FERNANDA RUDOLF GONZALBO GARCIA

Avaliação do Uso de Undecilenato de Boldenona em Potros

São Paulo
2018

FERNANDA RUDOLF GONZALBO GARCIA

Avaliação do Uso de Undecilenato de Boldenona em Potros

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal (VNP)

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira
Gobesso

São Paulo

2018

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3657
FMVZ

Garcia, Fernanda Rudolf Gonzalbo
Avaliação do uso de undecilenato de boldenona em potros / Fernanda Rudolf
Gonzalbo Garcia. – 2018.
90 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, São Paulo, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso.

1. Equinos. 2. Anabolizantes. 3. Desenvolvimento. 4. Puberdade. 5. Exercício. I. Título.

Parecer da Comissão de Ética

São Paulo, 28 de fevereiro de 2018
CEUA N 9767230516

Ilmo(a). Sr(a).
Responsável: Alexandre Augusto De Oliveira Gobesso
Área: Nutrição E Produção Animal
Alexandre Augusto De Oliveira Gobesso (orientador)

Título da proposta: "Avaliação do uso de undecilenato de boldenona em potros."

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ/USP

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** o Relatório Final (versão de 27/fevereiro/2018) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "1. Os objetivos propostos foram todos cumpridos? Resp: Totalmente Os resultados obtidos propiciaram a criação de novos projetos? Resp: Sempre surgem novas dúvidas. 2. O N amostral proposto inicialmente foi suficiente? Qual o N amostral total alocado? Resp: 12 potros foram suficientes para obtenção dos resultados propostos. 3. Houve perdas? se sim, quantas? Resp: Não 4. Ocorreu algum evento adverso durante a condução do estudo? Resp: Não 5. Resultados já apresentados em congresso? Resp: Sim 6. Resultados já publicados? Resp: Não. Aguardando defesa de Mestrado."

Comentário da CEUA: "Relatório aprovado."

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Profa. Dra. Claudia Madalena Cabrera Mori
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GARCIA, Fernanda R. G.

Título: **Avaliação do Uso de Undecilenato de Boldenona em Potros**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*Aos meus amados pais Jorge e Elza e
Meus queridos irmãos e família.
Dedico esta obra.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e Nossa Senhora Aparecida, que me acompanham em toda a minha vida, me indicando as melhores escolhas e caminhos a serem percorridos.

Aos meus pais, que são meus maiores exemplos de vida, Jorge Gonzalbo e Elza Rudolf, não há palavras para descrever a admiração e o amor que sinto por vocês. Meus irmãos, Leandro e Leonardo, hoje estão longe, cada um correndo atrás de seus sonhos e objetivos, mas saibam que eu admiro cada um a sua maneira e podem sempre contar comigo para o que precisarem, amo vocês. Ao meu noivo Luiz Augusto (Guto) pelo amor, paciência e apoio ao longo dessa minha etapa, me desculpe pelos momentos de ausência, nada disso seria possível sem a sua ajuda e compreensão, te amo.

Ao médico veterinário Ricardo P. Summa, que me incentivou a seguir esse caminho, um exemplo de pessoa e profissional, sou muito grata por todos os ensinamentos passados e pela paciência que tem até hoje comigo.

A Universidade de São Paulo, campus Pirassununga, por ter aberto as portas e possibilitado que eu pudesse adquirir conhecimentos e crescer enquanto pessoa e profissional.

Ao meu orientador Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso por ter me recebido e dado a oportunidade de entrar para sua equipe, uma realidade que para mim parecia ser muito distante, obrigada pela confiança e ensinamentos.

Aos pós-graduandos, alunos de iniciação científica e estagiários do LabEqui, que me ajudaram na execução do trabalho, sem o grupo nada seria possível. Em especial ao Murillo, grande responsável pela execução e sucesso do projeto, serei sempre grata, continue nesse caminho. Eu acredito no seu sucesso.

As amigadas que fiz e que levarei para a vida, Katia Feltre, Camila Bianconi, Julia Rizzo, Suzeli, Saulo, Luiz Moraes, Murillo, Bianca. Vocês são especiais.

A todos que colaboraram para que esse projeto tenha se tornado realidade, em especial aos animais utilizados. Foi um desafio, que deu certo.

Obrigada a todos!

*“Eu não tenho ídolos. Tenho admiração
por trabalho, dedicação e competência”
(Ayrton Senna)*

RESUMO

GARCIA, F. R. G. **Avaliação do Uso de Undecilenato de Boldenona em Potros.** [Evaluation of Boldenone Undecylenate in Foals]. 2018. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a influência da aplicação do undecilenato de boldenona, um éster esteroide com ação anabolizante, sobre os parâmetros de higidez, perfil hematológico e bioquímico, índices zootécnicos, parâmetros reprodutivos, desenvolvimento ósseo e avaliação de condicionamento físico de potros com idade superior a um ano. Foram utilizados doze potros sem raça definida, sendo 6 machos e 6 fêmeas, com idade média de 17 meses e peso corporal de $355,17 \pm 26,63$ kg e de $411,42 \pm 29,49$ kg, respectivamente. O consumo de matéria seca diário individual adotado foi de 2% do peso corporal (PC) dividida em 50% ração farelada e 50% feno de *Cynodon* cv. Tifton 85. Os animais permaneceram em piquetes sem acesso à pastagem e receberam água e suplemento mineral *ad libitum*. Os tratamentos foram divididos em 2 grupos: GI – Grupo Controle (n=6; 3 machos e 3 fêmeas); e GII – Grupo Tratado (n=6; 3 machos e 3 fêmeas). O período experimental foi dividido em: Fase 1 (D0 – D28), sem exercício físico, e Fase 2 (D28 – D84), com exercício físico em exercitador mecânico. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo. O grupo tratado (GII) recebeu a dose de undecilenato de boldenona (0,25 mg/kg de PC) no D0, D14, D28 e D42, via intramuscular profunda. Em todo o período experimental foram avaliados parâmetros de higidez, índices zootécnicos, parâmetros reprodutivos e desenvolvimento ósseo. Para avaliação de desempenho esportivo, nos momentos D28, D42, D56, D70 e D84, foram realizadas mensurações de lactato, glicemia, insulina, aspartato aminotransferase (AST) e creatina quinase (CK) após o exercício. A frequência cardíaca (FC) basal e de pico foram monitoradas com uso de frequencímetros digital na fase 2, com exercício físico. Os animais se mantiveram hígidos durante todo o período experimental, sem alteração em hemograma e bioquímica séria. Na avaliação reprodutiva não houve diferença significativa para as fêmeas e, nos machos, houve um discreto aumento testicular, provavelmente, relacionado à puberdade. A avaliação radiográfica comprovou que não houve alterações

sugestivas de fechamento epifisário precoce. Nas avaliações zootécnicas, os machos do grupo tratado tiveram maior ganho no desenvolvimento. Na avaliação do desempenho esportivo, não houve diferença significativa nas mensurações de lactato, glicemia, insulina, AST, CK e frequência cardíaca. Diante dos dados obtidos, pode-se concluir que o uso de undecilenato de boldenona em potros não altera a saúde dos animais. O seu uso promoveu melhoras nos índices zootécnicos, principalmente nos machos em exercício físico.

Palavras-chave: Equinos. Anabolizantes. Desenvolvimento. Puberdade. Exercício.

ABSTRACT

GARCIA, F. R. G. Evaluation of Boldenone Undecylenate in Foals. [**Avaliação do Uso de Undecilenato de Boldenona em Potros**]. 2018. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

The objective of this research was to evaluate the influence of the application of boldenone undecylenate, an anabolic steroid ester, on parameters of hygiene, hematological and biochemical profile, zootechnical indexes, reproductive parameters, bone development and physical fitness evaluation, of foals older than one year. Twelve non-breed foals were used, 6 males and 6 females, with mean age of 17 months and body weight of 355.17 ± 26.63 kg and 411.42 ± 29.49 kg, respectively. The individual daily dry matter intake adopted was 2% of the body weight (BW) divided into 50% concentrate and 50% *Cynodon* cv. Tifton 85 hay. The animals remained in pickets without access to the pasture and received water and mineral supplement *ad libitum*. The treatments were divided into 2 groups: GI - Control Group (n = 6, 3 males and 3 females); and GII - Treated Group (n = 6, 3 males and 3 females). The experimental period was divided into Phase 1 (D0 - D28), without physical exercise; and Phase 2 (D28 - D84), with physical exercise in a mechanical exerciser. The experimental design was the completely randomized with measures repeated in time. The treated group (GII) received the dose of boldenone undecylenate (0.25 mg / kg BW) at D0, D14, D28 and D42, deep intramuscularly. Throughout the experimental period parameters of hygiene, zootechnical indexes, reproductive parameters and bone development were evaluated. To assess the performance of athletes at the moments D28, D42, D56, D70 and D84, measurements of lactate, glycemia, insulin, aspartate aminotransferase (AST) and creatine kinase (CK) were performed after exercise. The basal and peak heart rate (HR) were monitored with the use of digital frequency meters in phase 2, with exercise. The animals remained healthy throughout the experimental period, with no change in blood counts and serious biochemistry. In the reproductive evaluation there was no significant difference for females and, in males, there was a slight testicular increase, probably related to puberty. The radiographic evaluation showed that there were no alterations suggestive of early epiphyseal closure. In the zootechnical evaluations, the males of the treated group had greater gains in

development. In the evaluation of the sports performance, there was no significant difference in the measurements of lactate, glycemia, insulin, AST, CK and heart rate. Based on the data obtained, it can be concluded that the use of boldenone undecylenate in foals does not alter the health of the animals. Its use promoted improvements in zootechnical indexes, especially in males in physical exercise.

Key-words: Equines. Anabolics. Development. Puberty. Exercise.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comedouro individual (A) e Unidade de Manejo Alimentar (B).....	41
Figura 2. Exercitador circular mecânico para cavalos.....	44
Figura 3. Avaliação ultrassonográfica testicular.....	46
Figura 4. Exame radiográfico da articulação rádio-cárpica esquerda (A), imagem radiográfica da placa epifisária de crescimento distal do rádio (B).....	47
Figura 5. Avaliação zootécnica da circunferência abdominal (A) e perímetro de joelho (B).....	48
Figura 6. Frequencímetro adaptado.....	49
Figura 7. Frequência cardíaca e velocidade alcançada durante o exercício de um animal.....	50
Figura 8. Imagens radiográficas da articulação rádio-cárpica esquerda nos momentos D0 e D84 dos potros.....	59
Figura 9. Imagens radiográficas da articulação rádio-cárpica esquerda nos momentos D0 e D84 das potras.....	60
Figura 10. Frequência Cardíaca Pico e Basal durante o exercício físico, dos animais tratados ou não com undecilenato de boldenona, nos momentos D28, D42, D56, D70 e D84.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição bromatológica corrigidas para 100% de matéria seca, do volumoso e concentrado utilizados no período experimental.....	42
Tabela 2. Ingredientes e formulação do concentrado.....	42
Tabela 3. Concentração sérica de creatinina (C; mg/dL), concentração sérica de ureia (U; mg/dL), Fosfatase Alcalina (FA; UI/dL), Gama Glutamil Transferase (GGT; UI/L), proteína total (PTT; g/dL), albumina (A; g/dL), Aspartato aminotransferase (AST; UI/L), creatina quinase (CK; UI/L) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D0, D14 e D28 (Média $\pm$ EP).....	51
Tabela 4. Concentração sérica de creatinina (C; mg/dL), concentração sérica de ureia (U; mg/dL), Fosfatase Alcalina (FA; mg/dL), Gama Glutamil Transferase (GGT; U/L), proteína total (PTT; mg/dL), albumina (A; mg/dL), Aspartato aminotransferase (AST; U/L), creatina quinase (CK; UI/L) das potras submetidas ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D0, D14 e D28 (Média $\pm$ EP).....	53
Tabela 5. Concentração sérica de creatinina (C; mg/dL), concentração sérica de ureia (U; mg/dL), Fosfatase Alcalina (FA; mg/dL), Gama Glutamil Transferase (GGT; U/L), proteína total (PTT; mg/dL), albumina (A; mg/dL), Aspartato aminotransferase (AST; U/L), creatina quinase (CK; U/L) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona previamente ao exercício nos dias D28, D56, D70 e D84 (Média $\pm$ EP).....	55
Tabela 6. Peso corporal (PC; kg), perímetro de canela (PCan; cm), perímetro de joelho (PJ; cm), largura de peito (LP; cm), circunferência abdominal (CA; cm) e altura de cernelha (AC; cm) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D0, D14 e D28 (Média $\pm$ EP).....	61

Tabela 7. Peso corporal (PC; kg), perímetro de canela (PCan; cm), perímetro de joelho (PJ; cm), largura de peito (LP; cm), circunferência abdominal (CA; cm) e altura de cernelha (AC; cm) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona em treinamento aeróbico nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média±EP).....63

Tabela 8. Peso corporal (PC; kg), perímetro de canela (PCan; cm), perímetro de joelho (PJ; cm), largura de peito (LP; cm), circunferência abdominal (CA; cm) e altura de cernelha (AC; cm) das potras submetidas ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona em treinamento aeróbico nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média±EP).....63

Tabela 9. Lactato (mmol/L) dos animais submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média ± EP).....66

Tabela 10. Glicose (mg/dL) dos animais submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média ± EP).....68

Tabela 11. Insulina (μ UI/ml) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média ± EP).....70

Tabela 12. Aspartato aminotransferase (AST; U/L), Creatina quinase (CK; U/L) dos animais submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média ± EP).....73

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Identificação, idade, sexo, peso e grupo de tratamento dos animais selecionados.....	40
Quadro 2. Período e frequência de exercícios.....	43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 GERAL	19
2.2 ESPECÍFICOS	19
3 HIPÓTESE	19
4 REVISÃO DE LITERATURA	20
4.1 USO DE ANABOLIZANTES EM EQUINOS	20
4.2 UNDECILENATO DE BOLDENONA.....	22
4.3 BIOLOGIA DO CRESCIMENTO	26
4.4 HORMÔNIOS SEXUAIS E PUBERDADE.....	31
4.5 FISIOLOGIA DO EXERCÍCIO	34
5 MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1 LOCAL.....	39
5.2 ANIMAIS.....	39
5.3 DIETA.....	41
5.4 TRATAMENTO.....	42
5.5 EXERCÍCIO FÍSICO.....	43
5.6 MARCADORES SANGÜÍNEOS.....	44
5.6.1 Bioquímica sérica.....	44
5.6.2 Dosagem de lactato, glicose e insulina.....	45
5.7 AVALIAÇÃO DOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS	46
5.7.1 Ultrassonografia de ovários e testículo	46
5.8 EXAME RADIOGRÁFICO DA ARTICULAÇÃO RÁDIO-CÁRPICA	46
5.9 AVALIAÇÕES ZOOTÉCNICAS.....	47
5.10 AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA CARDÍACA	49
5.11 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	50
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
6.1 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS.....	50
6.1.1 Bioquímica sérica.....	51
6.2 AVALIAÇÃO DOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS	56
6.2.1 Ultrassonografia de ovários e testículo	56

6.3 EXAME RADIOGRÁFICO DA ARTICULAÇÃO RÁDIO-CÁRPICA	57
6.4 AVALIAÇÕES ZOOTÉCNICAS	61
6.5 EXERCÍCIO FÍSICO	64
6.5.1 Frequência Cardíaca	74
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
7.1 LIMITAÇÕES	75
8 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS	77
APÊNDICES	88
APÊNDICE A – Frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura corporal, dos animais nas fases 1 e 2.	89
APÊNDICE B – Hemograma dos animais nas fases 1 e 2.	90

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que no Brasil há em torno de 5,8 milhões de cabeças de cavalos, sendo considerado o maior rebanho da América Latina (ANUALPEC, 2017). A indústria equina mobiliza ao ano cerca de 16 bilhões de reais (MAPA, 2016), com crescente valorização dos animais de competição de diferentes raças, como os Quarto de Milha, Puro Sangue Inglês, Mangalarga Marchador, raças de salto e adestramento. Concomitantemente à tal realidade, nota-se o crescimento no desenvolvimento de métodos nutracêuticos e farmacológicos que promovam o melhor desempenho dos atletas nas diversas modalidades esportivas equestres.

O uso de anabolizantes em humanos e equinos vem crescendo nos últimos anos, sendo administrados de forma indiscriminada e desorientados. Hormônios são naturalmente produzidos pelos animais e induzem alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas. Os machos produzem principalmente a testosterona, através dos testículos, a qual desempenha um papel vital no desenvolvimento da maturidade. Essas substâncias melhoram o rendimento atlético por aumentarem a massa muscular, através do aumento da síntese proteica muscular, melhora na retenção de nitrogênio, inibição do catabolismo proteico e aumento de apetite. É utilizado no tratamento suporte de animais debilitados e considerado *dopping* em equinos de esporte.

Há relatos na literatura de inúmeros efeitos colaterais indesejáveis em humanos decorrentes do uso de esteroides, principalmente, efeitos androgênicos. A carga androgênica elevada pode provocar hipertensão arterial, infarto, trombose, elevação dos níveis de colesterol, fechamento precoce da linha epifisária, alterações renais e hepáticas, queda da produção espermática, entre outros.

Assim, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de undecilenato de boldenona, um éster esteroide com ação anabolizante, em potros, com e sem exercício físico, sobre o desempenho esportivo e possíveis efeitos colaterais indesejáveis.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar as implicações da utilização de undecilenato de boldenona em potros com e sem exercício físico.

2.2 ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito do uso de undecilenato de boldenona em potros e potras sobre:

- Parâmetros fisiológicos e avaliação clínica.
- Exames hematológicos e bioquímicos.
- Índices zootécnicos.
- Desenvolvimento de massa muscular.
- Desempenho reprodutivo.
- Desenvolvimento ósseo.
- Parâmetros de condicionamento físico.

3 HIPÓTESE

A administração intramuscular de undecilenato de boldenona em potros durante a fase de crescimento, com e sem exercício físico, não causa danos reprodutivos e ósseos, ou qualquer risco à saúde dos animais. Além disso, o seu uso pode promover melhoras nos índices zootécnicos e no condicionamento físico de cavalos submetidos a exercício físico.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 USO DE ANABOLIZANTES EM EQUINOS

São definidas como anabolizantes, substâncias que aumentam a retenção de nutrientes fornecidos pela dieta no organismo, principalmente, de nitrogênio proteico e não proteico (JOHNSON et al., 1996). A palavra anabolizante tem sua origem derivada de anabolismo, processo fisiológico que resulta na fixação de nutrientes (BLANCO & PAULINO, 1996; SCANES, 2003a).

Os hormônios masculinos e seus derivados possuem atividade anabolizante dos músculos esqueléticos (FORTUNATO, 2007). O desenvolvimento dos músculos estriados depende diretamente de andrógenos, os quais possuem ação miotrófica. Embora outros hormônios tenham ação positiva sobre a síntese de proteína, como estrógenos e progesterona, seu mecanismo de ação está ligado a atividades mais generalizadas e complexas e não podem ser considerados miotróficos (PALERMO-NETO, 2006).

Há três tipos de classificação dos agentes anabolizantes, os anabolizantes naturais, são aqueles que existem normalmente no organismo dos animais, embora em quantidades distintas conforme sexo, os anabolizantes obtidos por síntese laboratorial, classificados como xenobióticos e os estilbenes que são substâncias químicas semi-sintéticas obtidas a partir dos hormônios naturais (CREPALDI et al., 2008).

Os anabolizantes androgênicos, após absorvidos, circulam no organismo ligados a uma proteína específica, a Proteína de Hormônios Sexuais do Plasma. Essa proteína facilita a entrada da substância na célula, a qual forma um complexo com um receptor androgênico, transferindo a mensagem às estruturas biológicas encarregadas da realização da ação. Os fatores de transcrição são induzidos e ocorre a síntese proteica (BLANCO & PAULINO, 1996).

A ação direta miotrófica da testosterona estaria relacionada à presença de receptores para este hormônio em células musculares esqueléticas. Esses receptores tem pouca afinidade para estradiol, progesterona, corticosterona e cortisol (PALERMO-NETO, 2006).

Essas substâncias aumentam a síntese proteica, a oxigenação e o armazenamento de energia resultando em incremento da massa muscular e de sua capacidade de trabalho (IRIART, 2002). Outro mecanismo de ação estaria relacionado à estimulação do eixo hipotálamo-hipófise GH-IGF-1 (SCANES, 2003a).

Já os anabolizantes estrogênicos possuem ação indireta sobre a síntese proteica. Eles aumentam a secreção de hormônio do crescimento, aumentam a secreção de insulina, reduzem a produção de tiroxina e reduzem a síntese de corticosteroides (PALERMO-NETO, 2006).

Os métodos de administração dos anabolizantes são como implantes, injeções oleosas ou como aditivos alimentares. Quando injetados nos músculos, eles se difundem pela corrente sanguínea, enquanto que, quando administrados por via oral, percorrem o trato gastrointestinal até serem absorvidos (BOMPA & CONACCHIA, 2000). A metabolização ocorre no fígado e a eliminação, em sua maior parte, é feita através da bile ou da urina. No entanto, uma parte dos metabólitos formados no fígado pode permanecer em outros tecidos como resíduos (CLIMENI et al., 2008).

A espécie, raça, sexo, presença de testículos (animais orquiectomizados ou não) e a idade dos animais tratados por anabolizantes influenciam as ações dos mesmos. Também, deve-se considerar tipo, quantidade e frequência de aplicação do anabolizante utilizado, possíveis associações de agentes, o tipo de implante empregado e o momento de administração. Contudo, sempre é preciso possuir uma alimentação de qualidade para a observação de quaisquer efeitos (BLANCO & PAULINO, 1996).

As substâncias mais eficientes para machos intactos são os estrogênios, pois já possuem níveis elevados de testosterona no plasma e seus receptores acabam ficando saturados. Atinge-se, nesses casos, o ponto máximo de efeitos na curva dose-resposta. Em fêmeas, ao utilizarmos a mesma lógica, deve-se administrar andrógenos (PALERMO-NETO, 2006).

O uso de anabolizantes em equinos é amplamente descrito por diferentes autores, visando, principalmente, a avaliação de seus efeitos relacionados ao incremento no desenvolvimento de animais jovens (KEENAN et al., 1987), ao aumento do apetite e à melhora no desempenho esportivo (SQUIRES et al., 1982), bem como o tratamento suporte de animais debilitados. Um esteroide anabólico

seria de valor para restaurar as perdas de peso nos animais, em particular, cavalos debilitados por excesso de trabalho, injúria ou anorexia (O'CONNOR et al., 1973).

As dificuldades de realizar estudos adequadamente controlados com esses animais resultaram em muitos relatórios sobre a melhora da perda de peso baseados em impressões clínicas ao invés de ensaios experimentais bem desenhados com grupos controle adequados (O'CONNOR et al., 1973).

As associações de criadores de cavalos de diversas raças estão tornando cada vez mais comuns os testes antidoping em provas, exposições e jóqueis, a fim de evitar o uso destes fármacos como adjuvantes no desempenho de animais. As políticas de controle antidoping em esportes equestres são criadas para conter, dentre outros motivos, os riscos com a saúde dos animais, colaborando, também, para a preservação da raça. Por décadas, as autoridades civis mundiais envolvidas com esportes equestres se empenham nesse tema, dando-lhe alta prioridade, com desenvolvimento de estratégias e pesquisas para enfrentá-lo, bem como seu impacto na integridade das carreiras (HOUGHTON, 2001).

Além disso, o uso indiscriminado de esteroides anabolizantes em equinos está associado à oligospermia e, conseqüentemente, infertilidade masculina (BRACKETT, 2006).

4.2 UNDECILENATO DE BOLDENONA

17 β -Boldenona (17 β -Bol), ou 1-Dihidrotestosterona, é um esteróide com atividade androgênica que difere da 17 β -Testosterona (17 β -T) apenas por uma ligação dupla na posição 1. Outros esteroides parecidos, como androsta-1,4-diene-3,17-diona (ADD) e androst-4-ene-3,17-diona (AED), são precursores de 17 β -Bol e 17 β -T em seres humanos e animais (Brabander et al., 2004). 17 β -Bol e seus metabólitos podem ser mensurados por cromatografia líquida ou gasosa associada à espectrometria múltipla de massa (BRABANDER et al., 2004; PU et al., 2004; GRACE et al., 2008).

Foi relatada a detecção de boldenona em diferentes animais não tratados. A maioria dos animais que apresentaram a substância de forma endógena eram machos, sendo estes das espécies bovina, suína e equina (BRABANDER et al.,

2004). Ho et al. (2004) detectou sulfato de boldenona na urina de cavalos machos inteiros pós corrida, enquanto que animais castrados não apresentaram amostras positivas.

Há comprovações da existência de produção de boldenona endógena. A primeira é que micro-organismos conseguiriam desidrogenar esteroides de forma seletiva, transformando, por exemplo, ADD em AED, 17 β -Bol e 17 β -T através de redução enzimática. Em segundo lugar, testes com o invertebrado *Neomysis integer*, um crustáceo, mostraram a produção de 17 β -Bol após a aplicação de estanozolol, o qual é um esteroide anabólico exógeno. Em estudos conduzidos na Holanda, bezerros machos e fêmeas, submetidos a nenhum tratamento hormonal, apresentaram amostras positivas para os isômeros 17 β -Bol e 17 α -Bol nas fezes (BRABANDER et al., 2004).

O undecilenato de boldenona é um éster de 17 β -Bol disponível comercialmente para manipulados anabólicos. Esse composto estimularia o crescimento e melhoraria a conversão alimentar em diferentes espécies. Equinos que receberam uma dose de 0,125 mg/kg intramuscular seguida de outra de 0,5mg/kg após duas semanas não apresentaram ganho de peso significativo. Contudo, na dose de 1,10 mg/kg, houve efeito positivo no peso (O'CONNOR et al., 1973).

Bovinos tratados com 17 β -Bol obtiveram maior ganho de peso e melhora da conversão alimentar, mas esta substância e seus derivados são considerados prováveis agentes cancerígenos em humanos, possuindo efeito cancerígeno maior que outros andrógenos (BRABANDER et al., 2004).

Porém, Canizzo et al. (2007) aplicaram semanalmente uma dose de 1 mg/kg de undecilenato de boldenona ou de ADD intramuscular por 5 e 4 semanas, respectivamente, em bezerros. Foi utilizado um grupo com aplicações apenas de óleo para controle. Não foi observada diferença no ganho de peso.

Oda & El-Ashmawy (2012) estudaram a aplicação de 4,4 mg/kg e 8,8 mg/kg de boldenona em coelhos e não obtiveram maior peso final ou ganho de peso. Em outro estudo, coelhos tratados com undecilenato de boldenona (5 mg/kg) apresentaram maior peso final, ganho diário de peso e melhor eficiência alimentar, além de menor conversão alimentar. Foi demonstrado um efeito positivo do número de doses aplicadas, sendo que o grupo que recebeu 3 injeções com intervalo de 2

semanas apresentou melhores resultados que o grupo que recebeu 2 injeções com intervalo de 3 semanas (MOHAMMED et al., 2016).

A administração de boldenona exógena está relacionada com efeitos reprodutivos indesejáveis nos animais. Pôneis que receberam administração de undecilenato de boldenona (0,55 mg/kg semanalmente por 13 tratamentos) apresentaram menor produção espermática, além de tamanho e peso de testículos diminuídos (BLANCHARD et al., 1983). Garcia et al. (1987) também avaliaram o efeito em pôneis e obtiveram achados similares, além de menor diâmetro das células de Leydig.

Bezerros destinados à produção de carne de vitela e um touro adulto que se mostraram positivos por teste de urina para a aplicação de boldenona foram avaliados após abate. Eles apresentaram mudanças histológicas no trato genital e no fígado. A próstata tinha sinais de hipersecreção e formação de cistos (45% das amostras). Havia hiperplasia do epitélio uretral e alterações nas glândulas bulbo-uretrais. Os testículos tinham tamanho menor do que o esperado e sinais de degeneração, enquanto foi possível constatar sinais de fibrose, proliferação de ductos biliares e necrose em fígado (GROOT & BIOLATTI, 2004).

Outro trabalho também constatou alterações no trato genital em bezerros tratados, que apresentaram alterações histopatológicas de próstata, glândulas bulbouretrais e testículos, além de diminuição das células germinativas no testículo e ausência de espermátides (CANIZZO et al., 2007).

Em coelhos encontrou-se achados similares, com hipoplasia e lesões histopatológicas graves testiculares, diminuição de epidídimos, além de menores níveis de testosterona, volume seminal, motilidade espermática e contagem de espermatozoides (ODA & EL-ASHMAWY, 2012). Coelhos submetidos a duas administrações intramusculares de undecilenato de boldenona (5 mg/kg) também apresentaram alterações testiculares. Tousson (2013) observou necrose severa e degeneração irregular dos túbulos seminíferos. O autor relacionou os achados histopatológicos com os efeitos dose-dependentes do uso de anabolizantes, os quais são conhecidos pela sua hepatotoxicidade, principalmente. Foi possível confirmar o quão deletério pode ser a utilização de esteroides anabólicos, apesar dos seus benefícios em relação ao crescimento.

Ainda em coelhos, foi observada diminuição de testículos e dos níveis de testosterona e aumento dos níveis de estradiol após administração de boldenona

(MOHAMMED et al., 2016). Tousson et al. (2014) obtiveram resultados inversos, com aumento significativo de testosterona, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH).

Avaliando outros órgãos Tousson (2013) encontrou em músculo esquelético hipertrofia, estriação e picnose nuclear nas miofibrilas, achados similares no ventrículo desses animais. Os hepatócitos apresentaram sinais histopatológicos de degeneração, assim como os rins, e lesões intestinais foram observadas.

Bezerros de 5 e 6 meses de idade divididos em grupos que receberam 200 ou 400mg de undecilenato de boldenona, 2 vezes, por via intramuscular, com um intervalo de 4 semanas entre as aplicações, apresentaram maior ganho de peso, principalmente o segundo grupo. Foi observado ainda aumento de proteínas plasmáticas totais, globulinas, células vermelhas, hemoglobina e volume de hemácias. Esses parâmetros estariam diretamente relacionados à capacidade dos hormônios esteroides anabólicos em aumentar a síntese proteica e estimular a eritropoiese (NEAMAT-ALLAH, 2014).

Contudo, novamente, ocorreram efeitos adversos. Os exames demonstraram queda no número total de leucócitos e aumento de AST, ALT e creatinina, corroborando com outros resultados que indicaram lesão hepática e renal após administração da substância (NEAMAT-ALLAH, 2014).

Resultados similares foram obtidos por Tousson et al. (2014) quando coelhos foram injetados com boldenona na dose de 5 mg/kg por distintas vezes. Os grupos tratados apresentaram aumento de hemoglobina, hematócrito, CHCM, proteína total e globulina, e queda de leucócitos e plaquetas. As concentrações de ALT, AST, ureia e creatinina aumentaram.

Alterações de comportamento são outras preocupações relacionadas ao uso de anabolizantes. Éguas tratadas com dose única de 1 mg de undecilenato de boldenona a cada 100kg de peso apresentaram comportamento masculino como rufiação, provocação, reunião do rebanho e tentativa de monta em éguas em estro. Observou-se também melhora da posição do ranking social das éguas dentro do grupo (BAMFORD, 1992).

Coelhos tratados apresentaram comportamento de ingestão, locomoção e limpeza mais frequente que os animais do grupo controle. O grupo controle apresentou maior tempo dedicado à exploração do ambiente e à permanência em decúbito lateral (MOHAMMED et al., 2016).

4.3 BIOLOGIA DO CRESCIMENTO

Para os cavalos, o crescimento é considerado assunto de suma importância, devido ao fator econômico envolvido. O bom desempenho está diretamente ligado ao ótimo crescimento ósseo e muscular (MALINOWSKI & SCANES, 2003).

O crescimento nos animais é controlado por vários hormônios. Um dos principais é o hormônio do crescimento (GH), sintetizado pela porção anterior da glândula hipófise. Ele é responsável pelo crescimento de cartilagem e ossos, redução de tecido adiposo, aumento da síntese proteica, aumento de glicemia e insulinemia, diminuição da resposta da glicose à insulina, aumento de 1,25 dihidroxivitamina D, fosfato e da conversão de tiroxina (T4) em tri-iodotironina (T3) (SCANES, 2003b).

O hipotálamo controla a síntese e a liberação de GH, mas a secreção ocorre em pulsos a cada 1 a 4 horas, variando conforme espécie, idade, genética e sexo. Em cavalos em crescimento, GH é liberado de forma pulsátil e episódica, mas sem diferenças conforme o estágio de crescimento (MALINOWSKI & SCANES, 2003). A liberação do GH ocorre conforme a secreção do hormônio liberador de hormônio do crescimento (GHRH), o qual é um polipeptídeo. Já a somatostatina é o hormônio que inibe a liberação de GH (SCANES, 2003b).

Porém, a secreção de GH é diretamente afetada pelo status nutricional, pela disponibilidade de nutrientes e pelos metabólitos. Além disso, outros hormônios periféricos como fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), T4, T3 e glicocorticoides também podem influenciar (SCANES, 2003b).

O fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) é um hormônio produzido no fígado que também estimula o crescimento, formação de fibroblasto, desenvolvimento neural, estruturas oftalmológicas e a proliferação celular, como de pré-adipócitos, condrócitos e células mesenquimais do coração. Atua como o mediador dos efeitos de GH no organismo e está envolvido no desenvolvimento de células musculares, cartilagem, ossos e células hematopoiéticas (SCANES, 2003b).

IGF-1 tem afinidade pelo receptor de insulina e diminui a glicose circulante. Quando a dieta é restritiva, os níveis do hormônio diminuem, aumentando apenas quando há o aporte necessário de nutrientes. Sua expressão é controlada por GH e o fator de crescimento epidermal (EGF). Outros fatores que podem influenciar em

sua liberação são temperatura, umidade e medicamentos (SCANES, 2003b; TANGYUENYONG et al., 2017).

A aplicação de GH em equinos adultos leva ao aumento de IGF-1. É observado ainda aumento de musculatura e um efeito diabético decorrente a altas concentrações de glicose e insulina na circulação (MALINOWSKI & SCANES, 2003).

Os corticosteroides também atuam no crescimento. Produzidos pelas adrenais, são liberados em momentos de estresse com o aumento de ACTH induzido pelo hormônio liberador de corticotropina (CRH). IGF-1 estimula a síntese deste hormônio (SCANES, 2003b). Em potros recém-nascidos, são encontrados valores mais altos de cortisol nos primeiros dias com acentuada queda conforme o animal vai se desenvolvendo, provavelmente, porque este é importante para a maturação e adaptação dos diversos sistemas fisiológicos (MURRAY & LUBA, 1993).

O cortisol possui um efeito depressor sobre o crescimento, reduzindo o peso muscular em jovens e adultos ao evitar o acréscimo de tecido muscular (SCANES, 2003b). Em equinos, é evidente o impacto do estresse sobre o ganho de peso dos animais (MALINOWSKI & SCANES, 2003). Ocorre ainda o aumento do tamanho do fígado e o aumento da excreção de nitrogênio (MALINOWSKI & SCANES, 2003; SCANES, 2003b).

Secretado pela glândula tireoide por meio do hormônio estimulador da tireoide (TSH), T4 é transformado em T3 pelo fígado para ativação. Os hormônios tireoidianos são importantes para o crescimento muscular, particularmente, para os músculos de contração rápida. Podem ainda induzir uma mudança nas fibras musculares, passando de fibras de contração lenta para contração rápida. T3 atua diretamente sobre as células cartilaginosas e seu crescimento (SCANES, 2003b).

A função tireoidiana é influenciada por diversos fatores. Potros recém-nascidos acabam tendo maiores níveis de T4 e T3 na circulação, com queda após as 48 horas de vida (MURRAY & LUBA, 1993). A nutrição é outro fator que pode levar a estimulação ou inibição, sendo que quando há dietas de restrição, os níveis de T4 diminuem (SCANES, 2003b).

O ambiente pode influenciar as concentrações de T4 e T3, pois estes são responsáveis pelo aumento do metabolismo. Assim, animais que ficam em ambientes frios apresentam aumento destes hormônios para manutenção da temperatura (SCANES, 2003b; TANGYUENYONG et al., 2017).

Outro fator seria a condição individual. Cavalos manifestando quadro de debilidade clínica ou com comportamento muito agitado, caracterizando estresse, apresentaram menores concentrações de T4 circulante. Contudo, esses animais não apresentaram mudanças nas concentrações de T3, o qual pode ser menos afetado na espécie (THOMPSON et al., 1997).

A insulina é necessária para o crescimento fetal e neonatal. Ela se liga aos receptores de insulina e pode se ligar também aos receptores de IGF-1, embora, neste caso, seu efeito como agonista é baixo. Há indícios que este hormônio favorece a produção de IGF-1. Além disso, leva a proliferação e diferenciação celular de hepatócitos e à síntese de proteínas (SCANES, 2003b).

Ela é produzida pelas células β do pâncreas. Sua secreção é estimulada pelo aumento da glicemia e por hormônios do intestino delgado polipeptídeo insulínico dependente de glicose (GIP) e peptídeo-1 glucagon-like (GLP-1). A leptina diminui a liberação de insulina e a prolactina estimula a secreção *in vitro* (SCANES, 2003b).

A leptina é produzida pelo tecido adiposo, mas pode ser produzida no estômago e em neurônios específicos do hipotálamo. A liberação de leptina é proporcional à quantidade de tecido gorduroso e ocorre conforme o balanço energético. Quando o animal está sendo alimentado, as quantidades liberadas diminuem (SCANES, 2003b).

Seu principal papel é garantir a homeostase de energia, mas influencia também a reprodução. Ela aumenta a concentração de GH circulante, informa o hipotálamo sobre o estado de energia, inibindo ou estimulando o apetite, e atua no controle neuroendócrino da reprodução. Pode estimular a lipólise em monogástricos, o crescimento pulmonar e a androgênese. Indiretamente, afeta os ossos (SCANES, 2003b).

Há evidências que a prolactina é necessária para o crescimento normal, mas o seu mecanismo de ação ainda não está bem definido (SCANES, 2003b). Em equinos jovens, a suplementação com luz em períodos de inverno aumenta as quantidades circulantes do hormônio (TANGYUENYONG et al., 2017).

A eritropoietina, por sua vez, possui um papel crítico no controle do número de células vermelhas e no aporte de oxigênio aos tecidos, em crescimento ou não. Produzida principalmente pelos rins, o controle de sua produção é feito em resposta

aos níveis de oxigênio no sangue. Quando produzida, estimula as células eritrogênicas para o aumento das hemácias (SCANES, 2003b).

O controle do crescimento em equinos é crucial para tomadas de decisão e pode ser feito através da mensuração de peso, altura de cernelha, perímetro torácico, perímetro de canela, altura à anca, largura de anca, largura de tórax, altura de tórax, altura do jarrete, altura do joelho, entre outros (MOTA et al., 2010; RAMOS et al., 2014; COSTA et al., 2015; TANGYUENYONG et al., 2017). Além dos hormônios, muitos outros fatores estão envolvidos no processo de desenvolvimento, precisando ser considerados.

Estudos anteriores mostram uma relação direta entre a imaturidade do osso e a incidência de alterações no sistema locomotor dos animais jovens em treinamento (MAMPRIM et al., 1997). Esta maturidade óssea pode ser avaliada por meio do exame radiológico das placas epifisárias (também chamadas de placas de crescimento), que são responsáveis pelo crescimento dos ossos longos após o nascimento (STASHAK, 2002). A epífise distal do rádio é a região de eleição, por apresentar uma indicação mais precisa da evolução esquelética (MASON & BOURKE, 1973; ADAMS, 1974) e por ser uma técnica prática e de fácil execução na rotina diária (MAMPRIM et al., 1992).

Esta avaliação da maturidade óssea permite prevenir que potros com o esqueleto imaturo sejam submetidos a um regime de treinamento inadequado, causando lesões e, até mesmo, incapacitando o animal para competições esportivas futuras (ROSS & DYSON, 2003). Sabe-se, por exemplo, que o excesso de peso dos potros inibe o crescimento longitudinal do osso e promove maior vascularização e ossificação das placas epifisárias (REICH et al., 2005).

À medida que o crescimento longitudinal do osso se encerra, a cartilagem fisária torna-se, progressivamente, mais delgada. Ao final de sua atividade, ela não é mais visível nas radiografias, caracterizando a fusão da epífise com a metáfise o que denominamos de fechamento da placa fisária. A cartilagem de crescimento é substituída por substância óssea trabecular (STASHAK, 2002). A fusão das placas de crescimento de cada osso ocorre em momentos diferentes e varia conforme a espécie. Geralmente as placas de crescimento distais fecham antes das proximais (KERBER, 2001).

As maiores taxas de crescimento em equinos ocorrem nos 4 a 5 primeiros meses de vida, ou seja, antes do desmame. Curvas de crescimento em potros

Quarto-de-Milha mostraram tendência de continuidade do crescimento após os 19 meses de idade, mas de forma bem menos acentuada (MOTA et al., 2010).

Avaliando o crescimento ósseo, Fretz et al. (1984) acompanharam o desenvolvimento de potros desde o nascimento até 2 anos de idade com o uso de marcadores de metal implantados cirurgicamente. Nas projeções radiográficas, conseguiram observar que o crescimento das porções distais dos ossos terceiro metacarpiano e terceiro metatarsiano e porção proximal da primeira falange cessaram abruptamente por volta das 10 semanas de vida. Já as porções distais do rádio, apresentaram crescimento contínuo, mas em declínio, até 60 semanas de idade.

Reforçando a estabilidade precoce no desenvolvimento ósseo em equinos, Godoy et al. (2005) não observou diferença na densitometria óssea de machos e fêmeas da raça Brasileiro de Hipismo com idades entre 20 e 30 meses.

O sexo influencia o crescimento, sendo que machos acabam sendo mais pesados e maiores que fêmeas, indicando que os hormônios sexuais podem influenciar de formas distintas (MALINOWSKI & SCANES, 2003). Potros Quarto-de-Milha com 19 meses de idade apresentaram medidas significativamente maiores que fêmeas, não havendo diferenças apenas em relação à largura e altura do tórax. Já as fêmeas, apresentaram maior perímetro torácico (MOTA et al., 2010).

Segundo Godoy et al. (2004) o fechamento epifisário completo dos animais da raça Brasileira de Hipismo, ocorreu aos $25,83 \pm 1,58$ meses nas fêmeas e aos $28,16 \pm 1,40$ meses nos machos, observando-se que as fêmeas são mais precoces no parâmetro maturidade óssea. Luiz et al. (2007) observaram na raça crioula a influência do sexo sobre o período de fechamento da placa epifisária do rádio. É possível que isso possa ser atribuído à diferença na atividade do hormônio do crescimento entre as fêmeas e os machos.

O fornecimento de minerais pode levar a diferentes respostas ósseas em potros. A falta de cobre na dieta acarretou em baixa qualidade de colágeno, cartilagem fraca e lesões correspondentes à osteocondrite dissecante. Em um período de 6 meses, foi possível observar deformidades de membros e epifisite (HURTIG et al., 1993).

A forma que os minerais são fornecidos também gera efeitos. Potros de 10 meses de idade suplementados com minerais na forma orgânica obtiveram maior densitometria óssea, ganho de peso médio por quilo e ganho de peso diário por

quilo do que aqueles suplementados com minerais inorgânicos (GOBESSO et al., 2014).

Ainda, temperaturas frias podem levar ao desenvolvimento de animais menores. A suplementação com luz seria uma opção para tentar melhorar a taxa de desenvolvimento nesses casos (TANGYUENYONG et al., 2017). Porém, em estudo com Quarto-de-Milha no Brasil, animais nascidos no fim do inverno possuíam médias de tamanho superiores a animais nascidos em outras estações do ano (MOTA et al., 2010).

4.4 HORMÔNIOS SEXUAIS E PUBERDADE

A testosterona é o hormônio sexual masculino produzido pelas células de Leydig e é essencial para o desenvolvimento e a manutenção da espermatogênese e outras características masculinas (BRACKETT, 2006).

A produção de testosterona é estimulada pelo hormônio luteinizante (LH) gonadotrópico da hipófise anterior. Após a ligação do LH ao receptor na célula de Leydig, ocorre a mobilização de precursores esteroides e o colesterol é convertido em pregnenolona, convertida em intermediários e testosterona, a qual fica mais concentrada nos testículos do que no resto do corpo. Porém, o que vai para a corrente sanguínea é importante para evolução funcional e manutenção da libido, atividade secretora das glândulas acessórias masculinas e desenvolvimento de massa muscular, além de outras características relacionadas ao fenótipo masculino (BRACKETT, 2006).

O controle da liberação de testosterona se dá por retroalimentação negativa, ou seja, quanto mais testosterona circulante, maior será o estímulo para diminuir a secreção de LH (BRACKETT, 2006).

As células de Sertoli possuem receptores para hormônio folículo estimulante (FSH) e convertem testosterona em estrogênios. Os estrogênios se movem para os túbulos seminíferos, podendo cair no sangue. Essas células ainda transformam testosterona em diidrotestosterona, a qual possui efeito biológico mais potente que a testosterona (BRACKETT, 2006).

A inibina é uma proteína produzida nas células de Sertoli em resposta à estimulação por FSH, atuando sobre a hipófise e diminuindo a secreção de FSH. Também há a produção de ativina, responsável pela retroalimentação positiva sobre a hipófise, visando aumentar o desenvolvimento da célula germinativa (BRACKETT, 2006).

Na fêmea, a fisiologia reprodutiva envolve o efeito integrado dos hormônios sobre o ovário, útero e glândula mamária. Os hormônios reprodutivos são controlados pelo hormônio de liberação de gonadotrofina (GnRH), secretado pelo hipotálamo. O GnRH estimula a liberação de FSH e LH pela hipófise anterior, os quais atuam no ovário, onde ocorre a produção de estrogênios, progesterona e inibina. Esses hormônios exercem efeito de retroalimentação positiva ou negativa conforme o ambiente hormonal (THOMPSON, 2006).

A prolactina também é produzida pela hipófise anterior e está sob controle negativo tônico pela dopamina proveniente do hipotálamo. Possui função de estimular a lactação e auxiliar no funcionamento do corpo lúteo em algumas espécies. Sua concentração se eleva quando o fotoperíodo é maior (TANGYUENYONG et al., 2017), quando há aumento de estrogênios e durante a amamentação (THOMPSON, 2006).

No animal não gestante, os hormônios são liberados com o objetivo de recrutar folículos ovarianos, maturá-los e levar a sua ovulação, com consequente formação do corpo lúteo. Na égua, a ovulação ocorre após um constante e lento aumento na concentração circulatória de LH (OLIVEIRA et al., 2010).

A regressão do corpo lúteo ocorre quando não há fertilização, pela ação da prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) dando origem a um novo ciclo. FSH e LH estimulam o crescimento folicular, o qual levará à secreção de estrógeno fazendo com que o animal entre em estro (THOMPSON, 2006).

A puberdade é o período de vida em que ocorre o início da capacidade reprodutiva, sendo caracterizada pelo desenvolvimento dos órgãos sexuais e aparecimento das características sexuais secundárias (ANDERSON et al., 1998). É atingida quando o animal macho ou fêmea se torna capaz de liberar gametas e de manifestar sequências de comportamento sexual completo (GARNER & HAFEZ, 2004).

Conforme descrito por Brackett (2006), no macho, a puberdade é definida como o início da capacidade de liberação de células germinativas maduras, fato

acompanhado pelo aumento da secreção de gonadotrofina. Porém, isso não significa maturidade sexual. A puberdade em machos depende mais do desenvolvimento temporal com influências genéticas e nutricionais do que da fotoperiodicidade. O garanhão tem suas funções espermatogênica e endócrina diminuídas quando há menor luminosidade, mas sua fertilidade não é interrompida. O desenvolvimento gradual após a puberdade prepara os machos reprodutores para serem aptos a fertilizar o máximo de fêmeas possíveis.

Em garanhões adultos, a biometria testicular tem como principais finalidades diagnosticar alterações testiculares, assim como auxiliar na predição do potencial reprodutivo bem como da produção espermática diária (SQUIRES & PICKETT, 2011). Devido à disposição horizontal dos testículos no escroto do garanhão, o perímetro escrotal não é realizado, porém, a avaliação da largura escrotal total e o comprimento, são medidas utilizadas (VARNER et al., 1991).

A produção espermática diária é considerada como sendo o número total de espermatozoides produzidos diariamente pelos testículos. O número de espermatozoides que um animal é capaz de produzir depende da quantidade de tecido funcional presente nos testículos, sendo o tamanho testicular um importante fator a ser considerado na seleção de reprodutores quanto à sua máxima eficiência reprodutiva (SQUIRES & PICKETT, 2011).

A influência da idade sobre o desenvolvimento testicular, concentração hormonal e início da puberdade já foi estudada em equinos. Foi sugerido, que a idade à puberdade, baseada nas características espermáticas, seria aos 21 meses, podendo variar entre 14 e 24 meses (NADEN et al., 1990). Segundo Steiner & Umphenour (2009), os garanhões atingem a puberdade entre os 12 e 24 meses de idade. No entanto, aumentam sua capacidade reprodutiva até seis anos ou mais de idade.

Nas fêmeas, a puberdade é definida como o primeiro estro com ovulação e formação de corpo lúteo com duração normal. A primeira ovulação pode não estar associada ao estro comportamental. Diferentemente do garanhão, as éguas são muito afetadas pelo fotoperíodo (TANGYUENYONG et al., 2017), sendo poliéstricas sazonais de dias longos. Fora da estação, elas permanecem em anestro, evoluindo para um período de transição quando a incidência de luz começa a aumentar (THOMPSON, 2006).

A nutrição também é um fator que influencia criticamente o início da puberdade em fêmeas. A ingestão energética precisa ser suficiente para a eficiência reprodutiva, já que esses animais ainda apresentam exigências para o crescimento. Energia adicional poderá resultar em puberdade antecipada (THOMPSON, 2006).

4.5 FISILOGIA DO EXERCÍCIO

A fisiologia do exercício estuda a resposta do cavalo ao exercício, mensurando diversos parâmetros para monitorar a intensidade do treinamento e ajustá-lo à realidade de cada indivíduo (SECANI & LÉGA, 2009).

A atividade muscular se inicia quando ocorre uma atividade física e, para que ocorra contração muscular, é necessário energia. A fonte de energia, inicialmente, é fornecida por combustíveis estocados no interior das células musculares. Conforme o esgotamento, a fonte passa a ser proveniente de outros tecidos (SECANI & LÉGA, 2009).

A energia é necessária para bombear íons e moléculas orgânicas, a fim de manter os gradientes iônicos necessários para gerar potenciais de ação e condutividade elétrica (HODGSON & ROSE, 1994). Os substratos energéticos têm origem na dieta. A contribuição de cada nutriente depende da intensidade do exercício e o tempo de duração (GRAMKOW & FERRAZ, 2007).

Para a ocorrência de contração muscular, é necessário que exista adenosina trifosfato (ATP) disponível. Este é hidrolisado pela enzima ATPase, formando adenosina difosfato e fosfato inorgânico. A liberação de energia permite a união de actina e miosina. Para que os cavalos permaneçam por mais que alguns segundos no exercício, eles devem ser capazes de ressintetizar o ATP (GRAMKOW & FERRAZ, 2007).

A fosfocreatina presente no músculo é o caminho mais rápido para a produção de ATP, já que consegue doar um grupo fosfato para o ADP, ressintetizando a molécula por meio da creatina quinase (CK). Este processo é definido como anaeróbico alático e é utilizado para esforço de alta intensidade por curta duração (SECANI & LÉGA, 2009).

Em exercícios de alta intensidade, mas com um pouco mais de duração, como provas de salto e apartação, há degradação de glicogênio muscular e produção de ácido láctico. As reservas de glicogênio em cavalos chegam a 700 mmol de glicose por kg de músculo. A via glicolítica anaeróbica rende 3 moléculas de ATP para 1 molécula de glicogênio ou 2 moléculas de ATP para 1 molécula de glicose (SECANI & LÉGA, 2009).

Exercícios moderados a intensos apresentam suprimento de ATP pela glicólise e glicogenólise hepato-muscular com intensa atividade da enzima lactato desidrogenase (LDH) e produção de lactato, decorrentes do esforço e não de hipóxia (SECANI & LÉGA, 2009). Cavalos Puro Sangue Inglês (PSI) apresentaram aumento da glicemia após 30 minutos de exercício, independente, da intensidade do mesmo (TOLEDO et al., 2001).

Potras PSI, submetidas a treinamento de 12 meses, obtiveram valores menores de glicemia basal após o período. Potros submetidos ao mesmo protocolo não apresentaram diferenças. Houve aumento significativo, porém, na glicose plasmática após exercício de trote e galope em ambos os grupos (BALARIN et al., 2005).

Estudo em esteira com velocidade crescente demonstrou que a glicemia é mantida constante por meio da mobilização das reservas hepáticas por estímulo do sistema nervoso autônomo simpático. Porém, ocorre aumento ao final do exercício (FERRAZ et al., 2009).

Ferraz et al. (2009) ainda mostraram que ocorre queda da insulina conforme há aumento do esforço, enquanto que em fase de redução do exercício para desaquecimento, foi observada uma estabilização da insulina a níveis de repouso. Esse fato estaria associado à ação de adrenalina e noradrenalina liberadas durante o exercício sobre os receptores α_2 pancreáticos, responsáveis pela diminuição da produção de insulina.

Já nos exercícios prolongados, ou seja, acima de 10 minutos como o enduro equestre, o metabolismo predominante é aeróbico, sendo que as fontes de energia são glicose sanguínea, ácidos graxos e corpos cetônicos. Como se utiliza oxigênio e as reações envolvidas são mais complexas, o processo acaba por ser mais lento (SECANI & LÉGA, 2009).

A adição de óleo de soja à dieta dos animais de enduro é muito benéfica, pois favorece o processo aeróbico ao desviar as rotas metabólicas para a β -

oxidação. Com esse desvio, o aumento de lactato não é exponencial, assim como da glicemia ao longo da distância percorrida. O aumento na oxidação de ácidos graxos causa aumento na produção de acetil CoA, o qual inibe a enzima piruvato desidrogenase, aumentando a concentração de piruvato e diminuindo a glicólise para a geração de energia (BRANDI et al., 2010).

A produção de ATP ocorre dentro da mitocôndria, envolvendo o Ciclo de Krebs e a cadeia de transporte de elétrons. O resultado são 38 ATPs, dióxido de carbono e água após a fosforilação e degradação da glicose até piruvato e sua conversão em acetil-CoA. As coenzimas nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (NAD) e flavina-adenina dinucleotídeo (FAD) são essenciais para o metabolismo aeróbico por carregarem hidrogênio, precisando ser reoxidadas pela via do transporte de elétrons (SECANI & LÉGA, 2009).

O cavalo tem capacidade limitada de utilização da via aeróbica por conta do aporte de oxigênio à musculatura. A falta de oxigênio leva à formação de ATP pelas vias anaeróbicas com formação de ácido láctico, levando à acidose metabólica. O ácido láctico se difunde para o plasma e uma hiperventilação ocorre para eliminar o excesso de CO₂ produzido a partir da ação tamponante com bicarbonato de sódio (FERRAZ et al., 2009; SECANI & LÉGA, 2009).

Uma série de eventos fisiológicos ocorre durante o exercício na tentativa de normalizar os parâmetros do animal. Foram observados aumentos da taxa metabólica, aumento da temperatura central e muscular, taquicardia, elevação do débito cardíaco, taquipnéia, aumento da negatividade da pressão intratorácica, elevação da pressão arterial média, vasodilatação na musculatura, hiperventilação, abertura de capilares e alvéolos pulmonares, aumento da viscosidade sanguínea, aumento da resistência ao fluxo sanguíneo em diversos órgãos, depleção de glicogênio intramuscular, vasodilatação coronária, vasoconstrição esplênica, duplicação do hematócrito, aumento do fluxo sanguíneo para pele e aumento do movimento muscular (SECANI & LÉGA, 2009).

Esses eventos acabam elevando as concentrações de lactato sanguíneo. O lactato está diretamente relacionado à capacidade aeróbica do atleta, podendo ser utilizado como um indicador de desempenho em cavalos. Sua concentração aumenta conforme a intensidade do exercício, ou seja, quanto maior o esforço físico, maior será o acúmulo de lactato (HARRIS et al., 1991).

Animais que conseguem se adaptar e diminuir os valores de lactato possuem melhor desempenho atlético. Concentrações mais baixas seriam decorrentes a uma produção menor ou uma maior capacidade de remoção de lactato da circulação (EVANS et al., 1993). O treinamento leva a adaptações que diminuem as concentrações da substância (MUÑOZ et al., 2002).

Alterações em enzimas relacionadas ao exercício também foram descritas. Um estudo com a raça crioula apresentou mudanças significativas de CK apenas após 48 horas da competição, com queda significativa da mesma em relação à coleta pré-exercício. Não foram observadas alterações nos níveis de aspartato aminotransferase (AST) e LDH desses animais (DA CÁS et al., 2000).

Toledo et al. (2001) obteve alterações de CK em avaliação após 30 minutos de exercício moderado e intenso de cavalos Puro Sangue Inglês. Da Cás et al. (2000), não observaram aumento significativo de AST e LDH, nem de gama-glutamyltransferase (GGT).

Animais submetidos a treinamento por período de 12 meses apresentaram maiores níveis de AST em comparação ao período prévio ao condicionamento. Machos apresentaram menores valores de CK, enquanto fêmeas não tiveram alterações. Contudo, após exercício de trote e galope, os valores de CK dos machos aumentaram, demonstrando maior permeabilidade da membrana das células musculares (BALARIN et al., 2005).

Ao avaliar 3 categorias distintas, sendo elas cavalos quarto-de-milha atletas, cavalos quarto-de-milha em reprodução e animais sem raça definida (SRD) de carroça, Câmara et al. (2007) constataram diferenças entre os grupos em relação a CK e AST, mas não LDH. O grupo de SRD teve maiores níveis de CK, provavelmente, pelo esforço intenso que realizam e à falta de condicionamento físico que animais atletas possuem. Os animais em reprodução e sem atividade física apresentaram menor valor de AST, resultado esperado pelo fato de serem sedentários.

Exercício aeróbico de leve a moderada intensidade não causou mudanças nos níveis de CK, creatinoquinase fração MB (CKMB) e AST em animais da raça Puro Sangue Lusitano. Contudo, LDH apresentou aumento de quase 25% imediatamente após o exercício (OLIVEIRA et al., 2011).

Cavalos de enduro suplementados com óleo de soja apresentaram menores valores de CK, AST e LDH quando comparados ao grupo controle. O uso de óleo na

dieta de equinos demonstrou ser uma manobra importante para o melhor desempenho em exercícios aeróbicos (BRANDI et al., 2010).

Avaliando cavalos Quarto-de-Milha competidores de apartação e três tambores, foi observado aumento das atividades séricas de CK e AST imediatamente após as provas. Fêmeas apresentaram valores mais altos de AST, enquanto que machos castrados tiveram menores concentrações de CK do que garanhões e éguas. Esse padrão sugere que o sexo influencia as atividades de enzimas e pode levar a problemas na recuperação pós-esforço de acordo com o gênero (PATELLI et al., 2016).

A frequência cardíaca pode ser utilizada para a mensuração de desempenho em cavalos, já que ocorrem diversas alterações circulatórias durante o exercício (SECANI & LÉGA, 2009). Evans et al. (1993) observaram em animais da raça PSI correlação entre a FC e os resultados de tempo em corridas prévias ao experimento no minuto 4 após exercício em esteira.

Cavalos submetidos a provas de 30 e 60 km de enduro, atingindo velocidades de 12 e 15 km/h, apresentaram recuperação dos valores de frequência cardíaca aos níveis basais em até 10 minutos após o exercício. Esse fato foi associado ao preparo dos atletas para a realização das provas, reafirmando a importância da FC como parâmetro de desempenho. Ainda foi observado que animais tratados com repositores eletrolíticos em provas de longa distância possuíram tendência a uma diminuição da FC em relação ao grupo controle (TEIXEIRA-NETO et al., 2004).

Em provas de tambor, as quais são de curta duração e alta intensidade, foi relatada evidente ligação entre FC maiores imediatamente após o exercício com menores tempos de prova. Os autores alegaram que cavalos mais velozes apresentam aumento mais rápido da FC (CAPELLETO et al., 2009).

A fadiga é muito importante para os equinos de esporte e seria uma combinação dos efeitos de exaustão do suprimento de energia, hipertermia e desidratação, envolvendo o sistema nervoso central e periférico (SECANI & LÉGA, 2009). Animais desclassificados por exaustão em provas de enduro de 60 e 160 km apresentaram taquicardia sinusal, arritmia sinusal e complexo atrial prematuro com variação da frequência cardíaca a níveis bem acima do normal para a espécie (DUMONT et al., 2011).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 LOCAL

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Saúde Digestiva e Desempenho de Equinos (LabEqui) pertencente ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo no Campus Administrativo Fernando Costa, em Pirassununga (SP), Latitude: 21°36'00"S; Longitude: 47°18'00"W. O período experimental foi de maio a agosto de 2016.

5.2 ANIMAIS

Foram utilizados doze potros, 6 machos e 6 fêmeas, mestiços, com idade aproximada de 17 meses e peso corporal de $355,17 \pm 26,63$ kg para machos e $411,42 \pm 29,49$ kg (média $\pm$ DP) para fêmeas, desverminados e imunizados contra raiva, influenza, tétano e encefalomielite.

Durante todo o período experimental, os animais foram monitorados através de avaliações clínicas dos parâmetros fisiológicos, como frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal, realização do exame de hemograma, através do equipamento Bioclin (Hematoclin 2.8 Vet).

Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais de acordo com o sexo, de forma a compor grupos homogêneos quanto ao número de machos e fêmeas. No momento D0, antes do tratamento, os animais foram divididos em dois grupos experimentais:

- GI - Grupo Controle: Seis animais, sendo três machos e três fêmeas, que não foram submetidos à administração de quaisquer medicamentos.

- GII - Grupo Tratado: Seis animais, sendo três machos e três fêmeas, os quais foram submetidos à administração do produto a base de undecilenato de boldenona.

No Quadro 1, abaixo, são apresentadas as informações dos animais submetidos ao estudo.

Quadro 3. Identificação, idade, sexo, peso e grupo de tratamento dos animais selecionados.

Animal	Idade	Sexo	Peso (kg)	Grupo
Animal 1	17 meses	Feminino	414,5	Controle
Animal 2	16 meses	Feminino	384,5	Controle
Animal 3	19 meses	Feminino	429,5	Controle
Animal 4	17 meses	Masculino	320,0	Controle
Animal 5	18 meses	Masculino	367,5	Controle
Animal 6	16 meses	Masculino	345,0	Controle
Animal	Idade	Sexo	Peso (kg)	Grupo
Animal 7	17 meses	Feminino	388,0	Tratado
Animal 8	19 meses	Feminino	460,0	Tratado
Animal 9	17 meses	Feminino	392,0	Tratado
Animal 10	19 meses	Masculino	394,0	Tratado
Animal 11	17 meses	Masculino	368,5	Tratado
Animal 12	17 meses	Masculino	336,0	Tratado

Fonte: (GARCIA, 2018)

O estudo teve a duração de 91 dias sendo realizado em duas fases experimentais. Os primeiros 7 dias foram destinados ao período de adaptação dos animais (D-7), em seguida, iniciou-se a Fase 1 (D0 – D28), de duração de 28 dias, onde os animais foram mantidos sem exercício físico. A Fase 2 (D28 – D84) se iniciou imediatamente após o término da primeira fase, duração de 56 dias, os potros foram submetidos a um programa de exercício físico controlado.

No momento D28, as análises coletadas e avaliadas, se referem ao término da fase 1 (28 dias após a primeira aplicação do anabolizante) e início da fase 2, (pré exercício físico), sendo considerada a mesma amostra.

Foram incluídos no estudo apenas os animais que se apresentaram hígidos, durante as avaliações clínicas realizadas no período de adaptação, sete dias antes do início das atividades (D-7). Seriam excluídos do experimento os animais que tivessem sido submetidos à administração farmacológica que pudessem interferir na integridade do estudo, ou seja, que pudessem exercer efeitos estimulantes ao metabolismo, nos últimos 60 dias que antecederam o início das análises (D0).

5.3 DIETA

Os animais ficaram alojados em piquetes sem acesso a capim. A dieta adotada foi baseada no consumo diário individual equivalente a 2% do peso corporal com base na matéria seca, de acordo com o NRC (2007), sendo a proporção adotada de 50% de concentrado farelado e 50 % de feno de Tifton 85 (*Cynodon* sp. cv. Tifton 85); suplemento mineral (Kromium, Tortuga DSM) e água foram fornecidos *ad libitum*.

O concentrado foi fornecido em comedouros individuais tipo lanchonete (Unidade de Manejo Alimentar) e o feno em fenil no piquete, duas vezes ao dia, às 7h00 e às 16h00, sendo a dieta total (feno + concentrado) dividida em partes iguais entre nos dois horários, Figura 1.

Figura 1. Comedouro individual (A) e Unidade de Manejo Alimentar (B)

Fonte: (GARCIA, 2018)

A composição bromatológica e os ingredientes da dieta fornecida estão descritos na Tabela 1 e 2.

Tabela 1. Composição bromatológica corrigidas para 100% de matéria seca, do volumoso e concentrado utilizados no período experimental.

Componentes (%)	Feno de tifton 85	Concentrado
Matéria seca	88,08	89,08
Proteína bruta	10,94	14,28
Extrato etéreo	0,23	2,32
FDN	77,74	20,25
FDA	38,08	5,59
Matéria mineral	6,58	8,29
CNE	4,51	54,86
Amido	0,97	51,73

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; CNE: carboidratos não estruturais ($CNE = 100 - PB - FDN - EE - MM$); Adaptado de HOFFMAN et al. (2001) e JOSE-CUNILLERAS et al. (2004).

Tabela 2. Ingredientes e formulação do concentrado.

Ingredientes	Concentrado (%)
Fubá de Milho	43
Farelo de Trigo	43
Farelo de Soja	4
Calcário	2,5
Sal comum	1
Óleo de soja	3,5
Núcleo de Equino Agromix*	3

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: *Cálcio (Mínimo) 190,00 g/kg; Cálcio (Máximo) 215,00 g/kg; Cloro (Mínimo) 105,00 g/kg; Cobalto (Mínimo) 12,00 mg/kg; Cobre (Mínimo) 250,00 mg/kg; Enxofre (Mínimo) 2,00 g/kg; Ferro (Mínimo) 1.000,00 mg/kg; Flúor (Máximo) 720,00 mg/kg; Fósforo (Mínimo) 72,00 g/kg; Iodo (Mínimo) 20,00 mg/kg; Magnésio (Mínimo) 28,00 g/kg; Manganês (Mínimo) 1.000,00 mg/kg; Selênio (Mínimo) 2,00 mg/kg; Sódio (Mínimo) 68,00 g/kg; Zinco (Mínimo) 1.500,00 mg/kg.

Avaliou-se as variáveis: teor de matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) como descritos por Silva & Queiroz (2006). A análise do amido foi conduzida segundo o método enzimático descrito por Pereira & Rossi Junior (1998).

5.4 TRATAMENTO

A dose de undecilenato de boldenona recomendada é de 0,25 mg a 1,0 mg/kg de peso. Os animais pertencentes ao grupo tratado receberam quatro aplicações com intervalos de 14 dias. A boldenona foi administrada na dose mínima de 0,25

mg/kg de PC, pela via intramuscular profunda. Os tratamentos ocorreram nos momentos D0, D14, D28 e D42.

5.5 EXERCÍCIO FÍSICO

Na segunda fase do período experimental, os mesmos animais foram introduzidos em um programa gradual de exercício físico, para avaliação de condicionamento físico e parâmetros clínicos. Análises de aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase (CK), lactato, glicose e insulina, foram mensuradas nesse intervalo. Inicialmente, nas primeiras duas semanas, os animais foram exercitados duas vezes por semana, e a cada duas semanas aumentou-se um dia de exercício, assim sucessivamente, até alcançar uma frequência de exercício semanal de cinco vezes na semana, como demonstra o Quadro 2.

Quadro 4. Período e frequência de exercícios.

Período	Frequência de Exercício
D28 – D42	2 vezes/semana
D42 – D56	3 vezes/semana
D56 – D70	4 vezes/semana
D70 – D84	5 vezes/semana

Fonte: (GARCIA, 2018)

Utilizou-se um exercitador circular mecânico para cavalos (Equiboard®), Figura 2, controlado eletronicamente na velocidade máxima de 15 km/h e o protocolo de exercício estabelecido, foi dividido em:

- aquecimento: 10 minutos na velocidade de 8 km/h;
- trabalho: 15 minutos na velocidade de 12 km/h;
- trabalho intenso: 5 minutos na velocidade de 15 km/h;
- inversão do equipamento (sentido horário para anti-horário);
- trabalho intenso: 5 minutos na velocidade de 15 km/h;
- trabalho: 15 minutos na velocidade de 12 km/h;
- desaceleração: 10 minutos na velocidade de 8 km/h.

Figura 2. Exercitador circular mecânico para cavalos

Fonte: (GARCIA, 2018)

5.6 MARCADORES SANGUÍNEOS

5.6.1 Bioquímica sérica

Para a dosagem da concentração sérica de creatinina (mg/dL), ureia (mg/dL), fosfatase alcalina (UI/L), gama glutamil transferase (UI/L), proteína total (g/dL), albumina (g/dL), aspartato aminotransferase (UI/L) e creatina quinase (UI/L) no soro, nos momentos, D0, D14, D28, D56, D70 e D84, o sangue foi coletado por meio de punção da veia jugular, utilizando agulhas 25 x 0,8 mm e tubos em sistema a vácuo (B-D Vacutainer®) sem anticoagulante.

Durante a fase 2, com exercício, houve coletas de sangue nos momentos D28, D42, D56, D70 e D84 para análise de aspartato aminotransferase (AST), três e seis horas após o exercício, e creatina quinase (CK), vinte e quatro horas após.

Todas as amostras foram mantidas em repouso, em temperatura ambiente por aproximadamente 20 minutos e, posteriormente, centrifugadas por 5 minutos a 3.400 rpm (centrifuga modelo 80-2B-15ML, Centribio; 1.800xg). Após esse procedimento, o sobrenadante foi transferido para microtubos de 1,5 mL de plástico, devidamente identificados e mantidos em freezers a -20°C, posteriormente

encaminhadas para laboratório particular (DAC – Diagnósticos Análises Clínicas, Pirassununga, SP) para serem analisadas.

A concentração sérica de aspartato aminotransferase (AST), gama glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (FA) e creatina quinase (CK) foram mensuradas pelo método cinético UV. A concentração de ureia foi avaliada pelo método UV automático e a concentração de creatinina através do método cinético automático. A concentração de proteína total e albumina sérica ocorreram através do método colorimétrico. Todas as mensurações foram realizadas em aparelho LABMAX 240.

5.6.2 Dosagem de lactato, glicose e insulina

Para dosagem de glicose plasmática e lactato, o sangue foi colhido em tubos Vacutainer BD® com Fluoreto de sódio. As coletas ocorreram logo após o exercício nos tempos: 0 (imediatamente após exercício), 1, 3, 5, 10 e 15 minutos, nos momentos D28, D42, D56, D70 e D84. Para análise de insulina sérica, foram utilizados tubos Vacutainer BD® sem anticoagulantes, as coletas ocorreram logo após o exercício nos tempos: 1, 3, 5, 10 e 15 minutos, nos momentos D28, D42, D56, D70 e D84.

As amostras foram imediatamente centrifugadas por 5 minutos a 4.000 rpm (centrifuga modelo 80-2B-15ML, Centribio; 1.800xg) (STULL & RODIEK, 1988; RAMALHO et al., 2012). Após esse procedimento, o sobrenadante foi transferido para microtubos de 1,5 ml de plástico, devidamente identificados e mantidos em freezers a -20°C (STULL & RODIEK, 1988), posteriormente encaminhadas para laboratório particular (DAC – Diagnósticos Análises Clínicas, Pirassununga, SP) para serem analisadas.

A concentração de insulina foi mensurada pelo método de quimioluminescência, através do aparelho Elecsys (Kit - Roche®). A dosagem de glicose e lactato foram realizadas por meio do teste enzimático colorimétrico, aparelho LABMAX 240 (Kit – Bioclin®).

5.7 AVALIAÇÃO DOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS

5.7.1 Ultrassonografia de ovários e testículo

Para avaliação ovariana, as potras foram mantidas em tronco de contenção, e através do exame ultrassonográfico transretal, com o aparelho Mindray® DP 2200, e transdutor transretal, foi possível mensurar as medidas de largura e altura, em centímetros, do perímetro ovariano (ovário direito e esquerdo). Nos potros, para avaliação testicular, os animais foram colocados em tronco de contenção, e através da imagem ultrassonográfica, medidas em centímetro de largura e comprimento dos testículos (esquerdo e direito) foram adquiridas Figura 3.

O exame de imagem foi realizado sempre pelo mesmo avaliador, para evitar variações nos dados obtidos. As coletas de dados ocorreram nos momentos, D0, D14, D28, D42, D56, D70 e D84.

Figura 3. Avaliação ultrassonográfica testicular

Fonte: (GARCIA, 2018)

5.8 EXAME RADIOGRÁFICO DA ARTICULAÇÃO RÁDIO-CÁRPICA

O exame radiográfico da articulação rádio-cárpica-metacarpica esquerda, foi realizado nos momentos D0, D14, D28, D42, D56, D70 e D84 em todos os animais do experimento. Os potros foram radiografados em posição quadrupedal, sobre uma

superfície plana, com apoio uniforme, usando o equipamento Slate 2, da empresa Cuattro®.

Com o objetivo de obter imagens radiológicas da placa epifisária, a projeção radiológica utilizada foi a dorso palmar, com o feixe principal de radiação centralizado na região distal do rádio, Figura 4. Desta maneira, foi possível observar uma linha radioluscente irregular localizada no terço distal do rádio, sendo conhecida como placa epifisária de crescimento distal.

Figura 4. Exame radiográfico da articulação rádio-cárpica esquerda (A), imagem radiográfica da placa epifisária de crescimento distal do rádio (B)

Fonte: (GARCIA, 2018)

5.9 AVALIAÇÕES ZOOTÉCNICAS

No presente estudo, os parâmetros de peso, altura de cernelha, perímetro de canela, perímetro de joelho, largura de peito e circunferência abdominal foram coletados por meio de balança digital (peso corpóreo), hipômetro (altura de cernelha e largura de peito) e fita métrica (circunferência abdominal, perímetro de joelho, perímetro de canela). As mensurações foram efetuadas nos animais em estação forçada, isto é, membros, anterior e posterior, na perpendicular sobre um piso plano, formando um paralelogramo retangular, de forma que visto de perfil, seus membros, para cada bípede, se encobrem e vistos de frente ou detrás estão na vertical e igualmente apoiados no piso.

As medidas foram obtidas sempre do lado esquerdo do animal e pelo mesmo avaliador a fim de minimizar os erros de procedimento. Tais avaliações ocorreram nos momentos D0, D14, D28, D42, D56, D70 e D84.

As aferições de medidas foram realizadas segundo Santiago et al. (2014):

- *perímetro de canela*: medida de circunferência aferida no terço médio da região da canela de um dos membros torácicos, formada pelos ossos metacárpicos II, III e IV.

- *perímetro de joelho*: medida de circunferência aferida no terço médio do joelho zootécnico, compreendida pelos ossos carpianos.

- *largura de peito*: distância entre as bordas laterais das articulações escápulo-umeral direita e esquerda.

- *altura de cernelha*: medida aferida do ponto mais alto da região interescapular, localizada no espaço definido pelo processo espinhoso de T5 e T6, até o solo.

- *peso corporal*: medida aferida utilizando-se balança eletrônica para animais de grande porte, com precisão de 0,5 kg e capacidade para 2000 kg.

- *circunferência abdominal*: mensurada com fita métrica ajustada na circunferência da região da fossa paralombar, Figura 5.

Figura 5. Avaliação zootécnica da circunferência abdominal (A) e perímetro de joelho (B)

Fonte: (GARCIA, 2018)

5.10 AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

Durante a fase 2, nos momentos D28, D42, D56, D70 e D84 os animais foram avaliados com uso de frequencímetros digitais (Garmin Forerunner 305[®]), com adaptadores para uso em equinos (V-Max[®]), Figura 6. O frequencímetro oferece opções de localização via satélite através de GPS, com mensuração da frequência cardíaca e da velocidade, em que gera gráficos que permitem monitorar a FC média e máxima alcançada durante o exercício Figura 7.

Figura 6. Frequencímetro adaptado

Fonte: (GARCIA, 2018)

Para definir as frequências cardíacas em cada momento do exercício, foi obtida a média dos 15 segundos finais de cada velocidade. Para obtenção da FC basal, os animais permaneceram 10 minutos em repouso, sem manipulação humana. Em seguida, os potros foram para o exercitador circular, com trabalho programado, após o término do mesmo, os equinos permaneceram 15 minutos em repouso para avaliar a recuperação cardíaca do exercício aos níveis basais.

5.11 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo, considerando dois grupos comparativos, animais tratados e animais controle (GI e GII). As análises foram realizadas dentro de cada fase (fase 1 – sem treinamento e fase 2 – com treinamento) e dentro de cada sexo (machos e fêmeas).

Os dados foram submetidos à análise de variância, onde foi utilizado o modelo misto do pacote PROC MIXED do programa SAS (*Statistical Analysis System*) versão 9.4. Quando os resultados foram significativos na análise de variância, foi adotado o Teste de Tukey com $p < 0,05$ como procedimento de comparação de médias.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

Todos os animais apresentaram-se hígidos durante a pesquisa, sem exibir alterações clínicas de saúde. É possível verificar os resultados das médias dos parâmetros de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura corporal das fases 1 e 2, realizadas todos os dias, ao longo de todo o período experimental, no APÊNDICE A. Todos os valores obtidos estão dentro do intervalo de referência para a espécie sugeridos por THOMASSIAN (2005).

As médias dos parâmetros avaliados no hemograma, contagem de hemácias, percentual de hematócrito, concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular médio, leucócitos totais e contagem de plaquetas, podem ser observadas no APÊNDICE B. Todos os valores obtidos estão dentro dos valores de referência sugeridos por THRALL (2006).

6.1.1 Bioquímica sérica

Durante a primeira fase (sem exercício), os machos apresentaram aumento de uréia, FA e CK ao longo do tempo, como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3. Concentração sérica de creatinina (C; mg/dL), concentração sérica de ureia (U; mg/dL), Fosfatase Alcalina (FA; UI/dL), Gama Glutamil Transferase (GGT; UI/L), proteína total (PTT; g/dL), albumina (A; g/dL), Aspartato aminotransferase (AST; UI/L), creatina quinase (CK; UI/L) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D0, D14 e D28 (Média $\pm$ EP).

	Tempo			Tratamento		Valor de P		
	D0	D14	D28	Controle	Tratado	Trat	Tem	TratxTem
C	1,35 $\pm$ 0,10	1,31 $\pm$ 0,10	1,11 $\pm$ 0,10	1,31 $\pm$ 0,08	1,20 $\pm$ 0,08	0,41	0,26	0,92
U	31,33 $\pm$ 2,49 _b	42,33 $\pm$ 2,49 _a	48,83 $\pm$ 2,49 _a	42,67 $\pm$ 2,03	39,00 $\pm$ 2,03	0,27	<0,01	0,94
FA	222,17 $\pm$ 12,51 _b	276,33 $\pm$ 12,51 _a	303,17 $\pm$ 12,51 _a	281,33 $\pm$ 10,22	253,11 $\pm$ 10,22	0,12	0,01	0,69
GGT	25,00 $\pm$ 5,43	19,67 $\pm$ 5,43	20,17 $\pm$ 5,43	24,11 $\pm$ 4,44	19,11 $\pm$ 4,44	0,47	0,75	0,75
PTT	6,40 $\pm$ 0,15	6,50 $\pm$ 0,15	6,90 $\pm$ 0,15	6,54 $\pm$ 0,12	6,66 $\pm$ 0,12	0,51	0,09	0,78
A	2,29 $\pm$ 0,04	2,29 $\pm$ 0,04	2,46 $\pm$ 0,04	2,32 $\pm$ 0,04	2,37 $\pm$ 0,04	0,41	0,06	0,78
AST	339,67 $\pm$ 45,66	384,83 $\pm$ 45,66	444,50 $\pm$ 45,66	363,78 $\pm$ 37,28	415,56 $\pm$ 37,28	0,38	0,32	0,63
CK	220,83 $\pm$ 15,18 _b	291,17 $\pm$ 15,18 _a	300,00 $\pm$ 15,18 _a	278,89 $\pm$ 12,40	262,44 $\pm$ 12,40	0,40	0,01	0,52

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D0: aplicação da primeira dose (0,25mg/kg); D14: aplicação da segunda dose (0,25mg/kg de PC); D28: 28 dias após a primeira aplicação. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os valores encontrados para ureia permaneceram dentro dos valores de referência de $41,79 \pm 10,77$ mg/dl, sugeridos por DORETTO et al. (2007). Em seu estudo, avaliou-se 193 amostras de soro sanguíneo de equinos, de ambos os sexos, clinicamente sadios e com idade entre 3 e 11 anos.

Buscando fazer um levantamento de valores de referência para ureia em equinos, é notável uma grande variação nos valores encontrados. Segundo Kaneko (1997), os valores de referência de ureia em equinos são 21 – 51 mg/dL, sendo compatíveis com o encontrado no presente estudo. Cornell University College of Veterinary Medicine (2017), porém, apresenta valores de referência bem menores, considerando o padrão fisiológico entre 10 – 22 mg/dL.

Meyer et al. (1995) propõe que o nível de ureia sérica pode ser aumentado com o aumento do consumo dietético de proteína, colapso metabólico ou hemorragia no interior do trato gastrointestinal. O aumento da ureia sanguínea pode refletir tanto uma aceleração no catabolismo proteico, quanto uma diminuição na sua excreção urinária. Fatores não renais que diminuem os valores de ureia sanguínea são esteroides, diminuição do catabolismo proteico e uma severa insuficiência hepática (KANEKO, 1997). Assim, possui pouco valor diagnóstico quando comparada a creatinina, para avaliação da função renal (COLES, 1984; THRALL, 2006).

Acredita-se que a elevação encontrada possa ser decorrente da dieta oferecida aos animais, pois estes não eram tratados anteriormente com concentrado. Logo, os níveis de proteína dietética aumentaram, levando ao aumento de ureia sanguínea.

A enzima fosfatase alcalina (FA) é amplamente distribuída no organismo e quando ocorre um distúrbio hepático detecta-se um aumento de sua atividade no soro em decorrência de colestase por obstrução dos canalículos biliares (KANEKO, 2008). No entanto, sabe-se ainda que o aumento das concentrações séricas de FA pode estar relacionado ainda à indução por drogas e doenças crônicas extra-hepáticas (MORAIS et al., 2000; NOLETO, 2012).

Os valores médios de FA encontrados em D14 e D28 (pós-tratamento) são maiores e diferem de D0 (pré-tratamento), porém os dados obtidos se mantiveram dentro dos valores de referência descritos na literatura, de 145 a 395 UI/L (VIANA, 2007). Numericamente, o grupo controle apresentou valores maiores quando

comparado ao grupo tratado, o que demonstra que o aumento dos valores médios não tem relação com a aplicação de undecilenato de boldenona.

Assim como ureia e FA, mesmo com aumento significativo, os valores de CK permaneceram dentro dos parâmetros fisiológicos para a espécie estabelecida em 171 – 567 UI/L (CORNELL UNIVERSITY COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE, 2017).

Já as fêmeas apresentaram diminuição de creatinina, aumento de ureia e diminuição da proteína total em relação ao tempo experimental. Os resultados estão descritos na Tabela 4. Houve efeito de tratamento com aumento das concentrações séricas de CK no grupo tratado.

Tabela 4. Concentração sérica de creatinina (C; mg/dL), concentração sérica de ureia (U; mg/dL), Fosfatase Alcalina (FA; mg/dL), Gama Glutamil Transferase (GGT; U/L), proteína total (PTT; mg/dL), albumina (A; mg/dL), Aspartato aminotransferase (AST; U/L), creatina quinase (CK; UI/L) das potras submetidas ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D0, D14 e D28 (Média $\pm$ EP).

	Tempo			Tratamento		Valor de P		
	D0	D14	D28	Controle	Tratado	Trat	Tem	TratxTem
C	1,18 $\pm$ 0,05 _a	1,08 $\pm$ 0,05 _a	0,83 $\pm$ 0,05 _b	1,06 $\pm$ 0,04	0,99 $\pm$ 0,04	0,28	<0,01	0,99
U	33,17 $\pm$ 1,58 _b	33,83 $\pm$ 1,58 _b	42,00 $\pm$ 1,58 _a	37,44 $\pm$ 1,29	35,22 $\pm$ 1,29	0,29	0,01	0,87
FA	154,00 $\pm$ 8,97	163,33 $\pm$ 8,97	172,83 $\pm$ 8,97	162,22 $\pm$ 7,33	164,56 $\pm$ 7,33	0,83	0,38	0,83
GGT	9,33 $\pm$ 2,35	8,17 $\pm$ 2,35	13,83 $\pm$ 2,35	11,44 $\pm$ 1,92	9,44 $\pm$ 1,92	0,50	0,26	0,97
PTT	7,01 $\pm$ 0,09 _a	6,63 $\pm$ 0,09 _b	6,24 $\pm$ 0,09 _c	6,65 $\pm$ 0,07	6,59 $\pm$ 0,07	0,60	<0,01	0,27
A	2,28 $\pm$ 0,10	2,01 $\pm$ 0,10	2,17 $\pm$ 0,10	2,23 $\pm$ 0,08	2,07 $\pm$ 0,08	0,23	0,22	0,29
AST	310,83 $\pm$ 25,86	374,33 $\pm$ 25,86	402,83 $\pm$ 25,86	328,22 $\pm$ 22,21	397,11 $\pm$ 22,21	0,08	0,09	0,33
CK	315,50 $\pm$ 24,31	343,67 $\pm$ 24,31	383,83 $\pm$ 24,31	295,89 $\pm$ 19,85 _B	399,44 $\pm$ 19,85 _A	0,02	0,20	0,16

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D0: aplicação da primeira dose (0,25mg/kg); D14: aplicação da segunda dose (0,25mg/kg); D28: 28 dias após a primeira aplicação. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A produção diária de creatinina é relativamente constante e não sofre ação de fatores extra renais, sendo um ótimo parâmetro para avaliação da função renal. Os valores de referência para equinos variam entre 0,8-1,5 mg/dL (CORNELL UNIVERSITY COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE, 2017). Assim, a diminuição encontrada não é relevante, pois está dentro dos limites fisiológicos.

O aumento de uréia, assim como nos machos, pode ser decorrente da dieta nova fornecida aos animais, e manteve-se dentro dos valores de referência para equinos, 21 – 51 mg/dL (KANEKO, 1997).

A proteína total é uma ferramenta diagnóstica para estados inflamatórios e infecciosos, além de auxiliar na avaliação do grau de hidratação (DI FILLIPO et al., 2009). Embora tenha corrido diminuição dos valores de proteína total nas potras, estes se mantiveram dentro dos limites descritos para a espécie, de 5,9 a 7,9 mg/dL (VIANA, 2007).

O efeito de tratamento nos valores de CK não era esperado, pois as potras não estavam sendo exercitadas, situação que geralmente leva ao aumento da enzima. Este achado pode estar relacionado com uma possível lesão muscular (VALBERG, 1996) ocorrida no piquete. Outra hipótese seria que o andrógeno, como possui receptores nas células da musculatura esquelética (PALERMO-NETO, 2006), poderia levar a um aumento da permeabilidade da membrana das células musculares, ocasionando o extravasamento de CK para a corrente sanguínea. Mesmo apresentando aumento, os valores de CK continuaram dentro da normalidade para a espécie estabelecida em 171 – 567 UI/L (CORNELL UNIVERSITY COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE, 2017).

Na Fase 2, os animais foram introduzidos a um programa de exercício físico de forma gradual, elevando-se a carga de exercício a cada duas semanas. Os valores obtidos na avaliação bioquímica dos machos, nos momentos D28, D56, D70 e D84, estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Concentração sérica de creatinina (C; mg/dL), concentração sérica de ureia (U; mg/dL), Fosfatase Alcalina (FA; mg/dL), Gama Glutamil Transferase (GGT; U/L), proteína total (PTT; mg/dL), albumina (A; mg/dL), Aspartato aminotransferase (AST; U/L), creatina quinase (CK; U/L) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona previamente ao exercício nos dias D28, D56, D70 e D84 (Média ± EP).

	Tempo				Tratamento		Valor de P		
	D28	D56	D70	D85	Controle	Tratado	Trat	Temp	Trat.xTemp
C	1,23±0,04 _b	1,14±0,04 _b	1,38±0,04 _a	1,43±0,04 _a	1,21±0,03 _B	1,38±0,03 _A	0,03	<0,01	0,71
U	51,00±2,19 _a	28,58±2,19 _c	40,92±2,19 _b	43,83±2,19 _b	40,92±1,39	41,25±1,70	0,89	<0,01	0,85
FA	313,33±34,64	256,67±34,64	343,33±34,64	353,67±34,64	293,00±21,91	340,50±26,83	0,26	0,26	0,23
GGT	17,00±2,20	17,25±2,20	15,92±2,20	15,25±2,20	20,08±1,39 _A	12,63±1,70 _B	0,04	0,91	0,89
PTT	6,94±0,18	6,49±0,18	6,92±0,18	6,91±0,18	6,76±0,11	6,77±0,14	0,93	0,30	0,86
A	2,45±0,04	2,29±0,04	2,40±0,04	2,34±0,04	2,33±0,02	2,41±0,03	0,09	0,06	0,69
AST	376,75±45,10	308,67±45,10	342,17±45,10	330,83±45,10	311,83±28,52	367,38±34,93	0,31	0,76	0,68
CK	288,08±23,61	285,58±23,61	294,83±23,61	305,08±23,61	298,67±14,93	288,12±18,29	0,69	0,94	0,87

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D28: início da Fase 2 – aplicação da terceira dose (0,25mg/kg); D56: 56 dias após a primeira aplicação; D70: 70 dias após a primeira aplicação; D84: 84 dias após a primeira aplicação. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Foi observado efeito de tratamento e tempo sobre os valores de creatinina, com aumento durante o período experimental e atividade mais alta da enzima nos animais tratados. Considerando a importância da creatinina na avaliação da função renal, o efeito de tratamento deve ser analisado com atenção. A possibilidade de lesão renal causada pelo uso de boldenona já foi descrito em bezerros (NEAMAT-ALLAH, 2014) e coelhos (TOUSSON et al., 2014), sendo encontrados valores elevados de creatinina, além de lesões histopatológicas em rins.

No presente estudo, mesmo ocorrendo aumento dos valores, estes não saíram dos limites considerados normais aos equinos, de 0,8-1,5 mg/dL (CORNELL UNIVERSITY COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE, 2017). Além disso, a ureia se manteve dentro dos parâmetros normais (DORETTO et al., 2007), embora tenha apresentado variação de tempo. Vale lembrar que foi utilizada dose mínima recomendada do produto por um período de, aproximadamente, 90 dias, com 4 aplicações no total.

A gama glutamil transferase (GGT) sofreu efeito de tratamento. O grupo tratado teve menor média em relação ao controle. A GGT é um marcador enzimático sérico valioso nas desordens do sistema hepatobiliar que resultam em colestase, onde se encontra aumentada (LOPES & SANTOS, 2007). Os valores de referência para GGT estabelecidos por Cornell University College Of Veterinary Medicine (2017) são de 8,0 a 33 UI/L. Portanto, a diferença encontrada entre os grupos não tem relevância clínica. As potras não apresentaram diferenças significativas nos parâmetros bioquímicos na segunda fase experimental, com exercício.

6.2 AVALIAÇÃO DOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS

6.2.1 Ultrassonografia de ovários e testículo

Na literatura há relatos sobre os efeitos androgênicos indesejáveis, causados pela administração de undecilenato de boldenona (O'CONNOR et al., 1973).

Nas potras, não foi possível avaliar a presença de folículos para determinar atividade ovariana, sendo mensurado apenas o perímetro ovariano. Não foram

observadas diferenças nas mensurações de altura e largura, em nenhuma das fases experimentais.

Acredita-se que o período em que foi realizado o experimento, de maio a agosto, não foi o ideal para determinação da capacidade reprodutiva das fêmeas. Por serem poliéstricas estacionais de dias longos, no inverno, as fêmeas entram em anestro, impossibilitando a avaliação da eficiência do ciclo estral (THOMPSON, 2006).

As medidas testiculares são úteis para estimar a produção espermática e identificar garanhões de alto e baixo potencial reprodutivo (SQUIRES & PICKETT, 2011).

Nos potros, durante a fase 1 e 2, foi observado aumento numérico das medidas de testículo, direito e esquerdo, estatisticamente não foi observada diferença significativa a 5% de probabilidade

Esse resultado contrariam os achados observados em pôneis (BLANCHARD et al., 1983; GARCIA et al., 1987), bezerros (GROOT & BIOLATTI, 2004; CANIZZO et al., 2007) e coelhos (ODA & EL-ASHMAWY, 2012; TOUSSON, 2013; MOHAMMED et al., 2016), os quais encontraram testículos menores e mais leves. Essa diferença pode ser decorrente da dose menor administrada neste estudo.

O aumento pode ser justificado, pois os animais se encontravam em puberdade e consequente desenvolvimento dos órgãos reprodutivos. Nos equinos, o crescimento e desenvolvimento testicular máximo são caracterizados por um longo processo que continua até os quatro a cinco anos de idade (ROSER, 2000).

Pickett et al. (1993) utilizou a largura escrotal total para estimar o volume testicular e predizer a produção espermática diária. Em garanhões, foi verificado que largura escrotal total inferior a 8 cm não apresentam espermogramas dentro dos padrões considerados satisfatórios, devido ao baixo potencial para produção espermática diária.

6.3 EXAME RADIOGRÁFICO DA ARTICULAÇÃO RÁDIO-CÁRPICA

Dentre os efeitos indesejáveis do uso da boldenona, as alterações no aparelho locomotor são amplamente descritas na medicina humana (PEDRINELLI,

1993), especialmente devido ao fato de que a estrutura osteoarticular não acompanha o crescimento muscular. De modo geral, as alterações com maior destaque são: necrose avascular da cabeça femural, alterações ultraestruturais nas fibras colágenas, risco de lesão músculo-tendíneas e fechamento precoce das epífises ósseas (SMURAWA & CONGENI, 2007).

Desta forma, foram realizadas avaliações radiográficas nos animais ao longo de todo o período experimental, visando à constatação de possíveis alterações ósseas, decorrentes do uso de undecilenato de boldenona. Através do exame radiográfico, na posição dorso-palmar, da articulação rádio-cárpica esquerda, realizada nos momentos D0, D14, D28, D42, D56, D70 e D84, observou-se na região da epífise distal do rádio, uma linha radioluscente irregular, conhecida como placa epifisária distal de crescimento aberta.

Todos os animais apresentaram a mesma imagem radiográfica ao longo do experimento, com a placa de crescimento aberta (figuras 8 e 9) mostrando que não houve alterações sugestivas de fechamento epifisário. Não foi possível observar diferenças nas imagens radiográficas dos animais, em relação ao tempo e ao grupo experimental.

Figura 8. Imagens radiográficas da articulação rádio-cárpica esquerda nos momentos D0 e D84 dos potros

Fonte: (GARCIA, 2018)

Figura 9. Imagens radiográficas da articulação rádio-cárpica esquerda nos momentos D0 e D84 das potras

Fonte: (GARCIA, 2018)

6.4 AVALIAÇÕES ZOOTÉCNICAS

Os resultados da fase 1 dos parâmetros de peso corporal (PC; kg), perímetro de canela (PCan; cm), perímetro de joelho (PJ; cm), largura de peito (LP; cm), circunferência abdominal (CA; cm) e altura de cernelha (AC; cm) para os potros estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Peso corporal (PC; kg), perímetro de canela (PCan; cm), perímetro de joelho (PJ; cm), largura de peito (LP; cm), circunferência abdominal (CA; cm) e altura de cernelha (AC; cm) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D0, D14 e D28 (Média±EP).

	Tempo			Tratamento		Valor de P		
	D0	D14	D28	Controle	Tratado	Trat	Tem	TratxTem
PC	362,25±7,64	367,25±7,64	377,31±7,64	350,71±5,10 _B	387,17±7,21 _A	0,01	0,41	0,97
PCan	18,75±0,35	19,25±0,35	19,63±0,35	19,08±0,23	19,33±0,33	0,57	0,26	0,44
PJ	30,13±0,88	31,13±0,53	31,13±0,53	30,75±0,67	30,83±0,95	0,91	0,42	0,42
LP	30,88±0,51 _b	32,13±0,51 _b	34,25±0,51 _a	32,5±0,34	32,33±0,48	0,79	<0,01	0,46
CA	164,37±2,44	165,12±2,44	165,63±2,44	163,58±1,63	166,50±2,30	0,36	0,94	0,94
AC	140,75±1,34	141,13±1,34	141,37±1,34	141,17±0,89	141,00±1,26	0,92	0,95	0,98

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D0: aplicação da primeira dose (0,25mg/kg); D14: aplicação da segunda dose (0,25mg/kg); D28: 28 dias após a primeira aplicação. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

É possível observar efeito de tratamento sobre o peso corporal, no qual os machos tratados apresentaram maiores valores em relação ao grupo controle.

Estes resultados corroboram com estudos em diversas espécies, como em coelhos (MOHAMMED et al., 2016), bovinos (CANIZZO et al., 2007). Isso demonstra o efeito anabólico do undecilenato de boldenona, elevando a síntese proteica e o desenvolvimento muscular. Contudo, Oda & El-ashmawy (2012), não observaram o mesmo efeito sobre o ganho de peso em coelhos com doses 17 vezes maiores que o utilizado no presente estudo.

Em relação ao parâmetro largura de peito, houve efeito de tempo, provavelmente pela taxa maior de crescimento em machos, considerando que a testosterona endógena apresenta ação anabolizante. O sexo influencia o crescimento, sendo que os machos acabam apresentando maior peso e tamanho do que as fêmeas, indicando influências distintas dos hormônios reprodutivos (MALINOWSKI & SCANES, 2003).

Nas potras, não houve resultados significativos em relação ao tempo e ao tratamento. Era esperado efeito da aplicação do andrógeno, já que em fêmeas, como não há níveis elevados de testosterona no plasma, os receptores não sofreriam saturação e ocorreria maior potencial miotrófico (PALERMO-NETO, 2006).

Os equinos atingem 60% do seu peso adulto, 90% da sua altura e 95% de seu eventual crescimento ósseo, nos primeiros 12 meses de idade (THOMPSON, 1997; FRAPE, 2008). Portanto, é possível justificar a falta de efeito de tempo nas fêmeas, pois na idade média ($\pm 17,5$ meses) em que os animais se encontravam, a taxa de crescimento é muito inferior quando comparado ao primeiro ano de vida. Além disso, o intervalo de tempo analisado é curto para a observação de efeitos significativos.

Os resultados da fase 2 das avaliações zootécnicas para os potros estão descritos na Tabela 7. Com o exercício físico, os machos pertencentes ao grupo tratado, continuaram apresentando maior ganho de peso, além de apresentarem maior perímetro de canela, perímetro de joelho e largura de peito. Essas observações sugerem que o uso de undecilenato de boldenona nos potros, promoveu um desenvolvimento mais acentuado nos animais pertencentes a esse grupo.

Nas potras, foi possível observar efeito de tratamento para as medidas de circunferência abdominal, onde as médias do grupo controle foram superiores as do grupo tratado (Tabela 8). Na literatura, não há relatos que justifiquem essa pequena diferença. Houve também efeito de tempo, para a largura de peito, o que era esperado, pois os animais estavam em período de crescimento.

Tabela 7. Peso corporal (PC; kg), perímetro de canela (PCan; cm), perímetro de joelho (PJ; cm), largura de peito (LP; cm), circunferência abdominal (CA; cm) e altura de cernelha (AC; cm) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona em treinamento aeróbico nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média±EP).

	Tempo (dias)					Tratamentos		Valor de P		
	D28	D42	D56	D70	D84	Controle	Tratado	Trat	Tem	TratxTem
PC	379,38±8,50	380,83±8,50	392,54±8,50	394,96±8,50	402,25±8,50	371,63±4,81 _B	408,35±5,89 _A	0,02	0,32	1,00
PCan	19,50±0,25	19,67±0,25	19,67±0,25	19,67±0,25	19,67±0,25	19,27±0,14 _B	20,00±0,18 _A	0,04	0,99	0,99
PJ	30,75±0,23	30,92±0,23	31,33±0,23	31,33±0,23	31,33±0,23	30,47±0,13 _B	31,80±0,16 _A	0,01	0,25	0,99
LP	34,25±0,72 _b	34,25±0,72 _b	37,08±0,72 _a	37,67±0,72 _a	39,17±0,72 _a	35,47±0,41 _B	37,50±0,50 _A	0,04	<0,01	0,44
CA	166,08±1,65	167,08±1,65	169,67±1,65	169,67±1,65	169,67±1,65	167,47±0,93	169,40±1,14	0,28	0,40	0,98
AC	140,92±1,06	140,92±1,06	143,42±1,06	143,75±1,06	144,83±1,06	142,13±0,60	143,40±0,73	0,27	0,08	0,98

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D28: início da Fase 2 – aplicação da terceira dose (0,25mg/kg); D42: aplicação da quarta dose (0,25mg/kg); D56: 56 dias após a primeira aplicação; D70: 70 dias após a primeira aplicação; D84: 84 dias após a primeira aplicação. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 8. Peso corporal (PC; kg), perímetro de canela (PCan; cm), perímetro de joelho (PJ; cm), largura de peito (LP; cm), circunferência abdominal (CA; cm) e altura de cernelha (AC; cm) das potras submetidas ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona em treinamento aeróbico nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média±EP).

	Tempo					Tratamento		Valor de P		
	D28	D42	D56	D70	D84	Controle	Tratado	Trat	Tem	TratxTem
PC	430,25±11,37	441,17±11,37	452,83±11,37	451,50±11,37	450,67±11,37	449,30±7,19	441,27±7,19	0,47	0,60	0,95
PCan	20,83±0,42	20,83±0,42	21,33±0,42	21,33±0,42	21,33±0,42	21,07±0,27	21,20±0,27	0,74	0,79	1,00
PJ	33,33±0,47	33,33±0,47	33,50±0,24	33,50±0,24	33,67±0,00	33,27±0,28	33,67±0,00	0,40	0,99	0,99
LP	34,67±0,69 _b	35,17±0,69 _b	38,67±0,69 _a	38,83±0,69 _a	39,33±0,69 _a	37,53±0,44	37,13±0,44	0,55	<0,01	0,65
CA	169,00±1,59 _c	171,33±1,59 _{bc}	173,50±1,59 _{abc}	174,67±1,59 _{ab}	176,17±1,59 _a	175,40±1,00 _A	170,47±1,00 _B	0,03	0,04	0,95
AC	153,67±2,19	154,67±2,19	155,17±2,19	155,17±2,19	156,33±2,19	153,80±1,39	156,20±1,39	0,29	0,94	1,00

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D28: início da Fase 2 – aplicação da terceira dose (0,25mg/kg); D42: aplicação da quarta dose (0,25mg/kg); D56: 56 dias após a primeira aplicação; D70: 70 dias após a primeira aplicação; D84: 84 dias após a primeira aplicação. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6.5 EXERCÍCIO FÍSICO

Para avaliação do condicionamento físico dos animais utilizados na pesquisa, na segunda fase experimental (D28 – D84), os animais entraram em um programa de exercício físico controlado e gradual, em exercitador mecânico. Essas mensurações foram realizadas com o intuito de verificar possíveis alterações musculares e melhora de condicionamento físico. Os resultados mostram efeito de tempo sobre a concentração de lactato imediatamente após o exercício nos machos, provavelmente por conta da melhora do condicionamento físico do grupo. A diminuição nas médias mostra o efeito do treinamento sobre o desempenho atlético dos animais. Não ocorreram diferenças nos outros tempos avaliados (Tabela 9).

Um dos exames complementares mais utilizados na medicina equina é a avaliação de enzimas da função muscular, sendo possível designar a intensidade das lesões em animais submetidos a exercícios físicos. Em uma lesão muscular ocorre o extravasamento de enzimas e de mioglobina (FRANCISCATO et al., 2006; SALES, 2013). Segundo Valberg et al. (1993) as enzimas comumente utilizadas para indicar a lesão muscular são a AST, CK e o lactato.

O lactato é um bom indicador de desempenho, por meio do qual é possível estimar a capacidade aeróbica do atleta. A avaliação da concentração sanguínea de lactato é comumente utilizada em equinos para tal fim (MOREIRA, 2015; COELHO et al., 2011; FERRAZ et al., 2009; SANTOS, 2006; TOLEDO et al., 2001). Os valores de referência estão entre 1,11 e 1,78 mmol/L para a espécie (ROBINSON, 2008).

O lactato é produzido como produto do trabalho muscular durante todo tipo de exercício e a relação entre sua concentração sanguínea e a velocidade de exercício pode ilustrar a situação na qual a contribuição da energia aeróbica começa a ser insuficiente frente aos requisitos energéticos totais (ERICKSON, 1996).

As concentrações de lactato aumentam conforme cresce a intensidade de exercício (HARRIS et al., 1991). A relação entre velocidade e concentração de lactato após exercício submáximo descontínuo pode ser demonstrada por funções exponencial, linear ou quadrática (DAVIE & EVANS, 2000). Ainda, o lactato possui correlações positivas com as quantidades de CK e negativas com os ácidos graxos livres (MUÑOZ et al., 2002).

A idade do animal pode influenciar nos valores de lactato, fato que deve ser considerado neste trabalho, já que foram usados potros e potras, com idade aproximada de 17 meses. Persson (1997) apresentou velocidades máxima maiores conforme aumento da idade quando a FC alcança 200 bpm (V_{200}) e a concentração de lactato chega a 4 mmol/l (V_{LA4}).

Evans et al. (1993) reportaram uma relação significativa entre a resposta do lactato sanguíneo e o exercício submáximo junto ao desempenho atlético em cavalos PSI. O melhor desempenho estaria associado a menores níveis de lactato 2 a 5 minutos após a realização de exercícios submáximos. Concentrações mais baixas estariam ligadas à menor produção de lactato ou maior capacidade de remoção do mesmo da circulação.

Muñoz et al. (2002) obtiveram menores valores de lactato em animais Puro Sangue Lusitano após 6 meses de treinamento, decorrentes da adaptação ao exercício. No atual experimento, foi observada esta melhora nos potros após um mês de exercício.

As potras apresentaram um padrão diferente. Ocorreu efeito de tempo sobre o lactato aos 15 minutos após o exercício, mas, ao invés de diminuir, o lactato aumentou (Tabela 9). O sexo pode influenciar nos resultados, sendo que garanhões atingem maiores índices de velocidades máximas obtidas quando a FC alcança 200 bpm (V_{200}) e têm melhor desempenho na remoção do lactato do sangue quando comparados às fêmeas (PERSSON, 1997).

Porém, mesmo com o aumento, os valores não atingiram nem o valor mínimo de referência, que estão entre 1,11 e 1,78 mmol/L para a espécie (ROBINSON, 2008).

Tabela 9. Lactato (mmol/L) dos animais submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média $\pm$ EP).

Potros										
Minutos	Tempo					Tratamento		Valor de P		
	D28	D42	D56	D70	D84	Controle	Tratado	Trat	Temp	Trat.xTemp
0	0,86 $\pm$ 0,05 _a	0,71 $\pm$ 0,05 _{ab}	0,64 $\pm$ 0,05 _b	0,62 $\pm$ 0,05 _b	0,62 $\pm$ 0,05 _b	0,71 $\pm$ 0,03	0,68 $\pm$ 0,03	0,59	0,03	0,31
1	0,62 $\pm$ 0,04	0,58 $\pm$ 0,04	0,55 $\pm$ 0,04	0,57 $\pm$ 0,04	0,57 $\pm$ 0,04	0,58 $\pm$ 0,02	0,57 $\pm$ 0,03	0,79	0,79	0,47
3	1,19 $\pm$ 0,21	0,63 $\pm$ 0,21	0,61 $\pm$ 0,21	0,72 $\pm$ 0,21	0,71 $\pm$ 0,21	0,67 $\pm$ 0,12	0,87 $\pm$ 0,15	0,37	0,33	0,25
5	0,72 $\pm$ 0,04	0,72 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,04	0,62 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,04	0,72 $\pm$ 0,02	0,70 $\pm$ 0,03	0,61	0,13	0,13
10	0,78 $\pm$ 0,07	0,77 $\pm$ 0,07	0,85 $\pm$ 0,07	0,79 $\pm$ 0,07	0,77 $\pm$ 0,07	0,82 $\pm$ 0,04	0,76 $\pm$ 0,05	0,38	0,88	0,65
15	0,85 $\pm$ 0,15	0,88 $\pm$ 0,15	0,87 $\pm$ 0,15	0,89 $\pm$ 0,15	1,33 $\pm$ 0,15	0,87 $\pm$ 0,08	1,05 $\pm$ 0,10	0,28	0,18	0,21

Potras										
Minutos	Tempo					Tratamento		Valor de P		
	D28	D42	D56	D70	D84	Controle	Tratado	Trat	Temp	Trat.xTemp
0	0,62 $\pm$ 0,07	0,68 $\pm$ 0,07	0,63 $\pm$ 0,07	0,72 $\pm$ 0,07	0,65 $\pm$ 0,07	0,69 $\pm$ 0,04	0,63 $\pm$ 0,04	0,44	0,86	0,36
1	0,87 $\pm$ 0,41	1,52 $\pm$ 0,41	0,53 $\pm$ 0,41	0,60 $\pm$ 0,41	0,70 $\pm$ 0,41	0,69 $\pm$ 0,26	0,99 $\pm$ 0,26	0,46	0,47	0,35
3	1,08 $\pm$ 0,19	0,67 $\pm$ 0,19	0,70 $\pm$ 0,19	0,70 $\pm$ 0,19	0,78 $\pm$ 0,19	0,87 $\pm$ 0,12	0,70 $\pm$ 0,12	0,36	0,53	0,20
5	0,97 $\pm$ 0,11	0,73 $\pm$ 0,11	0,75 $\pm$ 0,11	0,77 $\pm$ 0,11	0,80 $\pm$ 0,11	0,87 $\pm$ 0,07	0,74 $\pm$ 0,07	0,27	0,59	0,15
10	0,75 $\pm$ 0,07	0,80 $\pm$ 0,07	0,83 $\pm$ 0,07	0,83 $\pm$ 0,07	0,90 $\pm$ 0,07	0,87 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,04	0,24	0,66	0,22
15	0,75 $\pm$ 0,04 _b	0,87 $\pm$ 0,04 _{ab}	0,92 $\pm$ 0,04 _a	0,93 $\pm$ 0,04 _a	0,95 $\pm$ 0,04 _a	0,90 $\pm$ 0,03	0,87 $\pm$ 0,03	0,45	0,04	0,22

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D28: início da Fase 2 – aplicação da terceira dose (0,25mg/kg); D42: aplicação da quarta dose (0,25mg/kg); D56: 56 dias após a primeira aplicação; D70: 70 dias após a primeira aplicação; D84: 84 dias após a primeira aplicação; 0: imediatamente após o exercício; 1: 1 minuto após o término do exercício; 3: 3 minutos após o término do exercício; 5: 5 minutos após o término do exercício; 10: 10 minutos após o término do exercício; 15: 15 minutos após o término do exercício. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As concentrações de glicose no sangue durante o jejum, podem variar de 60 a 90 mg/dL (ANDERSON, 1998; RALSTON, 2002). As concentrações pós-prandiais, após o fornecimento de dietas contendo maiores quantidades de carboidratos solúveis, ou alimentos processados resultam em picos de glicose, que variam de 70 a 220 mg/dL em 60 a 120 minutos após a refeição (JEFFCOTT et al., 1986; SMYTH et al., 1989; WILLIAMS et al., 2002). Segundo Meyer et al. (1995), a glicemia considerada dentro da normalidade para equinos está entre 75 a 115 mg/dl e apresenta alterações após exercício moderado a intenso. Isso porque o suprimento de ATP se dá pela glicólise e glicogenólise hepato-muscular nesses casos (SECANI & LÉGA, 2009).

Por conta da mobilização de energia de outros órgãos para manutenção da glicemia durante o esforço físico, a glicose sanguínea eleva logo após o exercício quando deixa de ser tão necessária (TOLEDO et al., 2001; FERRAZ et al., 2009). Contudo, não foi observado este efeito nos potros. Houve oscilação dos valores com efeito de tempo, mas se mantiveram baixa e dentro dos valores considerados fisiológicos para a espécie.

Nas potras, ocorreu o mesmo efeito de tempo, mas o grupo tratado se diferenciou do controle, apresentando valores significativamente superiores no tempo 0 (Tabela 10). Pode-se concluir que os animais tratados apresentaram maiores reservas e maior eficiência da glicólise hepática, levando ao aumento observado.

Tabela 10. Glicose (mg/dL) dos animais submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média $\pm$ EP).

Potros										
Minutos	Tempo					Tratamento		Valor de P		
	D28	D42	D56	D70	D84	Controle	Tratado	Trat	Temp	Trat.xTemp
0	64,58 $\pm$ 1,91	70,25 $\pm$ 1,91	62,92 $\pm$ 1,91	69,58 $\pm$ 1,91	69,42 $\pm$ 1,91	65,60 $\pm$ 1,08	69,10 $\pm$ 1,32	0,13	0,06	0,52
1	66,75 $\pm$ 6,18	58,17 $\pm$ 6,18	61,42 $\pm$ 6,18	63,33 $\pm$ 6,18	57,10 $\pm$ 6,18	56,31 $\pm$ 3,49	66,40 $\pm$ 4,28	0,17	0,80	0,53
3	71,50 $\pm$ 6,31	58,83 $\pm$ 6,31	62,08 $\pm$ 6,31	63,25 $\pm$ 6,31	59,07 $\pm$ 6,31	58,69 $\pm$ 3,57	67,20 $\pm$ 4,37	0,23	0,63	0,40
5	68,33 $\pm$ 6,23	61,50 $\pm$ 6,23	62,58 $\pm$ 6,23	65,75 $\pm$ 6,23	58,43 $\pm$ 6,23	58,54 $\pm$ 3,53	68,10 $\pm$ 4,32	0,18	0,82	0,49
10	69,67 $\pm$ 6,12	62,42 $\pm$ 6,12	64,83 $\pm$ 6,12	68,58 $\pm$ 6,12	61,28 $\pm$ 6,12	60,91 $\pm$ 3,46	69,80 $\pm$ 4,24	0,20	0,83	0,27
15	70,92 $\pm$ 6,58	65,50 $\pm$ 6,58	65,17 $\pm$ 6,58	70,33 $\pm$ 6,58	60,52 $\pm$ 6,58	62,07 $\pm$ 3,72	70,90 $\pm$ 4,56	0,23	0,79	0,50

Potras										
Minutos	Tempo					Tratamento		Valor de P		
	D28	D42	D56	D70	D84	Controle	Tratado	Trat	Temp	Trat.xTemp
0	73,83 $\pm$ 1,64 _a	74,83 $\pm$ 1,64 _a	63,17 $\pm$ 1,64 _c	68,83 $\pm$ 1,64 _b	67,50 $\pm$ 1,64 _{bc}	67,07 $\pm$ 1,04 _B	72,20 $\pm$ 1,04 _A	0,02	<0,01	0,41
1	72,00 $\pm$ 2,02	70,83 $\pm$ 2,02	64,83 $\pm$ 2,02	66,50 $\pm$ 2,02	65,33 $\pm$ 2,02	67,33 $\pm$ 1,28	68,47 $\pm$ 1,28	0,57	0,07	0,10
3	74,00 $\pm$ 2,77	70,33 $\pm$ 2,48	68,67 $\pm$ 2,48	69,17 $\pm$ 2,48	66,50 $\pm$ 2,48	69,47 $\pm$ 1,65	70,00 $\pm$ 1,57	0,83	0,40	0,67
5	72,67 $\pm$ 2,39	72,67 $\pm$ 2,39	65,83 $\pm$ 2,39	68,83 $\pm$ 2,39	67,67 $\pm$ 2,39	68,20 $\pm$ 1,51	70,87 $\pm$ 1,51	0,28	0,22	0,86
10	71,83 $\pm$ 1,78	71,33 $\pm$ 1,78	67,00 $\pm$ 1,78	70,00 $\pm$ 1,78	67,67 $\pm$ 1,78	67,87 $\pm$ 1,13	71,27 $\pm$ 1,13	0,10	0,26	0,39
15	71,67 $\pm$ 1,77	72,50 $\pm$ 1,77	67,17 $\pm$ 1,77	72,33 $\pm$ 1,77	68,83 $\pm$ 1,77	68,60 $\pm$ 1,12	72,40 $\pm$ 1,12	0,07	0,18	0,17

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D28: início da Fase 2 – aplicação da terceira dose (0,25mg/kg); D42: aplicação da quarta dose (0,25mg/kg); D56: 56 dias após a primeira aplicação; D70: 70 dias após a primeira aplicação; D84: 84 dias após a primeira aplicação; 0: imediatamente após o exercício; 1: 1 minuto após o término do exercício; 3: 3 minutos após o término do exercício; 5: 5 minutos após o término do exercício; 10: 10 minutos após o término do exercício; 15: 15 minutos após o término do exercício. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As concentrações de insulina no sangue durante o jejum pode variar de 5 a 20 $\mu\text{UI/mL}$ (ANDERSON, 1998; RALSTON, 2002). As concentrações pós-prandiais de dietas ricas em carboidratos solúveis, ou alimentos processados resultam em picos de insulina, que podem atingir valores acima de 190 $\mu\text{UI/mL}$ em 60 a 120 minutos após a refeição dependendo do tipo de alimento, condição corporal, estágio fisiológico e raça (JEFFCOTT et al., 1986; SMYTH et al., 1989; WILLIAMS et al., 2001). Dugat et al. (2011) citaram valores de referência de insulina para equinos no repouso entre 4,9 e 45,5 $\mu\text{UI/mL}$.

Nos potros, quanto à mensuração de insulina, houve diferença significativa na interação de tempo x tratamento, tempo e tratamento, onde no grupo tratado os valores obtidos foram maiores (Tabela 11). Porém as médias se mantiveram dentro do valor de referência para a espécie, os valores se mantiveram baixos. Nas potras, não foram identificadas alterações significativas ($p < 0,05$) nos níveis de insulina e os valores também se mantiveram baixos.

A insulina é de fundamental importância na regulação e equilíbrio dos processos metabólicos glicorregulatórios, (FERRAZ et al., 2009; GORDON, et al., 2007; MALINOWSKI et al., 2002).

Segundo Coelho et al. (2011), nos equinos da raça Mangalarga Marchador, os valores medianos registrados oscilaram entre 2,00 $\mu\text{UI/mL}$, mais baixo registrado no momento T1 (cinco minutos após o término da prova), a 11,60 $\mu\text{UI/mL}$, mais elevado registrado no momento T3 (2 horas após). Apesar da redução observada entre os momentos T0 e T1, sugerindo o bloqueio na liberação da insulina, conforme descrito por Freestone et al. (1991), estes registros não apresentaram diferença significativa. Sendo assim, os resultados demonstraram a não influência do exercício físico sobre esta variável sanguínea, semelhante ao relatado por Hyyppä (2005) e Gordon et al. (2007). Tais autores reforçam uma maior influência alimentar, com as elevações séricas deste hormônio ocorrendo quando os equinos voltam a receber alimentos. O pico registrado ocorreu no momento T3, quando os equinos já tinham retornado às suas baias e alimentação a base de concentrado havia sido fornecida.

Segundo McKeever (2002), concentrações elevadas de insulina durante o esforço físico são consideradas prejudiciais. Uma prova disto seria o fornecimento de uma refeição rica em carboidrato próximo a uma atividade atlética, que normalmente provoca aumento de insulina gerando queda da glicose plasmática e, com isto, queda na disponibilidade da mesma como fonte energética.

Tabela 11. Insulina ($\mu\text{UI/ml}$) dos potros submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média $\pm$ EP).

Minutos		Tempo					Valor de P			
		D28	D42	D56	D70	D84	Média	Trat	Temp	Trat.xTemp
1	Controle	2,05±0,27	2,33±0,27	1,87±0,27	1,53±0,27	1,53±0,27	1,86±0,12	0,09	0,04	<0,01
	Tratado	1,50±0,33 _c	2,20±0,33 _{bc}	1,55±0,33 _c	2,60±0,33 _b	3,85±0,33 _a	2,34±0,15			
	Média	1,78±0,21 _b	2,27±0,21 _{ab}	1,71±0,21 _b	2,07±0,21 _{ab}	2,69±0,21 _a				
3	Controle	3,60±1,09	2,50±1,09	4,60±1,09	2,23±1,09	2,53±1,09	3,09±0,49	0,21	0,59	0,17
	Tratado	2,95±1,34	3,35±1,34	3,35±1,34	4,85±1,34	7,15±1,34	4,33±0,60			
	Média	3,28±0,86	2,93±0,86	3,98±0,86	3,54±0,86	4,84±0,86				
5	Controle	3,00±0,68	2,83±0,68	4,03±0,68	3,00±0,68	2,27±0,68	3,03±0,30	0,06	0,28	0,04
	Tratado	3,35±0,83 _b	3,50±0,83 _b	3,85±0,83 _b	4,20±0,83 _b	7,15±0,83 _a	4,41±0,37			
	Média	3,18±0,53	3,17±0,53	3,94±0,53	3,60±0,53	4,71±0,53				
10	Controle	2,73±0,56	2,77±0,56	3,37±0,56	2,97±0,56	2,50±0,56	2,87±0,25B	0,04	0,11	0,05
	Tratado	2,65±0,69 _b	3,60±0,69 _b	4,00±0,69 _b	4,40±0,69 _b	6,60±0,69 _a	4,25±0,31A			
	Média	2,69±0,44 _b	3,18±0,44 _{ab}	3,68±0,44a _b	3,68±0,44a _b	4,55±0,44 _a				
15	Controle	2,00±0,55 _b	2,63±0,55 _{ab}	3,90±0,55 _a	3,17±0,55 _{ab}	2,00±0,55 _b	2,74±0,25	0,05	0,05	0,02
	Tratado	2,35±0,68 _b	3,35±0,68 _b	3,60±0,68 _b	4,10±0,68 _b	6,40±0,68 _a	3,96±0,30			
	Média	2,18±0,44 _b	2,99±0,44 _{ab}	3,75±0,44 _a	3,63±0,44 _a	4,20±0,44 _a				

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D28: início da Fase 2 – aplicação da terceira dose (0,25mg/kg); D42: aplicação da quarta dose (0,25mg/kg); D56: 56 dias após a primeira aplicação; D70: 70 dias após a primeira aplicação; D84: 84 dias após a primeira aplicação; 1: 1 minuto após o término do exercício; 3: 3 minutos após o término do exercício; 5: 5 minutos após o término do exercício; 10: 10 minutos após o término do exercício; 15: 15 minutos após o término do exercício. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) para a atividade sérica de aspartato aminotransferase, avaliada 3 e 6 horas após o exercício (Tabela 12). Esses resultados, são semelhantes aos encontrados por Thomassian et al., (2007), em seu estudo, com 11 animais da raça árabe, de idade variável entre 2,5 e 5 anos, 3 machos e 8 fêmeas, condicionados e submetidos ao teste padrão de exercício progressivo, foi possível observar o pico da atividade sérica de AST, 12 e 24 horas após o exercício, semelhante ao pico relatado por Dunnett et al. (2002) e Muñoz et al. (2002).

Os valores de AST podem variar de acordo com o sexo e a idade, Harris et al. (1990) observou em fêmeas PSI de 2 anos de idade maiores valores da AST que as de 3 anos de idade e Rodrigues et al. (2004) observaram maiores valores de AST em potros de 6 meses a 1 ano de idade. Com relação ao sexo, Harris et al. (1990) relataram maior atividade enzimática em fêmeas comparadas aos machos.

A creatina quinase (CK), avaliada 24 horas após o término do exercício, não apresentou diferença significativa nos machos e fêmeas (Tabela 12). Nos potros e potras, ao longo do período experimental, foi possível observar valores séricos acima dos valores de referência descritos por Rose & Hodgson (1994) que relataram valores entre 100 a 300 UI/L. Menores valores foram referidos por Meyer et al. (1995) de 86 a 140UI/L. Harris et al. (1990) relataram que alguns equinos podem apresentar altas atividades enzimáticas fisiológicas da CK, ou que suas enzimas são removidas mais lentamente da circulação, ou, até mesmo, alguns animais apresentariam maior sensibilidade quanto à permeabilidade da membrana da célula muscular frente a estímulo semelhante a outros animais.

Harris et al. (1998) observaram nos animais menos condicionados, altos níveis séricos de CK e AST pós-exercício físico, quando comparados a animais com melhor condicionamento físico, relacionou estes achados com o desenvolvimento da hipóxia muscular.

Thomassian et al. (2007), avaliou CK em diferentes momentos pós exercício, o pico da atividade sérica de CK ocorreu 6 horas após o término do exercício e em seguida os valores voltaram para próximo dos valores basais. Esses dados se assemelham aos obtidos por Valberg et al (1993) que observou o pico de atividade 4 a 6 horas após a lesão muscular. Por outro lado, Harris et al. (1998) observaram valores elevados 2 horas após o exercício.

O-Oosterbaan (1998) cita que alterações da CK são mais rápidas que da AST e que os valores de CK se elevam de 6 a 48 horas após a lesão muscular, a meia-vida da CK é curta, em torno de 2 horas.

É possível afirmar que, com apenas uma mensuração da CK, 24 horas após o término do exercício, não se conseguiu avaliar se houve ou não alteração e consequente lesão muscular. Quanto a mensuração de AST, é provável que com os tempos avaliados, 3 e 6 horas após o exercício, não foi possível detectar possíveis alterações, pois a elevação da AST sanguínea demora mais ocorrer.

Tabela 12. Aspartato aminotransferase (AST; U/L), Creatina quinase (CK; U/L) dos animais submetidos ou não ao tratamento com undecilenato de boldenona nos dias D28, D42, D56, D70 e D84 (Média $\pm$ EP).

Potros										
Horas	Tempo					Tratamento		Valor de P		
	D28	D42	D56	D70	D84	Controle	Tratado	Trat	Temp	Trat.xTemp
3 (AST)	376,08 $\pm$ 37,63	288,92 $\pm$ 37,63	361,00 $\pm$ 41,22	362,50 $\pm$ 37,63	340,83 $\pm$ 37,63	355,23 $\pm$ 22,32	336,50 $\pm$ 26,07	0,62	0,54	0,31
6 (AST)	384,08 $\pm$ 35,69	280,00 $\pm$ 35,69	347,25 $\pm$ 47,88	365,83 $\pm$ 35,69	342,83 $\pm$ 35,69	347,80 $\pm$ 23,89	340,20 $\pm$ 24,73	0,84	0,36	0,38
24 (CK)	627,58 $\pm$ 116,32	269,42 $\pm$ 116,32	287,00 $\pm$ 116,32	201,67 $\pm$ 116,32	301,33 $\pm$ 116,32	297,6 $\pm$ 65,80	377,20 $\pm$ 80,59	0,50	0,15	0,35
Potras										
Horas	Tempo					Tratamento		Valor de P		
	D28	D42	D56	D70	D84	Controle	Tratado	Trat	Temp	Trat.xTemp
3 (AST)	292,33 $\pm$ 46,83	282,33 $\pm$ 46,83	312,50 $\pm$ 46,83	260,17 $\pm$ 46,83	331,33 $\pm$ 46,83	321,80 $\pm$ 29,62	269,67 $\pm$ 29,62	0,28	0,85	0,96
6 (AST)	324,67 $\pm$ 38,60	269,33 $\pm$ 38,60	333,00 $\pm$ 38,60	296,00 $\pm$ 38,60	329,33 $\pm$ 38,60	308,20 $\pm$ 24,41	312,73 $\pm$ 24,41	0,90	0,74	0,54
24 (CK)	338,33 $\pm$ 118,90	510,00 $\pm$ 118,90	339,33 $\pm$ 118,90	519,83 $\pm$ 118,90	288,33 $\pm$ 118,90	485,07 $\pm$ 75,20	313,27 $\pm$ 75,20	0,18	0,53	0,24

Fonte: (GARCIA, 2018)

Legenda: D28: início da Fase 2 – aplicação da terceira dose (0,25mg/kg); D42: aplicação da quarta dose (0,25mg/kg); D56: 56 dias após a primeira aplicação; D70: 70 dias após a primeira aplicação; D84: 84 dias após a primeira aplicação; 3: 3 horas após o término do exercício; 6: 6 horas após o término do exercício; 24: 24 horas após o término do exercício. Letras minúsculas comparam tempo e letras maiúsculas comparam tratamento. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6.5.1 Frequência Cardíaca

A frequência cardíaca foi mensurada para acompanhar a evolução no condicionamento físico dos animais submetidos ao exercício físico, os resultados estão apresentados na figura 10.

Figura 10. Frequência Cardíaca Pico e Basal durante o exercício físico, dos animais tratados ou não com undecilenato de boldenona, nos momentos D28, D42, D56, D70 e D84.

Letras minúsculas comparam as frequências cardíacas entre os dias de coleta com $p < 0,05$
 Fonte: GARCIA, (2018)

A FC média basal foi definida por vários autores, sendo que animais PSI em treinamento apresentaram 31,7 batimentos por minuto (bpm) (HALL ET AL., 1976), PSA e Mangalarga em prova de enduro com 36 bpm (TEIXEIRA-NETO et al., 2004) e PSA em exercitador com 41 bpm em repouso (GONZAGA, 2013).

Esses resultados diferem dos encontrados neste trabalho, no qual as médias de FC basal para grupos tratado e controle são superiores, próximas de 45 bpm. Porém, são similares aos achados em animais jovens, os quais tiveram média de 54 e 47 bpm aos 10 e 21 meses de idade, respectivamente. Esse estudo também foi

realizado durante o inverno, na Irlanda (VISSER et al., 2002). Pode-se concluir que a FC basal mais alta pode estar associada à idade dos animais e ao metabolismo aumentado durante os dias frios.

Não houve efeito de tempo ou tratamento sobre a FC basal e as médias se mantiveram estáveis ao longo do período experimental. Ao avaliar os picos de FC, é possível perceber diminuição dos valores, quando comparados ao início do treinamento (D28). Esses resultados são diferentes dos achados de Visser et al. (2002), o qual não observaram diferenças relacionadas ao treinamento dos animais, apenas ligados ao aumento da idade. O treinamento utilizado foi trabalho em guia e as médias de pico foram bem menores das encontrados durante este experimento (112.5, 105.5, 96.2 e 90.5 bpm aos 9, 10, 21 e 22 meses de idade, respectivamente).

A diferença encontrada no grupo tratado em relação ao grupo controle no momento D42 pode indicar uma melhor resposta ao treinamento. Em seguida as médias do grupo controle e tratado se equilibraram. É importante lembrar que a última aplicação da boldenona ocorreu em D42. O uso de anabolizantes em equinos ocorre principalmente por conta dos seus efeitos relacionados ao incremento no desenvolvimento de animais jovens (KEENAN et al., 1987), além da melhora no desempenho esportivo (SQUIRES et al., 1982).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

7.1 LIMITAÇÕES

No presente estudo, o animal Iran foi removido no momento D28 após apresentar sinais clínicos de incoordenação, relacionados a alterações no sistema nervoso. Na época do desmame esse animal foi diagnosticado com síndrome de Wobler, porém depois dessa fase não apresentou mais sintomatologia clínica.

Durante a primeira fase do projeto, o potro se manteve bem, quando iniciamos a segunda fase, e introduzimos ao exercício físico, logo apresentou sinais clínicos de incoordenação motora. Tal observação foi detectada durante a avaliação

clínica e optou-se pela remoção do animal, tendo em vista a manutenção do bem-estar do mesmo.

8 CONCLUSÕES

Diante dos dados obtidos, pode-se concluir que o uso de undecilenato de boldenona em potros, na dose de 0,25 mg/kg, administrado pela intramuscular profunda, não altera a saúde dos animais. O seu uso promoveu melhoras nos índices zootécnicos, principalmente nos machos em exercício físico.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, O.R. Radiographic determination of bone maturity as a guide to training horse. In: STASHAK, T.S. **Lamness in horse**. 3rd ed. Philadelphia : Lea & Febiger, 1974. 550p.
- ANDERSON, K. N.; ANDERSON, L. E.; GLANZE, W. D. **Mosby's Medical, Nursing and Allied Health Dictionary**. 5^a ed., St. Louis: Mosby-Year Book, Inc., p.998, 1998.
- ANUALPEC. 2017. Anuário da Pecuária Brasileira, 20^a ed. Instituto FNP, São Paulo, SP, Brasil.
- BALARIN, M.R.S., LOPES, R. S., KOHAYAGAWA, A., LAPOSY, C. B., FONTEQUE, J. H. Avaliação da glicemia e da atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gama-glutamyltransferase e lactato desidrogenase em equinos puro sangue inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 211-218, 2005.
- BAMFORD, V. J. **Effects of anabolic steroids on behaviour in mares**. Dissertação Lincoln University, 1992.
- BLANCHARD, T. L., ELMORE, R. G., YOUNGQUIST, R. S., LOCH, W. E., HARDIN, D. K., BIRSCHWAL, C. J., GANJAM, V. K., BALKE, J. M., ELLERSIECK, M. R., DAWSON, L. J., MINER, W. S. The effects of stanozolol and boldenone undecylenate on scrotal width, testis weight, and sperm production in pony stallions. **Theriogenology**, v. 20, n. 1, p. 121-131, 1983.
- BLANCO, B. S.; PAULINO, C. Considerações sobre o uso de hormônios anabolizantes em animais de produção. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.9, n.2, p.27-34, 1996.
- BOMPA, T.; CONACCHIA, L. J. **Treinamento de força consciente**. São Paulo. Phorte Editora, 2000.
- BRABANDER, H. F., POELMANS, S., SCHILT, R., STEPHANY, R. W., LE BIZEC, B., DRAISCI, R., STERK, S. S., VAN GINKEL, L. A., COURTHEYN, D., VAN HOOFF, N., MACRÌ, A., DE WASCH, K. Presence and metabolism of the anabolic steroid boldenone in various animal species: a review. **Food Additives and Contaminants**, v.21, n.6, p.515-525, 2004.
- BRACKETT, B. G. **Reprodução em mamíferos do sexo masculino**. In: REECE, W. O. Fisiologia dos animais domésticos. Guanabara Koogan, 12^a ed., p.623-643, 2006.
- BRANDI, R. A., FURTADO, C. E., MARTINS, E. N., FREITAS, E. V. V., QUEIROZ-NETO, A., LACERDA-NETO, J. C. Parâmetros bioquímicos de equinos submetidos à simulação de prova de enduro recebendo dietas com adição de óleo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.2, p.313-319, 2010.
- CÂMARA E SILVA, I. A., DIAS, R. V. C., SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato

aminotransferase em equinos de diferentes categorias de atividade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.250-252, 2007.

CANIZZO, F. T., ZANCANARO, G., SPADA, F., MULASSO, C., BIOLATTI, B. Pathology of the testicle and sex accessory glands following the administration of boldenone and boldione as growth promoters in veal calves. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.69, n.11, p.1109-1116, 2007.

CAPELLETO, E. D., ANGELI, A. L., GRAFF, H. Respostas Fisiológicas Em Quarto-De-Milha Após Prova De Tambor. Rev. Acad., **Ciências Agrárias Ambientais**, Curitiba, v. 7, n. 3, p. 299-304, 2009.

CLIMENI, B. S. O.; DELLALIBERA, F. L.; MONTEIRO, M. V.; CRETELA, F.; CICOTI, C. A. R.; FAGUNDES, E. S.; PEREIRA, D. M. A legislação quanto à utilização de anabolizantes em bovinos, equinos e cães. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. Ano VI, n.11, 2008.

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**, v.31, n.9, p.756-760, setembro 2011.

COLES, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**, Ed. Manole, 3º Ed, p. 48-250, 1984.

CORNELL UNIVERSITY COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE. **Chemistry (Cobas) Reference Intervals**. Disponível em <<https://ahdc.vet.cornell.edu/sects/clinpath/reference/chem.cfm>>. Acessado em: 15 de janeiro de 2018.

COSTA, L. C., SCHMIDEK, A., OLIVEIRA, J. V., IKUMA, M. O. N., OLIVEIRA, P. V. L. F. **Análise multivariada de medidas morfométricas de equídeos das raças brasileiro de hipismo, bretão postier e jumento brasileiro**. 9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica, 2015.

CREPALDI, N.; SANGEROT, D.; MEDEIROS, F.; TOGNOLI, L.; ORTENSI, P.; BIAZOTTO, G.; PEREIRA, D. Uso de anabolizantes para fins Terapêuticos na Medicina Veterinária. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**. Ano VI, n. 11, 2008.

DA CÁS, E. L., ROSAURO, A. C., SILVA, C. A. M., BRASS, K. E. Concentração Sérica das Enzimas Creatinoquinase, Aspartato Aminotransferase e Dehidrogenase Láctica em Equinos Da Raça Crioula. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n.1, p. 1-5, 2000.

DAVIE, A. J., EVANS, D. L. Blood Lactate Responses to Submaximal Field Exercise Tests in Thoroughbred Horses. **The Veterinary Journal**, v. 159, p. 252–258, 2000.

DI FILLIPO, P.A.; SANTANA, A.E.; REZENDE, L.G. Estudo comparativo entre as técnicas de Schalm e de Clauss na determinação da concentração plasmática do

fibrinogênio em equinos hígidos e com cólica. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.4, p. 1231-1236, 2009.

DORETTO, J. S., SILVA, M. A. M. L., LAGOS, M. S. Determinação dos valores de referência para uréia e creatinina séricas em equinos. **Bol. Med. Vet.** – Espírito Santo do Pinhal, v.3, n.3, p.67-71, jan./dez. 2007.

DUGAT S.L., Taylor T.S., Matthews N.S. & Gold J.R. 2011. Values for triglycerides, insulin, cortisol and ACTH in a herd of normal donkeys. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.30, n.3, p.141-144.

DUMONT, C. B. S., MORAES, J. M., LEITE, C. R., ALVES, R.O., MOREIRA, M., MOSCARDINI, A. R. C., GODOY, R. F., LIMA, E. M. M. Parâmetros eletrocardiográficos de equinos desclassificados por exaustão em competições de enduro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 1, p. 20-27, 2011.

DUNNETT, M., HARRIS, R. C., DUNNET, C. E., HARRIS, P. A. Plasma carnosine concentration: diurnal variation and effects of age, exercise and muscle damage. Equine Exercise Physiology 6. **Equine Veterinary Journal**, p. 283-287, 2002. Supplement 34.

ERICKSON, H.H. **Fisiologia do exercício**. In: SWENS, M. J.; REECE, W.O. Dukes fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996. p.278-296.

EVANS, D. L., HARRIS, R. C., SNOW, D. H. Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in Thoroughbred horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 25, n. 5, p. 441-445, 1993.

FERRAZ, G. C., TEIXEIRA-NETO, A. R., LACERDA-NETO, J. C., PEREIRA, M. C., QUEIROZ-NETO, A. Respostas ao Exercício de Intensidade Crescente em Equinos: Alterações na Glicose, Insulina e Lactato. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1332-1338, 2009.

FORTUNATO, R. S.; ROSENTHAL, D.; CARVALHO, D. P. Abuso de esteroides anabolizantes e seu impacto sobre a função tireóidea. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.51, n. 9, 2007.

FRANCISCATO, C.; LOPES, S. T. A., VEIGA, Â. P. M.; MARTINS, D. B.; EMANUELLI, M. P.; OLIVEIRA, L. S. O. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT em cavalos crioulos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 10, 2006.

FRAPE, D. L. **Nutrição e alimentação de equinos**. 3º Ed. São Paulo: Roca, 2008.

FREESTONE J.F., WOLFSHEIMER K.J., KAMERLING S.G., CHURCH G., HAMRA J. & BAGWELL C. Exercise induced hormonal and metabolic changes in Thoroughbred horses: Effects of conditioning and acepromazine. **Equine Veterinary Journal**, v.23, n.3, p.219-223. 1991

FRETZ, P. B., CYMBALUK, N. F., PHARR, J. W. Quantitative analysis of long-bone growth in the horse. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n. 8, p.1602-1609, 1984.

GARCIA, M.C.; GANJAM, V.K.; BLANCHARD, T.L.; BROWN, E.; HARDIN, K.; ELMORE, R.G.; YOUNGQUIST, R.S.; LOCH, W.E.; ELLERSIECK, M.R.; BALKE, J.M. The effects of stanozolol and boldenone undecylenate on plasma testosterone and gonadotropins and on testis histology in pony stallions. **Theriogenology**, v.28, p.109–119, 1987.

GARNER, D. L.; HAFEZ, E. S. E. Espermatozóides e Plasma Seminal. In: HAFEZ E. S. E., HAFEZ B. **Reprodução Animal**. São Paulo: Manole. 7º Ed., p. 99-106, 2004.

GOBESSO, A. A. O., SOARES, A., RIBEIRO, R. M., TAMAS, W. T., GONZAGA, I. V. F. Deposição óssea de cálcio e fósforo, densidade radiográfica e desenvolvimento corporal em potros alimentados com minerais orgânicos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.51, n. 2, p. 142-148, 2014.

GODOY, C. L. B., VULCANO, L. C., SANTOS, F. A. M., SOARES, J. C. M. Fechamento epifisário da extremidade distal do rádio de equinos da raça Brasileira de Hipismo (BH). **Ciência Rural**, v.34, n. 6, p. 1813-1815, 2004

GODOY, C. L. B., VULCANO, L. C., SANTOS, F. A. M., SOARES, J. C. M. Valores normais da densidade mineral óssea do acessório do carpo em equinos da raça Brasileiro de Hipismo (BH) determinados por meio da densitometria óptica em imagem radiográfica. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 607-610, 2005.

GORDON M.E., MCKEEVER K.H., BETROS C.L.; MANSO FILHO H.C. Exerciseinduced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin and cortisol in horses. **Veterinary Journal**, v.173, p.532-540, 2007

GONZAGA, I. V. F. **Avaliação da resposta à suplementação com gama-orizanol em equinos submetidos a exercício aeróbico**. 2013. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

GRACE, P. B., DRAKE, E. C., TEALE, P., HOUGHTON, E. Quantification of 19-nortestosterone sulphate and boldenone sulphate in urine from male horses using liquid chromatography/ tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.22, p.2999–3007, 2008.

GRAMKOW, H.L.; FERRAZ, G.C. Fisiologia do exercício em equinos. **Vet. Polo Clínica Veterinária**, 2007.

GROOT, M. J., BIOLATTI, B. Histopathological Effects of Boldenone in Cattle. **Journal of Veterinary Medicine A**, v.51, p.58–63, 2004.

HALL, M.C.; STEEL, J.D.; STEWART, G.A. Cardiac monitoring during exercise tests in the horse 2. Heart rate responses to exercise. **Australian Veterinary Journal**, v.52, 1976.

HARRIS, PAT. A., SNOW, D. H., GREET, T. R. C, ROSSDALE, P. D. Some factors influencing plasma AST/CK activities in Thoroughbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v. 9, p. 66-71, 1990.

HARRIS, R. C., MARLIN, D. J., SNOW, D. H., HARKNESS, R. A. Muscle ATP loss and lactate accumulation at different work intensities in the exercising Thoroughbred horse. **European Journal of Applied Physiology**, v. 62, p. 235-244, 1991.

HARRIS, P. A.; MARLIN, D. J.; GRAY, J. Plasma aspartate aminotransferase and creatine kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. **The Veterinary Journal**, v. 155, n. 3, p. 295-304, 1998.

HO, E. N. M.; YIU, K. C. H.; TANG, F. P. W.; PLOU, L. D. P.; BONNAIRE, Y.; WAN, T. S. M. Detection of endogenous boldenone in the entire male horses. **Journal of Chromatography B**, v.808, p.287–294, 2004.

HODGSON, D.R., ROSE, R.J. **The athletic horse: principles and practice of equine sports Medicine**. Philadelphia: Saunders, 1994.

HOFFMAN, R. M.; WILSON, J. A.; KRONFELD, D. S.; COOPER, W. L.; LAWRENCE, L. A.; SKLAN, D.; HARRIS, P. A. Hydrolyzable carbohydrates in pasture, hay, and horse feeds: Direct assay and seasonal variation. **Journal of Animals Science**, v. 79, p. 500-506, 2001.

HOUGHTON, J.A.S., LIBERATI, N., SCHRICK, F.N. Day of estrous cycles affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. **Journal of Animal Science**. v.73, p.2094-2101, 2001.

HYYPÄÄ, S. Endocrinal responses in exercising horses. **Livestock Product Science**, v.92, p.113-121, 2005.

HURTIG, M., GREEN, S. L., DOBSON, H., MIKUNI-TAKAGAKI, Y., CHOI, J. Correlative study of defective cartilage and bone growth in foals fed a low-copper diet. **Equine Veterinary Journal**, Suppl, v.16, p. 66-73, 1993.

IRIART, J. A. B.; ANDRADE, T. M. Musculação, uso de esteroides anabolizantes e percepção de risco entre jovens fisiculturistas de um bairro popular de Salvador, Bahia, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.18, n.5, p.1379-1387, 2002.

JEFFCOTT, L. B.; FIELD, J. R.; MCLEAN, J. G.; O'DEA, K. E. R. I.N. Glucose tolerance and insulin sensitivity in ponies and Standardbred horses. **Equine Veterinary Journal**. v. 18, n. 2, p. 97-101, 1986.

JOHNSON, B. J.; ANDERSON, P. T.; MEISKE, J. C.; DAYTON, W. R. Effect of a combine trenbolone acetate and estradiol implant composition of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, v.74, n.2, p.363-371, 1996.

JOSE-CUNILLERAS, E.; TAYLOR, L. E.; HINCHCLIFF, K. W. Glycemic Index of cracked corn, oat groats and rolled barley in horses. **Journal of Animal Science**, v. 82, p.2623-2629, 2004.

KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5° Ed, San Diego, Academic Press, 1997.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6° Ed, San Diego: Academic Press, p. 882 – 888., 2008.

KEENAN, D.M.; BRUCE, I.J.; ALLARDYCE, C.J. The effect of breed, date of birth and anabolic steroids on the bodyweight of foals. **Australian Veterinary Journal**, v.64, p.32, 1987.

KERBER, C.E. **Métodos para avaliação da mineralização de equinos em crescimento**. Redevet-Portal Veterinário, São Paulo, 2001.

LOPES, S.T.A.; SANTOS, A.P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária**, 3° Ed, Departamento de Clínica de Pequenos Animais, UFSM, Santa Maria, 2007.

LUIZ, R. C.; DE LA CORTE, F. D.; BRASS, K. E. Fechamento das placas epifisárias do metacarpiano principal, do rádio e da tíbia em potros Crioulos. **Ciência Rural**, v.37, n. 4, p. 1052-1055, 2007.

MALINOWSKI, K., BETROS, C. L., FLORA, L., KEARNS, C. F., McKEEVER, K. H. Effect of training on age-related changes in plasma insulin and glucose. Equine exercise physiology 6. **Equine Veterinary Journal**, Suppl. 34 (2002) 147-153.

MALINOWSKI, K., SCANES, C. G. **Growth of Companion Animals**. In: SCANES, C. G., Biology of Growth of Domestic Animals. Iowa State Press, 1st ed, p. 369-373, 2003.

MAMPRIM, M.J., VULCANO, L. C., MUNIZ, L. M. R. Estudo radiográfico do fechamento da epífise distal do rádio em potras da raça Mangalarga. **Veterinária e Zootecnia**, n.4, p.59-62, 1992.

MAMPRIM, M.J., VULCANO, L. C., MUNIZ, L. M. R., MOREIRA, A. F., LUNA, S. P. L. Radiographic study of distal radial physeal closure in thoroughbred horses. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.38, n.5, p.352-354, 1997.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalos. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/anosanteriores/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo/view>>. Acesso em: 20 março. 2018.

MASON, T.A.; BOURKE, J.M. Closure of the distal radial epiphysis and its relationship to unsoundness in two year old thoroughbreds. **Australian Veterinary Journal**, v.49, p.221-228, 1973.

McKeever K.H. The endocrine system and the challenge of exercise. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.18, n.2, p.321-353, 2002.

MEYER, D. J., COLES, E. H., RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995.

MOHAMMED, H. H., BADAWI, M. E., EL-TARABANY, M. S., RANIA, M. Effects of boldenone undecylenate on growth performance, maintenance behaviour, reproductive hormones and carcass traits of growing rabbits. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v.19, n.2, p.245–251, 2016.

MORAIS, M.G., RANGEL, J. M., MADUREIRA, J. S., SILVEIRA, A. C. Variação sazonal da bioquímica clínica de vacas aneloradas sob pastejo contínuo de *Brachiaria decumbens*. **Arq. Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2000.

MOREIRA, D. O., LEME, F. O. P., MARQUES, M. M., LEÃO, N. F., VIANA, W. S. V., FALEIROS, R. R., ALVES, G. E. S. Concentrações de proteínas totais, glicose, cálcio, fósforo, lactato, ureia e creatinina em equinos de cavalaria militar antes e após trabalho de patrulhamento urbano. **Ciência animal Brasileira**, v. 16, n. 1, 2015

MOTA, M. D. S., OLIVEIRA, H. N., PUOLI FILHO, J. N. P. Avaliação do crescimento em potros da raça Quarto de milha. **Revista electrónica de Veterinaria**, v.11, n.1, 2010.

MUÑOZ, A., RIBER, C., SANTISTEBAN, R., LUCAS, R. G., CASTEJÓN, F. M. Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabian breeds. **Equine Veterinary Journal**, suppl. 34, p. 245-251, 2002.

MURRAY, M. J.; LUBA, N. K. Plasma gastrin and somatostatin, and serum thyroxine (Tq), triiodothyronine (TQ), reverse triiodothyronine (rT3) and cortisol concentrations in foals from birth to 28 days of age. **Equine Veterinary Journal**, v.25, n.3, p. 231-239, 1993.

NADEN, J.; AMANN, R. P.; SQUIRES. E. L. Testicular growth, hormone concentrations, seminal characteristics and sexual behavior in stallions. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.88, p.167-176, 1990

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of Horses**. 6º Edição, Washington, D.C.: National Academies Press, 2007.

NEAMAT-ALLAH, A. N. F. Effect of Boldenone undecylenate on haematological and biochemical parameters in veal calves. **Global Veterinaria**, v.13, n.6, p.1092-1096, 2014.

NOLETO, P.G. **Perfil bioquímico sérico de equinos submetidos a prova de esforço físico**, 2012. Tese de Doutorado.

O'CONNOR, J.J.; STILLIONS, M.C.; REYNOLDS, W.A.; LINKENHEIMER, W.H.; MAPLESDEN, D.C. Evaluation of boldenone undecylenate as an anabolic agent in horses. **Canadian Veterinary Journal**, v.14, n.7, p.154-158, 1973.

ODA, S. S., EL-ASHMAWY, I. M. Adverse effects of the anabolic steroid, boldenone undecylenate, on reproductive functions of male rabbits. **International Journal of Experimental Pathology**, v.93, p.172-178, 2012.

OLIVEIRA, A. P., OLIVEIRA FILHO, J. P. e MEIRA, C. Dinâmica folicular ovariana comparativa entre as espécies bovina e equina. **PUBVET**, Londrina, v.4, n.8, 2010.

OLIVEIRA, G. I. V., KUHAWARA, K. C., LAPOSY, C. B., MELCHERT, A. Bioquímica sérica de equinos da raça puro sangue lusitano antes e após exercício. **Colloquium Agrariae**, v. 7, n.2, p. 14-19, 2011.

O-OOSTERBAAN, S. V. Appropriate blood variables helpful in diagnosing (sub) clinical disease in the horse. In: LINDNER, A. **Conference on Equine Sports Medicine and Science, Cordoba, Spain**. Wageningen Pers, p. 14-33, 1998.

PALERMO-NETO, J. **Anabolizantes**. In: SPINOSA, H. DE S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. Guanabara Koogan, 4ª ed., p. 596-613, 2006.

PATELLI, T. H. C., SOUZA, F. A. A., CARDOSO, M. J. L., FAGNANI, R., SILVA, A. R., NASCIMENTO, A. F. Atividade sérica das enzimas creatina quinase e aspartato amino transferase em equinos submetidos a duas modalidades esportivas. **PUBVET**, v.10, n.8, p.608-614, 2016.

PEDRINELLI, A. **O doping no esporte**. Boletim do Corpo Clínico do Hospital das Clínicas FMUSP, v. 56, p. 3-5, 1993.

PEREIRA, J. R. A.; ROSSI JÚNIOR, P. **Manual Prático de Avaliação nutricional de Alimentos**. Piracicaba: FEALQ, p. 25, 1995

PERSSON, S. G. B. Heart Rate and Blood Lactate Responses to Submaximal Treadmill Exercise in the Normally Performing Standardbred Trotter - Age and Sex Variations and Predictability from the Total Red Blood Cell Volume. **Journal of Veterinary Medicine A**, v.44, p.125-132, 1997.

PICKETT, B. W. **Reproductive evaluation of the stallion**. In: MCKINNON A. O., VOSS, J. L. (Eds.). Philadelphia: Lea & Febinger, p. 755-768, 1993

PU, F., MCKINNEY, A. R., STENHOUSE, A. M., SUANN, C. J., MCLEOD, M. D. Direct detection of boldenone sulfate and glucuronide conjugates in horse urine by ion trap liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v.813, p. 241-246, 2004.

RALSTON, S.L. Insulin and glucose regulation. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, n. 18, p. 295-304, 2002.

RAMALHO, L. O.; CAIADO, J. C. C.; SOUZA, V. R. C.; COELHO, C. S. Glicemia e concentrações séricas de insulina, triglicerídeos e cortisol em equinos da raça Quarto de Milha e mestiços usados em provas de laço em dupla. **Brazilian Journal of Veterinarian Research and Animal Science**, SP, v. 49, n. 4, p. 318-324, 2012.

RAMOS, T.N.M., CARDOSO, D., OLIVEIRA, J. V., BOMFIM, C. A. M. Características zoométricas de equinos de raças definidas e não definidas criadas na região de Araçatuba, SP. **Boletim da Indústria Animal**, v.71, n.3, p.234-240, 2014.

REICH, A., JAFFE, N., TONG, A., LAVELIN, I., GENINA, O., PINES, M., SKLAN, D., NUSSINOVITCH, A., MONSONEGO-ORNAN, E. Weight loading young chicks inhibit bone elongation and promote growth plate ossification and vascularization. **Journal Applied Physiology**, v.98, p.2381- 2389, 2005.

ROBINSON, N. E. **Current therapy in equine medicine**. In: Normal clinic pathology data. 6 ed. Philadelphia: Saunders, p. 956, 2008.

RODRIGUES, M. S. N. et al. Avaliação de alguns constituintes bioquímicos séricos em equinos sadios, da raça Mangalarga Paulista, criados no estado de São Paulo. In: CONGRESSO PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 6, 2004, São Paulo. **Anais...** São Paulo: CONPAVET, p. 57, 2004.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. An overview of performance and sport medicine. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. p. 5-11

ROSER J. F. Testicular function and fertility. **Journal of Equine Veterinary Science**. V. 20, n. 2, p. 90-93, 2000.

ROSS, M.W.; DYSON, S.J. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. St. Louis: Saunders, 2003. 1140p

SALES, J.V.F., DUMONT, C. B.S., LEITE, C. R., MORAES, J.M.M., GODOY, R. F., LIMA, E.M.M. Expressão do Mg+2, CK, AST e LDH em equinos finalistas de provas de enduro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.33, n. 01, p.105-110, 2013.

SANTIAGO, J. M., REZENDE, A. S. C., LANA, A. M. Q., FONSECA, M. G., ABRANTES, R. G. P., LAGE, J., ANDRADE, J. M., RESENDE, T. M. Medidas morfométricas do rebanho atual de fêmeas Mangalarga Marchador e das campeãs da raça. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.15, n.1, p.141-148 jan./mar., 2014.

SANTOS, P. S. **Variações hemato-bioquímicas em equinos de salto submetidos a diferentes protocolos de exercícios físicos**. 2006. 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SCANES, C. G. **Growth/ Performance Enhancement**. In: SCANES, C. G., Biology of Growth of Domestic Animals. Iowa State Press, 1st ed, p. 296-301, 2003a.

SCANES, C. G. **Hormones and Growth**. In: SCANES, C. G., Biology of Growth of Domestic Animals. Iowa State Press, 1 ed, p. 59-111, 2003b.

SECANI, A., LÉGA, E. Fisiologia Do Exercício Em Equinos. **Nucleus Animalium**, v.1, n.2, p. 53-65, 2009.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SMURAWA, T. M.; CONGENI, J. A. Testosterone precursors: use and abuse in pediatric athletes. **Pediatric Clinics of North America**, v.54, n.4, p.787-96, 2007.

SMYTH, et al. Effects of diet and feeding on postprandial serum gastrin and insulin concentrations in adult horses. **Equine Veterinary Journal**. v. 21, p. 56-59, 1989.

SQUIRES, E.L.; TODTER, G.E.; BERNDTSON, W.E.; PICKETT, B.W. Effect of anabolic steroids on reproductive function of young stallions. *Journal of Animal Science*, v. 54, n.3, p.576-582, 1982.

SQUIRES, E. L.; PICKETT, B. W. **Factors affecting sperm production and output**. In: McKinnon A. O., Squires E. L., Vaala W. E and Varner D. D. *Equine Reproduction*. 2nd ed. Wiley-Blackwell, v.1, 1344-1361, 2011.

STASHAK, T.S. **Claudicação em equinos segundo Adams**. 5.ed. São Paulo: Roca, 2002. 1174p.

STEINER, J. V.; UMPHENOUR, N. W. **Breeding management of the Thoroughbred Stallion**. In: Samper, J. C. (Eds.). *Equine breeding management and artificial insemination*. 2 ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, p. 77, 2009.

STULL, C. L.; RODIEK, A. V. Responses of blood glucose, insulin and cortisol concentrations to common equine diets. **The Journal of Nutrition**, v. 118, n. 2, p. 206-213, 1988.

TANGYUENYONG, S.; SATO, F.; NAMBO, Y.; MURASE, H., ENDO, Y., TANAKA, T., NAGAOKA, K., WATANABE, G. Comparison of physical body growth and metabolic and reproductive endocrine functions between north and south climates of Japan in trained Thoroughbred yearling horses. **Journal of Equine Science**, v.28, n.3, p. 77–86, 2017.

TEIXEIRA-NETO, A. R., FERRAZ, G. C., MATAQUEIRO, M. I., LACERDA-NETO, J. C., QUEIROZ-NETO, A. Reposição eletrolítica sobre variáveis fisiológicas de cavalos em provas de enduro de 30 e 60 km. **Ciência Rural**, v.34, n.5, p. 1505-1511, 2004.

THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**, 1º Ed, São Paulo: Roca, 2006.

THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos Cavalos**, Varela, 4º Ed, 2005.

THOMASSIAN, A., CARVALHO, F., WATANABE, M. J., SILVEIRA, V. F., ALVES, A. L. G., HUSSNI, C. A., NICOLETTI, J. L. M. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n.3, p. 183-190, 2007.

THOMPSON, J. C., ELLISON, R. S., KIRK, J. Serum thyroid hormone concentrations in New Zealand horses. **New Zealand Veterinary Journal**, v.45, n.1, p.11-14, 1997.

THOMPSON, F. N. **Reprodução em Mamíferos do Sexo Feminino**. In: REECE, W. O. Fisiologia dos animais domésticos. Guanabara Koogan, 12^a ed., p. 644-669, 2006.

TOLEDO, P. S., DOMINGUES JÚNIOR, M., FERNANDES, W. R., MAGONE, M. Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatina quinase, gama-glutamilttransferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça P.S.I. submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 8, n. 2, p. 73-77, 2001.

TOUSSON, E. Histopathological alterations after a growth promoter boldenone injection in rabbits. **Toxicology and Industrial Health**, p. 1–7, 2013.

TOUSSON, E., EL-MOGHAZY, M., MASSOUD, A., EL-ATRASH, A., SWEEF, O., AKEL, A. Physiological and biochemical changes after boldenone injection in adult rabbits. **Toxicology and Industrial Health**, p. 1–6, 2014.

VALBERG, S.; HAGGENDAL, J.; LINDHOLM, A. Blood chemistry and skeletal muscle metabolic responses to exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. **Equine Veterinary Journal**, v.25, n.1, p. 17-22, 1993.

VALBERG, S. J. Muscular causes of exercise intolerance in horses. **Veterinary Clinics of North America. Equine Practice**, v. 12, p. 495-515, 1996.

VARNER, D. D.; SCHUMACHER, J.; BLANCHARD, T. L.; JOHNSON, L. **Disease and management of breeding stallions**. Sta Barbara: American Veterinary Publications, p. 349, 1991.

VIANA, F.A.B. **Guia Terapêutico Veterinário**, Lagoa Santa: Gráfica e editora CEM, 2007.

VISSER, E. K., VAN REENEN, C. G., VAN DER WERF, J. T. N., SCHILDER, M. B. H., KNAAP, J. H., BARNEVELD, A., BLOKHUIS, H. J. Heart rate and heart rate variability during a novel object test and a handling test in young horses. **Physiology & Behavior**, v. 76, p. 289 – 296, 2002.

WILLIAMS R.J., MARLIN D.J., SMITH N., HARRIS R.C., HARESIGN W.; DAVIES MOREL M.C. Effects of cool and hot humid environment conditions on neuroendocrine responses of horses to treadmill exercise. **The Veterinary Journal** v.164, p.54-63, 2002

APÊNDICE A – FREQUÊNCIA CARDÍACA, FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA E TEMPERATURA CORPORAL, DOS ANIMAIS NAS FASES 1 E 2.

Animais/Parâm ^a	Fase 1			Fase 2		
	FC	FR	T°	FC	FR	T°
India	44	15	38,2	46	18	37,9
Indara	46	16	37,7	46	20	37,8
Irlanda	43	16	37,7	45	21	37,6
Italia	46	15	38,4	43	18	37,9
Ieda	43	15	38,0	46	18	37,9
Irada	43	14	38,0	41	18	37,6
Icone	44	17	38,1	47	19	37,5
Ianque	49	18	38,0	49	16	38,8
Indio	43	17	37,8	46	18	37,7
Ivai	43	15	38,4	46	19	37,8
Iate	47	17	38,2	47	16	37,6
Iran	45	16	38,3	-	-	-

Fonte: GARCIA (2108)

^aParâmetros médios obtidos de todo período experimental

FC: frequência cardíaca; FR: frequência respiratória; T°: temperatura corporal.

APÊNDICE B – HEMOGRAMA DOS ANIMAIS NAS FASES 1 E 2.

Fase 1							
Animais/Parâm^a	He (x10⁶/mm³)	Ht (%)	Hb (g/dL)	VCM (fl)	CHCM (g/dL)	Leuc. (x10³/μL)	Plaq. (x10³/μL)
India	8,3	33,0	11,0	39,3	34,4	9,5	162
Indara	7,2	33,5	12,0	46,4	33,2	10,3	171
Irlanda	7,3	33,1	10,9	45,5	33,0	9,0	138
Italia	9,2	32,7	11,6	37,6	33,4	12,2	158
Ieda	6,6	31,7	10,5	47,7	33,1	10,7	167
Irada	7,2	32,2	10,6	44,6	33,1	8,35	124
Icone	7,6	30,8	10,4	40,6	33,8	13,3	237
Ianque	7,3	30,2	10,3	41,3	34,0	11,0	197
Indio	7,7	30,6	10,5	39,7	34,3	13,9	175
Ivai	6,6	28,5	9,6	42,7	33,7	9,6	242
Iate	7,5	30,5	10,4	40,6	34,0	11,1	168
Iran	7,1	32,8	10,8	46,1	33,1	11,5	145
Fase 2							
Animais/Parâm^a	He (x10⁶/mm³)	Ht (%)	Hb (g/dL)	VCM (fl)	CHCM (g/dL)	Leuc. (x10³/μL)	Plaq. (x10³/μL)
India	10,4	41,7	13,6	40,3	32,5	12,2	101
Indara	8,6	40,5	12,5	47,3	32,0	13,2	153
Irlanda	7,9	37,9	12,3	47,2	32,4	10,4	106
Italia	9,8	37,6	12,4	38,1	33,0	13,2	115
Ieda	8,2	39,8	13,1	48,7	32,8	11,5	121
Irada	8,4	39,3	12,7	45,8	32,4	11,6	96
Icone	8,8	37,0	12,3	41,9	33,2	12,1	173
Ianque	8,6	34,8	12,4	42,0	33,7	14,0	137
Indio	9,1	36,0	12,8	40,7	34,5	13,5	110
Ivai	7,7	32,7	11,3	42,1	33,2	12,4	180
Iate	8,9	36,9	12,5	41,5	33,9	12,7	113
Iran	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: GARCIA (2018)

^aParâmetros médios obtidos de todo período experimental

He: Contagem de hemácias; Ht: percentual de hematócrito; Hb: concentração de hemoglobina; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Médio; Leuc: população de leucócitos totais; Plaq.: contagem de plaquetas.