

Perfil bioquímico e oxidativo de cavalos usados em prova simulada dos três tambores*

Isabella Manes Soutto Mayor da Motta Rodrigues¹, Bruno Ferreira Spindola²
e Paulo de Tarso Landgraf Botteon³

ABSTRACT. Rodrigues I.M.S.M.M., Spindola B.F. & Botteon P.T.L. [**Biochemical and oxidative profile of horse used for a simulated barrel racing.**] Perfil bioquímico e oxidativo de cavalos usados em prova simulada de três tambores. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.2):93-100, 2016. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23851-790, Brasil. E-mail: paulobotteon@gmail.com

The barrel racing is characterized as an exercise with predominantly anaerobic metabolism. Aiming to evaluate the activity of serum enzymes creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH), the enzymatic antioxidant defense through the enzymes glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD) and oxidative damage means the concentration of malondialdehyde (MDA), six horses were used in a barrel racing simulated. Significant differences were observed between the times of collection in the serum activity of the enzyme AST, increasing in 4h after the race, but with normal values in the next 24 hours. The CK activity also showed significant difference compared with the rest, and higher values immediately after exercise and at 4 h after the test. The LDH activity values were higher in 4h after the race but with a significant difference compared to rest. The SOD activity showed no significant difference, as the GPx activity showed higher values in the 24 hours after the race. The MDA values increased significantly immediately after the evidence was showing that lipid peroxidation. Anaerobic exercise promoted an increase of the indicator enzymes of muscle damage and in oxidative stress biomarker.

KEY WORDS. Antioxidant defense, horses, serum enzymes.

RESUMO. A prova de Três tambores se caracteriza por ser um exercício com metabolismo anaeróbico predominante. Com o objetivo de avaliar a atividade das enzimas séricas creatinaquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH), da defesa antioxidante enzimática através das enzimas glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e o dano oxi-

dativo por meio da concentração de malondialdeído (MDA), foram utilizados seis equinos em uma prova dos três tambores simulada. Foram evidenciadas diferenças significativas entre os momentos de coleta na atividade sérica da enzima AST, com aumento nas 4h após a prova, porém com valores normais nas 24h seguintes. A atividade da enzima CK também apresentou diferença significativa

* Recebido em 19 de outubro de 2016.

Aceito para publicação em 17 de outubro de 2016.

¹ Médica-veterinária, Mestre, Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Veterinária (IV), BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23851-790. E-mail: isabellamanes@hotmail.com

² Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), UFRRJ, IV, UFRRJ, BR-465 km 7, Seropédica, RJ 23851-790. bfspindola@yahoo.com.br

³ Médico-veterinário, Dr., Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, IV, UFRRJ, BR-465 km 7, Seropédica RJ 23851-790. *Autor para correspondência, E-mail: paulobotteon@gmail.com

comparada com o repouso, apresentando valores mais altos imediatamente após o exercício e nas 4h após a prova. Os valores de atividade de LDH foram significativamente mais altos em relação ao repouso no momento 4h após a prova. A atividade de SOD não apresentou diferença significativa, já a atividade GPx apresentou valores mais altos nas 24h após a prova. Os valores de MDA apresentaram aumento significativo imediatamente após a prova comprovando aumento na taxa de peroxidação lipídica. O exercício anaeróbico promoveu elevação da atividade das enzimas indicadoras de dano muscular e no biomarcador de estresse oxidativo.

PALAVRAS-CHAVE. Defesa antioxidante, enzimas, equinos.

INTRODUÇÃO

As exigências por níveis extremos de desempenho atlético por parte da espécie equina crescem cada vez mais, devido à cultura do esporte juntamente à valorização econômica de animais de alto desempenho esportivo. Tal desempenho só é alcançado com trabalhos físicos, técnicos e nutricionais cada vez mais intensificados. Como consequência dessa intensa rotina de treinamentos e competições, esses equinos estão sujeitos ao aparecimento de lesões relacionadas à sua utilização nas diversas modalidades do esporte.

Lesões musculoesqueléticas constituem o principal fator determinante da remoção temporária ou permanente de equinos de sua vida atlética (Verheyen & Wood 2004). Algumas modalidades esportivas submetem os cavalos a diferentes esforços que produzem lesões e estresse característicos no sistema músculo esquelético, decorrentes de movimentos repetitivos. Geralmente, para o diagnóstico de tais afecções, são realizados exames laboratoriais complementares, como por exemplo, a determinação das atividades séricas de aspartato aminotransferase (AST) e creatinoquinase (CK) (Câmara & Silva et al. 2007).

Ultimamente têm-se dado maior atenção às lesões relacionadas com o metabolismo oxidativo, uma vez que o processo de produção de radicais livres tem sido incriminado na fisiopatologia de diversas enfermidades que acometem os equinos, principalmente os cavalos atletas. 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 dessas substâncias. Esse desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a defesa antio-

xidante, em favor da produção de radicais livres é conhecido como estresse oxidativo.

Uma das consequências do estresse oxidativo mais importante é a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados das membranas celulares, mais conhecida como peroxidação lipídica, que provoca danos e impede a passagem de nutrientes, como proteínas e glicose. A peroxidação lipídica pode ser quantificada através da mensuração do acúmulo de subprodutos resultantes desse processo, como o malondialdeído (MDA), que normalmente serve como índice da intensidade da ocorrência de tal reação (Kerksick & Willoughby 2005).

Devido ao efeito tóxico das ERO, sobre o organismo do animal existe um eficiente sistema antioxidante. O sistema possui antioxidantes lipossolúveis e hidrossolúveis, uma vez que estas estão presentes em diversos compartimentos celulares. Quando a capacidade antioxidante é limitada a vida útil das células imunológicas envolvidas no processo inflamatório é reduzida e a infecção pode se tornar mais grave (Weiss 2005). As enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx) provêm a defesa primária contra as EROs geradas durante o exercício, e a atividade destas enzimas aumenta em resposta ao exercício tanto em animais quanto no homem (Jenkins 1988, Sen 1995).

A prova dos três tambores utiliza predominantemente a raça Quarto de Milha por sua força e docilidade, o que lhe permite partidas rápidas, paradas bruscas e grande habilidade de girar sobre si mesmo. É uma modalidade de esporte equestre muito difundida no Brasil e caracteriza por ser um exercício de duração menor, com predomínio do metabolismo anaeróbico como produtor de ATP durante o período de exercício (ABQM 2012).

MATERIAL E MÉTODOS

O teste físico dos Seis equinos atletas clinicamente sadios, com idade variando entre 6 a 10 anos, com peso médio de 400kg, da raça Quarto de Milha e mestiços, submetidos a regime de treinamento de 5 vezes por semana para prova de tambor, manejo alimentar à base de concentrado com ração peletizada comercial e feno (alfafa), foi executado no Centro de Treinamento Águas Pratas, Cidade de Resende- RJ e o material colhido foi processado e analisado no Laboratório de Pesquisa Clínica em Animais de Produção da UFRRJ, Laboratório de Patologia Clínica da UFRRJ e Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQE-PV) da UFRRJ.

Foram feitas avaliações clínicas nos animais antes e após cada prova, assim como coleta de sangue como triagem e após o exercício. O estudo foi realizado me-

diante um delineamento em medidas repetidas, comparando-se diversos momentos após o exercício com os parâmetros colhidos com o animal em repouso. O treinamento foi executado de maneira ininterrupta, cada animal passou pelo processo de aquecimento, passando do trote para o galope e incluindo as passadas nos três tambores igualmente ocorre na prova oficial.

As amostras de sangue, plasma e soro foram colhidas com os animais ainda em repouso (M1), imediatamente após o término do exercício (M2), quatro horas após o exercício (M3) e 24 h após o exercício (M4). Coleta de amostras sanguíneas, foi realizada através de venopunção jugular em frascos à vácuo de 4,0ml (Vacuette®), contendo anticoagulantes (EDTA, fluoreto de sódio, heparina) Amostras colhidas em tubos contendo heparina foram imediatamente submetidas à centrifugação (1200rpm/10minutos, 4°C), para obtenção do plasma, que foram alíquotados em frascos para criopreservação 1,5 mL, rotulados e transportados em caixas de isopor com gelo até o laboratório na UFRRJ, onde foram estocadas em ultra freezer a - 80°C até o momento do descongelamento para determinação de biomarcadores de radicais livres. Amostras colhidas em frascos contendo (EDTA) foram transportadas em caixas de isopor com gelo até o laboratório na UFRRJ para realização de hemograma. A avaliação do estresse oxidativo foi realizada através da determinação dos produtos resultantes da peroxidação lipídica (Ferreira et al. 1999). A atividade das enzimas SOD e GPx foi determinada utilizando-se kits comerciais (Glutathione Peroxidase Assay Kit - Cayman - referência 703102; Superóxido Dismutase Assay Kit - Cayman - referência 706002) e analisadas em leitor de microplacas com absorvância de 450 nm e 304 nm em Espectrofotômetro Termo Scientific® Uniscience Multiskan FC para leitura de Elisa.

Para análise estatística, os dados de cada variável foram analisados quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro Wilk. Nos casos onde não se observou a distribuição normal, os dados foram transformados pela raiz quadrada e novamente submetida ao teste de Shapiro Wilk. Garantida a distribuição normal, estes foram então analisados pelo método de análise de variância para medidas repetidas, com 95% de significância, para avaliar as alterações ocorridas em cada parâmetro ao logo do tempo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais participantes do experimento apresentaram todos os parâmetros vitais, nos quatro momentos de avaliação pré-determinados, dentro da normalidade e não foram constatadas lesões macroscópicas. (Tabela 1).

A avaliação bioquímica do estresse oxidativo é comumente realizada utilizando-se marcadores bioquímicos indiretos como lixeiros antioxidantes, enzimas antioxidantes e vitaminas (De Moffarts et al. 2006). Em cavalos, numerosos experimentos têm sido realizados e também estudos a campo têm de-

monstrado que ocorrem mudanças oxidativas promovidas pelo exercício induzido, apoiando o uso racional de antioxidantes nas competições equestres (Mills et al. 1996, Deaton et al. 2002, Marlin et al. 2002, De Moffarts et al. 2004, 2005). A determinação sérica da atividade da AST tem sido utilizada associada à CK e lactato desidrogenase (LDH) para a avaliação dos efeitos do exercício físico sobre a musculatura (Câmara & Silva et al. 2007, Valberg 2008). A CK é uma enzima de extravasamento uma vez que é liberada das células musculares quando estas sofrem lesão. O que não está relacionado com lesão de miócitos, mas sim pelo fato do exercício induzir mudanças reversíveis do músculo esquelético dos cavalos, como a elevação da permeabilidade do sarcolema e das proteínas musculares, tais como a mioglobina, creatinoquinase (CK) e a aspartato amino transferase (AST) que são liberadas na circulação (McCutcheon et al. 1992). Assim, as concentrações de AST e CK poderiam ser influenciadas pela fase de treinamento e pelo tipo de exercício (Câmara & Silva et al. 2007). A atividade sérica das enzimas AST, CK e LDH variou dentro do considerado fisiológico para a espécie (Hodgson & Rose 1994, Radostitis et al. 2002, Thomassian 2007). Segundo Kaneco et al. (1997), os valores de referência da atividade sérica de AST variam de 226 a 366 UI/L. Já Hodgson & Rose (1994) relatam valores variando entre 150 e 400 UI/L. Neste estudo, no M1 a atividade sérica de AST foi de 263,66 UI/L, entre os valores considerados normais por Kaneco et al. (1997), porém maior que os valores observados por Franciscato et al. (2006) que relataram valores de AST entre 73 e 382 UI/L. Esta enzima é encontrada nos hepatócitos, células musculares esqueléticas e cardíacas. No caso de lesão muscular o aumento ocorre de maneira mais lenta quando comparada a CK, tendo seus valores máximos entre 24 e 36 horas após a ocorrência da lesão. Porém mesmo ocorrendo um aumento dos valores de AST, não foi significativo para demonstrar lesão muscular uma vez que os níveis após 24 horas do exercício já se encon-

Tabela 1. Parâmetros da avaliação clínica de equinos nos momentos M1, imediatamente antes do início da prova, M2, após o exercício, M3, após 4 h, e M4 após 24h do exercício.

Parâmetro	M1	M2	M3	M4
Frequência respiratória	18,3±1,96	46,3±4,8	22,1±6,2	19,1±1,32
Frequência cardíaca	36±6,9	111,3±9,9	42,3±13,8	36,8±6,3
Tempo de preenchimento capilar	2±0	1,5±0,5	2±0	2±0
AP/AD	N	N	N	N
Mucosa/TC	N	N	N	N

N é normal, AP ausculta pulmonar e AD ausculta digestiva.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão da atividade sérica das enzima aspartato aminotransferase (AST), Creatinaquinase (CK), Lactato desidrogenase (LDH), creatinina e uréia e concentração plasmática de glicose e lactato de equinos praticantes de tambor, nos momentos M1, imediatamente antes do início da prova, M2, após o exercício, M3, após 4 h, e M4 após 24h do exercício.

	M1	M2	M3	M4	Valor P
AST (UI/L)	263,66±26,39	270±19,07	291,5±24,14	283,33±23,5	0,144
CK (UI/L)	229,2 ^a ±26,39	257,2 ^{ab} ±29,8	278,2 ^b ±30,7	226 ^a ±46	0,049
LDH (UI/L)	586 ^{ab} ±108,7	661 ^b ±65,11	620 ^{ab} ±86	575 ^a ±93,77	0,046
Creatinina (mg/dL)	0,95 ^a ±0,07	1,43 ^b ±0,58	1,08 ^a ±0,42	1,16 ^a ±0,20	0,042
Ureia (mg/dL)	39,17±5,03	41,16±3,18	42,5±5,16	40,6±4,22	0,1425
Glicose (UI/L)	76,5±9,85	65,33±15,01	80,33±8,01	74,5±6,41	0,1821
Lactato (mmol/L)	0,5 ^a ±0,2	10,28 ^b ±2,01	0,48 ^a ±0,44	0,7 ^a ±0,56	0,0001

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si. $\alpha = 0,05$.

travam menores que na avaliação dos momentos anteriores e quase iguais aos do repouso. O exercício promove elevação dos valores de AST, com o pico da atividade enzimática ocorrendo entre 24 e 36 horas após o exercício. Este comportamento foi observado neste estudo, com o maior valor, 283,33 UI/L (Tabela 2), observado 24 horas após o exercício, porém sem diferença significativa em relação ao repouso ($P = 0,1444$). Esta elevação decorre de um aumento da permeabilidade das paredes celulares em decorrência da grande atividade muscular determinada pelo exercício (Siciliano et al. 1997).

Neste estudo a atividade sérica da enzima CK no M2 apresentou-se elevada 257,2 UI/L indicando que houve aumento da carga de trabalho (Tabela 2), porém o maior valor foi no M3 com valores de 278,2 UI/L apresentando diferença significativa em relação ao repouso (M1) 229,2 UI/L ($P = 0,049$). Esse comportamento está corroborando com estudo de Thrall (2006) aonde a atividade de CK atinge seu valor máximo de 6 a 12 horas após a lesão muscular aguda, com os valores retornando ao normal de 24 a 48 horas após a ocorrência e recuperação da lesão. Martins et al. (2008) acompanharam os efeitos do treinamento. Para tal, alguns animais passaram por um longo período de preparação, sendo posteriormente submetidos a uma prova de enduro de aproximadamente 40 km. Os resultados encontrados para a atividade sérica de CK após 6 horas do final do exercício foram mais elevados (189 ± 62 UI/L), Segundo os autores esta foi uma elevação discreta, apesar de demonstrar significância. Ainda ressaltaram que o aumento da atividade enzimática encontrada não indicou lesão muscular. Tyler & McGowan et al. (1999) observaram que o treinamento pode levar a adaptações músculo-esqueléticas, mas elevações das atividades de AST e CK podem aparecer associadas a dor muscular, fadiga e baixa performance. Segundo Toledo et al.

(2001) ocorre aumento da atividade sérica de CK após exercícios intensos. O aumento da atividade sérica de CK foi relacionado com a permeabilidade de membrana aumentada devido à hipóxia que se desenvolve durante o exercício.

Animais mal condicionados fisicamente apresentarão hipóxia em trabalhos de baixas intensidades e, conseqüentemente, maiores concentrações da enzima em relação àqueles animais bem condicionados (Milne 1976, Snow & Mackenzie 1977, Milne 1982, Seeherman & Morris 1990).

Os valores da glicose variaram dentro do fisiológico para a espécie equina apresentando valores entre 76,5 UI/L e 74,5 UI/L (Tabela 2). Neste estudo, no M1 os valores de glicose 76,5 UI/L encontram-se dentro dos limites superiores do intervalo de referência descrito por Robinson (2003) para a espécie equina (75,0-115,0 mg/dL). Porém no M2 foi observado um decréscimo do valor glicêmico 65,33 mg/dL como também citado por Kerber & Trindade (2003), provavelmente pela assimilação da glicose pelos músculos durante atividade física. 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). As mudanças nas concentrações de glicose plasmática indicam estímulo para a glicogênese hepática (Hodgson & Rose 1994). Segundo Coogan (1991) a glicogenólise é dominante na maioria dos exercícios, e é maior no começo e durante esforço de alta intensidade como o avaliado neste estudo. Segundo Rose et al. (1983), a velocidade e duração do exercício são os fatores mais importantes para alteração na concentração de glicose. Spinha et al. (2001) realizaram estudos com equinos PSI e observaram que os valores médios

dos teores séricos de glicose sofreram elevação nos diferentes tipos de exercício, sendo proporcional a intensidade do esforço físico. Segundo Tadich et al. (1997), verificaram que os equinos não acostumados ao exercício apresentam variações sanguíneas, mas eles retornam aos seus níveis de referência uma vez que animal se adapta ao exercício.

Os valores basais de lactato plasmático oscilam no repouso entre 0,5-1,0 mmol/L, segundo McGowan (2008) em cavalos de corrida. Neste estudo, o M1 apresentou valores considerados fisiológicos para a espécie 0,5mmol/L (Tabela 2). Segundo Gomide et al. (2006) a determinação plasmática de lactato após o exercício permite determinar o nível de esforço físico ao qual os animais foram submetidos, bem como determinar o preparo dos referidos animais para realizar o exercício imposto. O lactato se difunde dos músculos para o sangue, sendo assim, a concentração de lactato no sangue ou no plasma reflete a produção muscular (Mason & Thomas 1988).

Com o início do exercício, há uma enorme aceleração na velocidade de quebra do glicogênio do músculo (glicogenólise), na absorção de glicose e na quebra de glicose (glicólise) (Brooks & Fahey 1984). O lactato se acumula no sangue em função da velocidade do exercício e tem sua concentração bastante elevada quando próxima do final do exercício, indicando grande contribuição da glicólise anaeróbica para produção de energia (Morris 1992, Davie & Evans 2000). O aumento dos valores plasmáticos de lactato é esperado após qualquer tipo de exercício, pois todas as fontes de energia são ativadas (McGowan 2008). Porém, este aumento é dependente principalmente da intensidade e da duração do mesmo. Este comportamento foi observado neste estudo com maior valor no M2 com valores de 10,28 mmol/L apresentando diferença significativa em relação ao repouso ($P= 0,0001$). Esta elevação ocorre porque houve predominância da produção de energia por via anaeróbica láctica, visto que os valores foram superiores a 4 mmol/L, caracterizado como o limiar anaeróbico (Gomide et al. 2006, Kowal et al. 2006, Tateo et al. 2008). Após corrida ou esforço submáximo, as concentrações séricas podem atingir até 25-30mmol/L (McGowan 2008).

A ureia assim como a creatinina sérica, sofrem influências de condições pré-renais, como intensa atividade ou alteração muscular e também, devido à hipovolemia que leva à diminuição da filtração glomerular (Foreman & Ferlazzo 1996). A formação da ureia é uma reação que requer a utilização

de energia, e ocorre quase que exclusivamente no fígado. A taxa de formação da ureia depende da taxa de catabolismo proteico. A atividade sérica desta enzima neste estudo esteve dentro do fisiológico apresentando valores de 39,17 mg/dL no M1 (Tabela 2). Um aumento na concentração da ureia sanguínea pode refletir tanto uma aceleração no catabolismo proteico, quanto uma diminuição na sua excreção urinária (Foreman & Ferlazzo 1996). E este comportamento foi observado neste estudo com maior valor no M3, nas 4h após o exercício com valores de 42,5 mg/dL (Tabela 2), porém não apresentando diferenças significativas quando comparado ao repouso ($p = 0,1425$) e além disso após as 24 horas no M4 já estavam apresentando valores mais próximos do repouso novamente 40,5 mg/dL. A creatinina é produzida a partir da decomposição de creatina, um composto nitrogenado utilizado por células musculares para armazenar energia. A concentração sérica de creatinina varia de acordo com a síntese de creatina e a quantidade de tecido do músculo do animal (Stockham 1995). Por esse motivo seu aumento é fisiológico (Shott 2006, Piccione et al. 2009). Este comportamento foi observado no M2 com valor de 1,42mg/dL (tabela 2) apresentando diferenças significativas em relação ao repouso ($P= 0,042$). Este aumento após o exercício também ocorreu em cavalos árabes acometidos por rabdomiólise (El-Deeb & El-Bahr 2010). O aumento da concentração da creatinina nos momentos M2, imediatamente após o exercício, até M4 nas 24h após o exercício, considerando que os cavalos exercitados mantiveram uma função renal normal demonstra que o exercício anaeróbico de curta duração, como o efetuado neste estudo, eleva a creatinina urinária por aumentar o catabolismo da fosfocreatina (PCr) durante sua execução (Kurosawa et al. 2003, Turgut et al. 2003, Mende et al 2004, Volek et al. 2004) uma vez que, neste tipo de exercício a energia necessária é fornecida pelo sistema ATP-CP, resultando na maior produção de creatinina. A creatinina é usada como marcador da massa muscular, por ser o local de maior estocagem de creatina (Chung et al. 2003, Taes et al. 2003).

O malondialdeído (MDA) é um dos produtos finais da peroxidação lipídica que ocorre como consequência do estresse oxidativo induzido pelo exercício físico (Deaton & Marlin 2003, Radak et al. 2008, Sun et al. 2010). Como os eritrócitos circulam por todo o organismo, a avaliação do estresse oxidativo eritrocitário, por meio da mensuração do MDA eritrocitário, pode ser utilizada como um índice de estresse oxidativo (Machado et al. 2009). Os

valores de MDA obtidos por Michima et al. (2004) foram na ordem de 0,90nmol/L. Neste estudo no M1 os valores foram de 0,39nmol/gHb (Tabela 3), o que foi considerado fisiológico para a espécie. As modificações das membranas celulares decorrentes da peroxidação lipídica são causadas por superprodução de ERO e isso pode ser uma das causas de miopatia induzida por exercícios e hemólise dos cavalos (Chiaradia et al. 1998, Marlin et al. 2002). O aumento dos níveis de MDA serve como um marcador de estresse oxidativo e da intensidade do exercício. Neste estudo, verificamos no M2 com valores de 1,02 nmol/gHb que apresentaram diferenças significativas em relação ao repouso ($p=0,0058$). Este mesmo comportamento foi relatado em cavalos de corrida puro-sangue após exercício de pista, sem alterações significativas 30 minutos após repouso (Kedzierski et al. 2009). Em outro estudo, realizado em cavalos de corrida puro-sangue (White et al. 2001) demonstraram concentrações de MDA significativamente elevadas, minutos após a corrida. Estes dados evidenciam que a intensidade do exercício pode ser um fator importante no estresse oxidativo. O retorno aos níveis basais da concentração de MDA, também é um parâmetro que pode ser influenciado pelo tipo de exercício e intensidade do mesmo. Este estudo os valores no M3 eram 0,4 nmol/gHb, semelhantes aos valores basais. Já Avellini et al. (1999) relataram que as concentrações plasmáticas de MDA permaneceram significativamente elevadas após 24h em cavalos de corrida após o ensaio de potência máxima, e Chiaradia et al. (1998) relataram concentrações plasmáticas de MDA significativamente elevadas 18 horas após o exercício em cavalos de corrida. Todos estes autores trabalharam com atividade de explosão e velocidade. Quando analisamos os resultados obtidos por autores que trabalharam com atividades de resistência, verificamos que concentrações elevadas de MDA plasmático foram encontrados 14 dias após uma corrida de resistência em cavalos de corrida (Al-Quadah & Al-Majali 2008).

Neste estudo os valores de SOD variaram dentro dos limites fisiológicos de acordo com estudo feito por Takahashi et al. (2012). A atividade de SOD no M1 apresentou valores de 2,86 UI/L. O valor mais baixo observado foi no M2 2,37 UI/L (Tabela 3), porém não foi observada diferença significativa quando comparadas com o repouso ($P= 0,7421$). Corroborando com este estudo, nem sempre ocorre aumento da atividade da SOD após o exercício, como por exemplo, ao término de um programa de treinamento de oito semanas de ciclismo de

intensidade moderada em indivíduos não treinados (Tiidus et al. 1996) e em indivíduos treinados para competir em provas de corrida (Tauler et al. 1999). Segundo Takahashi et al. (2012) os valores encontrados de SOD não apresentaram diferença estatística significativa mesmo quando foram comparados a diferentes intensidades de exercício de enduro apresentando valores de 4,60 UI/L no repouso e 3,79 UI/L imediatamente após o exercício de alta intensidade.

Com a liberação de ERO a glutathiona reduzida é oxidada por ação da GPx. Neubauer et al. 2008 em estudo informou recentemente que GPX no sistema de defesa antioxidante enzimático pode ser altamente responsivo para os exercícios de resistência em geral, e para o exercício a uma elevada intensidade, particularmente. Neste estudo no M1 foram encontrados valores de 40,8 mmol/ml. Em estudo de Takagashi et al. 2012 em atividades de GPx no plasma foram elevados imediatamente e após 30 min exercício, em comparação com pré-exercício, no ensaio de alta intensidade e houve um aumento significativo na atividade plasma GPX imediatamente após o exercício no julgamento de média intensidade. Esse fato não ocorreu neste estudo, que apresentou seus maiores valores no M4 64,18 mmol/mL (Tabela 3), apresentando diferenças significativas quando comparado com o repouso ($P= 0,0420$). Este comportamento foi relatado por Avellini et al. 1995 que retratou que a atividade da enzima GPx se altera após 24 horas de treinamento e não por causa do exercício físico intenso. A atividade de GPx que catalisa a oxidação da glutathiona reduzida GSH se alterou indicando que houve ativação do sistema antioxidante celular. A GSH é abundante e alterações em seus níveis refletem modificações musculares recentes, porém como respondem ao treinamento seus níveis celulares aumentam manifestando poucas alterações após o exercício (Williams et al. 2004).

CONCLUSÃO

O exercício físico anaeróbico mesmo sendo rápido promoveu peroxidação lipídica e estresse oxidativo, que foi comprovado com a avaliação de MDA. Apesar da alteração nas enzimas musculares, não houve lesão muscular significativa, fato que foi comprovado com a bioquímica CK, AST e LDH. O dano oxidativo foi controlado pelo sistema antioxidante.

REFERÊNCIAS

ABQM. Associação Brasileira dos Criadores de Cavalos Quarto de Milha. Disponível em: <http://www.abqm.com.br>.

- Al-Quadah K.M. & Al-Majali A.M. Higher lipid peroxidation indices in horses eliminated from endurance race because of synchronous diaphragmatic flutter (Thumps). *Journal of Veterinary Science*, 28:573-578, 2008.
- Avellini L., Chiaradia E. & Gaiti A. Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 123:147-154, 1999.
- Avellini L., Silvestrelli M. & Gaiti A. Training-induced modifications in some biochemical defences against free radicals in equine erythrocytes. *Veterinary research communications*, 19:179-184, 1995.
- Brooks G.A. & Thomas D. Fahey. *Exercise Physiology: Human Bioenergetics and Its Applications*. Macmillan, New York, 1985.
- Câmara Silva L.A., Dias R.V.C. & Soto-Blanco B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em equinos de diferentes categorias de atividade. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59:250-252, 2007.
- Chiaradia E., Avellini L., Rueca F., Spaterna A., Porciello F., Antonioni M.T. & Gaiti A. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 119:833-836, 1998
- Chung Y.L., Wassif W.S., Bell J.D., Hurley M. & Scott D.L. Urinary levels of creatine and other metabolites in the assessment of polymyositis and dermatomyositis. *Rheumatology*, Oxford, 42:298-303, 2003
- Davie A.J. & Evans D.L. Blood Lactate responses to submaximal field exercise tests in thoroughbred horses. *Veterinary Journal*, 159:252-258, 2000.
- De Moffarts B., Kirschvink N., Art T., Pincemail J., Michaux J., Cayeux K., Defraigne J.O. & Lekeux P. Impact of training and exercise intensity on blood antioxidant markers in health standardbred horses. *Equine and Comparative Physiology*, 1:211-220, 2004.
- De Moffarts B., Kirschvink N., Art T., Pincemail J. & Lekeux P. Effect of exercise on blood oxidant/antioxidant markers in Standardbred horses: comparison between a treadmill and race track tests. *Equine Veterinary Journal-Supplement*, 36:254, 2006.
- De Moffarts B., Kirschvink N., Art T., Pincemail J. & Lekeux P. Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidant status in trained thoroughbred horses. *The Veterinary Journal*, 169:65-74, 2005.
- Deaton C.M. & Marlin D.J. Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Technique in Equine Practice*, Santa Barbara, 2:278-291, 2003.
- Deaton C.M., Marlin D.J., Roberts C.A. Smith N., Harris P.A., Kelly F.J. & Schroter R.C. Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. *Equine Veterinary Journal*, New Market, 34:58-62, 2002.
- El-Deeb W.M. & El-Bahr S.M. Investigations of selected biochemical indicators of equine rhabdomyolysis in Arabian horses: Pro inflammatory cytokines and oxidative stress markers. *Veterinary Research Communications*, 8: 677-89, 2010. (Foreman, Ferlazzo, 1996).
- Franciscato, C., Lopes, S.T.A., Veiga, A.P.M., Martins, D.B., Emanueli, M.P., Oliveira, L.S.S. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT 36 em cavalos Crioulos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41:1561-1565, 2006.
- Gomide L. M. W., Martins C. B., Orozco C. A. G., Sampaio R. C. L., Belli T., Baldissera, Lacerda Neto J. C. Concentrações sanguíneas de lactato em equinos durante a prova de fundo do concurso completo de equitação. *Ciência Rural*, 36:509-513, 2006.
- Harris A. *Enfermidades Musculares*, p.320-367. In: Reed S.M. (Ed.), *Medicina interna equina*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000.
- Hodgson D.R. & Rose R.J. Hematology and biochemistry, p.63-78. In: Hodgson D.R. & Rose R.J. (Eds), *The Athletic Horse: Principle and Practice of Equine Sports Medicine*. W.B. Saunders, Philadelphia, 1994, 497p.
- Hodgson D.R. & Rose R.J. *The Athletic Horse: Principle and Practice of Equine Sports Medicine*. W.B. Saunders, Philadelphia, 1994, p.63-78.
- Jenkins R.R. Free radical chemistry: Relationship to exercise. *Sports Medicine*, Auckland, 5:156-170, 1988.
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th ed. Academic Press, San Diego, 1997. 932p.
- Kedzierski W., Bergeero D. & Assenza A. Trends of hematological and biochemical values in the blood of young race horses during standardized field exercise tests, *Acta Veterinaria*, 59:457-466, 2009.
- Kerber C.E. & Trindade A.A. *Faça a Coisa Certa! Manual Prático para Interpretação de Exames Laboratoriais*. Paddock Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, nº 1, São Paulo, 2003. 22p.
- Kerksick C. & Willoughby D. The antioxidant role of glutathione and n-acetyl-cysteine supplements and exercise induced oxidative stress. *Journal International Society Sports Nutritional*, 2:38-44, 2005.
- Kowal R.J., Almosny N.R.P., Cascardo B., Summ R.P. & Cury L.J. Avaliação dos valores de lactato e da atividade sérica da enzima creatina quinase (2.7.3.2) em cavalos (*Equus caballus*) da raça Puro-Sangue-Ingês (PSI) submetidos a teste de esforço em esteira ergométrica. *Revista Brasileira Ciência Veterinária*, 13:13-19, 2006.
- Kurosawa Y., Hamaoka T., Katsumura T., Kuwamori M., Kimura N. & Sako T. Creatine supplementation enhances anaerobic ATP synthesis during a single 10 sec maximal handgrip exercise. *Molecular & Cellular Biochemistry*, 244:105-112, 2003.
- Machado L.P., Kohayagawa A., Saito M.E., da Silveira F., & Yonezawa L.A. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse na Medicina Veterinária. *Revista de Ciências Agrovetinárias*, 8:84-94, 2009.
- Macleay J.M. Diseases of the musculoskeletal system, p.461-522. In: Reed S.M., Bayly W.M. & Sellon D.C. *Equine Internal Medicine*. 3rd ed., W.B. Saunders Company, St. Louis, 2004.
- Marlin D. & Nankervis K.J. *Equine Exercise Physiology*. Wiley-Blackwell, 2002.
- Marlin D.J., Fenn K., Smith N., Deaton C.D., Roberts C.A., Harris P.A., Dunster C. & Kelly F.J. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. *Journal Nutritional*, 132:1622-1627, 2002.
- Martins C.B., Orozco C.A.G., D'angelis F.H.F., Freitas E.V., Christovão F.G., Queiroz Neto A. & Lacerda Neto J.C. Determinação de variáveis bioquímicas em equinos antes e após a participação em prova de enduro. *Revista Brasileira de Ciências Veterinária*, 12:62-65, 2008.
- Mason M. J. & Thomas R.C. A microelectrode study of the mechanisms of L-lactate entry into and release from frog sartorius muscle.p. 400-459 *The Journal of Physiology*, 400:459-79, 1988.
- McCutcheon L.J., Byrd S.K. & Hodgson D.R. Ultrastructural changes in skeletal muscle after fatiguing exercise. *Journal of Applied Physiology*, 72:1111-1117, 1992.
- McGowan C. Clinical pathology in the racing horse: The role of clinical pathology in assessing fitness and performance in the racehorse. *Veterinary Clinical North America, Equine Practice*, 24:405-421, 2008.
- Michima L.E.S., Yonezawa L.A., Mirandola R.M.S. & Fernandes W.R. Viability of different conservation methods of samples for malondialdehyde determination in racing standardbred horses. Proc. XI Congress of the International Society of Animal. *Clinical Biochemistry*, Chile, 11, 2004.
- Mills P. C., Smith N. C., Casas I., Harris P., Harris R.C. & Marlin D.J. Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 74:60-66, 1996.
- Milne D.W. Biochemical Parameters for Assessment of Conditioning in the Horse. *Proceedings of the Twenty Eighth Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*. Atlanta, Georgia, 1982, p.49-53.
- Milne D.W. Effects of Training on Biochemical Values in Standardbred Horses. *American Journal of Veterinary Research*, 37:285- 290, 1976.
- Piccione G., Giannetto C., Fazio F. Casella S. & Caola G.A. Comparison of daily rhythm of creatine and creatine kinase in the sedentary and athlete horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29:575-580, 2009.
- Radak Z., Chung H. & Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 44:153-159, 2008.

- Robinson E.N. Current therapy in equine medicine. W.B. Saunders, Philadelphia, 2003. 960p.
- Rose R.J., Allen J.R., Hodgson D.R. & Stewart J.H. Responses to submaximal treadmill exercise in the horse: changes in haematology, arterial blood gas and acid base measurements, plasma biochemical values and heart rate. *Veterinary Record*, 113:612-618, 1983.
- Seeherman H.J. & Morris E.A. Application of a Standardised Treadmill Exercise Test for Clinical Evaluation of Fitness in 10 Thoroughbred Racehorses. *Equine Veterinary Journal*, 9:26-34, 1990.
- Sen C.K. Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal Applied Physiology*, Bethesda, 79:675-686, 1995.
- Siciliano P.D., Parker A.L. & Lawrence L.M. Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. *Journal of Animal Science*, 75:1553-1560, 1997.
- Snow D.H. & Mackenzie G. Some metabolic effects of maximal exercise in the horse and adaptations with training. *Equine Veterinary Journal*, New Market, 9:134-140, 1977.
- Spinha De Toledo P., Domingues Júnior M., Fernandes W.R. & Magone M. Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gama-glutamil transferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça PSI submetidos a exercícios de diferentes intensidades. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 8:73-77, 2001.
- Stockham S.L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. *Veterinary Clinics of North America: Equine practice*, 11:393-408, 1995.
- Sun L., Shen W., Zhongbo L., Guan S., Liu J. & Ding S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: Effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. *Life Sciences*, 86:39-44, 2010.
- Tadich N.M.V., Mendez G.M.V., Wittwer F.M.V., Meyer K. Valores bioquímicos sanguíneos de equinos que tiran carretones en la ciudad de Valdivia (Chile). *Archivos de Medicina Veterinaria*, Chile, 29:45-61. 1997.
- Taes Y.E., Delanghe J.R., Wuyts B., Van De Voorde J. & Lameire N.H. Creatine supplementation does not affect kidney function in animal model with pre-existing renal failure. *Nephrology Dialysis Transplant*, 18:258-264, 2003.
- Tateo A., Valle E., Paladino B., Centoducati P. & Bergero D. Change in some physiologic variables induced by Italian Traditional Conditioning in Standardbred Yearling. *Journal Equine Veterinary Science*, 28:743-750, 2008.
- Tauler P., Gimeno I., Aguilo A., Guix M.P. & Pons A. Regulation of erythrocyte antioxidant enzyme activities in athletes during competition and short-term recovery. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 438:782-7, 1999.
- Thrall M.A. Diagnóstico laboratorial da lesão muscular, p.391-393. In: *Ibid.* (Ed.), Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Roca, São Paulo, 2006.
- Tiidus P.M., Pushkarenko J. & Houston M.E. Lack of antioxidant adaptation to shortterm aerobic training in human muscle. *American Journal Physiology*, 271:832-6, 1996.
- Toledo P.S., Júnior M.D., Fernandes W.R. & Magone M. Atividade Sérica de Aspartato Aminotransferase, Creatina Quinase, Gama-Glutamiltransferase, Lactato Desidrogenase e Glicemia de Cavalos da Raça P.S.I. Submetidos a Exercícios de Diferentes Intensidades. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 8:73-77, 2001.
- Turgut G., Kaptanoglu B., Turgut S., Genç O. & Tekinyürk S. Influence of acute exercise on urinary protein, creatinine, insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3 concentration in children. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 201:165-70, 2003.
- Tyler-McGowan C.M., Golland L.C., Evans D.L., Hodgson D.R. & Rose R.J. Haematological and Biochemical Responses to Training and Overtraining. *Equine Exercise Physiology 5. Equine Veterinary Journal*, 30:621-625, 1999.
- Valberg S.J. Skeletal muscle function, p.459-484. In: Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. (Eds), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. Academic Press, London, 2008.
- Verheyen K.L.P. & Wood J.L.N. Descriptive epidemiology of fractures occurring in British Thoroughbred racehorses in training. *Equine Veterinary Journal*, 36:167-173, 2004.
- Volek J.S., Ratamess N.A., Rubin M.R., Gómez A.L., French D.N. & McGuigan M.M. The effects of creatine supplementation on muscular performance and body composition responses to short-term resistance training overreaching. *European Journal Applied Physiology*, 91:628-637, 2004.
- Volfinger L., Lassourd V., Michaux J.M., Braun J. & Toutain L. Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of the amount of creatine kinase released. *American Journal Physiology*, 266:434-441, 1994.
- White A., Estrada M., Walker K., Wisnia P., Filgueira G., Valdés F., Aranea O., Behn C. & Martínez R. Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horses. *Complement Biochemistry Physiology A*, 128:99-104, 2001.
- Williams C.A., Kronfeldt D.S., Hess T.M., Saker K.E., Waldron J.N., Crandell K.M., Hoffman R.M. & Harris A. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. *Journal of Animal Science*, 82:588-594, 2004.