SABRINA FUNARI

**Avaliação da Suplementação com Dimetilglicina sobre o Desempenho Atlético de
Cavalos de Enduro**

Pirassununga

2011

SABRINA FUNARI

Avaliação da Suplementação com Dimetilglicina sobre o Desempenho Atlético de Cavalos de Enduro.

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.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso

Pirassununga

2011

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2519
FMVZ

Funari, Sabrina

Avaliação da suplementação com dimetilglicina sobre o desempenho atlético de cavalos de enduro / Sabrina Funari. -- 2011.
81 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2011.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

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

1. Lactato. 2. Equino. 3. Creatina. 4. Exercício. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação da influência da suplementação com dimetilglicina sobre o desempenho atlético de cavalos de enduro", protocolado sob o nº 2247/2011, utilizando 12 (doze) cavalos, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 22/6/2011.

We certify that the Research "Evaluation of the influence of supplementation with dimethylglycine on athletic performance horse endurance", protocol number 2247/2011, utilizing 12 (twelve) horses, under the responsibility Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 06/22/2011.

São Paulo, 27 de junho de 2011.

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: FUNARI, Sabrina

Título: Avaliação da suplementação com dimetilglicina sobre o desempenho atlético de cavalos de enduro.

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.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pois sem
Ele nada seria possível.
A toda a minha família, minha base e porto seguro.
Só tenho a agradecer.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, senhor de todas as coisas, pelas oportunidades de aprendizado as quais me submeteu.

Aos meus pais, Luis Carlos Funari e Geralda dos S. G. Funari, pelo apoio e amor incondicional, e ao meu irmão Luis Alexandre Funari e minha cunhada Graziela M. Ferrari pelo companheirismo, e por deixar minha vida mais completa.

A meus avós paternos, Luis Funari (*in memoriam*) e Mafalda Canhoto Funari e maternos Pedro Anacleto dos Santos (*in memoriam*) e Anna Grandini dos Santos (*in memoriam*) pelo imenso amor.

Ao meu marido, Alexandre Ferrari, meu companheiro de todas as horas, agradeço pelo apoio, compreensão e paciência. Sem você minha caminhada teria sido mais difícil.

A toda minha família, tios e tias, primos e primas, agradeço pelo incentivo.

Ao Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, meu orientador, agradeço pela oportunidade e amizade.

Ao Prof. Dr. César G. de Lima, por ter realizado as análises estatísticas desse trabalho, muito obrigada.

Ao programa de Pós-graduação em Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela ocasião da realização desse curso.

Ao Sr. Léo Steinbruch proprietário do Haras Endurance, por disponibilizar os animais utilizados para realização desse trabalho. Ao veterinário Gérson Acedo Vieira, ao André Vidiz e Monica Vidiz, e a equipe de apoio, Júlio César Cardoso, Adriano Francisco dos Santos, Andrezio Martins Ribeiro, Marcelo Roberto Dorta e Marcos Nicolau Aires.

Aos colegas do Labequi, Mariano Etchichury, Iaçanã Ferreira Gonzaga, Fernanda Taran, Rafael Françoso, Thiago Centini e Camilla Moreira, pela amizade e auxílio.

Aos amigos da família, Bianca Dognini e Lucas Chaible, pelos momentos de descontração e boliche.

Aos meus amigos de graduação presentes na pós-graduação, Luis Henrique Conti, Amanda Caniatto, Mariana Pavesi, Marcos Augusto e Cláudia Amadeu.

Aos demais amigos da querida “terrinha”, em especial a Simone T. da Silva.

RESUMO

FUNARI, S. **Avaliação da suplementação com dimetilglicina sobre o desempenho atlético de cavalos de enduro.** [Evaluation of the influence of dimethylglycine supplementation on athletic performance in endurance horses.] 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

O exercício de enduro é caracterizado por um esforço aeróbico prolongado, de intensidade variável em que o cavalo é submetido a um trabalho permanente o qual exige dos sistemas orgânicos a manutenção da homeostasia. A habilidade dos músculos em gerar energia rapidamente via produção de lactato, é essencial para o desempenho em exercícios de elevada intensidade. Entretanto, a produção de lactato pode também suprimir muitos dos processos vitais necessários pra sustentar a atividade muscular. A associação de lactato com a fadiga muscular tem levado à busca de suplementos alimentares que reduzem o acúmulo de lactato. N,N-Dimetilglicina (DMG), um intermediário do metabolismo da colina, é um suplemento atualmente comercializado, porém não há dados consistentes na literatura sobre sua eficácia para equinos atletas. Objetivando avaliar o efeito da DMG, utilizou-se 12 animais em treinamento para provas de enduro, dos quais seis receberam suplementação oral; utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo. Foram coletadas amostras de sangue em sete tempos diferentes, a cada 15 dias; dessas amostras obteve-se valores das enzimas creatina quinase e aspartato aminotransferase e também valores de glicose e lactato, além de medições de frequência cardíaca e respiratória. Após 30 dias da última amostragem, realizaram-se coletas de sangue em intervalos curtos de tempo, após exercício, a fim de se realizar uma curva de lactato, e também comparar dados analisados em laboratório com analisados via lactímetro. Dos dados analisados, houve interação entre tempo e aumento da enzima creatina quinase, o que pode ser justificado pelo aumento da demanda muscular durante exercício físico constante. A enzima aspartato aminotransferase diminuiu com o passar do tempo, em ambos os grupos, porém oscilou dentro da normalidade, o que pode caracterizar baixa permeabilidade da membrana celular, comum em animais condicionados. A alteração da glicose foi a mesma ao longo do tempo para ambos os grupos. As médias de lactato não diferiram no grupo suplementado, mas sua variação dentro do grupo não suplementado sugere que a suplementação com DMG pode influenciar na manutenção da integridade muscular. Em comparação entre as formas de dosagem do lactato plasmático, pode-se concluir que o lactímetro é uma ferramenta eficaz na obtenção de dados a campo,

pois suas médias não diferiram das médias de lactato obtidas através de análise laboratorial. A suplementação oral com dimetilglicina não influenciou o desempenho atlético de cavalos em treinamento para enduro equestre.

Palavras-chave: Lactato. Equino. Creatina. Exercício.

ABSTRACT

FUNARI, Sabrina. **Evaluation of dimethylglycine supplementation on athletic performance in endurance horses.** [Avaliação da influência da suplementação com dimetilglicina sobre o desempenho atlético de cavalos de enduro.] 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

The exercise endurance is characterized by a prolonged aerobic work, of varying intensity in which the horse is subjected to a permanent job which requires organ systems maintain homeostasis. The ability of muscles to generate energy quickly via production of lactate is essential for the performance of high intensity exercise. However, the production of lactate may also suppress many of the vital processes necessary to sustain muscle activity. The combination of lactate in muscle fatigue has led to the search for dietary supplements that reduce the accumulation of lactate. N, N-dimethylglycine (DMG), an intermediate in the metabolism of choline, is a supplement currently marketed, but there is no consistent data in the literature on its effectiveness for equine athletes. In order to evaluate the effect of DMG, we used 12 animals in training for endurance events, of which six received oral supplementation, we used a completely randomized design with repeated measures on time. Blood samples were collected in seven different times, every 15 days, these samples gave values of the enzymes creatine kinase and aspartate aminotransferase values as well as glucose and lactate, and measurements of heart rate and breathing. After 30 days the last sampling, there were blood samples at short intervals of time after exercise in order to perform a lactate curve, and also compare data analyzed in laboratory and analyzed via lactimeter. Of the data analyzed, there was interaction between time and increased the enzyme creatine kinase, which can be explained by increased demand constant muscle during exercise. The enzyme aspartate aminotransferase decreased over time in both groups, but varied within the normal range, which can characterize low permeability of the cell membrane, which is common in animals conditioned. The change in glucose was the same over time for both groups. The mean lactate did not differ in the supplemented group, but the variation in the unsupplemented group suggests that supplementation with DMG can influence the maintenance of muscle integrity. In comparison dosage forms of lactate, it can be concluded that the lactimeter is an effective tool for getting data into the field, because their means did not differ from average lactate obtained through laboratory analysis. Oral

supplementation with dimethylglycine did not influence athletic performance of horses in training for endurance riding.

Keywords: Lactate. Equine. Creatine. Exercise.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Passos da via metabólica da DMG mostrando a transferência de metila.....	26
Figura 2 -	Ilustração do Ciclo de Cori.....	32
Figura 3 -	Coleta de sangue através de punção da veia jugular.....	40
Figura 4 -	Determinação da análise a ser realizada no aparelho.....	40
Figura 5 -	Colocação da fita teste no aparelho.....	41
Figura 6 -	Aplicação do sangue coletado na fita teste.....	41
Figura 7 -	Leitura do dado de lactato no aparelho.....	42
Figura 8 -	Medidas de frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.....	45
Figura 9 -	Medidas de frequência respiratória em respirações por minuto (rpm) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.....	49
Figura 10 -	Médias da enzima creatina quinase em unidades por litro (U/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.....	53
Figura 11 -	Médias da enzima aspartato aminotransferase em unidades por litro (U/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.....	57

Figura 12 -	Médias de glicose em miligramas por decalitro (mg/dL) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.....	61
Figura 13 -	Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição bromatológica, com base na matéria seca, do feno de capim <i>coast-cross</i>	36
Tabela 2 -	Composição bromatológica, com base na matéria seca, do concentrado.	36
Tabela 3 -	Composição do suplemento com dimetilglicina oferecido aos animais...	37
Tabela 4 -	Média de treinamento e da prova dos animais, em quilômetros, separados por grupos – DMG e Controle. As atividades realizadas no exercitador circular e a passo foram feitas em média, uma vez por semana cada.....	37
Tabela 5 -	Medidas de frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.....	44
Tabela 6 -	Medidas de frequência respiratória em respirações por minuto (rpm) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.....	48
Tabela 7 -	Médias da enzima creatina quinase em unidades por litro (U/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.....	52
Tabela 8 -	Médias da enzima aspartato aminotransferase em unidades por litro (U/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem..	56

Tabela 9 -	Médias de glicose em miligramas por decalitro (mg/dL) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.....	60
Tabela 10 -	Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.....	64
Tabela 11 -	Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L) dos grupos DMG e Controle, analisados por método enzimático, em função dos tempos logo após exercício, expressos em minutos, e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.....	70
Tabela 12 -	Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L), obtidos através de lactímetro portátil, dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos logo após exercício, expressos em minutos, e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.....	73

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Dados da frequência cardíaca (bpm) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.....	46
Gráfico 2 -	Dados da frequência respiratória (rpm) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.....	50
Gráfico 3 -	Dados da enzima creatina quinase (U/L) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.....	54
Gráfico 4 -	Dados da enzima aspartato aminotransferase (U/L) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.....	58
Gráfico 5 -	Dados de glicose (mg/dL) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.....	62
Gráfico 6 -	Dados de lactato, em milimoles por litro (mmol/L), de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.....	66

Gráfico 7 -	Dados de frequência cardíaca, em batimentos por minuto (bpm), de todos os animais, nos referidos tempos de coleta após exercício. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.....	69
Gráfico 8 -	Curva das médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L), analisado por método enzimático, dos grupos Controle e DMG, em função dos tempos após exercício, em minutos, e respectivos erro padrão da média.....	72
Gráfico 9 -	Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L), analisado por método enzimático em laboratório (Lab.) e através de lactímetro portátil (Apar.), dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos após exercício, em minutos, (M0, M2 (...)), e respectivas linhas de tendência linear.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	adenosina difosfato
ATP	adenosina trifosfato
AST	enzima aspartato aminotransferase
bpm	batimentos por minuto
CK	enzima creatina quinase
CPr	creatina fosfato
CV	coeficiente de variação
dL	decilitro
DNA	ácido desoxirribonucléico
DMG	dimetilglicina
EROs	espécies reativas de oxigênio
FC	frequência cardíaca
FR	frequência respiratória
GOT	glutamato oxaloacetato transaminase
Kg	quilogramas
Km	quilômetros
L	litro
LDH	lactato desidrogenase
mg	miligramas
mmol	milimoles
PCr	creatina fosfato
pH	potencial hidrogeniônico
PSI	puro sangue inglês
RNA	ácido ribonucléico
rpm	respirações por minuto
SAMe	enxofre adenosilmetionina
SAS	Statistical Analysis System
U/L	unidade por litro
UI	unidade internacional
VO ₂	volume máximo de oxigênio consumido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	OBJETIVO.....	23
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	24
3.1	Enduro.....	24
3.2	Exercício.....	25
3.3	Dimetilglicina.....	26
3.4	Creatina quinase.....	28
3.5	Aspartato aminotransferase.....	29
3.6	Glicose.....	30
3.7	Lactato.....	31
3.8	Lactímetro portátil.....	33
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4.1	Local.....	35
4.2	Animais.....	35
4.3	Dieta.....	35
4.4	Delineamento e Procedimento Experimental.....	37
4.4.1	Etapa 1.....	38
4.4.2	Etapa 2.....	38
4.4.4	Análises laboratoriais.....	39
4.4.5	Lactímetro portátil.....	39

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1	Etapa 1.....	43
5.1.1	Frequência Cardíaca.....	43
5.1.2	Frequência Respiratória.....	48
5.1.3	Creatina quinase.....	52
5.1.4	Aspartato aminotransferase.....	56
5.1.5	Glicose.....	60
5.1.6	Lactato.....	64
5.2	Etapa 2.....	68
6	CONCLUSÕES.....	76
	REFERÊNCIAS.....	77

1 INTRODUÇÃO

O cavalo é um mamífero cuja evolução teve início a cerca de sessenta milhões de anos; segundo estudos, seu ancestral era um animal primitivo com cerca de 25 cm de altura, da família *Eohippus*, originalmente habitando o norte da América e Europa. Posteriormente migraram para a Ásia e daí para outros continentes. Com a evolução, adquiriram estatura e sofreram importantes modificações anatômicas (BUDIANSKY, 1997).

O cavalo é membro da mesma família dos asnos e das zebras, a dos eqüídeos. Todos os sete membros da família dos eqüídeos são do mesmo gênero, *Equus*, podendo relacionar-se entre si e produzir híbridos como as mulas. Segundo Budiansky, (1997) o cavalo atual é perfeitamente adaptado a diversos esportes e jogos, como corrida, enduro, pólo, provas de equitação e até em trabalhos mais suaves como na equoterapia.

Os exercícios de resistência incluem todos os tipos de atividade física nas quais os cavalos trabalham em uma velocidade submáxima por muitas horas seguidas (PUOLI-FILHO et al. 2007). O enduro é um exemplo desse tipo de exercício e sua execução depende de um conjunto cavalo-cavaleiro bem entrosado e condicionado. Segundo a CBH (Confederação Brasileira de Hipismo), o enduro é considerado o esporte eqüestre que mais cresce no mundo, sendo presente em 61 países e praticado por mais de 40 mil competidores, sem distinção de sexo e idade.

As características desejadas para um cavalo de enduro compreendem boa função cardiorrespiratória, tamanho e porte adequados, rusticidade, apêrmos adequados e bom temperamento. As raças consideradas de melhor aptidão para provas de enduro são as Árabes e Cruza Árabe (Anglo-Árabe). O sucesso nesta atividade requer também animais bem condicionados, uma vez que trabalham no limite de sua capacidade física. Um dos principais desafios à realização de exercício prolongado é a fadiga, que ocorre principalmente pelo esgotamento de líquidos e eletrólitos através da sudação (SCHOTT; HINCHCLIFF, 1993). O cansaço físico também ocorre em consequência de outras alterações, como esgotamento das reservas de glicogênio ou acúmulo de amônia (LACERDA NETO; MARQUES¹, 1999 apud MARTINS et al. 2005, p. 63). Para obtenção de máximo desempenho produtivo dos eqüinos no esporte ou em trabalhos, são necessários conhecimentos que contribuam para retardar o início da fadiga muscular (MATTOS et al. 2006).

¹ LACERDA NETO, J. C.; MARQUES, L. C. Utilização de parâmetros clínicos e bioquímicos na avaliação de eqüinos submetidos a exercício de baixa intensidade e média duração. Veterinária Notícia, v. 5, p. 77-82, 1999.

Quando o esforço físico torna-se ordenado e ininterrupto, com aumento gradual da intensidade, intercalado a momentos de repouso, é denominado treinamento, sendo que a maior finalidade deste método é provocar adaptações fisiológicas que aperfeiçoem o desempenho atlético (GRAAF-ROELFSEMA et al. 2007).

A habilidade dos músculos em gerar energia rapidamente via produção de lactato, é essencial para o desempenho em exercícios de elevada intensidade. Entretanto, a produção de lactato pode também suprimir muitos dos processos vitais necessários pra sustentar a atividade muscular. O acúmulo de lactato muscular, e conseqüente acidose intracelular, podem depreciar a glicólise, a capacidade respiratória da mitocôndria e estar relacionado a uma falha na manutenção da homeostase ADP/ATP no sítio de ligação miosina-actina (GOMIDE et al. 2006). O aumento de ADP local pode causar perda de desempenho por fadiga muscular, sendo a principal dificuldade para a seqüência do trabalho (HARRIS; HARRIS, 1998).

A associação de lactato com a fadiga muscular tem levado à pesquisa por suplementos alimentares que reduzem o acúmulo de lactato, otimizando a recuperação após exercício e aumentando a resistência física dos animais.

O interesse na dimetilglicina (DMG) como um auxílio ergogênico para atletas surgiu de um relatório indicando que a DMG reduzia o lactato em resposta ao estresse cirúrgico em animais de laboratório (MEDUSKI et al.² 1980 apud WARREN; LAWRENCE e THOMPSON, 1999, p. 677). No entanto, investigações subseqüentes da eficácia da DMG sobre o desempenho em humanos, cavalos e cães, têm produzidos resultados inconsistentes.

Em trabalho de Levine (1982) os resultados das determinações de ácido láctico foram significativamente menores nos grupos de cavalos que receberam DMG. A DMG poderia reduzir o acúmulo de lactato no músculo através da ativação da enzima piruvato desidrogenase, este efeito pode ser benéfico durante o exercício de alta intensidade, pois o acúmulo de lactato e prótons associados é um mecanismo potencial de fadiga (acidose intracelular) (GEOR, 2006).

Os resultados de diversas pesquisas têm demonstrado resultados contraditórios em relação à capacidade da DMG diminuir o lactato sanguíneo durante o exercício em cavalos. O mercado de nutracêuticos tem oferecido compostos que possuem DMG com diversas combinações ou como único composto (JONES, 1987; BOFFI, 2006).

² MEDUSKI, J. W., J. D. MEDUSKI, S. HYMAN, R. KILY, S. KIM, P. THEIN, and R. YOSHIMOTO. 1980. Decrease of lactic acid concentration in blood of animals given N,N-dimethylglycine. Presented at Pacific Slope Biomedical Conference, Univ. of California, San Diego, July 7-9.

2 OBJETIVO

Os objetivos desse trabalho foram avaliar a influência da suplementação com dimetilglicina sobre o desempenho atlético de cavalos de enduro através da avaliação de enzimas musculares CK (creatina quinase) e AST (aspartato aminotransferase), glicose, lactato sanguíneo e parâmetros clínicos: frequência cardíaca e frequência respiratória, e comparar duas metodologias diferentes de análise de lactato.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Enduro

As provas de enduro são competições que testam a habilidade de um concorrente em administrar com segurança a resistência e a forma física do seu cavalo em um percurso de enduro, numa competição contra a trilha, a distância, o clima, o terreno e o relógio, o que a caracteriza como uma prova de resistência. O principal objetivo é terminar a prova em um tempo adequado, apresentando o animal em boas condições de saúde ao final da mesma. Por isso, o enduro é uma prova com regras rigorosas, o que se justifica pelo controle veterinário (*vet check*) que se encarrega de determinar as condições físicas dos animais através de medições de batimentos cardíacos e avaliação do sistema respiratório, condições gerais, qualidade e amplitude de movimento, dores musculares, lacerações e feridas.

Segundo a *Fédération Equestre Internationale* (FEI, [200_?]), o enduro é uma prova regulamentar e é constituída de uma série de seções conhecidas como anéis. Ao final de cada anel, há uma parada obrigatória para a inspeção veterinária. Cada cavalo, que é analisado antes de ser autorizado a iniciar a prova, deve ser apresentado dentro de um prazo definido para ser avaliado após cada anel percorrido. O tempo gasto em cada *vet-check* antes da inspeção dos veterinários é contado como parte do tempo global da competição, e o objetivo é determinar se o cavalo está apto a continuar a prova. Qualquer excesso de equitação que tenha sido cometido, ou qualquer outra ação definida como crueldade é penalizada com a desclassificação do cavalo e do cavaleiro. Ainda segundo a FEI [200_?], pode levar anos para que um conjunto cavalo-cavaleiro esteja apto a completar uma prova de 160 km, o que requer uma preparação intensa e um profundo conhecimento e entrosamento entre ambos.

O enduro caracteriza-se por um esforço aeróbico prolongado, de intensidade variável em que o cavalo é submetido a um trabalho permanente que muito exige dos sistemas orgânicos para que seja mantida a homeostasia (TEIXEIRA-NETO et al. 2004). Muitos parâmetros hematológicos e metabólicos variam durante o esforço prolongado, e algumas destas variações podem alterar o desempenho atlético (HOFFMAN et al. 2002).

3.2 Exercício

Durante o exercício físico, há um aumento do fluxo de oxigênio para o músculo esquelético ativo, o que leva a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e radicais livres. O exercício físico extenuante pode induzir o estresse oxidativo, que tem sido definido como um desequilíbrio entre os antioxidantes e os prooxidantes, tendendo para os prooxidantes (SEM; PACKER³, 2000 apud KINUNNEN et al. 2005, p. 415).

O vazamento de elétrons através da cadeia mitocondrial de transporte de elétrons é considerado o mecanismo predominantemente responsável pelo aumento da atividade independente em radicais livres (MINAMI et al. 2011).

Embora as EROs desempenhem função como mensageiras na transdução de sinal e regulem uma variedade de funções celulares, o aumento do estresse oxidativo desempenha papel importante em diversos processos de doenças e envelhecimento. Em sistemas biológicos, as células respondem a leve estresse oxidativo, induzindo suas defesas antioxidantes e outros sistemas de proteção (SEN et al. 2000; ATALAY; LAAKSONEN⁴, 2002 apud KINUNNEN et al. 2005, p. 415).

Uma das medições atuais que se faz para determinar condicionamento físico consiste no VO₂ máximo, que é o volume máximo de oxigênio que o organismo consegue mobilizar dos pulmões e conduzir aos tecidos através do sistema cardiovascular e usar na produção de energia, numa unidade de tempo.

O treinamento tem como principal efeito aumentar a intensidade do exercício na qual o lactato começa a se acumular (limiar anaeróbico), além de otimizar a capacidade cardio-respiratória do animal (GOMIDE et al. 2006).

A fadiga muscular após exercício é exibida primeiramente por redução do desempenho seguida por perda de ATP muscular, depleção de glicogênio muscular, acidose metabólica e acúmulo de lactato sanguíneo e amônia (FRAPE, 2007). Os músculos esqueléticos armazenam relativamente pouco glicogênio (cerca de 1% do seu peso total), sendo um limitante na quantidade de energia glicolítica disponível durante um esforço máximo. Além disso, o acúmulo de lactato e a conseqüente diminuição do pH que ocorre nos músculos em atividade máxima reduzem sua eficiência. Entretanto, o músculo esquelético possui outra fonte de ATP na forma de fosfocreatina que pode regenerar rapidamente o ATP por meio da fosforilação do ADP (LEHNINGER, 2006).

³ SEN, C.K., and PACKER, L. (2000) Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *American Journal of Clinical Nutrition* **72**, 653S-669S.

⁴ ATALAY, M. and LAAKSONEN, D.E. (2002) Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Journal of Sports Science and Medicine* **1**, 1-14.

O exercício induz mudanças reversíveis na ultraestrutura do músculo esquelético dos cavalos, como a elevação da permeabilidade do sarcolema e das proteínas musculares, tais como a mioglobina, creatina quinase (CK) e a aspartato aminotransferase (AST) que são liberadas na circulação. Discretos acréscimos dessas enzimas após o exercício não estão conexos com a lesão da célula muscular, mas com o aumento da permeabilidade da membrana (THOMASSIAN et al. 2007). Segundo Eaton (1995), mais de 70% da energia é fornecida através da via aeróbia durante o exercício intenso com duração de 1 a 3 minutos em cavalos.

3.3 Dimetilglicina

A N, N-dimetilglicina (DMG) é um derivado do aminoácido glicina e intermediário normal do metabolismo da colina, é produzida no ciclo de transferência de carbono da colina via betaína em uma reação enzimática de transmetilação controlada.

No fígado, há a conversão de DMG em outros metabólitos úteis através da desmetilação oxidativa, sendo nesse processo, disponibilizados dois grupos metila da DMG. Esses grupos podem ser utilizados nas reações de transmetilação via Enxofre-Adenosilmetionina (S_{AM}e), um metabólito que é essencial para a produção de muitos produtos vitais da célula, entre eles hormônios, neurotransmissores, enzimas, ácidos nucleicos (DNA e RNA) e anticorpos (KENDALL; LAWSON, 2000). Conforme demonstrado na figura 1, a dimetilglicina fornece grupos metila, que podem ser usados para produzir o aminoácido metionina da homocisteína.

Fonte: Adaptado de KENDALL e LAWSON, (2000)

Figura 1 - Passos da via metabólica da DMG mostrando a transferência de metila.

Bioquimicamente, a DMG está envolvida em três reações básicas, atuando como um doador de carbono e facilita o organismo a produzir fosfocreatina nos músculos e cérebro justificando a redução do ácido láctico após o exercício (JONES, 1987).

As principais fontes alimentares de grupos metil ativos na dieta humana são na forma de creatina, colina ou metionina. Quando esses doadores de metila falham no suprimento adequado de grupos metil, o papel metabólico da DMG assume importância como provedora desses grupos para metilações biológicas. Portanto, a DMG funciona como uma “bomba de metionina” eficiente para converter o excesso de homocisteína em metionina. Este processo mantém as células do corpo em um estado elevado de transmetilação, e reduz a concentração de homocisteína no sangue, que em excesso pode contribuir para a ocorrência de doenças vasculares (KENDALL; LAWSON, 2000).

Na década de 70, a DMG era relatada como uma “superdroga” quando usada pelos russos nas competições internacionais de atletismo. PIPES, doutor do *Institute of Human Fitness* localizada na cidade de Escondido no estado da Califórnia, tornou-se um dos primeiros a pesquisar os efeitos da DMG no desempenho atlético em humanos. Esse pesquisador não esperava efeitos positivos da DMG, mas foi surpreendido ao encontrar os resultados que demonstraram um aumento de 27,5% no volume do oxigênio (VO_2) máximo e um aumento de 23,6% no tempo de exaustão para o grupo que foi tratado com DMG.

A associação de lactato com a fadiga muscular tem levado à busca de suplementos alimentares que reduzem o acúmulo de lactato. Segundo Rose (1989) a administração de dimetilglicina não produziu qualquer efeito significativo sobre os valores estudados (pH arterial, temperatura do sangue, frequência cardíaca, hemoglobina, pressão arterial de oxigênio, pressão arterial de dióxido de carbono, captação de oxigênio, lactato sanguíneo e plasmático). Foi utilizado um teste com exercícios de intensidade supramáximo, porque era previsível que, se a dimetilglicina tivesse qualquer efeito benéfico, era provável que o início do acúmulo de lactato no sangue seria mais tardio.

No estudo citado, não houve aumento da eficiência no transporte de oxigênio, como avaliado pelo teor de oxigênio do sangue arterial ou consumo de oxigênio no sangue total. As concentrações de lactato no plasma, sangue e músculos não foram diferentes, como resultado da administração da dimetilglicina, indicando que a produção de lactato no músculo e sua liberação para a circulação não foram alteradas pelo tratamento; a falta de efeitos cardiorrespiratórios e metabólicos de dimetilglicina neste estudo não afirmam o seu papel como um produto que incrementa a atividade metabólica e não parece haver vantagens para o desempenho de equinos na utilização deste suplemento em doses 1-2 mg / kg. No entanto o

teste de exercício foi um teste incremental, que não simula condições durante a corrida (ROSE, 1989).

Em trabalho com equinos atletas e sem treinamento, Warren, Lawrence e Thompson (1999) avaliaram a suplementação de uma precursora da DMG, a trimetilglicina (conhecida como betaína). Os autores avaliaram níveis séricos de lactato, glicose e ácidos graxos livres, e concluíram que a suplementação com betaína pode ter alguns efeitos metabólicos apenas nos cavalos sedentários submetidos a exercícios, sendo esse efeito não aparente em cavalos treinados. Sabe-se que a betaína é doadora de grupo metila na formação da metionina, e sua desmetilação completa resulta em glicina. Atua na regulação do equilíbrio osmótico, sendo a única fonte doadora de grupos metil prontamente ativa. Outros doadores, como a colina e a metionina, necessitam passar por transformações, para serem utilizados pelos animais (BETANCOURT, 1999). Em trabalho com suínos, a suplementação de betaína foi avaliada como suplementação à dieta deficiente em proteína e avaliaram-se a eficácia desse suplemento em alterar o desempenho no ganho de peso. Os autores concluíram que a deposição de gordura em carcaças de machos pode ser reduzida ligeiramente com a betaína; para leitoas os resultados não foram conclusivos (LAWRENCE et al., 2002).

Segundo trabalho de MOFFITT et al.⁵ (1985 apud FRAPE, 1994, p. 200), a suplementação de 1,6 mg de DMG por quilograma de peso vivo, para cavalos atletas, não mostrou os típicos aumentos na concentração de ácido láctico no sangue após exercícios.

3.4 Creatina quinase

A energia necessária para a contração muscular é derivada da creatina fosfato (CK) e do ATP (adenosinatrifosfato). A enzima creatina quinase catalisa a reação reversível da creatina fosfato – PCr (doadora de grupos fosforila) a creatina. Quando ocorre uma súbita demanda por energia e há esgotamento do ATP, o estoque de PCr o repõe a uma velocidade consideravelmente maior àquela pela qual ele é formado através das vias catabólicas. Quando essa demanda de energia diminui, o ATP produzido é utilizado para repor o reservatório de PCr por meio do reverso da reação da creatina quinase (LEHNINGER, 2006). Sabe-se que quanto maior for a demanda de trabalho muscular esquelético, maiores serão os valores séricos da enzima CK (MICHIMA; MIRANDOLA e FERNANDES, 2010).

⁵ MOFFITT, P. G., POTTER, G. D., KREIDER, J. L. & MORITANI, T. M. (1985). Venous lactic acid levels in exercising horses fed N,N-dimethylglycine. *Proceedings of the Ninth Equine Nutrition and Physiology Symposium*, pp. 248-253. Champaign, Ill.: American Society of Animal Science.

A creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), fragmentos da cadeia pesada de miosina (MHC), troponina-I e mioglobina, freqüentemente são encontradas como marcadores de dano muscular, isso porque essas moléculas são citoplasmáticas e não têm a capacidade de atravessar a barreira da membrana sarcoplasmática. Por esse fato, o aumento da concentração sérica dessas moléculas é utilizado como indicativo de dano na membrana muscular e outras estruturas teciduais. Dentre essas moléculas, a CK é frequentemente descrita como melhor marcador indireto de dano ao tecido muscular, sobretudo após o exercício de força ou outros exercícios que exijam ações predominantemente excêntricas (FOSCHINI; PRESTES e CHARRO, 2007).

Em trabalho com garanhões submetidos a exercícios físicos, Etchichury e Gobesso (2010) observaram valores de CK de 487,00 U/L para animais do grupo controle e 480,00 U/L para animais suplementados com selênio mais vitamina E, via parenteral, e concluíram que a variação dessa enzima reflete um estado fisiológico permanente, onde com o transcorrer do tempo esses níveis séricos variam pouco.

Através do treinamento de cavalos em esteira com aumento gradual de velocidade e inclinação, Thomassian et al. (2007) aferiram resultados de CK variando entre 262,00 U/L antes do início do exercício, sendo o pico de CK, cujo valor foi de 344,80 U/L, observado quando havia se passado o tempo de três horas após o término do exercício. Os autores concluíram que alguns animais apresentariam maior sensibilidade quanto à permeabilidade da membrana da célula muscular frente a estímulo semelhante a outros animais, ou ainda que o pico de atividade dessa enzima após lesão muscular varia entre 4 a 6 horas.

3.5 Aspartato aminotransferase

A AST é uma enzima citoplasmática e mitocondrial presente em vários tecidos – fígado e músculos esqueléticos e cardíacos. Ela atua na transaminação do aspartato com o α -cetoglutarato produzindo glutamato e oxaloacetato (LEHNINGER, 2006). É conhecida também como glutamato oxaloacetato transaminase (GOT).

Camara e Silva et al. (2007) avaliaram as enzimas CK, AST e LDH (lactato desidrogenase) em três diferentes categorias de equinos, sendo grupo 1: animais atletas de vaquejada, grupo 2: animais destinados a reprodução e grupo 3: animais de tração. Os eqüinos de tração tiveram valores mais elevados para CK e AST do que os de reprodução, enquanto os de vaquejada apresentaram apenas a AST mais elevada. Tal fato deve-se, provavelmente, ao tipo de atividade, que é mais intensa nos cavalos de carroceiros e intermediária nos de

vaquejada. Esse fato provavelmente deve-se a adaptações bioquímicas na musculatura promovidas pelo nível de atividade física.

Em trabalho onde se avaliou animais antes e após prova de enduro de 40 km, Martins et al. (2005), observaram valores médios de AST variando entre 112,00 a 139,00 U/L, sendo não significativos, e concluíram que os esforços aos quais os animais foram submetidos neste estudo, não foram suficientes para causar qualquer tipo de dano muscular, indicado pela mensuração da atividade desta enzima. Puoli Filho et al. (2007) obtiveram valores de AST, para cavalos em treinamento de enduro de 60 km, variando entre 249,00 U/L antes do treino e de 320,00 U/L logo após o treino; os dados não diferiram entre si, não sendo observado, portanto, lesão ou fadiga muscular.

Em treinamento com animais em esteira, Thomassian et al. (2007) observaram médias de AST entre 267,00 U/L a 333,00 U/L; e concluíram haver grande variação entre os estudos, sendo provavelmente decorrente de fatores que podem influenciar na atividade sérica dessas enzimas, tais como o nível de treinamento do animal, a intensidade e a duração do exercício, bem como o ambiente em que foi realizado o exercício.

3.6 Glicose

A fadiga durante o exercício prolongado resulta em parte de um decréscimo na concentração sanguínea de glicose. A taxa desse declínio é afetada pela velocidade, pela quantidade dos estoques de glicogênio, pela manipulação da dieta que poupa a mobilização de glicogênio e pelo treinamento que promove maior uso tanto de gordura quanto de glicogênio durante o máximo exercício (FRAPE, 2007). Sabe-se que, dependendo do grau de atividade, os músculos podem usar ácidos graxos livres, corpos cetônicos e glicose como combustível, sendo que músculos moderadamente ativos usam a glicose sanguínea além dos outros combustíveis. Nessa função, a glicose é fosforilada, depois degradada pela glicólise até piruvato, que é convertido em acetil-CoA e oxidado através do ciclo do ácido cítrico e da fosforilação oxidativa. Cada unidade de glicose degradada fornece três moléculas de ATP. (LEHNINGER, 2006).

Em trabalho avaliando animais de enduro de 40 km, Martins et al. (2005), obtiveram valores séricos de glicose variando entre 86,9 mg/dL antes da prova a 103,00 mg/dL após término da prova. Embora, aparentemente, a glicose não seja a principal fonte de energia durante exercício prolongado, esses autores concluíram que nos animais bem condicionados sua mobilização é um fato marcante, como pode ser atestado no referido experimento.

Segundo Pagan et al. (2002), a depleção dos estoques de glicogênio intramuscular ou a hipoglicemia, secundária a depleção de glicogênio hepático, é a principal responsável pela fadiga durante a atividade física sub-máxima de longa duração.

3.7 Lactato

As concentrações de lactato sanguíneo são regularmente utilizadas para avaliar o nível de condicionamento do cavalo atleta (LINDNER et al. 2009). A produção de lactato ocorre durante o catabolismo anaeróbio da glicose à ácido láctico, visto que em exercícios intensos, o oxigênio pode não chegar de forma eficiente aos músculos, o que seria ideal para a oxidação do piruvato. Assim, os músculos utilizam da glicose armazenada na forma de glicogênio como combustível para produção de ATP através de fermentação, produzindo lactato. Durante o repouso, o lactato é então convertido em glicose pelo fígado, através da gliconeogênese, sendo o oxigênio necessário para suprir ATP suficiente para essa reação. À esse processo denomina-se Ciclo de Cori, o qual ilustra-se na figura 2.

Adaptado de LEHNINGER, (2006).

Figura 02. Ilustração do Ciclo de Cori.

Por mais de 30 anos, os pontos sobre o lactato sanguíneo vs curvas de velocidade ou potência têm sido usados em seres humanos para definir a transição do metabolismo aeróbico para anaeróbico de energia, em parte, como indicadores de desempenho aeróbico e como um meio de prever intensidades de exercício para treinamento de resistência (SIMON⁶, 1986; apud LINDNER, 2010 p. 2038).

O limiar de acúmulo de lactato induzido pelo exercício pode ser de 4 mmol de lactato/L no plasma e a velocidade para um equino em particular em que isso ocorre é denominada de V_{LA4} . O metabolismo anaeróbico fornece aproximadamente 30% das necessidades energéticas imediatas de cavalos da raça PSI em velocidades de corrida. O condicionamento por meio de exercícios repetidos de alta intensidade (92% de $VO_{2máx}$) produziu: concentração aumentada de glicogênio muscular antes do exercício; maior V_{LA4} ; aumento no $VO_{2máx}$ e na velocidade na qual a $VO_{2máx}$ foi atingida; velocidade com 115% de $VO_{2máx}$; e aumento na duração na qual 115% da $VO_{2máx}$ foi mantida por cavalos PSI.

O condicionamento causou aumento tanto na capacidade aeróbica quanto na

⁶ SIMON, G. 1986. Trainingssteuerung im Schwimmsport. Dtsch. Z. Sportmed. 37:376–379.

anaeróbica. (HINCHELIFF, et al.⁷ 2002, apud FRAPE, 2007, p. 289).

As concentrações séricas de lactato variam de acordo com o exercício realizado pelo animal, seu condicionamento físico, e o tempo após exercício. De acordo com PÖSÖ (2002), em concentrações de lactato superiores a 30 mmol/L, após a corrida, há declínio do pH sanguíneo para 7,0 e a acidemia resultante leva a fadiga muscular, disfunção da mitocôndria, dano a glicólise e diminuição de ATP muscular com miopatia.

2.8 Lactímetro portátil

O aparelho Accutrend® Plus, fabricado pela Roche Portugal, para uso em humanos, permite realizar análises rápidas de glicose, colesterol, triglicerídeos e lactato, apenas utilizando-se de uma gota de sangue. Ele mede a intensidade da cor produzida na camada de reação da tira de teste, por meio de fotometria de refletância, e calcula a concentração de cada parâmetro na amostra através de um algoritmo específico de lote. O resultado apresentado aparece sob a forma de mg/dL ou mmol/L e é prontamente registrado em memória com data e hora.

Os dados limites para medição de lactato variam entre 0,8 a 21,7 mmol/L, no valor sanguíneo, sendo sua faixa de operação variando entre 25° a 70° C, em ambiente com umidade relativa variando entre 10 a 85%.

Teixeira-Neto et al. (2011) avaliando a acurácia desse aparelho através da mensuração de todas as variáveis passíveis (glicose, lactato, colesterol e triglicérides) em equinos, comparou os resultados obtidos pelo aparelho com análise laboratorial. Os autores concluíram que a utilização do aparelho, segundo a recomendação do fabricante, não foi considerado um método confiável de diagnóstico na clínica médica de equinos.

Segundo Kobayashi (2007), comumente coleta-se o sangue da veia jugular em cavalos para avaliação de lactato sanguíneo, sendo coletado da ponta do dedo ou da orelha em humanos para avaliação de lactato, utilizando-se lactímetro portátil. No entanto, existem muitas restrições para a coleta de sangue em cavalos. A coleta de sangue deve ser realizada por um veterinário, e também a punção a partir da veia jugular pode ser difícil devido ao temperamento individual do cavalo, dificultando a introdução da medição de lactato sanguíneo em condições de campo.

⁷ HINCHELIFF, K. W.; LAUDERDALE, M. A.; DUTSON, J.; GEOR, R. J.; LACOMBE, V. A.; TAYLOR, L. E. High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses. *Equine Veterinary Journal*, 34, 9-16. 2002.

Esse mesmo autor avaliou amostras de sangue obtidas através de dois métodos, sendo um por venipunção da jugular e o outro por perfuração superficial da pele na região da tábua do pescoço, ambos sendo mensurados por aparelhos portáteis. Os resultados obtidos mostraram-se satisfatórios, validando a coleta de sangue através de perfuração da pele para cavalos, na utilização de analisadores bioquímicos portáteis.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local

Os animais foram exercitados e as amostras foram recolhidas na Fazenda São Sebastião, onde está o Haras Endurance, situado no município de Bragança Paulista, estado de São Paulo. A cidade possui clima tropical de altitude (Cwb) e está localizada a uma latitude 22°57'07" e a uma longitude de 46°32'31" sendo sua altitude de 817 metros e a temperatura média anual de 22°. O período experimental foi compreendido entre o dia 30 de maio de 2010 a 05 de novembro de 2010.

4.2 Animais

Foram utilizados 12 equinos hípidos, da raça Puro Sangue Árabe, em fase de treinamento para competição de enduro. Os animais possuíam idade média de $7,5 \pm 0,7$ anos e peso médio de $435,8 \pm 36,3$ kg, e permaneceram alojados em piquetes de 4.000 m².

4.3 Dieta

Os animais receberam a mesma dieta, composta por concentrado comercial e volumoso, sendo a ingestão de concentrado fixada em 1% do peso vivo em matéria seca por dia. O volumoso utilizado foi o feno de capim *coast-cross*, cujo fornecimento aos animais era à vontade, com consumo estimado de 1 a 1,5% do peso vivo em matéria seca por dia. A composição bromatológica do feno está mostrada na tabela 1 e a composição do concentrado, na tabela 2. Os animais receberam também 10 ml de suplementação vitamínica por dia (VitaGold® laboratório Tortuga), e 200 ml de óleo de soja por dia. Foi fornecido sal mineral à vontade, da marca comercial Coequi® Tortuga.

Tabela 1 - Composição bromatológica, com base na matéria seca, do feno de capim *coast-cross*.

Feno de coast cross	
<i>Nutrientes</i>	<i>Composição</i>
Proteína bruta (%)	7,5
Extrato etéreo (%)	1,2
FDN (%)	76,1
FDA (%)	40,3
Matéria seca (%)	96,5
Matéria orgânica (%)	94,3
Matéria mineral (%)	5,7
Cálcio (%)	0,25
Fósforo (%)	0,21

Tabela 2 - Composição bromatológica, com base na matéria seca, do concentrado.

Concentrado	
<i>Nutrientes</i>	<i>Composição</i>
Proteína bruta (%)	10,00
Extrato etéreo (%)	6,00
Fibra bruta (%)	7,00
Umidade (%)	12,00
Matéria orgânica (%)	94,3
Matéria mineral (%)	10,00
Cálcio (%)	1,50
Fósforo (%)	0,50
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (mín.)	$3,30 \times 10^{10}$ ufc/kg
Gama-orizanol (mín.)	500 mg/kg

4.4 Delineamento e Procedimento Experimental

No presente estudo, as avaliações das variáveis obtidas foram divididas em duas etapas distintas. O procedimento experimental consistiu na suplementação com dimetilglicina, o qual está descrito a seguir. Os doze animais foram divididos em dois grupos de seis animais cada, designados como grupo sem suplementação, denominado Controle e grupo com suplementação (DMG). O grupo DMG recebeu suplementação com dimetilglicina na dose de 3,6 mg/kg de peso vivo, na forma oral, e o outro grupo (Controle) não recebeu a suplementação de dimetilglicina. O suplemento fornecido foi o Fast Horse®, do laboratório Marcolab cuja composição segue na tabela 3.

Tabela 3 - Composição do suplemento com dimetilglicina oferecido aos animais.

Níveis de Garantia por Kg do Produto:	
Dimetilglicina (sob a forma de clodidrato)	78.179g
Veículo q.s.p.....	1.000.00g

Foi observado um período de 30 dias para a adaptação da suplementação e mais 60 dias para avaliação dos grupos totalizando 90 dias de suplementação. Os doze cavalos foram submetidos a um mesmo treinamento para provas de enduro. Cada animal correu durante tempo pré-determinado e distância similares. O treinamento dos animais está representado na tabela 4.

Tabela 4 - Média de treinamento e da prova dos animais, em quilômetros, separados por grupos – DMG e Controle. As atividades realizadas no rodador e a passo foram feitas em média, uma vez por semana cada.

	Exercitador circular	Passo
	Km / semana	
Controle	6,7	5,3
DMG	6,4	5,7

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com medidas repetidas ao longo do tempo. Os dados foram analisados através do programa SAS (Statistical Analysis), utilizando-se proc mixed, e teste t-Student ($P < 5\%$) para comparar os resultados obtidos.

A fim de se facilitar o entendimento, as etapas serão elucidadas em tópicos.

4.4.1 Etapa 1

Os doze animais foram submetidos à colheita de amostras de sangue, estando os mesmos em repouso, através de punção da veia jugular, a cada 15 dias, totalizando oito coletas, denominadas por T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 e T8, sendo que essas coletas iniciaram-se após o período de adaptação ao suplemento.

Para realização das coletas de sangue, utilizou-se seringas descartáveis de cinco mililitros e agulhas calibre 30 x 08, sendo o sangue coletado posteriormente colocado em tubos de *vacutainer* com anticoagulante, armazenados em caixas de isopor com gelo e encaminhados ao laboratório para realização das análises de creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), glicose e lactato sanguíneo. Foram avaliados parâmetros clínicos de frequência cardíaca e frequência respiratória, por meio de auscultação da região cardíaca através de estetoscópio.

4.4.2 Etapa 2

Com a finalidade de se obter uma curva de lactato após exercício, após a última coleta da Etapa 1, denominada por T8, oito animais, sendo quatro pertencentes ao grupo DMG e quatro ao grupo Controle, foram submetidos a exercício de enduro, em passo de trote, percorrendo anel de 1 quilômetro, a velocidade de 25 a 30 quilômetros por hora. Os outros quatro animais não participaram dessa coleta por motivos adversos. Logo após o fim do exercício, imediatamente foram tomadas as frequências cardíacas, e procedeu-se a coleta de sangue, através de punção da veia jugular, a cada dois minutos até o tempo quatro e depois a cada três minutos, totalizando sete coletas, sendo denominadas pela letra M precedida do número que representa os minutos que se passaram após exercício. Sendo assim, M0 corresponde à coleta feita imediatamente após o exercício, M2 a coleta realizada dois minutos depois, M4 aos quatro minutos e assim seguiu-se dessa forma: M6, M9, M12 e M15.

Com o intuito de se comparar os dados de lactato obtidos em laboratório com lactímetro portátil, das amostras de sangue obtidas após exercício, utilizou-se uma gota para procedimento de análise pelo lactímetro. Assim, construíram-se duas curvas de lactato, sendo uma para os resultados obtidos através de análise laboratorial, através de método enzimático, e a outra para os resultados encontrados através de lactímetro portátil. Os dados foram

comparados através do teste de correlação de Pearson, visando buscar padrão de distribuição entre os resultados das duas análises, permitindo correlacioná-los.

4.4.4 Análises laboratoriais

Os parâmetros bioquímicos foram analisados pelo Laboratório Veterinário da Faculdade de Jaguariúna, do município de Jaguariúna, estado de São Paulo. As enzimas creatina quinase e aspartato aminotransferase e o lactato foram dosados por analisador bioquímico semi-automático da marca DRAKE⁸, modelo Quick Lab II, com kits da marca Labtest⁹, sendo as enzimas CK e AST obtidas em modo cinético e o lactato por método enzimático. A glicose foi mensurada por meio do glicosímetro Accu Chek Advantage®¹⁰, com fitas reativas Accu Chek Advantage II®, ambos da marca Roche®.

4.4.5 Lactímetro portátil

As análises realizadas a campo, através do lactímetro Accutrend® Plus, estão descritas a seguir e foram fotografadas a fim de se ilustrar o procedimento, sendo as figuras compreendidas de 3 a 7.

⁸Drake Eletrônica e Comércio Ltda. Biolife Comércio e Representações Ltda. Rua Vicente Ferreira Gomes, 174. Porto Alegre - RS, 91110-420, Brasil.

⁹Labtest Sistemas Diagnósticos Ltda. Av. Isabel Bueno, 948. Belo Horizonte - MG, 31270-000, Brasil.

¹⁰Roche Diagnostics Corp., Indianapolis, IN.

Figura 3 - Coleta de sangue através de punção da veia jugular.

Figura 4 - Determinação da análise a ser realizada no aparelho.

Figura 5 - Colocação da fita teste no aparelho.

Figura 6 - Aplicação do sangue coletado na fita teste.

Figura 7 - Leitura do dado de lactato no aparelho.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão apresentados por tópicos, a fim de se facilitar o entendimento. Ao final, serão discutidas as interações entre eles. De acordo com as análises das variáveis, seguem então em duas etapas.

5.1 Etapa 1

A mesma consiste na avaliação das variáveis obtidas em coletas a cada 15 dias, totalizando oito amostragens.

5.1.1 Frequência Cardíaca

Geralmente, um cavalo bem condicionado vai apresentar uma recuperação da frequência cardíaca dentro dos primeiros 10 minutos da chegada de um exercício (TEIXEIRA-NETO et al., 2004). Nos eqüinos, a frequência cardíaca normal em repouso pode variar entre 32 a 44 batimentos por minuto (CUNNINGHAM, 1999). Nesse trabalho, a frequência cardíaca (FC) foi obtida com os animais em repouso. A tabela 5, a figura 8 e o gráfico 1, ilustram essas medidas ao longo do tempo.

Tabela 5 - Medidas de frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.

	Controle	DMG	CV
	bpm		%
T1	34,00	38,00	8,52
T2	38,00	39,00	17,66
T3	36,00	37,00	7,35
T4	35,00	37,00	8,58
T5	33,00	35,00	8,54
T6	36,00	37,00	8,55
T7	35,00	37,00	8,19
<i>Médias</i>	<i>35,29</i>	<i>37,14</i>	
CV (%)	12,9	7,45

Figura 8 - Medidas de frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.

Gráfico 1 - Dados da frequência cardíaca (bpm) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.

As médias encontradas foram de 37 bpm para o DMG e 35 bpm para o Controle, cujos coeficientes de variação foram 12,9% e 7,45%, respectivamente.

Em trabalho com suplementação de óleo para animais de enduro, Teixeira-Neto et al. (2004) observaram médias de frequência cardíaca, no grupo controle, que variaram entre 36 a 47 bpm, logo após percorrerem anel de enduro de 30 a 60 km. Os resultados de frequência cardíaca não diferiram entre si ($P < 0,001$), podendo-se considerar todas as médias iguais, ou seja, a suplementação com dimetilglicina não influenciou nas taxas de FC.

5.1.2 Frequência Respiratória

A frequência respiratória normal em repouso nos equinos varia de 8 a 16 respirações por minuto (CUNNINGHAM, 1999). A tabela 6, a figura 9 e o gráfico 2 ilustram essas medidas ao longo do tempo.

Tabela 6 - Medidas de frequência respiratória em respirações por minuto (rpm) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.

	Controle	DMG	CV
	rpm		%
T1	13,00	12,33	15,55
T2	12,33	12,67	15,44
T3	12,00	13,00	9,95
T4	12,67	12,00	12,06
T5	12,00	11,67	11,30
T6	10,40	12,00	12,97
T7	10,17	11,00	12,39
<i>Médias</i>	<i>11,80</i>	<i>12,10</i>	
CV (%)	15,25	12,94

Figura 9 - Medidas de frequência respiratória em respirações por minuto (rpm) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.

Gráfico 2 - Dados da frequência respiratória (rpm) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.

Puoli Filho et al. (2007), avaliando animais de enduro, obtiveram médias de FR variando entre 21 rpm (antes de prova de enduro) e 50 rpm (logo após percorrida distância de 60 km) dados que corroboram com outros autores e que situam-se dentro do esperado.

No presente trabalho, as médias de FR para ambos os grupos, DMG e Controle, foi de 12 rpm, o que situa-se dentro do esperado; não houve diferença entre os dados dos grupos e nem interação das médias com o tempo.

5.1.3 Creatina quinase

Segundo Kowal et al. (2006), o valor basal da enzima creatina quinase em cavalos da raça Puro Sangue Inglês (PSI) é de 105,00 U/L; Michima, Mirandola e Fernandes (2010) obtiveram valor de CK de 164,00 U/L em animais de enduro da raça Árabe, no dia anterior à competição. Câmara e Silva et al. (2007) coletaram amostras de sangue de diferentes grupos, sendo obtidos os valores de CK para animais atletas de $80,2 \pm 10,7$ U/L. Os valores basais dessa enzima variam de acordo com o condicionamento e treinamento dos animais.

Os dados obtidos no presente estudo encontram-se na tabela 7, na figura 10 e no gráfico 3.

Tabela 7 - Médias da enzima creatina quinase em unidades por litro (U/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.

	Controle	DMG	CV
	U/L		%
T1	429,33	394,50	33,79
T2	426,00	442,17	20,94
T3	364,67	301,83	45,44
T4	504,00	425,17	32,94
T5	529,17	369,00	34,83
T6	546,21	558,67	35,57
T7	489,83	412,50	24,48
T8	495,46	416,07	25,66
<i>Médias</i>	473,08	415,07	
CV (%)	31,53	34,74

Figura 10 - Médias da enzima creatina quinase em unidades por litro (U/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.

Gráfico 3 - Dados da enzima creatina quinase (U/L) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.

A atividade de CK possui uma média correlação linear positiva com a distância percorrida, ou seja, quanto maior a distância e a carga de trabalho, maior a demanda de trabalho muscular esquelético e, por conseguinte, maiores os valores da enzima CK. O exercício físico de longa duração e média intensidade levam a aumento significativo da CK (MICHIMA, MIRANDOLA e FERNANDES, 2010). Esses mesmos autores avaliando animais atletas de enduro obtiveram medidas médias de CK variando entre 164,00 U/L (animais em repouso) a 1228,00 U/L (animais logo após prova enduro) e concluíram haver possibilidade de lesão muscular em alguns animais que terminaram a prova, devido ao alto valor da enzima.

A atividade desta enzima pode ser resultado do aumento do extravasamento das fibras musculares intactas, pelo simples aumento da atividade muscular, sem, portanto haver uma alteração permanente na integridade celular (MAIR et al. 1999).

No presente estudo, foi observado efeito significativo do tempo ($P < 0,05$), os dados entre os grupos não diferiram, porém pode-se observar menor valor sérico de CK no grupo suplementado, o que sugere que a suplementação com DMG pode ter influenciado na secreção dessa enzima; sendo os dados variando dentro da normalidade esperada. A média para o grupo Controle foi de 473,00 U/L e para o DMG foi de 415,00 U/L, cujos coeficientes de variação foram 31,5% e 34,7%, respectivamente.

Segundo observado por Kowal et al. (2006), animais com melhor condicionamento físico apresentam menor elevação da atividade sérica de CK após exercício. Através da observação dos valores obtidos das enzimas AST e CK desse trabalho, pode-se afirmar que os animais não apresentaram lesão muscular.

5.1.4 Aspartato Aminotransferase

Brandi et al. (2008) e Valberg et al. (1993) citam como normais os valores inferiores a 550 U/L da enzima aspartato aminotransferase. Em trabalho com animais da raça PSI, Balarin et al. (2005) obtiveram valor de $141,05 \pm 22$ U/L da AST em animais antes de iniciarem treinamento. Caiado et al. (2011) obtiveram valores séricos de AST em animais da raça Quarto de Milha, antes de prova de laço, de 210 U/L.

Os dados obtidos nesse trabalho seguem na tabela 8, na figura 11 e no gráfico 4.

Tabela 8 - Médias da enzima aspartato aminotransferase em unidades por litro (U/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.

	Controle	DMG	CV
	U/L		%
T1	330,17	367,17	33,90
T2	359,50	338,67	18,86
T3	338,50	289,17	33,84
T4	314,17	332,67	33,49
T5	306,50	271,33	14,23
T6	318,03	291,17	24,47
T7	296,00	259,00	14,05
T8	310,46	288,19	8,68
<i>Médias</i>	<i>321,67</i>	<i>304,67</i>	
CV (%)	20,27	31,46

Figura 11 - Médias da enzima aspartato aminotransferase em unidades por litro (U/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.

Gráfico 4 - Dados da enzima aspartato aminotransferase (U/L) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.

Com relação à AST, não houve interação entre os dados do grupo suplementado e não suplementado, porém foi observado efeito significativo do tempo ($P < 0,05$), visto que as médias de ambos os grupos foram decrescentes com o passar do período. As médias de AST para os grupos foram de 321,00 U/L para o grupo Controle e 304,00 U/L para o grupo DMG; segundo Jones (1989), somente valores maiores que 550,00 U/L poderiam estar correlacionados com um certo grau de lesão muscular. Porém, para avaliar as lesões musculares deve-se ter cautela, pois não há correlação entre a lesão muscular e a atividade sérica apenas dessa enzima.

Em trabalho com avaliação de machos e fêmeas equinas da raça PSI submetidos a diferentes exercícios, Balarin et al. (2005) obtiveram resultados diferentes entre os sexos, sendo os valores médios para as fêmeas de 140,40 U/L e de 141,00 U/L para os machos, antes do exercício. Essa enzima é dependente de vários outros fatores que apenas a execução de exercício, o que poderia explicar tal diferença. Esses mesmos autores observaram médias de AST logo após o exercício de 244,0 U/L para machos e de 301,0 U/L para fêmeas, e afirmaram que as concentrações de AST podem ser influenciadas pela fase de treinamento e pelo tipo de exercício.

Avaliando que o esforço fatigante pode resultar em elevações das atividades plasmáticas de CK, AST e LDH, sem nenhum sinal de lesão ou rigidez muscular, também se torna complicado definir o limite funcional ou fisiológico das alterações patológicas (MUÑOZ et al. 2002).

5.1.5 Glicose

Ferraz et al. (2010), observaram valores basais de glicose em cavalos da raça Árabe de 72 mg/dL em animais sem treinamento e de 90 mg/dL em animais treinados em repouso. Na avaliação de animais da raça Brasileiro de Hipismo (BH), através de treinamento em esteira e para prova de Salto, Santos (2006) observou valor basal de glicose de 90 ± 18 mg/dL. Os dados obtidos no presente estudo seguem na tabela 9, na figura 12 e no gráfico 5.

Tabela 9 - Médias de glicose em miligramas por decalitro (mg/dL) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.

	Controle	DMG	CV
	mg/dL		%
T1	65,00	72,33	12,36
T2	69,50	70,83	11,02
T3	76,83	68,83	11,65
T4	71,67	73,00	9,10
T5	71,00	66,67	5,87
T6	58,88	62,33	17,29
T7	62,66	67,00	16,62
T8	42,00	41,50	33,23
<i>Médias</i>	<i>64,69</i>	<i>65,31</i>	
CV (%)	19,23	17,25

Figura 12 - Médias de glicose em miligramas por decalitro (mg/dL) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.

Gráfico 5 - Dados de glicose (mg/dL) de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.

A glicose plasmática geralmente aumenta com todas as formas de exercício por causa da estimulação da gliconeogênese hepática. No entanto, com o exercício prolongado, as concentrações de glicose irão diminuir como resultado da depleção de glicogênio hepático (TRILK et al. 2002). No presente estudo, os dados não sofreram alteração ao longo do tempo, não apresentando diferença entre os grupos. A média de glicose do grupo Controle foi de 64,69 mg/dL e no DMG foi de 65,31 mg/dL, sendo sua variação dentro dos valores esperados.

Segundo Fernandes e Larsson et al. (2000), ocorre decréscimo de glicose logo após exercício porque a glicose é a principal fonte energética para a contração muscular que ocorre, predominantemente, por via aeróbica, nos animais submetidos a provas longas como o enduro. Porém, após exercício intenso, ocorre aumento da glicemia devido ao incremento da glicogenólise e da neoglicogênese hepática (FERRAZ et al. 2010).

As medidas de glicose obtidas corroboram com dados de Fernandes e Larsson (2000) que observaram valores de glicose para cavalos atletas de enduro variando entre 64,8 mg/dL a 103,6 mg/dL.

5.1.6 Lactato

Em animais em repouso, Santos (2006) obteve valor de lactato de $0,6 \pm 0,15$ mmol/L. Mattos et al. (2006) trabalhando com cavalos sem raça definida (SRD) de trabalho moderado observaram média de lactato, antes do exercício, de 0,58 mmol/L. Ao avaliar animais de diferentes raças e idades em uma prova de Concurso Completo de Equitação (CCE), Gomide et al. (2006) observaram valores basais de lactato de 1,50 mmol/L. Segundo McGowan (2008), em cavalos de corrida, os níveis basais de lactato plasmático variam entre 0,5 a 1,0 mmol/L.

Os dados obtidos nesse trabalho para lactato encontram-se na tabela 10, na figura 13 e no gráfico 6. Nota-se que o dado de lactato do último tempo (T8), foi obtido através de curva, sendo discutida separadamente, pois foi obtida após teste de exercício.

Tabela 10 - Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.

	Controle	DMG	CV
	mmol/L		%
T1	1,63	1,10	31,22
T2	1,40	0,94	41,87
T3	1,06	1,50	34,13
T4	1,32	0,92	34,74
T5	1,46	1,16	25,85
T6	1,55	1,63	24,35
T7	1,45	1,05	22,75
<i>Médias</i>	<i>1,41</i>	<i>1,19</i>	
CV (%)	26,91	34,88

Figura 13 - Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L) dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos e respectivos erro padrão da média.

Gráfico 6 - Dados de lactato, em milimoles por litro (mmol/L), de todos os animais, nos referidos tempos de coleta. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.

A média de lactato para o grupo Controle foi de 1,41 mmol/L e no DMG foi de 1,19 mmol/L, cujos coeficientes de variação foram 26,91% e 34,88%, respectivamente, sendo essas médias situadas dentro da normalidade. Watanabe et al. (2006) avaliando equinos da raça Árabe sob exercício em esteira de alta velocidade, obtiveram valores crescentes de lactato, em resposta ao aumento da dificuldade do exercício (inclinação da esteira) e ao tempo de realização do mesmo. As médias encontradas variaram de 1,7 mmol/L antes do exercício, chegando a 14,7 mmol/L após 11 minutos de esteira a velocidade de 10 m/s, o que demonstra a utilização anaeróbia do glicogênio muscular após certo tempo e esforço.

No presente trabalho, a coleta de amostras a cada 15 dias, em animais em fase de treinamento e participando de prova de enduro de longa distância, através da média das coletas, pode indicar bom condicionamento físico dos animais em questão, visto que as médias de lactato permaneceram constantes com o passar do tempo em ambos os grupos. Não houve interação dos dados entre os grupos; o grupo DMG não apresentou variação significativa em relação ao tempo; os dados do grupo Controle variaram com o tempo, sendo diferentes nos tempos 1 e 7 ($P < 0,05$), o que pode ser explicado por variações individuais.

Segundo Ferraz et al. (2010), a realização de exercícios de treinamento em limiar de lactato (4 mmol/L), a 80% de V_4 , faz com que o esforço físico seja exclusivamente aeróbio. No presente trabalho, as médias situam-se dentro desse limiar citado, o que demonstra que a execução dos exercícios de treinamento está ideal para que os animais adquiram condicionamento físico, melhorando a capacidade aeróbia e a resistência do sistema músculo-esquelético, reduzindo a ocorrência de fadiga ou lesão muscular.

5.2 Etapa 2

Essa avaliação compreende as amostragens de lactato obtidas, no último dia de coleta, após exercício, com os respectivos valores da frequência cardíaca de cada tempo e também a comparação entre duas metodologias de análise para o lactato.

Com relação à frequência cardíaca, sabe-se que há um aumento rapidamente no início do exercício, atingindo-se um estado estável em dois a três minutos, sendo este aumento associado à elevação da atividade simpática e/ou a liberação de catecolaminas (MOURA et al. 2011). Os resultados obtidos nesse estudo mostraram haver efeito significativo do tempo ($P < 0,05$), assim como demonstrado no gráfico 7. Não foi observada diferença da frequência cardíaca entre os grupos. Bello et al. (2011) avaliando equinos após exercício prolongado de enduro de diferentes intensidades, observaram valores de frequência cardíaca variando entre 44,5 bpm (em provas de 30 km) a 51,4 bpm (em provas de 60 km), sendo esse aumento justificado pela maior demanda de oxigenação em provas de duração mais longa.

Gráfico 7 - Dados de frequência cardíaca, em batimentos por minuto (bpm), de todos os animais, nos referidos tempos de coleta após exercício. As informações individuais são mostradas pelos círculos fechados, e a média está indicada por diamantes abertos conectados por uma linha.

Na tabela 11, encontram-se os valores de lactato sanguíneo após exercício.

Tabela 11 - Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L) dos grupos DMG e Controle, analisados por método enzimático, em função dos tempos logo após exercício, expressos em minutos, e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.

	DMG	Controle	CV
	mmol/L		%
M0	2,57	2,02	55,33
M2	2,07	1,46	66,31
M4	1,36	1,70	60,92
M6	1,47	1,36	40,22
M9	1,40	1,14	52,60
M12	1,33	1,11	51,88
M15	1,34	1,17	37,62
<i>Médias</i>	<i>1,65</i>	<i>1,42</i>	
CV (%)	71,96	31,09	

A média de lactato, obtida após exercício de treinamento para prova de enduro, foi de 1,65 mmol/L para o grupo Controle e de 1,42 mmol/L para o DMG, sendo esses valores considerados normais. Observa-se tendência de diminuição do valor de lactato nos animais que receberam a suplementação, o que sugere a ação da dimetilglicina no fornecimento de grupos metila para ativação da enzima piruvato desidrogenase. Animais que apresentam grande capacidade aeróbica geralmente têm baixas concentrações de lactato em resposta ao exercício (KOWAL et al. 2006)

Como os animais do presente trabalho praticam provas de enduro, que consiste na realização de exercício aeróbico de longa duração, os níveis de lactato apresentam-se em valores mais baixos do que para animais que realizam exercício de explosão, logo após exercício. Caiado et al. (2011) avaliando cavalos da raça Quarto de Milha praticantes de prova de laço, obtiveram valores de lactato após exercício de 9,86 mmol/L, e afirmaram que houve predomínio da produção de energia por via anaeróbica láctica. Ao avaliar animais da raça PSI submetidos a exercícios em esteira, Kowal et al. (2006), observaram aumento de lactato em resposta ao aumento da velocidade, no período compreendido entre repouso e até 24 horas após término do exercício. O requerimento energético das células musculares em exercícios

de moderada a alta intensidade, diferentemente do enduro, é mantido predominantemente pelo metabolismo anaeróbico da glicose, o que resulta no acúmulo do ácido láctico nas células musculares com conseqüente aumento da acidemia sanguínea (AGUILERA-TEJERO et al. 2000).

No presente estudo, as variações de lactato em ambos os grupos avaliados, após exercício, não foram influenciadas pela suplementação com DMG, tal como havia se esperado. Subentende-se que em animais já condicionados, a ação da suplementação com DMG não se mostra aparente. Pode-se sugerir que há uma tendência em diminuição do lactato de forma mais rápida nos animais que receberam a suplementação com DMG, como pode ser observado no gráfico 8. Em pesquisas antigas, pesquisadores conseguiram observar melhora no desempenho atlético e redução do acúmulo de lactato em cavalos de corrida (CHARLES, 1982; LEVINE et al. 1982; CATOR, 1984; SELLNOW, 1987; JONES, 1988).

Gráfico 8 - Curva das médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L), analisado por método enzimático, dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos após exercício, em minutos, e respectivos erro padrão da média.

Com relação aos dados de lactato, na tabela 12 encontram-se os dados de lactato obtidos através da metodologia de análise por lactímetro portátil.

Tabela 12 - Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L), obtidos através de lactímetro portátil, dos grupos DMG e Controle, em função dos tempos logo após exercício, expressos em minutos, e respectivos coeficientes de variação (CV), expressos em porcentagem.

	Controle	DMG	CV
	mmol/L		%
M0	2,23	2,19	47,76
M2	2,25	1,75	44,48
M4	1,90	1,55	38,30
M6	1,89	1,33	26,86
M9	1,88	1,45	31,50
M12	1,63	1,43	33,61
M15	1,63	1,35	32,42
<i>Médias</i>	<i>1,91</i>	<i>1,58</i>	
CV (%)	43,14	24,31	

Observam-se, nos dados obtidos pelo lactímetro, que houve a mesma variação observada através de metodologia enzimática. Com a finalidade de se facilitar a visualização dos resultados obtidos, foi construído um gráfico (9) onde os dados do aparelho e do laboratório, para lactato, encontram-se juntos.

Gráfico 9 - Médias de lactato em milimoles por litro (mmol/L), analisado por método enzimático em laboratório (Lab.) e através de lactímetro portátil (Apar.), dos grupos Controle e DMG, em função dos tempos após exercício, em minutos, (M0, M2 (...)), e respectivas linhas de tendência linear.

Não foi observada diferença entre os dados obtidos nos dois métodos de análise; através dos gráficos apresentados pode-se inferir que há decréscimo de lactato após exercício com o passar do tempo, indicando que através da oxigenação, pela respiração, ocorre recuperação do lactato a glicose. Quanto à eficácia do lactímetro em comparação às análises laboratoriais, verificou-se que há correlação alta, positiva e significativa entre eles ($r = 0,78$).

No entanto, Teixeira-Neto et al. (2011) avaliando a eficácia do uso do mesmo lactímetro portátil utilizado nesse estudo, para equinos, comparado com método de análise através do aparelho YSI 2300 STAT PLUS, que realiza a mensuração através de eletrodos que determinam a corrente elétrica gerada pela reação catalisada pela enzima lactato-oxidase, encontraram valor de correlação moderado ($r = 0,407$). Essa diferença no valor de correlação pode ser explicada devido a variações na metodologia de análise a qual houve as comparações com o lactímetro portátil, visto que no presente estudo a metodologia de análise utilizada foi o analisador bioquímico semi-automático da marca DRAKE®, modelo Quick Lab II.

6 CONCLUSÕES

A suplementação oral com dimetilglicina para cavalos atletas, em fase de treinamento para provas de enduro de longa distância, não influenciou o desempenho atlético, porém demonstrou tendência, nos animais suplementados, na diminuição da presença de creatina quinase, aspartato aminotransferase e lactato. A utilização de lactímetro portátil, para obtenção de valores de lactato para equinos, mostrou-se viável.

REFERÊNCIAS

- AGUILERA-TEJERO, E.; ESTEPA, J.C.; LÓPEZ, I.; BAS, S.; MAYER-VALOR, R.; RODRÍGUEZ, M. Quantitative analysis of acid-base balance in show jumpers before and after exercise. **Research in Veterinary Science**, London, v. 68, n. 2, p. 103-108, 2000.
- 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 eqüinos puro sangue inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 211-218, 2005.
- BELLO, C. A. O.; VASCONCELOS, C. E. S.; GODOY, R. F.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; BORGES, J. R. J.; LIMA, E. M. M. Ecocardiografia de equinos Puro Sangue Árabe após exercício de enduro de diferentes intensidades. **Ciência rural**, Santa Maria, v.41, n.1, p. 132-136, 2011.
- BETANCOURT, R. **Betafin®** Conceitos básicos e novas aplicações na nutrição de suínos. [s.l.: s.n], 1999.
- BOFFI, F.M. **Fisiologia del ejercicio en equinos**. Buenos Aires: Inter-Médica, 2006. 302p.
- BRANDI R.A.; FURTADO C.E.; MARTINS E.N.; FREITAS E.V.V.; LACERDA-NETO J.C.; QUEIROZ-NETO A. Efeito de dietas com adição de óleo e do treinamento sobre a atividade muscular de equinos submetidos à prova de resistência. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. v. 30, n. 3, p. 307-315. 2008.
- BUDIANSKY, S. **The Nature of Horses – Exploring Equine Evolution, Intelligence, and Behavior**. New York: The Free Press. 290 p. 1997.
- CAIADO J. C.C.; PISSINATE, G. L.; SOUZA, V. R. C.; FONSECA, L. A.; COELHO, C. S. Lactacidemia e concentrações séricas de aspartato aminotransferase e creatinoquinase em equinos da raça Quarto de Milha usados em provas de laço em dupla. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 31, n. 5, p. 452-458, 2011.
- 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 eqüinos de diferentes categorias de atividade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.250-252, 2007.
- CATOR, R.L. Panhandle Regional Veterinary Clinic, Spearman, Texas, personal communication, 1984.
- CHARLES, A. DMG Proving to be a Valuable Aid in Competition. **Horse World**. v. 10, p. 20, 1982.
- CUNNINGHAM, J.G. Termorregulação. In: **Tratado de fisiologia veterinária**. São Paulo: Guanabara Koogan, 1999. p.507-514.

EATON, M. D.; EVASN, D. L.; HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Maximal accumulated oxygen deficit in Thoroughbred horses. **Journal of Applied Physiology**. v. 78, p. 1564-1568, 1995.

ETCHICHURY, M.; GOBESSO, A. A. O. Efeitos da suplementação endovenosa com selênio e vitamina E no sistema glutatona e enzimas musculares de cavalos de enduro. **Revista Brasileira de Medicina Equina**, v. 30, p. 8-11, 2010.

FEI – Fédération Equestre Internationale. **About Endurance**. [200_ ?] Disponível em: <<http://www.horsesport.org/disciplines/endurance/about-endurance><http://www.ker.com/library/advances/147.pdf>>. Acesso em: 23 mar. 2011.

FERNANDES, W. R.; LARSSON, M. H. M. A. Alterações nas Concentrações Séricas de Glicose, Sódio, Potássio, Uréia e Creatinina, em Equinos Submetidos a Provas de Enduro de 30 km com Velocidade Controlada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 393-398, 2000.

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; PEREIRA, M. C.; LINARDI, R. L.; LACERDA-NETO J. C.; QUEIROZ-NETO A. Influência do treinamento aeróbio sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.1, p.23-29, 2010.

FOSCHINI, D.; PRESTES, J.; CHARRO, M. A.; Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 9, n. 1, p. 101-106, 2007.

FRAPE, D. L. **Diet and exercise performance in the horse**. *Proceedings of the Nutrition Society* (1994), **53**,189-206.

FRAPE, D. L. **Nutrição e Alimentação de Equinos**. São Paulo: Roca, 2007.

GEOR, J. R. The role of nutritional supplements and feeding strategies in equine athletic performance. **Equine and Comparative Exercise Physiology**. v. 3, p. 109–119, 2006.

GOMIDE, L. M. W.; MARTINS, C. B.; OROZCO, C. A. G.; SAMPAIO, R. C. L.; BELL, T.; BALDISSERA, V.; LACERDA NETO, J. C. Concentrações sanguíneas de lactato em equinos durante a prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural**, v. 36, n. 2, p. 509-513, 2006.

GRAAF-ROELFSEMA, E.; KEIZER, H.A.; BREDA E.V.; WIJNBERG, I. D.; KOLK, J. H. V. D. Hormonal responses to acute exercise, training and overtraining: A review with emphasis on the horse. **The Veterinary Quarterly**, v. 29, p. 82-101, 2007.

HARRIS, P.A.; HARRIS, R.C. Nutritional ergogenic aids in the horse – uses and abuses. In: CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE, 1998, Cordoba, Espanha. **Anais...** The Netherlands: Wageningen Pers, 1998. 272p.

HOFFMAN, S. L.; GOH, L. M.; LUKE, T. C.; SCHNEIDER, I.; LE, T. P.; DOOLAN, D. L.; SACCI, J.; DE LA VEGA, P.; DOWLER, M.; PAUL, C. Protection of humans against malaria by immunization with radiation attenuated *Plasmodium falciparum* sporozoites. **Journal of Infectious Diseases**, v. 185, p. 1155-1164, 2002.

JONES, W.E. Growing interest in DMG. **Equine Sports Medicine News**, v. 6, n. 3. 1987.

JONES, W. E. Lactic Acid and DMG. **The Quarter Racing Journal**, v. 46, 1988.

JONES, W. E. **Equine sports medicine**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1989.

KENDALL, R.V. e LAWSON, J.W. Recent findings on N,N-dimethylglycine (DMG): a nutrient for the new millennium. **Townsend Letter for Doctors and Patient**, v. 202, p. 75–85, 2000.

KINUNNEN, S.; ATALAY, M.; HYYPPÄ, S.; LEHMUSKERO, A.; HÄNNINEN, O.; OKSALA, N. Effects of Prolonged Exercise on Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Endurance Horse. **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 4, p. 415-421, 2005.

KOBAYASHI, M. Simple Lactate Measurement in Horses Using a Portable Lactate Analyzer with Lancet Skin Punctures under Field Conditions. **Journal of Equine Science**, v. 18, n. 1, p. 5-11, 2007.

KOWAL, R. J.; ALMOSNY, N. R. P.; SUMMA, R. P.; CURY, L. J. Avaliação dos valores hematológicos em cavalos (*Equus caballus*) da raça Puro-Sangue-Inglês (PSI) submetidos a teste de esforço em esteira ergométrica. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 25-31, 2006.

LAWRENCE, B. V.; SCHINCKEL, A. P.; ADEOLA, O.; CERA, K. **Impact of betaine on pig finishing performance and carcass composition**. *Journal of Animal Science*, v. 80, p. 475-482, 2002.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica**. 4. ed. São Paulo : SARVIER, 2006.

LEVINE, S.; MYHRE, G.; SMITH, G.; BURNS, J. Effect of a Nutritional Supplement Containing N,N-Dimethylglycine (DMG) on the Racing Standard Bred. **Equine Practice**, v. 4, 1982.

LINDNER, A.; MOSEN, H.; KISSENBECK, S.; FUHRMANN, H.; SALLMANN, H. P. Effect of blood lactate-guided conditioning of horses with exercises of differing durations and intensities on heart rate and biochemical blood variables. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3211-3217, 2009.

LINDNER, A. Maximal lactate steady state during exercise in blood of horses. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 2038-2044, 2010.

MCGOWAN C. Clinical pathology in the racing horse: The role of clinical pathology in assessing fitness and performance in the racehorse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 24, p. 405-421, 2008.

MAIR, J. Tissue release of cardiac markers: from physiology to clinical applications. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 37, n. 11/12, p. 1077-1084, 1999.

MARTINS, C. B.; OROZCO, C. A. G.; D'ANGELIS, F. H. F.; FREITAS, E. V. V.; CHRISTOVÃO, F. G.; NETO, A. Q.; NETO, J. C. L. Determinação de variáveis bioquímicas em eqüinos antes e após a participação em prova de enduro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 12, n. 1/3, p. 62-65, 2005.

MATTOS, F.; ARAÚJO, K. V.; LEITE, G. G.; GOULART, H. M. Uso de óleo na dieta de eqüinos submetidos ao exercício. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1373-1380, 2006.

MICHIMA, L. E. S.; MIRANDOLA, R. M. S.; FERNANDES, W. R. Estudo da isoenzima creatina quinase CKMB sérica em eqüinos de enduro após exercício físico prolongado. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 1, p. 23-30, 2010.

MINAMI, Y.; KAWAI, M.; MIGITA, T. C.; HIRAGA, A.; MIYATA, H. Free Radical Formation after Intensive Exercise on Thoroughbred Skeletal Muscles. **Journal of Equine Science**, v. 22, n. 2, p. 21-28, 2011.

MORETTIN, P. A.; BUSSAB, W. O. Estatística Básica. 6. ed. São Paulo : Saraiva, 2010.

MOURA, D. J.; MAIA, A. P. A.; VERCELLINO, R. A.; MEDEIROS, B. B. L.; SARUBBI, J.; GRISKA, P. R. Uso da termografia infravermelha na análise da termorregulação de cavalo em treinamento. **Revista de Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 23-32, 2011.

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**, New Market, v. 34, p. 25-251, 2002. Supplement.

PAGAN, J. D.; GEOR, R. J.; HARRIS, P. A.; HOEKSTRA, K.; GARDNER, S.; HUDSON, C.; PRINCE, A. Effects of fat adaptation on glucose kinetics and substrate oxidation during low-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, p. 33-38, 2002. Supplement.

PÖSÖ A.R.. Monocarboxylate transporters and lactate metabolism in equine athletes: A review. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 43, n. 2, p. 63-74, 2002.

PUOLI FILHO, J. N. P.; BARROS NETO, T. L.; RODRIGUES, P. H. M.; GARCIA, H. P. L. Parâmetros Fisiológicos do Desempenho de Cavalos de Alta Performance Hidratados Voluntariamente com Água ou Solução Isotônica contendo Carboidrato. **Brazilian Journal Veterinary Research of Animal Science**, v. 44, n. 2, p. 122-131, 2007.

ROCHE, Portugal. Online. [2010]. Disponível em: <http://www.roche.pt/portugal/index.cfm/produtos/equipamentos-de-diagnostico/products/near-patient-testing/accutrend-plus/>. Acesso em 12 ago. 2011.

ROSE, R. J.; SCHLIERF, H. A.; KNIGHT, P. K.; PLUMMER, C.; DAVIS, M.; RAY, S. P. Effects of N, N-dimethylglycine on cardiorespiratory function and lactate production in

thoroughbred horses performing incremental treadmill exercise. **The Veterinary Record**, v. 125, p. 268-271, 1989.

SCHOTT, H.C.; HINCHCLIFF, K.W. Fluids, electrolytes, and bicarbonate. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v. 9, p. 577-604, 1993.

SANTOS, V. P. Variações Hemato-bioquímicas em Equinos de Salto submetidos a diferentes protocolos de Exercício Físico. 2006. 95 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2006.

SELLNOW, L. DMG, Properties and Proprieties. **The Blood Horse**. 3855, June 1987.

TEIXEIRA-NETO, A. R.; FERRAZ, G. de 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**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1505-1511, 2004.

TEIXEIRA-NETO, A. R.; BOTELHO, R. G.; SOUSA, K. E.; GOMES, J. L.; LIMA, E. M. M. Ineficácia do Aparelho Portátil Accutrend® Plus na Clínica Médica de Equinos. **ARS Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v. 27, n. 1, p. 17-21, 2011.

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 eqüinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal Veterinary Research of Animal Science**, v. 44, n.3, p. 183-190, 2007.

TRILK, J.L.; LINDNER, A. J.; GREENE, H. M.; ALBERGHINA, D.; WICKLER, S. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. Equine exercise physiology. **Equine Veterinary Journal**, v.34, p.122-125, 2002.

VALBERG, S.; JÖNSSON, L.; LINDHOLM, A. Muscle histopathology and plasma aspartate aminotransferase, creatina Kinase and myoglobin changes with exercise in hith recurrent exertional rhabdomyolysis. **Equine Veterinary Journal**, v. 25, p. 11-16, 1993.

WARREN, L. K.; LAWRENCE, L. M.; THOMPSON, K. N. The influence of betaine on untrained and trained horses exercising to fatigue. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 677-684, 1999.

WATANABE, M. J.; THOMASSIAN, A.; TEIXEIRA NETO, F.J.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J.L.M. Alterações do pH, da PO₂ e da PCO₂ arteriais e da concentração de lactato sangüíneo de cavalos da raça Árabe durante exercício em esteira de alta velocidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 320-326, 2006.