

MARIANO ETCHICHURY

**Efeitos da suplementação parenteral com selênio e vitamina E nos
valores hemáticos e séricos de cavalos de enduro**

Pirassununga
2004

MARIANO ETCHICHURY

Efeitos da suplementação parenteral com selênio e vitamina E nos valores hemáticos e séricos em 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 Medicina Veterinária

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso

Pirassununga
2004

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 1442 Etchichury, Mariano
FMVZ Efeitos da suplementação parenteral com selênio e vitamina E nos
valores hemáticos e séricos em cavalos de enduro / Mariano
Etchichury. – Pirassununga : M. Etchichury, 2004.
85 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e
Produção Animal, 2004.

Programa de Pós-graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Fisiologia Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira.

1. Cavalos. 2. Selênio. 3. Vitamina E. 3. Hematologia. 4. Enduro.
I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária “Armando Salles Oliveira”


PARECER

Interessado: Mariano Etchichury

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal.

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, após analisar o projeto sob o número 466/2004, intitulado: “Efeito da suplementação com selênio e vitamina E em cavalos de enduro”, no qual foram utilizados 06 cavalos, sob responsabilidade do Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios da bioética, adotados por esta Comissão.

São Paulo, 05 de maio de 2004

Profª Drª Júlia Maria Matera 
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: ETCHICHURY, Mariano

Título: Efeitos da suplementação parenteral com selênio e vitamina E nos valores hemáticos e séricos de cavalos de enduro.

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

Data: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____.

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____.

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____.

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

A minha mãe e a memória do meu pai, por me inculcarem que os únicos limites que existem são aqueles que cada um se impõe.

A minha esposa e filhas, por me darem a força necessária para continuar.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Alexandre Gobesso, por ter me aberto generosamente as portas da pós-graduação, por seu apoio incondicional e por sua amizade.

Ao Médico Veterinário Silvio Ramos e a sua esposa Tânia, pelo seu carinho e apoio na realização deste experimento.

A FAPESP, pelo financiamento deste estudo.

Ao Prof. Dr. Paulo Mazza e ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima, por terem-me guiado pelos árduos caminhos da estatística.

Ao Sr. Antonio de Azevedo Sodré, por ter brindado desinteressadamente a sua casa e seus cavalos para a realização desta pesquisa.

Ao Zootecnista Marcos Fagundes, pela sua entusiasta colaboração.

Ao Prof. Dr. Wilson Fernandes e a Dra. Clara Satsuki Mori, do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP, pela realização das análises de laboratório.

A Dra. Rosa Ragneri, do Laboratório "Vitalabor" de Leme, pelas análises laboratoriais da primeira fase.

RESUMO

ETCHICHURY, M. **Efeitos da suplementação parenteral com selênio e vitamina E nos valores hemáticos e séricos de cavalos de enduro.** [Effects of parenteral supplementation with vitamin E and selenium in hematic and seric values of endurance horses]. 2004. 85 f. Dissertação (Medicina Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação parenteral com vitamina E e selênio em determinados parâmetros hemáticos e séricos usados comumente na clínica diária em cavalos de enduro. Foram utilizados seis cavalos em treinamento das raças Árabes e Anglo-árabes em um delineamento em *Cross Over* de dois períodos de 84 dias cada, divididos em grupos Tratamento e Controle. Não foi observado efeito de tratamento para as variáveis peso, Ht, contagem eritrocitária, Hg, leucócitos, FC, CHCM, uréia, GSH, creatinina e enzimas LDH, CK, GGT e GPx. Os valores de enzimas LDH e CK em repouso ficaram muito por cima dos níveis de referência em ambos grupos. No dia 70 foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) para VCM e HCM, correspondendo o valor menor ao grupo tratamento. As conclusões extraídas deste estudo são: 1. A suplementação parenteral de selênio e vitamina E não influi nos parâmetros analisados em cavalos que treinam e competem em provas de até 60 km. 2. Apesar de inconstantes, os achados nos valores de VCM e HCM podem sinalizar uma tendência de adaptação ao exercício destes valores hematimétricos em animais com melhor defesa antioxidante.

Palavras-chave: Cavalos. Selênio. Vitamina E. Hematologia. Enduro.

ABSTRACT

ETCHICHURY, M. **Effects of parenteral supplementation with vitamin E and selenium in hematic and seric values of endurance horses.** [Efeitos da suplementação parenteral com selênio e vitamina E nos valores hemáticos e séricos de cavalos de enduro]. 2004. 85 f. Dissertação (Medicina Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.

The aim of this study was to measure the effects of parenteral supplementation with selenium and vitamin E in predetermined hematic and seric parameters commonly used in endurance horse daily clinic. Six Arab and Anglo-Arab horses in endurance training were used in a Cross Over experimental design of two periods of 84 days each, divided in Treatment and Control groups. No treatment effects was detected for weight, PCV, RBC, Hg, leucocytes, HR, MCHC, GSH, urea, creatinine and LDH, CK, GGT, GPx enzymes. The LDH and CK values were high than those used as reference in both groups. In 70'th day was observed a statistical difference ($p < 0,05$) for MCV and MCH parameters, with the lowest value in the treatment group. The following conclusions were extracted from this trial: 1. A parenteral supplementation with selenium and vitamin E had no effect in the examined parameters in horses training and competing in races till 60 km. 2. Despite the inconsistency of MCV and MCH finds, this observation can indicate an exercise adaptation tendency of this hematimetric values in horses with better antioxidant defense.

Key words: Horses. Selenium. Vitamin E. Hematology. Endurance.

INDICE DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
bpm	Batimentos por Minuto
CBH	Confederação Brasileira de Hipismo
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CK	Creatininkinase
CPK	Creatinifosfoquinase
CV	Coefficiente de Variação
dL	Decilitro
FC	Frequência Cardíaca
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FEI	Federation Equestre International
fL	Femtolitro
GGT	Gama Glutamil Transferase
GLM	General Linear Model
GPX	Glutaciona Peroxidase
GR	Glutaciona Reductase
GSH	Glutaciona Reduzida
GSSG	Glutaciona Oxidada
h	Hora
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
Hg	Hemoglobina

Ht	Hematócrito
HR	Heart Rate
Km	Kilometro
LDH	Lactato Deshidrogenase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
mg	Miligramas
mL	Mililitro
NRC	National Research Council
PCV	Packed Cell Volume
RBC	Red Blood Cell Count
S.A.S.	Statistical Analysis System
SOD	Superóxido Dismutase
UI	Unidade Internacional
U/L	Unidade por Litro
UV	Ultra Violeta
VCM	Volume Corpuscular Médio
VDDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
Vit E	Vitamina E

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	<i>ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO</i>	18
2.2	<i>GLUTATIONA PEROXIDASE</i>	19
2.3	<i>SELENIO</i>	21
2.4	<i>VITAMINA E</i>	23
2.5	<i>FREQÜÊNCIA CARDÍACA</i>	27
2.6	<i>ERITRÓCITOS</i>	29
2.7	<i>LEUCÓCITOS</i>	30
2.8	<i>HEMATÓCRITO</i>	31
2.9	<i>VALORES HEMATIMÉTRICOS</i>	31
2.10	<i>CREATININFOSFOQUINASE</i>	32
2.11	<i>GAMMAGLUTAMILTRANSFERASE</i>	33
2.12	<i>LACTATODESHIDROGENASE</i>	34
2.13	<i>GLUTATIÓNA REDUZIDA</i>	34
2.14	<i>URÉIA</i>	35
2.15	<i>CREATININA</i>	36
2.16	<i>PESO</i>	37
3	OBJETIVOS	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	<i>LOCAL</i>	39
4.2	<i>ANIMAIS</i>	39
4.3	<i>PROGRAMA DE TREINAMENTO</i>	40

4.4	ALIMENTAÇÃO	40
4.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	41
4.6	COLETA DE AMOSTRAS	42
4.7	ANÁLISE LABORATORIAL	42
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	FREQÜÊNCIA CARDÍACA	44
5.1.1	Discussão	45
5.2	HEMÁCIAS	46
5.2.1	Discussão	48
5.3	LEUCÓCITOS	49
5.3.1	Discussão	50
5.4	HEMATÓCRITO	51
5.4.1	Discussão	52
5.5	HEMOGLOBINA	53
5.5.1	Discussão	54
5.6	VOLUME CORPUSCULAR MÉDIO	55
5.7	HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MÉDIA	57
5.8	CONCENTRAÇÃO DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MÉDIA	58
5.6.1	Discussão	60
5.7.1	Discussão	60
5.8.1	Discussão	60
5.9	GLUTATIONA PEROXIDASE	61
5.9.1	Discussão	63
5.10	GLUTATIONA REDUZIDA	64

5.10.1 <i>Discussão</i>	65
5.11 <i>LACTATODESHIDROGENASE</i>	66
5.11.1 <i>Discussão</i>	67
5.12 <i>GAMMAGLUTAMILTRANSFERASE</i>	68
5.12.1 <i>Discussão</i>	70
5.13 <i>CREATININFOSFOQUINASE</i>	70
5.13.1 <i>Discussão</i>	72
5.14 <i>URÉIA</i>	73
5.15 <i>CREATININA</i>	74
5.14.1 <i>Discussão</i>	76
5.15.1 <i>Discussão</i>	76
5.16 <i>PESO</i>	76
5.16.1 <i>Discussão</i>	77
6 CONCLUSÕES	79
7 REFERÊNCIAS	80

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O enduro eqüestre é considerado uma prova eqüestre típica, por avaliar de forma completa as aptidões físicas de treinamento e de adestramento dos cavalos. Segundo definição da Confederação Brasileira de Hipismo (CBH), constante no Regulamento Geral de Enduro Eqüestre para o ano de 2000 (Confederação Brasileira de Hipismo, 2004); estas competições são destinadas a provar a capacidade de resistência dos eqüinos, com distancias e velocidades variáveis, realizadas em caminhos, picadas, com passagens naturais por rios, matas e montanhas. Nas ultimas décadas este esporte vem ganhando muitos adeptos em várias partes do mundo. No Brasil a primeira prova de enduro eqüestre aconteceu em Tremembé, interior de São Paulo, em 8 de outubro de 1989, ocasião em que 25 conjuntos largaram para cumprir um percurso de 60 km com velocidade controlada de 12 km/h. Atualmente, o enduro eqüestre e uma modalidade que vem crescendo de maneira constante ano trás ano, tanto em número de participantes como de provas e campeonatos, nos últimos anos já com projeção internacional (Confederação Brasileira de Hipismo, 2004).

Por se tratar de uma atividade relativamente nova com as suas peculiaridades é crescente o interesse no conhecimento mais profundo na área da fisiología deste tipo de exercício, uma vez que a maior parte das referências utilizadas para alavancar programas de treinamento e de alimentação provem do âmbito das corridas, do pólo e do hipismo, modalidades bem estudadas, mas cujos resultados não explicam ou muitas vezes contradizem muitos dos fenômenos observados no enduro. Os poucos estudos feitos com animais que praticam esta modalidade expõem diferenças

marcantes com aquelas modalidades clássicas, como a acidúria paradoxal com alcalose metabólica, diminuição do hematocrito em lugar de aumento como acontece nas corridas e no pólo, uso de recursos e vias energéticas diferentes, massas musculares menores em proporção aos ossos para facilitar a perda de calor, em contraposição as grandes massas musculares necessárias para um exercício de potencia em anaerobiose, constituindo estes somente alguns exemplos dos primeiros avanços obtidos em um campo cuja amplitude se desconhece. A fisiologia do exercício, particularmente no que se refere ao stress oxidativo, toma no caso do enduro uma especial relevância, e as substancias antioxidantes como a vitamina E e as metaenzimas que contem selênio, ocupam um lugar de destaque no estudo da prevenção do dano celular mediante a neutralização dos radicais livres produzidos em grande escala nos exercícios físicos prolongados, e cujos efeitos deletérios podem atingir e danificar diversos sistemas orgânicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

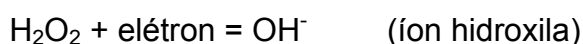
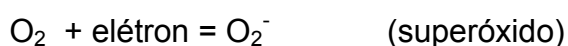
Dentro de um alto padrão de competitividade, os cavalos são alimentados e exercitados visando atingir os melhores resultados. O cavalo atleta tem uma grande capacidade de produzir trabalho, reflexo de um organismo competente para armazenar e utilizar energia (LUCKE; HALL, 1978). Essa capacidade de transformar moléculas em energia tem como característica gerar também um grande número de metabólitos, muitos deles nocivos, que precisam ser neutralizados e eliminados.

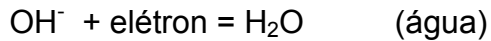
Segundo Lewis (2000) a oxidação é o processo metabólico através do qual a gordura, os carboidratos e a proteína são convertidos em dióxido de carbono, água e energia, e como consequência da redução do oxigênio em água produz-se radicais livres. O mesmo autor comenta que uma deficiência na remoção destes resíduos metabólicos pode resultar em lesão oxidativa das biomoléculas celulares, sendo os ácidos graxos insaturados que compõem as membranas celulares particularmente sensíveis a esta ação aumentando consequentemente a formação de compostos peróxido-lipídicos durante o exercício físico como resultado da formação de uma grande quantidade de radicais de oxigênio. No mesmo sentido, Powers (1999) demonstrou que o aumento da taxa metabólica da musculatura esquelética durante atividade contrátil resulta em aumento na produção de radicais livres; porém, afirmou também que exercícios regulares resultariam na adaptação da capacidade antioxidante da musculatura esquelética, protegendo os tecidos musculares dos efeitos prejudiciais oriundos da formação destes radicais. Também Ji (1999), comunicou que exercícios extenuantes aumentam o consumo de oxigênio podendo assim causar distúrbios na homeostase pró-oxidante e antioxidante intracelular,

aclarando que reações oxigênio–reativas criam sérias ameaças para o sistema de defesa antioxidante celular, tais como diminuição da reserva de vitaminas antioxidantes e Glutathione Peroxidase (GPx), e um aumento na susceptibilidade às lesões oxidativas nos tecidos.

2.1 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

A oxidação proporciona a energia necessária para a manutenção da integridade e função celular, sendo que a maior parte do oxigênio consumido forma dióxido de carbono e água como produto final da respiração aeróbica a nível mitocondrial; porém, uma quantidade estimada em 1-2% de este oxigênio não é completamente reduzido durante este processo e forma espécies reativas de oxigênio (ERO), que são substâncias altamente instáveis que podem reagir com diversas estruturas celulares tais como material genético e membrana celular produzindo danos severos, e em muitos casos até irreversíveis (CLARKSON; THOMPSON, 2000). Em um detalhado trabalho sobre o funcionamento mitocondrial Vercesi (2003) comentou que a reação entre oxigênio e hidrogênio ($O_2 + 2 H_2$), considerada extremamente exergônica é produzida na cadeia respiratória mitocondrial, e que resulta na adição de 4 elétrons ao gás oxigênio até a formação final de água; porém esta adição é feita elétron por elétron, sendo este mecanismo o responsável pela geração de compostos intermediários altamente reativos; assim temos:





Esta redução de oxigênio até água acontece de forma fisiológica na cadeia respiratória mitocondrial, constituindo a via mais comum de geração de ERO durante o exercício. Outras fontes de ERO menos habituais são as reações de Fenton e Haber-Weiss, usadas pelas células sanguíneas da série branca para produzir radicais destinados a destruir microrganismos patógenos. O íon superóxido (O_2^-), que se gera acrescentando um elétron ao oxigênio seja por reações espontâneas com diversos metais ou no metabolismo celular, é neutralizado pela enzima Superóxido Dismutase (SOD), que transforma duas moléculas de superóxido em uma molécula de oxigênio (O_2). O peróxido de hidrogênio se obtém da captação por parte do superóxido de mais um elétron, formando assim uma molécula de O_2 com 2 elétrons excedentes e por tanto extremamente reativa. As enzimas Catalase e Glutaciona Peroxidase são as encarregadas de neutralizar este tipo de radical, além dos lipoperóxidos. A Catalase converte o peróxido de hidrogênio em água liberando um oxigênio altamente reativo com dois elétrons desemparelhados, já a Glutaciona Peroxidase acaba definitivamente com estes radicais, gerando apenas água e oxidando Glutaciona. O íon hidroxila (OH^-) provém da adição de três elétrons à molécula de oxigênio, e é neutralizado por outra via.

2.2 GLUTATIONA PEROXIDASE

Em um conciso trabalho de revisão bibliográfica Cisneros (1996) descreve a Glutaciona Peroxidase como uma enzima selenodependente, que em conjunto com outras substâncias antioxidantes participa nas transformações das ERO catalisando a redução do peróxido ou lipoperóxido, usando como agente redutor a Glutaciona

Reduzida (GSH). Esta enzima desempenha um papel vital na defesa antioxidante na fase hidrossolúvel celular em todos os órgãos e tecidos como parte do sistema antioxidante da glutathione. O mesmo autor descreve vários tipos de GPx, entre as quais pode-se mencionar uma forma intracelular (GPx-c), uma extracelular ou plasmática (GPx-p) e outra com atividade específica para os fosfolipoperóxidos (GPx-PH) que geralmente esta associada à membrana.

A GPx-c tem maior afinidade pelos peróxidos que pelos lipoperóxidos, em tanto que a GPx-p tem uma afinidade semelhante para ambos os substratos. Tanto a GPx-c como a GPx-p utilizam como substratos os peróxidos e lipoperóxidos, porém, não são capazes de utilizar os fosfolipoperóxidos que são o substrato principal da GPx-PH (LAM et al., 1993). Nas diferentes GPx a estrutura do centro catalítico, que é constituído por um átomo de Se unido de forma covalente a um resíduo de cisteína, se conserva quase que intacta, o que reforça a hipótese de que o mecanismo de ação é igual para todas elas (NAKANO et al., 1992).

Em outro estudo Powers (1999) comunicou que exercícios de treinamento resultam numa elevação da atividade da GPx e no aumento da sua concentração na musculatura esquelética. Tal aumento de concentração teria por finalidade reduzir o risco de lesão celular, retardando assim a fadiga muscular e melhorando a performance. No mesmo sentido Avellini (1999) observou in vitro um aumento da resistência de células vermelhas ao estresse peroxidativo e a atividade da GPx nos linfócitos, utilizando amostras de sangue de cavalos de corrida submetidos a treinamento diário e suplementados com Vit E e Se. Os resultados obtidos indicaram que o treinamento e a suplementação com Vit E/Se aumentam às defesas antioxidantes tanto no fluido extracelular como nos eritrócitos, diminuindo como consequência os transtornos peroxidativos pós-exercício. Em um outro experimento,

Frankieweiz et al. (2000) trabalhando com cavalos de enduro competindo em provas de 160 km revelaram que os níveis de GPx do sangue total aumentavam de quarto a cinco vezes na metade do trajeto da prova, voltando a valores basais 12 horas após a mesma.

2.3 SELÊNIO

O selênio é um metalóide relativamente raro e com propriedades químicas semelhantes ao enxofre (NUNES, 1998). Este mineral foi classificado como nutriente essencial em 1957 após Schwarz e Foltz associarem a sua deficiência como causadora de necrose hepática em ratos. De acordo com Allaway (1973), as enfermidades causadas por insuficiência de Se nos animais domésticos são de ampla distribuição mundial. O interesse neste metal no presente estudo é por ser o principal componente da enzima Glutathione Peroxidase (GPx). Segundo descrições do National Research Council (1989) os animais têm acesso ao Se por meio das pastagens ou rações que o contenham na sua formulação. Áreas destinadas à pastagem de eqüinos de alto desempenho ou a produção de feno de gramíneas apresentam aspectos da agricultura moderna caracterizada pela mecanização, irrigação e fertilização constante (BLOOD, 2002). Este autor considera que além das muitas interações entre elementos químicos, os fatores que agem sobre o equilíbrio físico-químico do solo, tais como adubação e manejo das pastagens, podem afetar a disponibilidade de minerais para as plantas e conseqüentemente para os animais. O impacto causado pela aplicação de grandes quantidades de fertilizantes químicos sobre o equilíbrio mineral do solo e, portanto, sobre o perfil mineral das plantas, irá refletir conseqüentemente no *status* metabólico dos animais que são alimentados com estas forragens, assim, pastos ou volumosos oriundos de campos que

receberam adubação pesada com produtos a base de sulfato, têm baixo nível de captação de Se pelas plantas, uma vez que aumenta a competência pela absorção vegetal. Segundo Lewis (2000), o teor de Se nas forragens varia de solo para solo e até no mesmo solo. O teor deste elemento, a presença de sulfatos e a acidez do solo constituem os principais fatores que influenciam a absorção do mesmo pelas plantas. Áreas com precipitações pluviométricas menores que 500mm/ano são menos sujeitas a deficiência de Se devido a uma acidez mais moderada. Os níveis de Se achados no estado de São Paulo em diversos capins só foram suficientes no litoral e no Vale do Paraíba (> 0,1 ppm), sendo que no centro norte e oeste estes níveis não foram atingidos segundo comunicou Ortolani (1989), quem recomendou em um trabalho de revisão sobre deficiência de Se em animais domésticos no Brasil, a suplementação com Selenito de Sódio, tanto na forma oral como na forma injetável, para a prevenção e tratamento da deficiência de Se nos animais domésticos. Na prática a suplementação de Se é limitada somente por recomendações nutricionais das fábricas de ração. A quantidade diária requerida por equinos adultos para manutenção está estimada em 0,1 mg/kg da dieta. Estes requerimentos estão baseados em estudos que avaliaram a relação entre consumo de Se e Se no sangue em cavalos maduros (National Research Council, 1989). Diversos autores estudaram os efeitos da suplementação com Se e a sua relação com o Se plasmático e a GPx em cavalos Árabes e os seus cruzamentos submetidos a programas de condicionamento, observando um aumento na atividade da GPx eritrocitária sugerindo que a maiores intensidades de exercício maior necessidade de Se (PAGAN et al., 1999). Neste sentido Araya et al. (2004) aplicaram Selenato de Bário intramuscular em cavalos crioulos mantidos a campo e usaram como referência a GPx eritrocítica para avaliar o status de Se e acharam um aumento significativo de

GPx nos animais tratados quando comparados com o grupo controle que começou no dia trinta e estendeu -se ate os 180 dias.

Por outro lado, e importante considerar que os exercícios prolongados aumentam o filtrado glomerular renal, aumentando assim a excreção de selênio pela via urinaria, efeito este que é mais intenso quando a fonte é o selenito de sódio e menor no caso do Se orgânico (PAGAN, 1999). Segundo Blackmore (1979) a administração de Se pode aumentar o rendimento de cavalos que tenham deficiência de Se, indicadas por níveis séricos inferiores a 0,06-0,1 ppm, mas que não apresentam sinais clínicos de deficiência.

2.4 VITAMINA E

Comenta Lewis (2000) que após a descoberta do alfatocoferol, uma grande família de compostos com atividade biológica da vitamina E foi identificada; tais compostos são hoje coletivamente denominados tocóis. Esses tocóis se alojam nas membranas celulares, da mitocôndria, do microsomo e do lisossomo da célula, formando uma união física, de tal forma que o espaço é preenchido pelo anel cromanol e a cadeia fitil fica livre; somente o alfatocoferol e o alfatocotrienol se encaixam ou interdigitam entre os outros lipídeos da membrana, sendo os únicos compostos com atividade biológica efetiva.

Segundo relato de Combs (1998), o papel principal da vitamina E é como agente antioxidante, funcionando na prevenção da oxidação de gorduras e no prolongamento da vida biológica dos ácidos graxos polinsaturados, importante componente da membrana celular e subcelular. Embora existam poucos estudos de como a vitamina E é liberada para os tecidos, este autor indica que tecidos ricos em

receptores lipoproteína de baixa densidade (LDL) ligam-se a fração protéica e, junto com ela, a vitamina E. Outro mecanismo provável envolveria a lipoproteína lipase, que está presente no endotélio de revestimento dos capilares e hidrolisa triglicérides dos quilomícrons e da fração lipoproteína de muito baixa densidade (VDDL), para ácidos graxos livres e monoglicérides. Está enzima, pelo menos in vitro, serve de proteína transferidora de alfa e gamatocoferol para o interior da célula. Tecidos com alta atividade lipoproteína-lipase, tais como o adiposo, muscular e cerebral, provavelmente recebem vitamina E por esse mecanismo.

Usando alfatocoferol marcado por deutério, Burton (1990) não encontrou diferenças entre a forma fenólica e a forma acetato, quanto à absorção, distribuição ou metabolismo, afirmando também que o d-alfatocoferol é a forma mais potente da vitamina E, e não o dl-alfatocoferol sintético.

Níveis farmacológicos usualmente utilizados de vitamina E, de acordo com a literatura, estimulam os mecanismos imunológicos do corpo e aumentam a resistência às infecções virais e bacterianas (HEINZERLINGER et al., 1974).

Afirma Lewis (2000) que as plantas são a principal fonte de vitamina E, que é sintetizada usualmente em associação com gordura ou óleo. Os eqüinos, assim como outras espécies animais, não são capazes de sintetizar alfatocoferol ou converter outros tocóis em alfatocoferol, dependendo por tanto da vitamina E dietética. Segundo o mesmo autor a quantidade de alfatocoferol presente nos alimentos pode variar de 0 (zero) a 300 (trezentas) mg/kg/MS. Esses níveis podem variar em função do estado evolutivo da planta, estação do ano, sistema de colheita e armazenagem.

Alimentos volumosos usualmente empregados na alimentação de eqüinos, como feno, e concentrados como rolão de milho contêm baixos níveis de alfatocoferol (LEWIS, 2000). A vitamina E se distribui largamente em produtos vegetais, sendo

abundante em grãos de cereais integrais, em forrageiras jovens, assim como na alfafa e no feno. Uma maior ingestão de alimento verde, está associada com o aumento das reservas de beta-caroteno principalmente, vitamina B, ácido ascórbico, vitamina K e vitamina E (KOLB, 2000). Este autor sugere que eqüinos que recebem pouca ou nenhuma quantidade de forragem verde devem receber suplementação de 1 (uma) a 2 (duas) g de Vit E, para cada 500kg de peso vivo, indicando também esse tratamento para eqüinos sujeitos a estresse ou com claudicações. Também Takanami (2000), recomenda a suplementação de vitamina E como forma de prevenir danos oxidativos decorrentes de exercício físico. Por outro lado Beech (1997) comunicou que não existe evidência de que a carência de vitamina E seja responsável por síndromes miopáticas.

Em 1975, Hoekstre citado por Putman e Combem (1987) propôs uma teoria ligando a atividade antioxidante da vit. E com a GPx, essa teoria demonstrou que o Se na molécula desta enzima e a vitamina E possuem ação complementar na proteção das membranas celulares, evitando a peroxidação dos ácidos graxos insaturados. Ambos agem protegendo os lipídios das membranas celulares, porém de maneiras diferentes; a vitamina E evita a oxidação de lipídios insaturados interrompendo o efeito domino dos radicais livres na membrana celular, também denominada fase lipossolúvel. O Se atua através da GPx na fase hidrossolúvel, com a finalidade de aumentar a destruição de peróxidos formados pelo metabolismo celular no citosol. Maylin (1980) afirma que a deficiência de Se pode ser indicada pela atividade inferior a 5,8 unidades da GPx, sendo que níveis normais são superiores a faixa de 15 – 30 unidades.

Segundo Ji (1999) antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos tem demonstrado grande adaptação ao exercício agudo e crônico. O delicado equilíbrio

entre pró - oxidantes e antioxidantes sugere que a suplementação de antioxidantes pode ser desejável para indivíduos fisicamente ativos e adaptados ao exercício, gerando assim uma margem maior de proteção ao estresse oxidativo.

Diversas enfermidades de animais de produção estão associadas a deficiências de Se e vitamina E, isoladamente ou em conjunto, em geral ligado a fatores predisponentes importantes como a presença de ácidos graxos insaturados no manejo dietético, exercícios não habituais e crescimento rápido de animais jovens (BLOOD, 2002). Existem doenças que podem ser prevenidas fornecendo Se somente, outras podem ser tratadas fornecendo Vit E/Se, juntas e outras apenas fornecendo vitamina E. As mais importantes estariam relacionadas às desordens reprodutivas, deformação de fígado e miopatias (FEKETE, 1988).

Atribuem-se muitos efeitos benéficos ao Se e a vitamina E, porém de fato existem poucos trabalhos que confirmem que essa suplementação é benéfica para cavalos de esporte sendo a relação entre miopatias e nutrição não muita bem compreendida (LEWIS, 2000).

Chiaradia (1998) suspeitando que a peroxidação lipídica que segue à super produção de radicais livres pode ser uma das causas das miopatias e da hemólise induzidas pelo exercício em cavalos, procurou uma relação entre a peroxidação lipídica e a lesão da fibra muscular. Utilizando um grupo homogêneo de garanhões, submetidos durante um período de treinamento de 3 (três) meses a uma série de exercícios físicos de intensidade progressiva, avaliou a atividade das isoenzimas creatinquinase (CK), lactatodesidrogenase (LDH), e glutaciona-peroxidase (GPx). Os resultados obtidos indicaram que o exercício físico adotado foi capaz de modificar a concentração de GPx contida no sangue.

2.5 FREQUÊNCIA CARDÍACA

A FC nos cavalos de esporte foi matéria de estudo durante muitos anos, ficando bem estabelecidas às diferenças raciais, etárias, de tamanho e treinamento (HODGSON; ROSE, 1994), e é atualmente utilizada pela Federation Equestre Internationale figurando nas suas Normas para Competências de Enduro (FEI, 2000) como parâmetro para avaliar o estado físico dos cavalos em competições devido a sua estreita correlação com valores da bioquímica sangüínea. Oosterbaan et al. (1991) avaliaram cavalos que competiram nos 100 km para estipular a confiabilidade destes dados e concluíram que as mudanças nas FC destes animais estavam associadas a câmbios na concentração de proteína, lactato e eritrócitos no seu sangue; assim, animais eliminados por FC acima do limíte tolerável apresentaram valores de hematócrito, concentração total de proteínas e lactato sangüíneo muito mais elevados que aqueles animais que foram classificados, concluindo que o exame veterinário proposto pela FEI é adequado para prevenir problemas sérios nas provas e para proteger a saúde dos competidores. Bayle et al. (1983) e Rose et al. (1983) estabeleceram que parâmetros de FC e tempo de recuperação após o exercício diminuiriam significativamente em animais após um período de treinamento. O V_{200} é uma medida usada como parâmetro de estado físico e expressa a velocidade que o animal alcança aos 200 batimentos por minuto (bpm), considerado o máximo poder de exercício aeróbico no cavalo. Incrementos de velocidade a V_{200} indicam uma boa adaptação ao exercício, enquanto que uma queda sinaliza o contrario (HODGSON; ROSE, 1994). Estes autores afirmam que a FC basal depende fundamentalmente do grau de relaxamento do individuo, mais os valores normais oscilam entre 25-40 bpm em repouso; porém, estímulos mínimos podem disparar estes valores a 100 bpm

devido a uma eficiente inervação parasimpática. Littlejohn (1987) comunicou que animais treinados apresentam uma FC mais baixa que animais sem treinar, porém outros autores discordam e dizem que a FC basal não se altera com o treinamento (HODGSON; ROSE, 1994). Estes autores afirmam, porém, que pode acontecer uma diminuição da FC durante exercícios submáximos, onde os cavalos treinados apresentariam bpm mais baixos que os não treinados e que estes bpm podem ser usados como indicadores de estado físico se comparados com o mesmo indivíduo. Outro indicador eficiente do condicionamento físico seria o tempo de recuperação dos bpm basais pós-exercício.

Segundo Lewis (2000) a FC basal nos humanos pode diminuir em virtude do condicionamento físico por aumento da descarga sistólica, adaptação esta que permitiria manter o rendimento cardíaco com uma FC mais baixa, fenômeno conhecido como “bradicardia dos atletas”; no entanto, diferente do caso do homem, a descarga sistólica nos eqüinos é pouco influenciada pelo exercício, de forma que a única maneira de aumentar o rendimento cardíaco nesta espécie é por um aumento na FC. Como resultado, embora a FC basal de alguns cavalos diminua um pouco com o condicionamento físico, isso não ocorre em um grau significativo na maioria deles (CAMAS, 1989). Já os aumentos na FC basais têm diversas causas além do trabalho físico, como por exemplo, apreensão, ansiedade, fadiga, desconforto ou dor por qualquer causa e por disfunção respiratória, podendo qualquer um destes fatores ser induzido por excessos de treinamento (ERICKSON, 1989).

2.6 ERITRÓCITOS

Incrementos no número de eritrócitos por mililitro são comuns em cavalos de corrida devido a liberação no torrente circulatório de células vermelhas contidas no baço, que por estímulo do exercício sofre uma contração por ação das catecolaminas com o objetivo de aumentar a capacidade de oxigenação dos tecidos; por esta razão a contagem de hemácias com fins diagnósticos nos cavalos devem ser feitas em repouso para assim possíveis variações terem significado (HODGSON; ROSE, 1994). Estes mesmos autores comunicaram, porém, que o número de hemácias por mililitro pode variar para mais ou para menos dependendo do tipo de exercício a que seja submetido o animal, assim animais destinados a exigências físicas intensas e curtas, predominantemente anaeróbicas, tendem a ter maior número de hemácias que aqueles que fazem exercícios menos intensos e mais prolongados. O número de hemácias desempenha um papel importante no rendimento físico; um aumento facilita a capacidade de transporte de oxigênio, mas dificulta a circulação devido ao sangue ficar mais viscoso, pelo contrario, uma diminuição do mesmo deprime a capacidade de oxigenação mais ao ficar o sangue mais fluido melhora as condições hemodinâmicas facilitando a circulação (FEDDE; ERICKSON, 1998). O treinamento de enduro provocaria uma redução no número de eritrócitos por mililitro devido a um efeito dilucional, uma vez que muitos autores verificaram uma expansão do volume plasmático de até 25% (HODGSON; ROSE, 1994; LECLERC*, 2004).

*LECLERC, J. M. 2004. Comunicação pessoal

2.7 LEUCÓCITOS

De acordo com Kolb (2000), cavalos submetidos a atividades esportivas tem uma atividade do sistema imune reduzida devido ao aumento da secreção de cortisol. Por outro lado Ji (1999) demonstrou que a infiltração leucocitária tissular produzida por exercícios de baixa intensidade e longa duração funcionaria como uma importante fonte secundária de produção de radicais livres seguidamente a um período de exercício, o que pode contribuir para o dano tissular. Este mesmo autor também comunicou que a quantidade de leucócitos circulantes pode aumentar entre 10-30% durante a atividade física dependendo da sua duração e intensidade; portanto, exercícios prolongados e de baixa intensidade produziram uma leucocitose devida fundamentalmente a neutrofilia relacionada com o aumento de cortisol sangüíneo, sendo esta leucocitose mais evidente quanto mais extenuante for o exercício. Em estudos feitos com humanos Hack et al. (1992) demonstraram que o exercício físico exaustivo produz um aumento significativo da contagem celular da serie branca.

Em contraposição a estas observações Hodgson e Rose (1994) comunicaram que o número de leucócitos permanece invariável nos cavalos submetidos a treinamentos de enduro, conclusão alcançada mediante a coleta a cada duas semanas de amostras de sangue de cavalos em treinamento.

2.8 HEMATÓCRITO

O hematócrito reflete a quantidade de massa celular sanguínea circulante sem especificar número ou tamanho, que são os dois parâmetros que podem modificar os resultados (HODGSON, 1994). Este autor comunicou que os cavalos de enduro apresentam geralmente valores de hematócrito em repouso baixos, o que seria devido em grande parte ao provável aumento do volume plasmático como resposta ao treinamento. Também Leclerc* (2004) mencionou uma diminuição da volêmia em cavalos de enduro como resultado do aumento de volume plasmático e com uma diluição da massa celular decorrente do treinamento.

2.9 VALORES HEMATIMÉTRICOS

Trabalhando em esteira com cavalos de corrida executando exercícios submáximos, Masini et al. (2000) observaram câmbios significativos em todos os parâmetros hematimétricos avaliados, menos na hemoglobina corpuscular média (HCM). Os valores de hematócrito e volume corpuscular médio (VCM) aumentaram quando comparados aos seus valores basais, enquanto que a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) diminuiu, provavelmente devido a diluição produzida pelo aumento de tamanho do eritrócito. Também Balogh (2000) também observou uma série de mudanças nestes parâmetros no pós-exercício, com aumentos nos valores de hematócrito, número de eritrócitos e HCM, assim como Hodgson e Rose (1994) acharam valores pós-exercício por cima do basal na HCM, VCM e CHCM. Rose et al. (1983) demonstraram que os aumentos dos números de eritrócitos e leucócitos, do VCM e da hemoglobina (Hg) podem ser observados após

*LECLERC, J. M. 2004. Comunicação pessoal

cinco minutos do exercício feito em trote, com velocidade equivalente a 12 km/h. Neste experimento, que limitava o tempo de exercício a 15 minutos, somente a taxa de Hg sérica apresentou, aos 15 minutos, valores maiores do que aqueles observados aos 5 minutos. Oosterbaan et al. (1991), trabalhando com eqüinos mestiços e das raças Puro Sangue Árabe e Manga-larga submetidos a provas de enduro de 30 km concluíram que ocorre um aumento significativo do VCM durante e após este tipo de exercício. Pelo contrario Revington (1983), trabalhando com cavalos PSI, determinou que não existiria diferença significativa quanto a número de hemácias, leucócitos, VCM e Hg nas amostras colhidas de animais vencedores e perdedores, não estabelecendo correlação entre valores hemáticos e performance.

2.10 CREATINIFOSFOQUINASE

A CPK é uma enzima que se encontra nas células musculares, e segundo Robinson (1992) o seu aumento é indicação altamente específica da degeneração do músculo esquelético. Aitiken et al. (1974) estudaram as variações da CPK e da lactatodesidrogenase (LDH) no sangue de PSI e em eqüinos utilizados para serviços de tração, submetidos a trinta minutos de exercícios físicos. Segundo estes autores os valores de CPK achados não podem ser interpretados como parâmetros sensíveis para evidenciar o preparo físico destes animais se observados imediatamente após o exercício, pois os níveis mais evidentes destas enzimas aparecem entre 5 e 6 horas após o início do exercício. A CPK, junto com a LDH geralmente aumenta seus níveis séricos em cavalos que praticam esportes, mesmo nos cavalos de salto que não tem uma exigência física fora do comum, razão pela qual se acredita que esta elevação se deve mais a um aumento na permeabilidade da membrana mitocondrial suficiente

para permitir a saída destas moléculas que de dano muscular *per se*; quanto mais prolongado for o exercício, ainda que de baixa intensidade, maior os valores de enzimas musculares achados (HOGDSON; ROSE, 1994). Snow (1990) trabalhando com pôneis e cavalos submetidos a treinamento com intensidade e duração diferentes nas provas de "cross country", afirmou que havia nestes animais um aumento significativo nos níveis séricos de glicose, uréia e CPK.

2.11 GAMMAGLUTAMILTRANSFERASE

A GGT é uma enzima de membrana celular que se encontra em diversos tecidos entre eles o hepático, cujos aumentos séricos são normalmente atribuídos a lesões no fígado, pois é a primeira enzima a ter seus valores elevados na presença de uma injúria hepática, mais comumente nas patologias de origem obstrutiva ao nível de condutos biliares (HOGDSON; ROSE, 1994). Trabalhando com cavalos de enduro Snow (1992) relatou que um aumento na atividade plasmática da GGT em mais de duas vezes o valor normal pode ocorrer como resultado de um treinamento exagerado.

No mesmo sentido Leclerc* (2004) comunicou que o fígado dos cavalos de enduro e submetido a um trabalho muito mais intenso que em qualquer outra modalidade esportiva, tendo que depurar do sangue grande quantidade de metabólitos que se produzem principalmente durante provas de várias horas e até dias de duração. Apesar de altos níveis séricos de GGT serem detectados em animais que correm sem problemas, muitos animais apresentam sintomas de baixo rendimento associados a estes achados (HOGDSON; ROSE, 1994).

*LECLERC, J. M. 2004. Comunicação pessoal

2.12 LACTATODESHIDROGENASE

A LDH é outra enzima utilizada no monitoramento do *status* muscular, mesmo não sendo músculo-específica uma vez que pode ser achada em muitos outros tecidos (HOGDSON; ROSE, 1994). Estes autores comunicaram que de um total de cinco isoenzimas existentes, somente as isoenzimas 4 e 5 são específicas do tecido muscular. Na presença de rabdomiólise seus níveis começam a aumentar atingindo um pico às 12 horas e decrescendo paulatinamente durante sete a dez dias. Da mesma maneira que a CPK, a LDH tem seus níveis aumentados em cavalos de esporte, mesmo em aqueles que praticam modalidades menos exigentes, devido também provavelmente a um aumento na permeabilidade da membrana mitocondrial mais que a uma injúria muscular. Fazendo avaliações pós-exercício, Balogh (2000) observou aumentos significativos na atividade tanto da LDH como da CPK quando comparados aos seus valores basais, concluindo que a observação conjunta da LDH e CPK permite estimar o tempo transcorrido a partir do momento da lesão.

2.13 GLUTATIONA REDUZIDA

A gamaglutamilmcistienilglicina (GSH) é um tripeptídeo-tiol presente na maioria das células para neutralizar os radicais livres e é a mais abundante fonte de tiol não protéico da célula; suas principais funções são manter o ambiente intracelular em estado reduzido e proteger os tecidos dos danos oxidativos (JI, 1999). O GSH reduz peróxidos orgânicos e de hidrogênio a traves de uma reação catalisada pela GPx, removendo hidroxilas (OH^\cdot), oxigênio simples (O_2) e radicais tocoferóis, evitando assim a peroxidação lipídica. O GSH é oxidado a GSSG (glutationa oxidada) no

músculo esquelético e cardíaco, e esse GSSG é reduzido a GSH novamente mediante reação da enzima Glutathione Redutase (GR) mantendo assim o estado redox dentro de limites aceitáveis. Segundo Chandwaney et al. (1998), animais exercitados em forma extrema apresentam uma redução do equilíbrio redox do GSH nas mitocôndrias cardíacas e musculares.

A síntese de GSH hepática é estimulada em exercícios prolongados devido a um aumento nos níveis de glucagón e vasopresina plasmáticos, o que mantém a homeostase plasmática a pesar do consumo de GSH muscular (JI, 1999). Eventualmente pode acontecer uma diminuição no GSH muscular e plasmático como consequência de um consumo elevado do mesmo em exercícios muito prolongados que levem a uma diminuição nas reservas hepática de GSH (SEN, 1992).

2.14 URÉIA

A uréia é um produto nitrogenado derivado do catabolismo protéico e os seus níveis séricos no cavalo podem ser influenciados pela quantidade de proteína consumida no alimento ou pelo exercício extremo em animais com função renal normal (BLOOD, 2002). Snow (1990) descreveu uma oscilação nos valores séricos de uréia em animais de raça Árabe que participaram em provas de três dias, correspondendo a um aumento durante e após a prova provavelmente como consequência da desidratação e do catabolismo protéico que geralmente padecem os cavalos de enduro. A proteína serve como fonte de energia em casos extremos em que os combustíveis celulares mais habituais como hidratos de carbono ou lipídeos atingem níveis baixos críticos, a través de um processo em que os aminoácidos são desaminados entrando no ciclo da uréia, podendo eventualmente

ser metabolizados para entrar no ciclo do ácido tricarboxílico em vários pontos (LEWIS, 2000). Em condições normais este aporte de energia é insignificante, mais em animais que competem em provas de exigência física prolongada esta via de obtenção de energia pode ser potenciada (HODGSON; ROSE, 1994)

2.15 CREATININA

A creatinina é uma substância que junto com a uréia são usados principalmente como indicadores da função renal, porém os seus valores podem ser alterados por razões prerenais tais como desidratação e fadiga muscular por exercício prolongado (HODGSON; ROSE, 1994). As alterações de estes valores no repouso são incomuns nos cavalos, podendo ser observado um incremento modesto nos valores de animais em exercício. Estes mesmos autores comunicaram que um incremento nos níveis séricos de uréia e creatinina pode ser observado em animais que fazem exercícios tanto de alta como de baixa intensidade devido fundamentalmente a hemoconcentração e no caso da creatinina a um aumento no metabolismo da fosfocreatina; os níveis séricos de creatinina em animais com função renal normal voltam a valores basais em aproximadamente 60 minutos. Valores altos persistentes após este período tanto de uréia como creatinina podem indicar um compromisso renal devido a uma desidratação com redução do filtrado glomerular, quadro que pode ser observado em cavalos de enduro que participam em provas exaustivas (HODGSON; ROSE, 1994). Em estudos feitos com cavalos de enduro Oosterbaan et al. (1991) observaram aumentos nos teores séricos de creatinina após o final da prova e no dia seguinte, tendência observada tanto nos cavalos ganhadores como em aqueles que foram eliminados por não recuperar os bpm.

2.16 PESO

O peso corporal é um parâmetro freqüentemente desprezado, porém muito significativo como indicador do estado físico e conseqüentemente de saúde nos cavalos esportistas (LEWIS, 2000). Segundo este autor, para a maioria dos eqüinos o peso de desempenho ideal é uma condição corporal moderada. O problema que se apresentaria em cavalos por embaixo desta condição seria uma diminuição nas reservas de fornecedores de energia tais como o glicogênio muscular e as gorduras que limitariam a capacidade de desempenho tanto nas provas de velocidade como de resistência. Isto foi comunicado por Lawrence et al. (1991), em um estudo no qual o tempo exigido para terminar uma corrida de resistência aumentou com o grau de magreza ou com uma condição corporal abaixo do moderado. No entanto, a condição corporal acima de moderada também é prejudicial porque: 1. Não se aumenta o teor muscular de glicogênio; 2. Ocorre um excesso de peso para transportar; e 3. Prejudica-se a dissipação de calor induzida pelo exercício, o que aumenta as perdas hídricas e eletrolíticas induzidas pela sudorese e hipertermia (LEWIS, 2000).

3 OBJETIVOS

O presente trabalho visa analisar os efeitos da suplementação por via endovenosa de um composto a base de selenito de sódio e acetato de tocoferol, numa serie de parâmetros fisiológicos usados na clinica diária para avaliar a aptidão física de cavalos de enduro.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo de experimentação adotado nesta pesquisa foi analisado e aprovado pela Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

4.1 LOCAL

O experimento foi desenvolvido nas instalações da Fazenda CasaGrande no Município de Leme-SP, nos laboratórios do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, situados no município de Pirassununga/SP, no laboratório de Análises Clínicas VITALABOR de Leme/SP, e no laboratório do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP em São Paulo.

4.2 ANIMAIS

Foram utilizados 6 (seis) eqüinos das raças Árabe e Anglo-Árabe, três machos castrados e três fêmeas, com idades compreendidas entre os 6-10 anos, e pesos entre 350 a 450 Kg, clinicamente sadios, vermifugados e vacinados contra tétanos. Todos os seis foram alocados em baias individuais e esporadicamente eram soltos em piquetes.

4.3 PROGRAMA DE TREINAMENTO

O programa de treinamento foi o típico da modalidade consistente em exercícios aeróbicos de baixa intensidade e longa duração. Os animais usados já estavam em treinamento quando o experimento começou, e participando em provas regionais de Enduro com distancias de até 60 km; o protocolo que segue foi formulado pelo proprietário dos animais.

Protocolo de Treinamento:

Segunda-feira:	Repouso
Terça-feira:	Adestramento
Quarta-feira:	30 minutos de trote
Quinta-feira:	Adestramento flexionado
Sexta-feira:	Bouts-vite 4x200 m.
Sábado:	Adestramento-musculação
Domingo:	Raid de 10 km a 15km/hora. Descanso de 10 minutos Raid de 30 km a 25 km/hora

4.4 ALIMENTAÇÃO

Os animais foram alimentados com feno da gramínea *Cynodon dactylon* (L.) *Pers.Var.Coast cross-(1)*, concentrado comercial, e água *ad libitum*, seguindo as recomendações estabelecidas no Equine Nutrient Requirements, National Research

Council (1989), para eqüinos nesta categoria nutricional. Também tiveram esporadicamente acesso a capim verde

Tabela 1- Composição bromatológica dos alimentos oferecidos aos cavalos durante o experimento expressado em porcentagem a exceção do selênio e da vitamina E

	<i>MS</i>	<i>MO</i>	<i>MM</i>	<i>EE</i>	<i>FB</i>	<i>PB</i>	<i>Ca</i>	<i>P</i>	<i>FDA</i>	<i>FDN</i>	<i>Am</i>	<i>Se</i>	<i>Vit E</i>
Capim	56,5	94,3	5,7	1,2	30,1	7,5	0,25	0,21	40,3	76,1	0,67	0,03*	42 UI/kg
Ração	90,9	90,5	9,52	4,8	12	13,1	0,72	0,77	19,3	37,2	21,1	0,1*	64 UI/kg

Ms: Matéria Seca; MO: Matéria Orgânica; MM: Matéria Mineral; EE: Extrato Etéreo, FB: Fibra Bruta; PB: Proteína Bruta; Ca: Cálcio; P: Fósforo, FDA: Fibra solúvel em Detergente Ácido; FDN: Fibra solúvel em detergente Neutro, Am: Amido; Se: Selênio; Vit E: Vitamina E.
*: em mg/kg

4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental aplicado foi em *Cross-Over*, dividido em dois períodos de 98 dias cada um, com um intervalo entre ambos períodos de 120 dias para eliminar qualquer vestígio do Se injetado no grupo tratamento da primeira fase. Os eqüinos foram divididos em dois grupos, assim constituídos: grupo I - formado por 3 (três) eqüinos, suplementados com selenito de sódio e acetato de tocoferol* intravenoso na dose de 1ml para cada 45kg de peso vivo, o que equivale a administrar 0,05 mg/kg de selenito de sódio e 1,36 UI/kg de vitamina E, com aplicações a cada 14 (quatorze) dias durante 12 (doze) semanas (6 aplicações); grupo II formado por 3 (três) eqüinos, que receberam solução fisiológica como placebo, invertendo os tratamentos na segunda fase.

4.6 COLETA DE AMOSTRAS

Para as coletas de amostras sanguíneas, foram determinados os tempos: T0, no início da fase experimental; T1, 14 dias após o início da fase experimental; T2, 28 do início da fase experimental; T3, 42 dias do início da fase experimental; T4, 56 dias do início do experimento, T5, 70 dias do início do experimento e T6, 84 dias do início do tratamento.

As amostras de sangue para realização do hemograma foram coletadas através de punção da veia jugular, utilizando-se agulhas 40x10 mm e tubos coletores a vácuo (Vacutainer) com capacidade para 5 ml de sangue, contendo EDTA como anticoagulante.

As amostras de sangue para realização das análises bioquímica também foram coletadas através de punção da veia jugular, utilizando-se agulhas 40x10 mm e tubos coletores a vácuo com capacidade para 10 ml de sangue, sem anticoagulante. O esquema de coletas de amostras e aplicação de tratamentos foi segunda feira sim segunda feira não entre as 8:00 e as 10:00 horas da manhã.

Os animais foram pesados em balança, as FC foram mensuradas através de auscultação das bulhas cardíacas por um minuto com fonendoscópio. Para efeito de padronização, os eqüinos dos grupos experimentais não foram exercitados no dia da coleta das amostras.

4.7 ANÁLISE LABORATORIAL

Os hemogramas foram realizados segundo técnica descrita por Birgel e Benesi (1982). A dosagem de creatinquinase (CK) sérica foi determinada utilizando-se kit

* VitaSel-E[®], Laboratório Vallée

de metodologia cinética em UV, otimizada, recomendada pela Sociedade Alemã de Química Clínica (DGKC), por Schmidt e Von Fostuer (1986). Para quantificação da atividade da lactatodesidrogenase (LDH) sérica foi utilizado um kit comercial, de acordo com metodologia cinética em UV otimizada, recomendada pela Sociedade Alemã de Química Clínica (DGKC) e descrita por Schmidt e Von Fostuer (1986). A uréia sérica foi determinada pelo método de diacetilmonoxina modificada por Crocker (1967). A creatinina sérica foi determinada pelo método cinético descrito por Lutsgarten e Wenck (1972). A atividade de gamaglutamiltransferase (GGT) sérica foi determinada, segundo técnica descrita por Schmidt e Von Fostuer (1986). A GSH eritrocitária foi determinada pelo método de Grunert e Phillips modificado por Beutler, (1963). A GPx foi determinada pelo método enzimático com o reagente Ransel^{®*}, e mensurado num aparelho Advia 1650[®].

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise dos dados coletados foi usado o programa Statistical Analyze System (S.A.S.). Foram testadas a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. A análise de variância (ANOVA) foi feita aplicando o General Linear Model (GLM).

- Randox Laboratories Ltda.
- Advia 1650, Bayer Technologies.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de facilitar a interpretação dos resultados a discussão foi feita ponto por ponto.

5.1 FREQUÊNCIA CARDÍACA

Resultados

Não foi detectada uma diferença significativa ($P < 0,05$) na FC entre o grupo controle e o grupo tratamento para um mesmo tempo. O comportamento de cada uma destas variáveis foi muito similar; no gráfico 1 pode-se observar um comportamento menos abrupto, mais homogêneo do grupo SeE, sendo que no anteúltimo tempo (T5) aparece a maior diferença numérica entre grupos num mesmo tempo, correspondendo a cifra maior ao grupo SeE, tendência que se reverte no último tempo (T6). Na media total (Figura 2) observa-se um maior número de bpm no grupo tratamento que no grupo controle, porém sem expressão significativa.

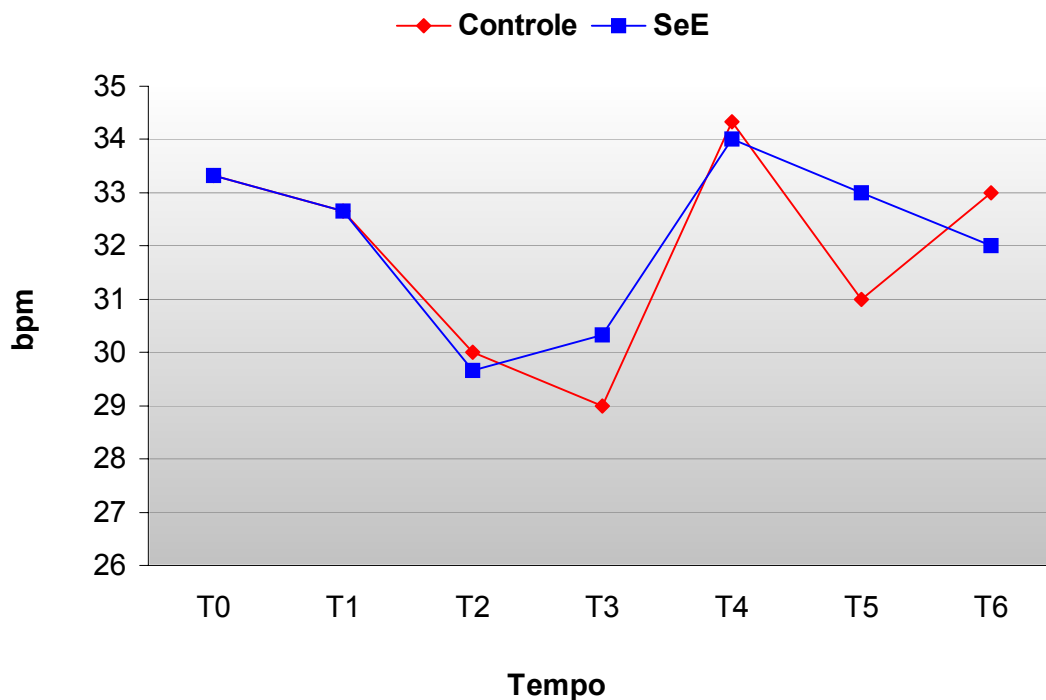


Gráfico 1 - Variações na frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio (SeE) a intervalos de 14 dias-2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	33,33	32,66	30,00	29,00	34,33	31,00	33,00	31,90	15,59
SeE	33,33	32,66	29,66	30,33	34,00	33,00	32,00	32,14	10,85
CV	17,22	11,47	14,42	16,96	7,25	11,3	9,13		

Figura 1 - Variações da frequência cardíaca em bpm em equinos com treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.1.1 Discussão

Em este caso se parte de um grupo de animais que já estavam em treinamento, e por tanto não foi possível fazer a mesma observação de Littlejohn (1987), segundo a qual animais treinados apresentariam bpm basais mais baixos que aqueles que não

estão treinados, em tanto parece prevalecer a afirmação de Hodgson e Rose (1994), para os quais não existiriam variações na FC basal em função do treinamento. Neste caso se procurou um ajuste fisiológico mais minucioso, para saber que diferença poderia existir entre dois grupos treinados da mesma maneira, com a mesma alimentação com o único diferencial da suplementação de vitamina E e Se por cima das necessidades de manutenção para melhor resistir ao estresse oxidativo e conservar um condicionamento físico melhor, e não trabalhando com uma diferença maior como pode ser comparar animais treinados e não treinados. Os resultados expressaram claramente que esta diferença não existe nas condições deste estudo.

5.2 HEMÁCIAS

Resultados

O número de hemácias do grupo SeE, quando comparado ao do grupo controle não apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) para um mesmo tempo ao longo do experimento. Os dois grupos de dados evidenciam no gráfico 2 um início bem separados, mantendo um padrão regular do princípio até mais da metade (T4) do período, correspondendo o valor maior ao grupo tratamento, para depois inverter esta tendência nos dois últimos tempos (T5-T6), finalizando o grupo tratamento com o valor menor. A tendência ao longo do experimento foi no caso do grupo SeE a diminuir o número de hemácias com o decorrer do tempo, finalizando o recenseio por baixo dos valores iniciais, enquanto que no grupo controle foi a aumentar, ficando os valores finais por cima dos iniciais; esta observação, porém não foi significativamente

expressiva. Na média geral (Figura 2), o valor numérico do grupo tratamento foi superior ao do controle, não apresentando diferença significativa.

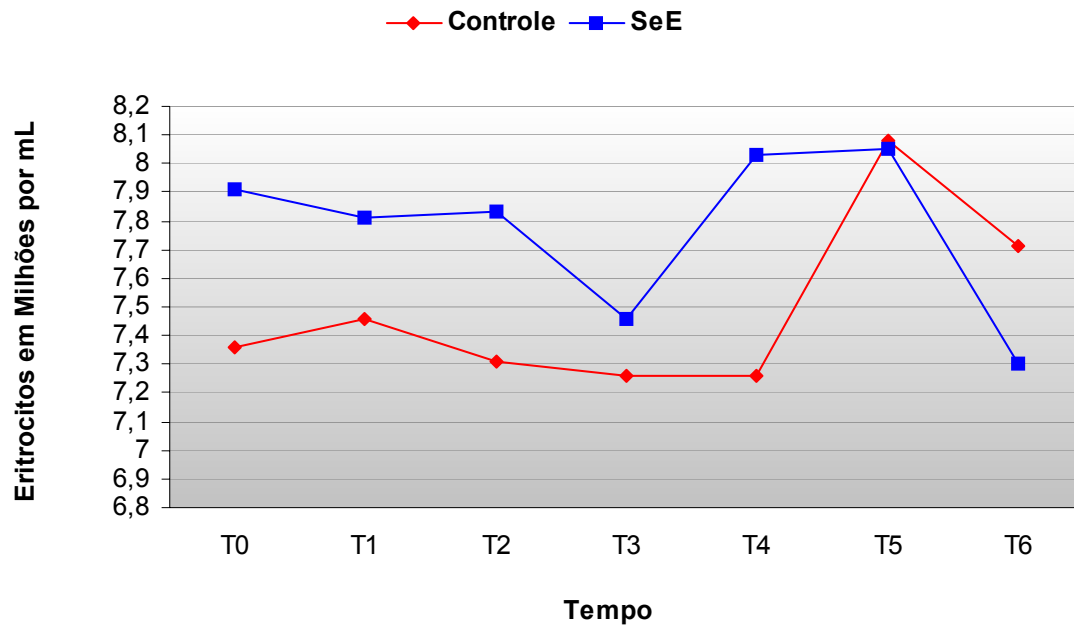


Gráfico 2 - Variações no número de hemácias em milhões por mililitro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias-2004.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	7,36	7,46	7,31	7,26	7,26	8,08	7,71	7,54	7,36
SeE	7,91	7,81	7,83	7,46	8,03	8,05	7,30	7,77	8,18
CV	6,59	5,53	9,65	6,55	6,14	9,35	8,63		

Figura 2 - Variações no número de hemácias em milhões por mililitro em equinos com treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.2.1 Discussão

A maioria das tabelas de valores hematológicos disponíveis de equinos oferecem dados de animais de corrida ou de hipismo clássico; poucos autores comunicaram dados referentes ao enduro. Hodgson e Rose (1994) depois de analisar um número expressivo de cavalos, estipularam um valor de contagem de hemácias para esta modalidade de $7,9 \pm 0,5$ milhões de eritrócitos por mililitro. E, portanto importante observar que se tomamos estes guarismos como referencia, as medias totais de ambos os grupos ficaram dentro destes limites, porém, no inicio do experimento os valores do grupo controle começaram por baixo do limite inferior (7,4 milhões/mL) para subir sua contagem final e acabar dentro dos valores normais, já o grupo SeE começa com valores por dentro do estipulado para finalizar sua contagem por baixo do limite. A diminuição na contagem de eritrócitos nos cavalos de enduro é considerada como um indicador de boa adaptação física ao exercício, e a pesar de os achados não terem significância estatística ($p > 0,05$), o fato dos valores finais (T7) do grupo tratamento ficarem por baixo dos valores achados por Hodgson e Rose (1994) como resultado de uma adaptação física pode indicar uma tendência que se acompanhada por um tamanho igual ou menor dos eritrócitos resultaria num hematócrito mais baixo, característica desejável para o bom desempenho em provas de fundo eqüestres.

5.3 LEUCÓCITOS

Resultados

Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) na variável leucócitos entre grupos para um mesmo tempo. O gráfico 3 mostra um comportamento mais atenuado para o grupo tratamento, em tanto que o grupo controle se desenvolve com variações mais abruptas, invertendo as tendências no T2 para logo recuperar a posição inicial, concluindo por cima dos valores do grupo tratamento. As médias totais (Figura 3) apresentam somente diferença numérica correspondendo o valor mais alto ao grupo controle (7237 L/mL).

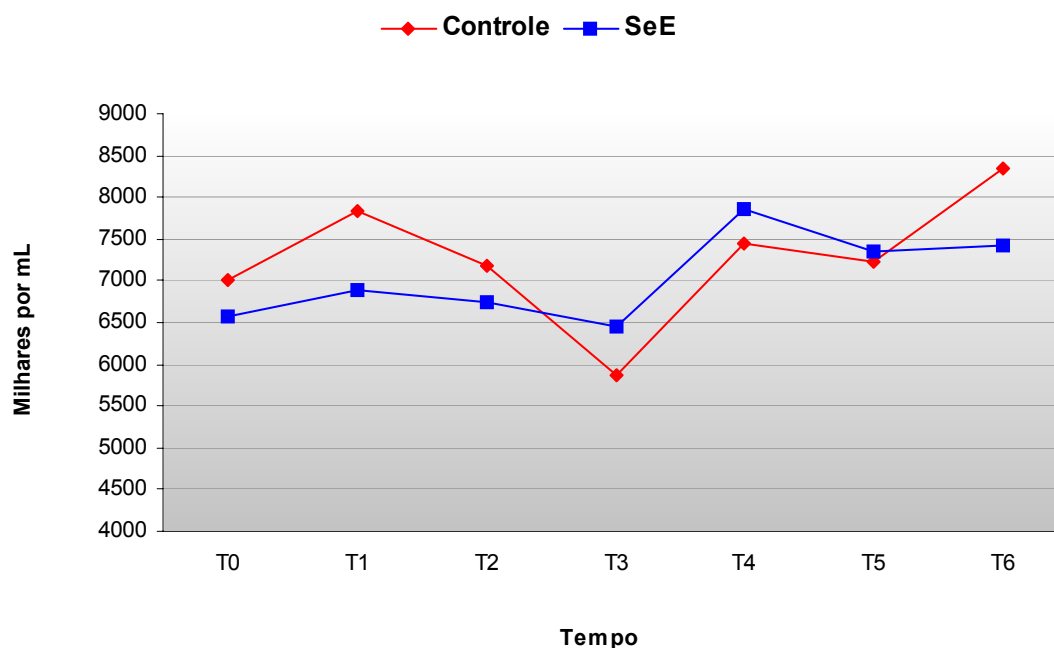


Gráfico 3 - Variações no número de leucócitos por mililitro de eqüinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	7000	7833	7183	5866	7450	7233	8350	7273	20,09
SeE	6566	6880	6733	6450	7850	7350	7416	7035	13,34
CV	18,27	18,89	14,25	14,92	10,58	14,6	18,31		

Figura 3 - Variações no número de leucócitos por mililitro de eqüinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias - 2004

5.3.1 Discussão

Tomando os valores de contagem de Leucócitos para cavalos de enduro tabelados por Hodgson e Rose (1994) como referência para comparações teríamos como limites de achados normais entre 6.900 e 10.700 leucócitos por mililitro (8.000 ± 1.900) para cavalos que praticam enduro. O cortisol sanguíneo liberado durante exercício prolongado e a infiltração leucocitária tissular produzidas pela mesma causa são dois fatores sinalados por diversos autores (JI, 1999; KOLB, 2000) como causantes de aumento na contagem leucocitária nesta modalidade. Os resultados da figura 3 mostram uma contagem inicial de leucócitos no limite inferior destes valores no caso do grupo controle e por baixo deste no grupo SeE; a contagem final foi maior para os dois grupo que a inicial, porém sem significância estatística ($p > 0,05$). Se comparados com aqueles mencionados por Hodgson e Rose (1994) estes valores se localizam no limite inferior, o que poderia indicar boa aptidão física de todos os animais envolvidos no estudo e conseqüentemente concordaria com os achados de Hodgson e Rose (1994), que concluíram que o exercício não modifica a contagem de células da série branca em eqüinos de enduro.

5.4 HEMATÓCRITO

Resultados

O hematócrito dos grupos controle e tratamento não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre grupos para um mesmo tempo. Pode-se observar no gráfico 4 que ambos grupos começam com uma diferença importante entre eles para depois convergir e se desenvolver de maneira muito parecida até o final do experimento (T5 e T6) onde se separam e invertem as relações, ficando o grupo tratamento por baixo dos valores iniciais e o grupo controle por cima deles. A maior diferença numérica entre grupos num mesmo tempo (Figura 4) corresponde ao T5, mantendo esta tendência também no último tempo (T6). As médias totais dos dois grupos foram praticamente iguais (Figura 4), tanto estatística como numericamente.

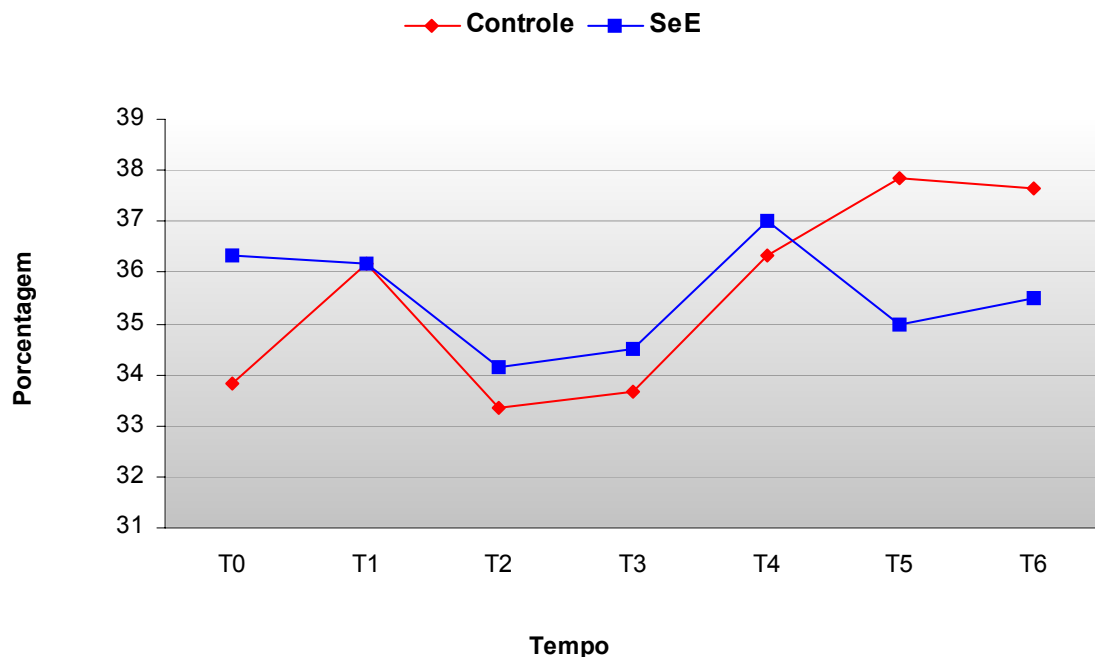


Gráfico 4 - Variações no hematócrito em porcentagem de equínos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias -2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	33,83	36,16	33,33	33,66	36,33	37,83	37,66	35,54	10,83
SeE	36,33	36,16	34,16	34,50	37,00	35,00	35,50	35,52	7,56
CV	11,55	9,85	8,94	8,61	5,85	9,47	8,19		

Figura 4 - Variações no hematócrito em porcentagem em eqüinos com treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.4.1 Discussão

Em termos gerais o comportamento desta variável acompanha aquele dos eritrócitos, com valores finais no grupo controle superiores aos iniciais e inversamente no grupo tratamento, o que sugere que a diminuição no número de eritrócitos observada no grupo tratamento não é acompanhada por aumento no tamanho dos mesmos; esta tendência, a pesar de não ter significância estatística ($p > 0,05$), é concordante com as afirmações de Leclerc (2004) e Hodgson e Rose (1994) a respeito da adaptação destas variáveis ao tipo de treinamento, onde a diminuição do hematócrito como resultado da diminuição do número de hemácias por mililitro seria devido a um aumento de até 25% do volume plasmático diluindo assim as células vermelhas. O fato da observação deste fenômeno recair somente no grupo SeE, considerando que todos os cavalos estiveram submetidos a um mesmo treinamento, pode levar a pensar que esta peculiaridade pode-se manifestar mais em animais cujas defesas contra o estresse oxidativo são maiores. Tomando como referência os valores tabelados por Hodgson e Rose (1994), que situam o hematócrito de cavalos de enduro entre 34 e 40% ($37 \pm 3\%$) pode-se observar que os valores dos animais neste experimento oscilaram por baixo da média, e no caso do grupo controle em muitas ocasiões ficaram por baixo do limite inferior. A explicação

deste achado pode ser os animais usados neste experimento já estavam adaptados ao exercício e portanto este quadro estaria presente já no início do experimento.

5.5 HEMOGLOBINA

Resultados

Não foram observadas variações significativas ($P>0,05$) no conteúdo de hemoglobina entre o grupo controle e o grupo SeE. O gráfico 5 evidencia um comportamento mais inconstante dos valores do grupo controle, enquanto o grupo SeE se desenvolve mais suavemente até inverter a relação no final, acabando por baixo da curva dos valores do grupo controle. Os tempos que apresentaram a maior diferença numérica entre os dois grupos foram os dois últimos (T5 e T6), que se da conjuntamente com a inversão da relação de valores. As medias totais de ambos grupos (Figura 5) expressa uma quantidade maior de hemoglobina nos eritrócitos do grupo controle.

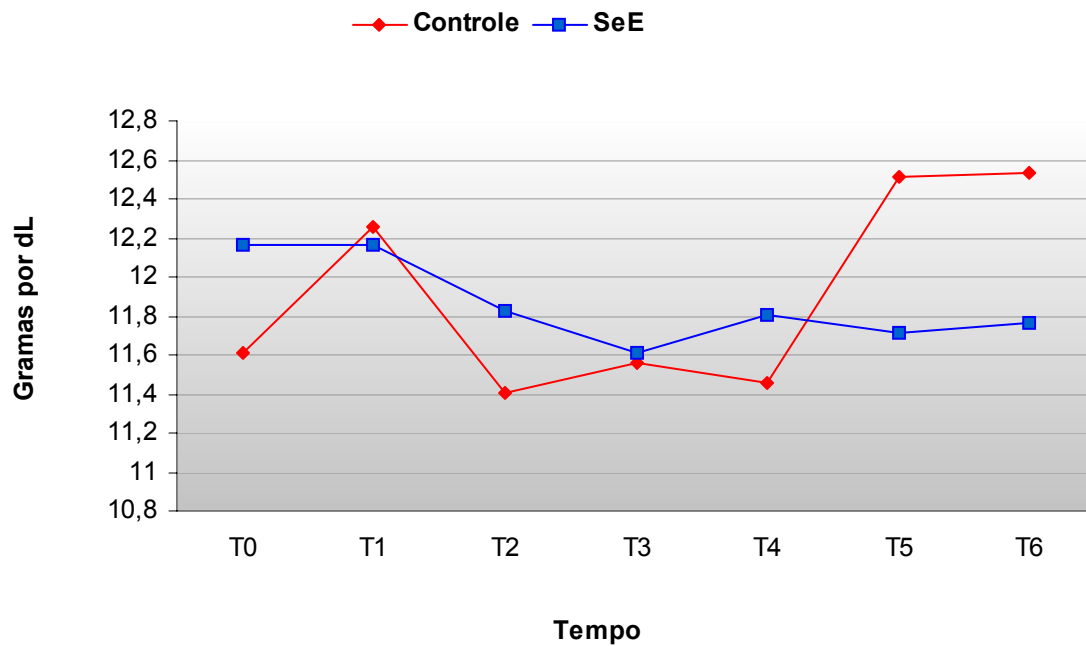


Gráfico 5 - Variações na quantidade de hemoglobina em gramas por decilitro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias-2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	11,61	12,26	11,41	11,56	11,46	12,51	12,53	11,91	9,08
SeE	12,16	12,16	11,83	11,61	11,81	11,71	11,76	11,86	7,74
CV	9,56	6,61	9,00	8,44	8,07	8,69	8,41		

Figura 5 - Variações na quantidade de hemoglobina em gramas por decilitro em equinos com treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.5.1 Discussão

A mesma tendência observada nas variáveis hematócrito e contagem de eritrócitos é observada no caso da hemoglobina, onde os valores iniciais do grupo

controle são menores que os valores finais, ocorrendo a inversa no caso dos valores do grupo SeE, dando argumentos à afirmação de que a diminuição do hematócrito observada em cavalos de enduro bem adaptados devida a uma redução na contagem eritrocitária se deveria a fatores dilucionais. Considerando como referência os valores de Hg tabelados por Hodgson e Rose (1994) de $1,3 \pm 0,11$ mg/L pode-se observar que os valores aqui obtidos se encontram dentro destes limites, discordando assim de Masini et al. (2000), que observaram mudanças neste parâmetro em cavalos de enduro.

5.6 VOLUME CORPUSCULAR MÉDIO

Resultados

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) nos valores entre grupos no T5, onde se expressa um VCM menor nos eritrócitos do grupo SeE se comparado ao grupo controle (Figura 6). O gráfico 6 mostra um comportamento nos valores de ambos os grupos muito variável, sendo o mais homogêneo o do grupo SeE; a relação de valores se inverte em duas oportunidades, no T3 e no T5, mantendo este último a tendência. As duas maiores diferenças numéricas observadas correspondem a T4 e T5, este último com significância estatística. As médias totais de ambos os grupos apresentam uma diferença numérica muito pequena (Figura 6), correspondendo o maior VCM aos eritrócitos do grupo controle.

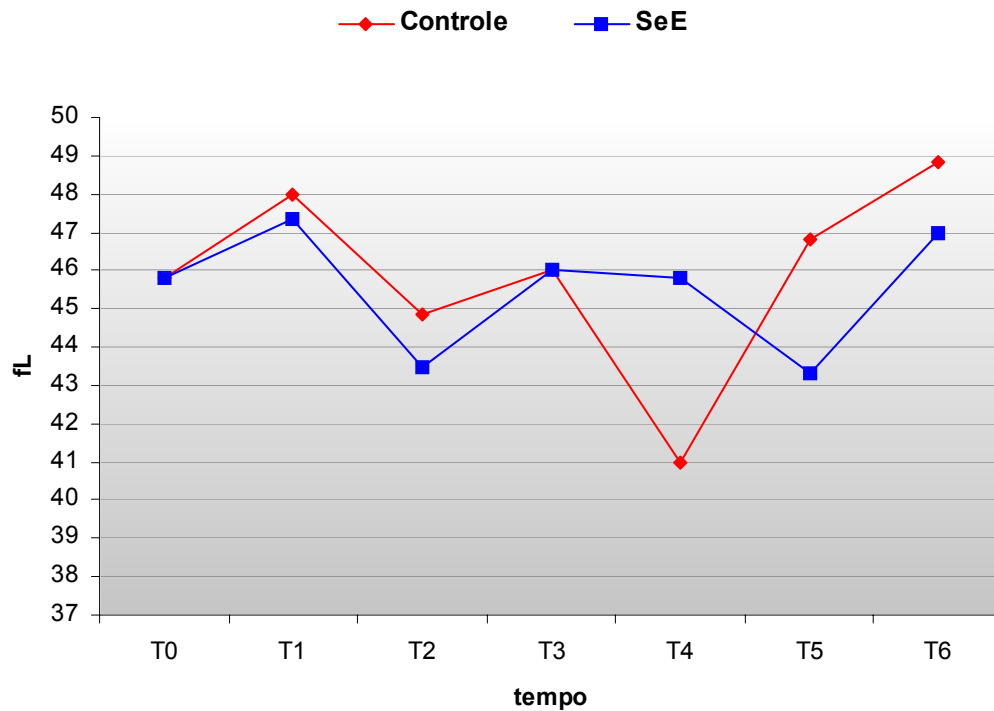


Gráfico 6 - Variações no volume corpuscular médio de hemácias em femtolitros de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias-2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	45,83	48,00	44,83	46,00	41,00	46,83 ^a	48,83	45,90	16,91
SeE	45,83	47,33	43,50	46,00	45,83	43,33 ^b	47,00	45,54	6,99
CV	10,43	7,23	7,14	6,99	29,25	9,94	5,86		

^{a,b}: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$)

Figura 6 - Variações no volume corpuscular médio em femtolitros de hemácias de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.7 HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MÉDIA

Resultados

Houve diferença significativa ($P>0,05$) nos valores de HCM entre grupos controle e SeE no T5, tendência esta que não continua no T6, apesar de este tempo ser o de maior deferência numérica entre grupos depois do T5. O gráfico 8 traduz um comportamento quase idêntico de ambos os grupos, sem inversão de relação de valores em nenhum dos tempos, correspondendo os valores mais baixos de HCM ao grupo SeE. As medias totais de ambos os grupos (Figura 8) apresentam uma diferença numérica pouco expressiva, correspondendo o maior valor de HCM aos eritrócitos do grupo controle.

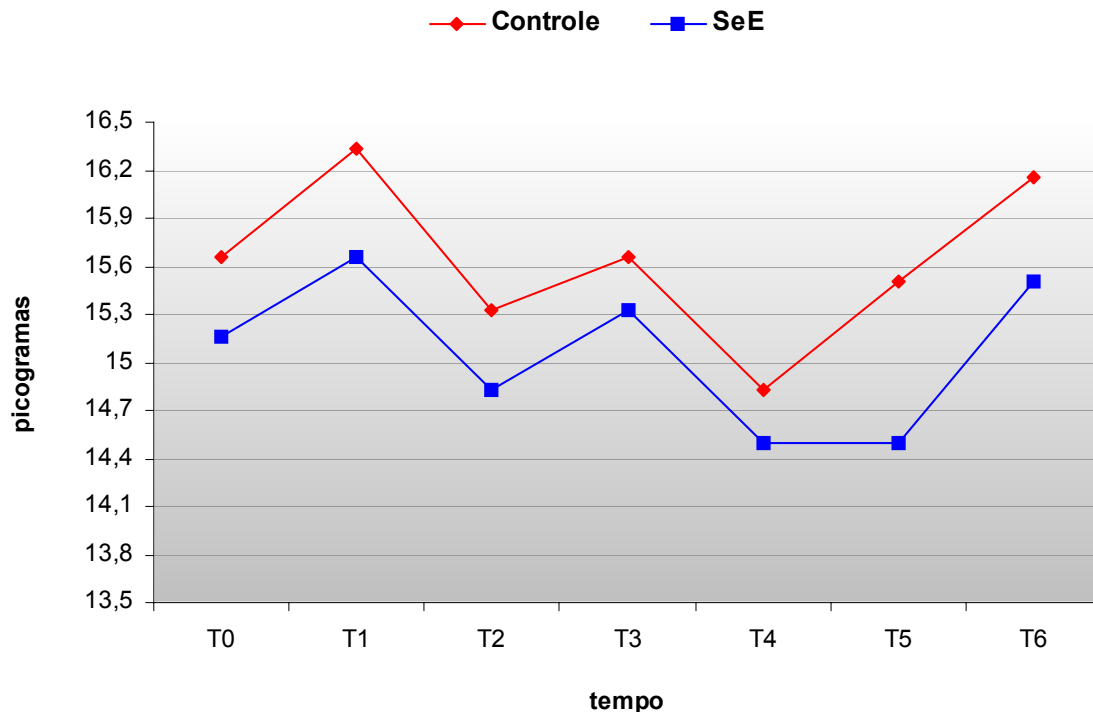


Gráfico 7 - Variações na hemoglobina corpuscular média em picogramas de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias-2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	15,66	16,33	15,33	15,66	14,83	15,5 ^a	16,16	15,64	7,71
SeE	15,16	15,66	14,83	15,33	14,50	14,5 ^b	15,50	15,07	6,77
CV	7,55	5,95	5,25	7,01	8,88	8,98	5,92		

^{a,b}: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$)

Figura 7 - Variações na hemoglobina corpuscular média em picogramas de eqüinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias-2004

5.8 CONCENTRAÇÃO DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MÉDIA

Resultados

Não foi detectada uma diferença significativa ($p < 0,05$) na CHCM dos eritrócitos entre os grupos controle e SeE para um mesmo tempo. O gráfico 8 ilustra um começo de experimento com valores mais distantes para ambos grupos, e no transcurso do mesmo vão sintonizando até confluir em valores idênticos no último tempo (T6). As duas menores diferenças numéricas entre grupos num mesmo tempo correspondem aos tempos T5 e T6. As médias totais de ambos os grupos (Figura 9) diferem pouco numericamente, sendo que o grupo controle apresentou valor maior.

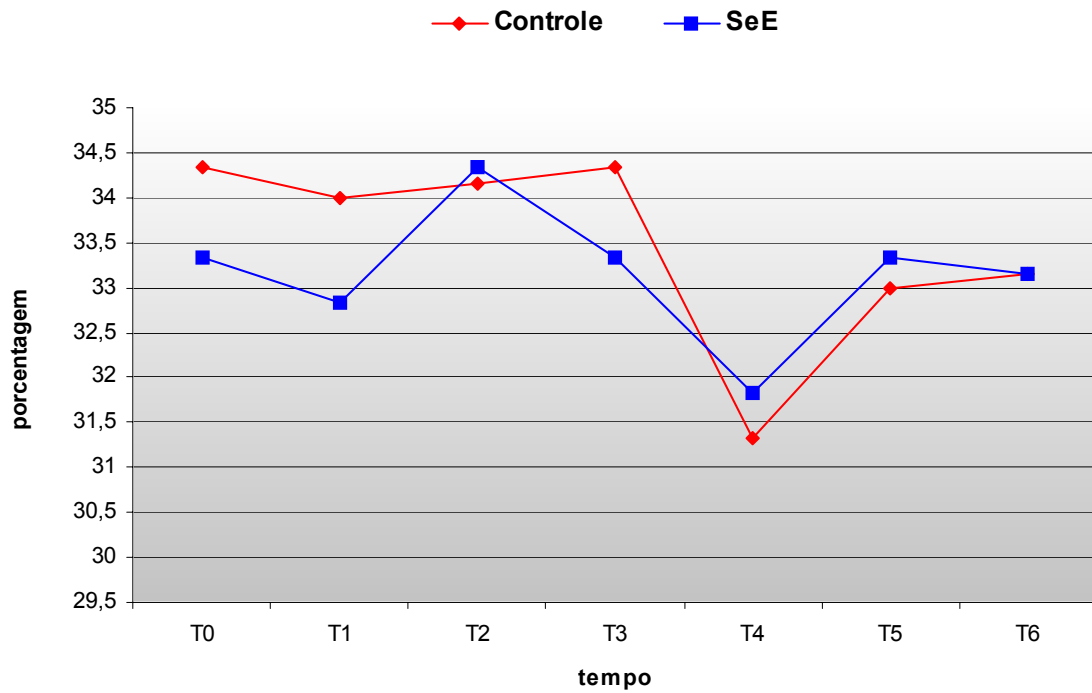


Gráfico 8 - Variações na concentração de hemoglobina corpuscular média em porcentagem de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e Se a intervalos de 14 dias-2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	34,33	34,00	34,16	34,33	31,33	33,00	33,16	33,47	4,99
SeE	33,33	32,83	34,33	33,33	31,83	33,33	33,16	33,16	3,7
CV	4,68	4,12	3,96	3,74	4,36	2,82	2,51		

Figura 8 - Variações na concentração de hemoglobina corpuscular média em porcentagem de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias-2004

5.6/7/8.1 Discussão

A maioria dos autores que comunicaram resultados de valores hematimétricos em cavalos de esporte tanto no enduro como nas corridas ou no hipismo clássico coincidem em afirmar que existem variações nos mesmos durante e imediatamente após o exercício, geralmente um aumento, como uma adaptação momentânea a exigência física favorecida pela contração esplênica que explicaria o aumento no Ht, HCM e CHCM mais não do VCM; porém não existe informação referente a se essas mudanças são somente momentâneas ou se mantêm no tempo. Por outro lado, todos aqueles autores que afirmam que o exercício prolongado e de baixa intensidade resulta em um Ht e contagem de células vermelhas mais baixo coincidem em que este efeito se deveria a uma diluição plasmática e não a câmbios permanentes na estrutura ou conteúdo das hemácias. Nos resultados de este experimento pode-se observar que no T5 tanto o VCM como a HCM do grupo SeE diminuíram significativamente ($P>0,05$) quando comparados ao grupo controle, tendência esta que não persistiu no T6 apesar da grande diferença numérica. Este achado, se bem sua consistência não foi mantida no T6, poderia estar sinalizando que além da diluição plasmática poderia existir uma adaptação da estrutura e conteúdo das hemácias para menos em aqueles animais que apresentam maior defesa antioxidante, onde o VCM menor facilitaria os fenômenos hemodinâmicos dando maior fluidez ao sangue e a HCM simplesmente acompanharia esta diminuição para manter a CHCM em níveis normais conservando assim sua capacidade de oxigenar os tecidos inalterável. Este achado difere das afirmações feitas por Masini et al. (2000), Balogh (2000) e Oosterbaan et al. (1991), que

estimaram valores superiores significativamente aos basais para estes parâmetros como resultado de uma adaptação momentânea ao exercício.

5.9 GLUTATIONA PEROXIDASE

Resultados

Não foram achadas diferenças significativas ($P > 0,05$) nos valores de GPx eritrocitária entre os grupos controle e SeE para um mesmo tempo. O gráfico 9 expõe um comportamento mais abrupto neste caso para os valores do grupo tratamento, com um incremento nos valores de ambos os grupos no decorrer do tempo, finalizando os dois em queda, porém o grupo SeE manteve valores superiores aos do grupo controle. As médias totais de ambos os grupos diferiram muito pouco numericamente, correspondendo o valor maior ao grupo controle.

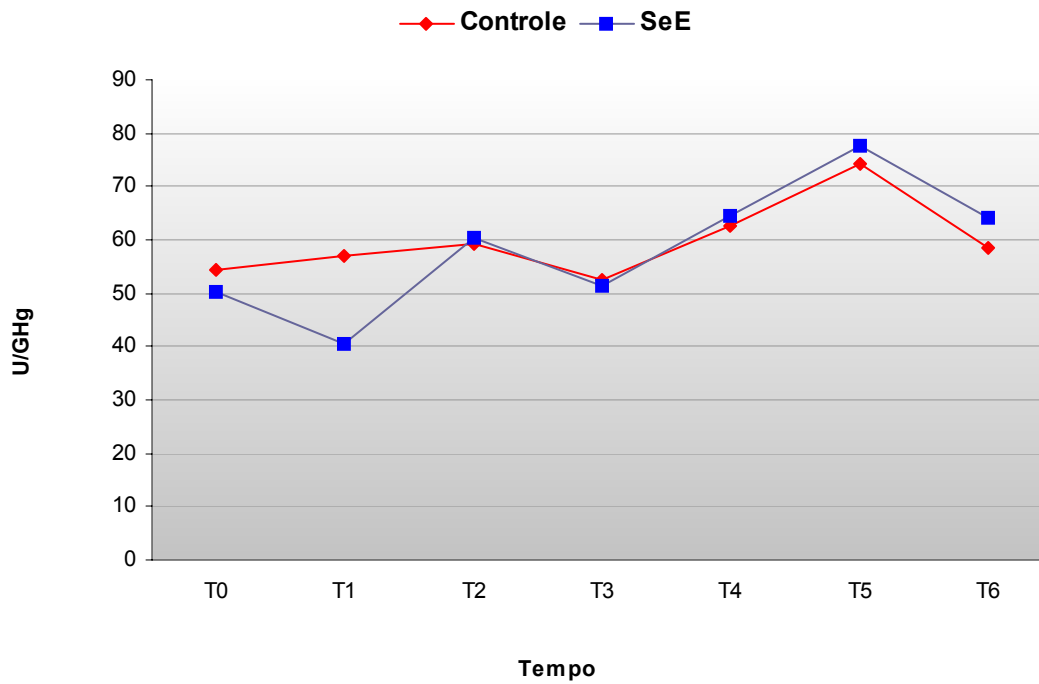


Gráfico 9 - Variações na glutatona peroxidase eritrocitária em unidades por grama de hemoglobina de equínos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	54,50	56,83	59,33	52,33	62,66	74,33	58,33	59,76	42,47
SeE	50,33	40,66	60,50	51,33	64,50	77,50	64,16	58,42	42,7
CV	43,62	53,19	50,76	47,26	32,42	28,34	38,57		

Figura 9 - Variações na glutatona peroxidase eritrocitária em unidades por grama de hemoglobina de equínos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.9.1 Discussão

O Se aplicado junto com a vitamina E no grupo tratamento de este estudo teve por finalidade aumentar os níveis e conseqüentemente a atividade enzimática da GPx, uma vez que diversos autores, como Araya et al. (2004), aplicando Se via parenteral estabeleceram uma relação direta entre quantidade de Se presente no organismo e GPx, e Balogh (2000) comunicou que uma injeção combinada de vitamina E e Se anterior ao exercício diminuía os lipoperóxidos plasmáticos no repouso e atenuava os efeitos do exercício em outros parâmetros. Por outro lado, autores como Powers (1999) comunicaram aumentos na atividade da GPx com treinamentos de baixa intensidade e prolongados. O fato de não ter achado diferenças significativas entre os grupos SeE e controle para esta enzima poderia invalidar de certa maneira os comentários feitos em referencia ao Ht, contagem eritrocitária, VCM e HCM, uma vez que a única diferença entre grupos seria o tratamento com vitamina E e Se, por tanto a única vantagem adaptativa que produziria estes resultados seria uma melhor defesa antioxidante; porém, Frankieweiz et al. (2000) trabalhando com cavalos de enduro competindo em provas de 160 km revelaram que os níveis de GPx do sangue total aumentavam de quarto a cinco vezes na metade do trajeto da prova, voltando a valores basais 12 horas após a mesma. Considerando que as amostras de sangue foram obtidas nas segundas feiras (dia de descanso) com os animais em repouso, podemos inferir que os valores de GPx achados são basais e que a elevação dos mesmos com a conseqüente elevação da defesa antioxidante só se produziria durante o aumento da demanda da mesma, portanto o resultado de um sistema antioxidante mais eficiente não se traduziria em um aumento da GPx em repouso e sim em uma melhora de outros parâmetros.

5.10 GLUTATIONA REDUZIDA

Resultados

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os valores dos grupos controle e SeE para um mesmo tempo. No gráfico 10 pode-se observar um comportamento do grupo SeE mais suave que o do grupo controle, que em virtude do seu traçado inverte as tendências em mais de uma oportunidade, finalizando abaixo dos valores do grupo tratamento. O último tempo, o T6, apresenta a maior diferença numérica entre grupos (Figura 10). As médias totais de ambos os grupos diferiram só numericamente, correspondendo o valor maior ao grupo tratamento (2,24 mg/dl).

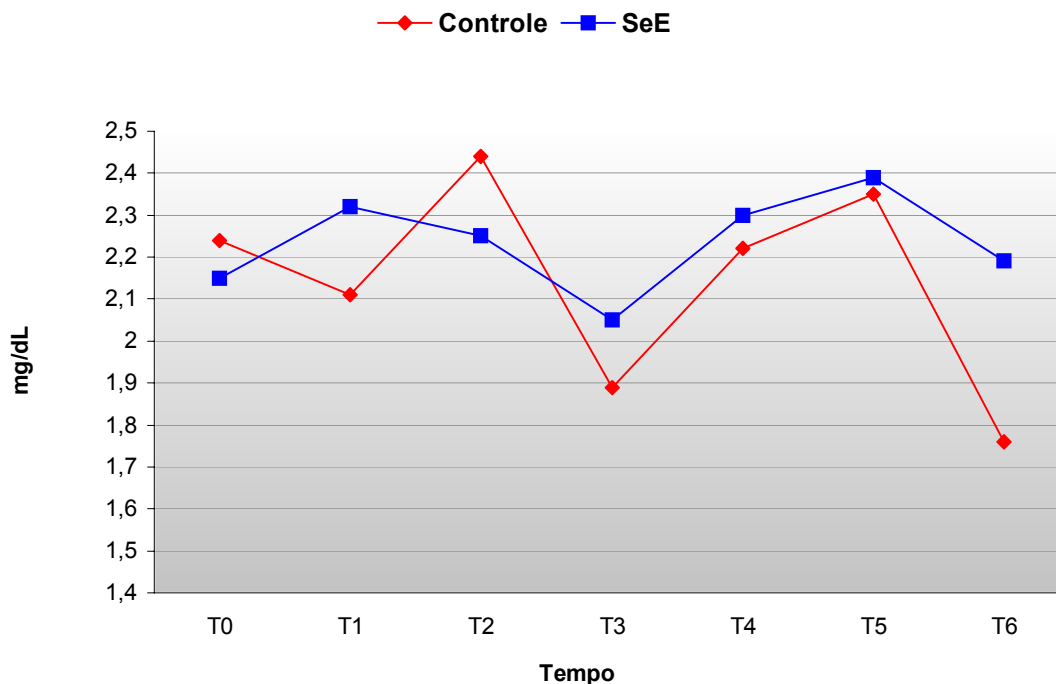


Gráfico 10 - Variações na glutatona reduzida em miligramas por decilitro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	2,24	2,11	2,44	1,89	2,22	2,35	1,76	2,14	27,2
SeE	2,15	2,32	2,25	2,05	2,30	2,39	2,19	2,24	22,57
CV	23,6	26,67	15,39	16,23	27,48	32,7	23,99		

Figura 10 - Variações na glutatona reduzida em miligramas por decilitro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.10.1 Discussão

A pesar da ausência de significância na diferença entre valores dos dois grupos, é destacável o fato do grupo SeE não ter tido quase diferença entre valores iniciais e finais, enquanto que o grupo controle experimentou uma descida no valor final em comparação com valores iniciais. Se considerarmos os achados de Chandwaney et al. (1998) e de Sen (1992) poderemos inferir que o grupo que mais GSH consumiu foi aquele que mais estresse oxidativo sofreu, em um intento de neutralizar uma maior quantidade de ERO. Por outro lado, o comportamento mais equilibrado dos valores do grupo SeE sugere que aquele organismo que apresentar uma defesa antioxidante melhor pode neutralizar ou eliminar as ERO de maneira mais eficiente, mantendo uma homeostase mais calibrada.

5.11 LACTATODESHIDROGENASE

Resultado

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) nos valores de LDH entre os grupos controle e SeE para um mesmo tempo. O gráfico 11 mostra uma tendência de aumento dos valores de LDH para ambos os grupos, com um grande pico do grupo SeE no T4 que logo recupera posições normais no T5, finalizando em T6 com uma nova inversão de valores. As médias totais dos grupos controle e SeE (Figura 11) apresentam uma diferença numérica expressiva, porém não significativa, com o valor maior correspondendo ao grupo controle.

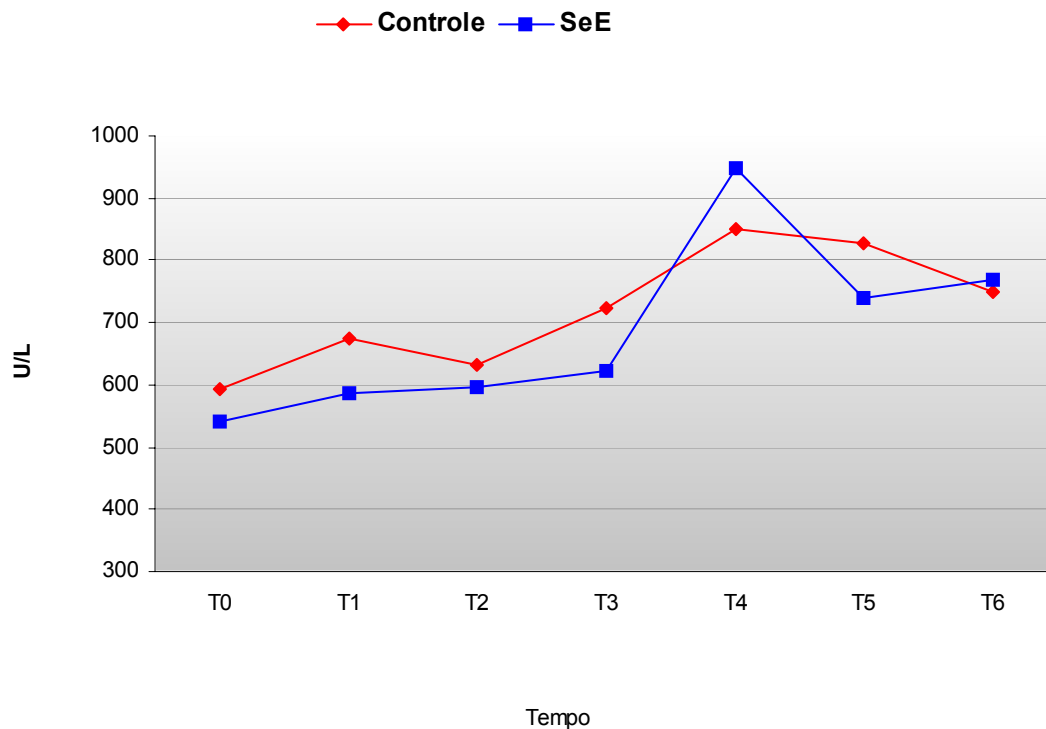


Gráfico 11 - Variações na lactatodeshidrogenase sérica em unidades por litro de eqüinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	593,33	673,83	630,83	722,50	851,33	827,66	750,66	721,40	30,54
SeE	540,33	587,00	595,33	621,50	948,16	739,50	769,33	685,88	30,99
CV	36,56	30,10	23,14	25,45	32,39	15,49	24,63		

Figura 11 - Variações na lactatodeshidrogenase sérica em unidades por litro de eqüinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.11.1 Discussão

Os valores de LDH em cavalos de enduro tabelados por Hodgson e Rose (1994) marcam como 250 U/L o limite máximo da faixa da normalidade para esta enzima. O mais chamativo dos resultados que constam na figura 11 é que o menor dos valores que ali figuram (T0) e duas vezes maior que o guarísmos referenciado por Hodgson e Rose (1994), e o maior deles e quase quatro vezes superior (T4), correspondendo estes dois valores ao grupo SeE. Estes cavalos não apresentaram em todo o experimento, na inspeção geral feita sempre segunda feira sim segunda feira não antes de aplicar os tratamentos, nenhum sintoma evidente de rabdomiólise. Por comunicação com os tratadores os treinos continuaram sem variações e em momento nenhum foi comunicado um episodio que involucrase o tecido muscular. Balogh (2001) já comunicou valores altos de LDH e de CPK em cavalos de enduro, só que quando comparados com os seus valores basais. De qualquer maneira Hodgson e Rose (1994) não aclararam no seu trabalho se a LDH testada foi isoenzima ou LDH total; assumindo que foi testada a LDH total, uma explicação ao aqui observado poderia ser que outros grupos celulares que não o muscular

contendo LDH poderiam estar envolvidos neste aumento de atividade, por um aumento na permeabilidade das membranas mitocondriais como, por exemplo, o fígado.

5.12 GAMMAGLUTAMILTRANSFERASE

Resultados

Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) nos valores de GGT entre os grupos controle e SeE para um mesmo tempo. O gráfico 12 reflete um comportamento de ambos os grupos quase idêntico no princípio, situação que se estende até T4, a partir do qual observa-se uma divergência expressiva sendo máxima ao final do experimento em virtude do aumento nos valores de GGT do grupo controle. Também neste caso as duas maiores diferenças numéricas (Figura 12) entre grupos num mesmo tempo correspondem a T5 e T6. Não se observou inversão de tendências em nenhum tempo. As medias totais entre grupos apresentam uma diferença numérica importante, correspondendo o valor maior ao grupo controle, porém sem significância estatística.

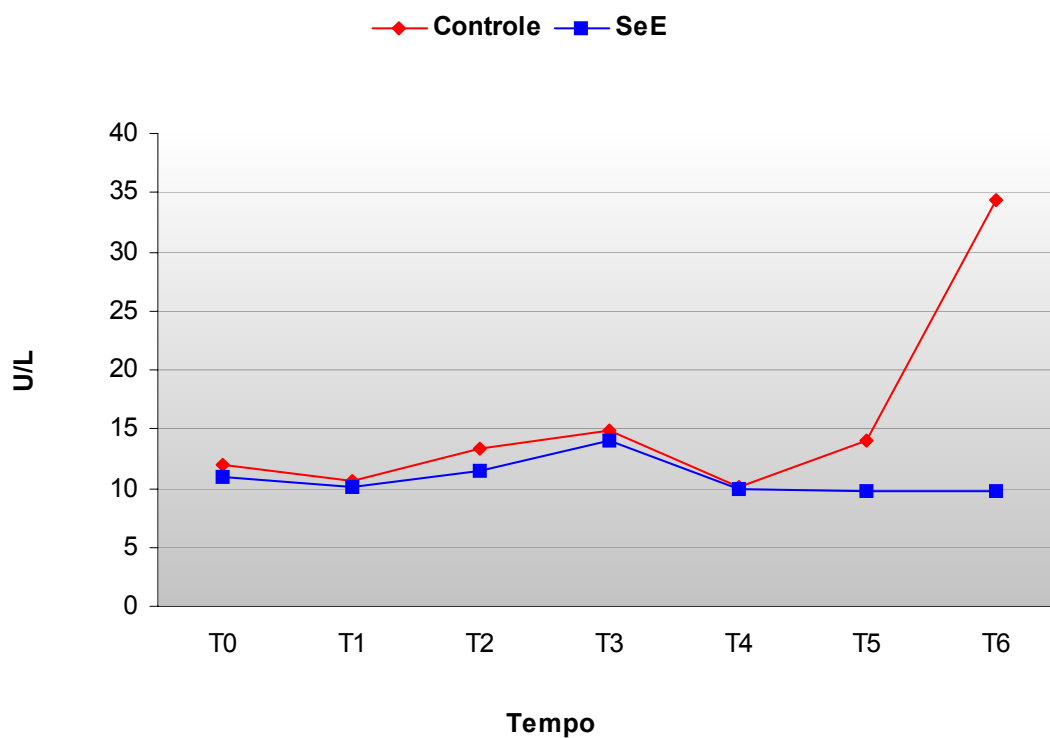


Gráfico 12 - Variações na gammaglutamiltransferase sérica em unidades por litro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e Se a intervalos de 14 dias – 2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	12,00	10,66	13,33	14,83	10,16	14,00	34,33	15,61	145,07
SeE	11,00	10,16	11,50	14,00	9,83	9,66	9,66	10,83	29,11
CV	15,06	21,44	19,26	24,1	39,31	61,45	192,24		

Figura 12 - Variações na gammaglutamiltransferase sérica em unidades por litro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.12.1 Discussão

Hodgson e Rose (1994) estipularam como valores normais de GGT para cavalos de enduro entre 10 e 40 U/L. Todos os valores de GGT contidos na figura 12 se encontram dentro destes limites; sendo a GGT a primeira enzima a elevar seus níveis séricos em presença de lesão hepática pode-se inferir que se como afirma Leclerc (2004) o fígado dos cavalos de enduro esta submetido a um trabalho mais intenso que em outras modalidades, este órgão não parece sofrer grandes transtornos pelo menos baixo as condições deste experimento. Se bem níveis altos de GGT podem ou não estar relacionados com problemas de desempenho, valores normais da mesma são um indicador confiável do bom funcionamento hepático. A grande diferença entre valores que aparece no ultimo tempo (T6) parece ser expressiva, porém um coeficiente de variação muito grande (192,24) deixa ambos resultados iguais estatisticamente.

5.13 CREATINIFOSFOQUINASE

Resultados

Não foi observada nenhuma diferença significativa ($P > 0,05$) nos valores de CPK entre os grupos SeE e controle para um mesmo tempo. O gráfico 13 mostra um comportamento muito similar de ambas linhas, somente com uma variação forte, um incremento nos valores de CPK no grupo controle, enquanto que a linha do grupo SeE se desenvolve mais suavemente. Observam-se três inversões de tendência

entre ambos grupos de valores. A figura 13 mostra que a diferença numérica entre as médias totais é pouca, correspondendo o valor maior ao grupo controle.

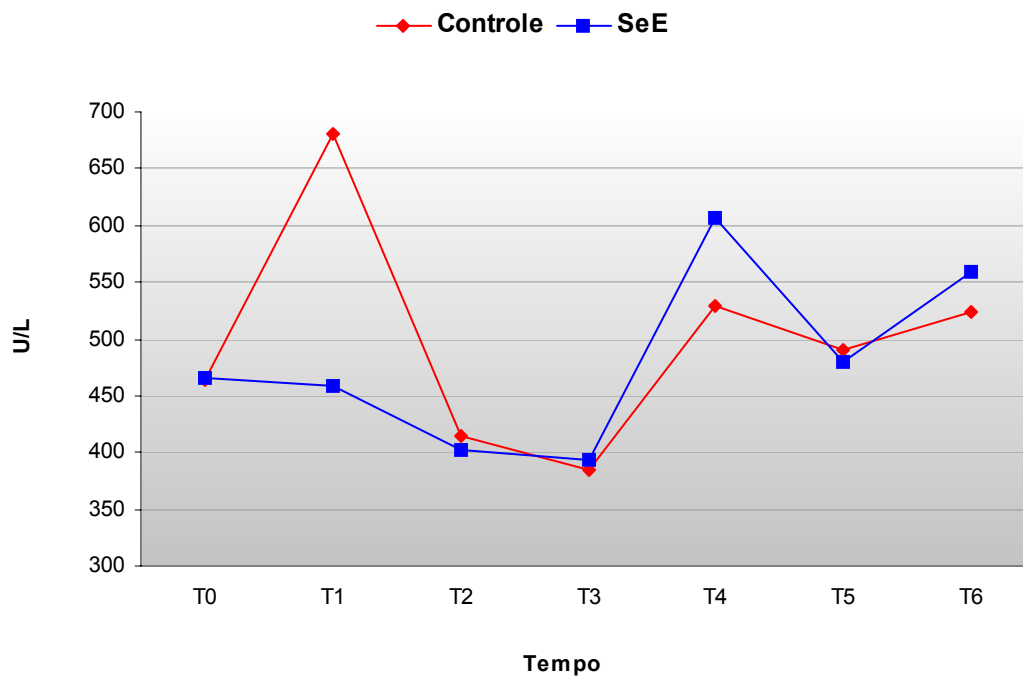


Gráfico 13 - Variações na creatinifosfoquinase sérica em unidades por litro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	463,50	680,50	414,33	384,66	529,33	490,50	524,16	498,14	46,22
SeE	465,16	459,10	402,16	392,83	605,83	479,16	558,16	480,35	34,00
CV	25,60	63,93	28,64	37,61	31,49	31,90	28,80		

Figura 13 - Variações na creatinifosfoquinase sérica em unidades por litro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.13.1 Discussão

Se comparados com os valores para CPK comunicados por Hodgson e Rose (1994), estimados pelos autores entre 100 e 300 U/L, os valores enumerados na figura 13 são superiores em 100% aproximadamente. Em estudos feitos com cavalos de enduro Rose (1983), comunicou ter achado valores elevados de CPK (> 1500 U/L) em animais que completaram provas de 160 km sem sintomas de lesão muscular, mais estes dados foram colhidos imediatamente após a prova. Os dados achados neste experimento refletem não uma situação momentânea senão um estado fisiológico permanente, onde com o transcorrer do tempo estes níveis séricos variam muito pouco, mas sempre se mantêm por cima do limite considerado normal. Se bem Hodgson e Rose, (1994) consideram que estes aumentos na CPK e LDH tão comuns nesta modalidade possam ser devidos mais a um aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial que a uma lesão muscular, o fato de estes níveis se manterem elevados em forma constante induz a suspeita de que o músculo pode estar sendo exigido além de limites toleráveis, mas por baixo do limiar da lesão clínica. Esta suspeita é reforçada quando se relacionam estes dados com aqueles observados na LDH sérica (Figura 12); se considerarmos que as duas enzimas atinam seus picos aproximadamente 12 hs pós-lesão e que a CPK volta a níveis basais 2-3 dias após e a LDH entre 7-10 dias após, e se os valores de ambas se mantêm altos invariavelmente, pode-se inferir que existe um fator traumático permanente e de baixa intensidade que esta produzindo este quadro como pode ser o regime de treinamento.

5.14 URÉIA

Resultados

Os valores de uréia plasmática não sofreram variações significativas ($P>0,05$) entre os grupos controle e SeE para um mesmo tempo. A figura 14 mostra um comportamento de ambas as curvas bastante similar, sendo que a maior diferença entre valores de um mesmo tempo corresponde a T2, e a pesar de não ter sido significativa foi de $P= 0,059$. Porém esta tendência não se mantém ao longo do experimento e no tempo seguinte a diferença volta a ser pequena. As medias totais de ambos os grupos não apresentam diferenças estatísticas e a diferença numérica destes valores é muito baixa, correspondendo o valor maior ao grupo controle.

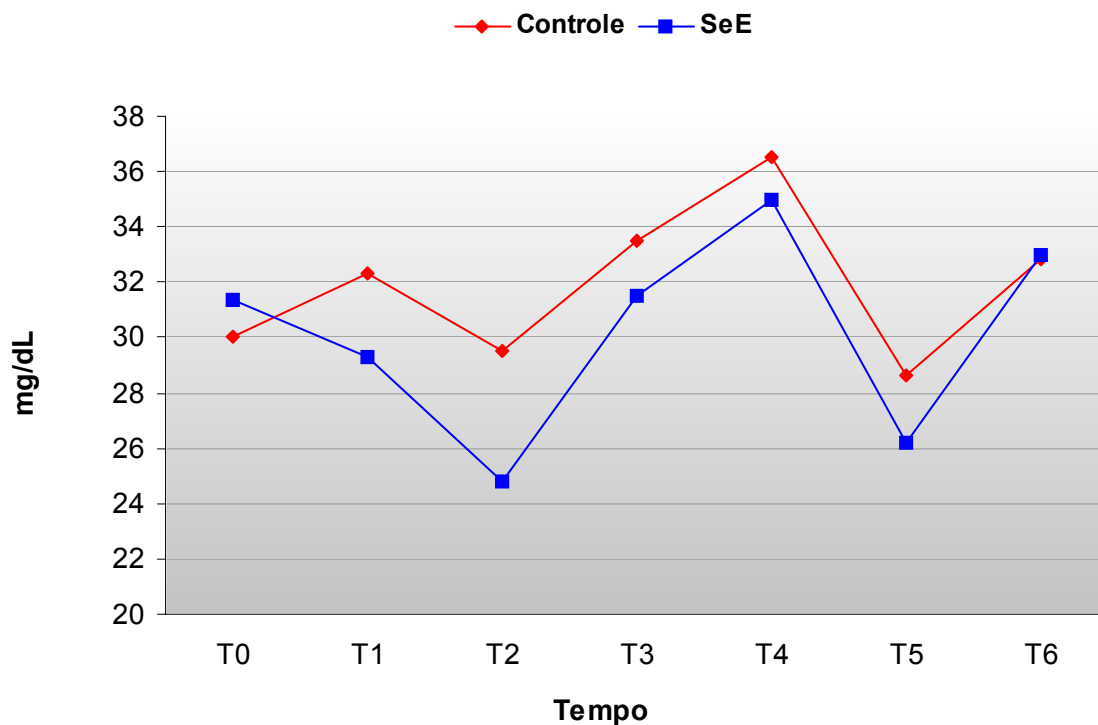


Gráfico 14 - Variações na uréia sanguínea em miligramas por decilitro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	30,00	32,33	29,50	33,50	36,50	28,66	32,83	31,90	44,33
SeE	31,33	29,33	24,83	31,50	35,00	26,16	33,00	30,16	44,83
CV	40,61	43,92	28,80	27,75	61,20	47,03	47,63		

Figura 14 - Variações na uréia sanguínea em miligramas por decilitro de eqüinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.15 Creatinina

Resultados

De todas as variáveis analisadas neste experimento a creatinina é a que menos variações apresentou em seus resultados. As curvas de valores de ambos os grupos controle e SeE se desenvolvem praticamente igual e quando apresentam variações são para os dois grupos iguais (Figura 15). Não só não houve diferença significativa entre valores de ambos os grupos para um mesmo tempo senão que as diferenças numéricas são insignificantes (Gráfico 15). As médias totais de ambos os grupos apresentam uma diferença numérica mínima correspondendo o valor maior ao grupo tratamento.

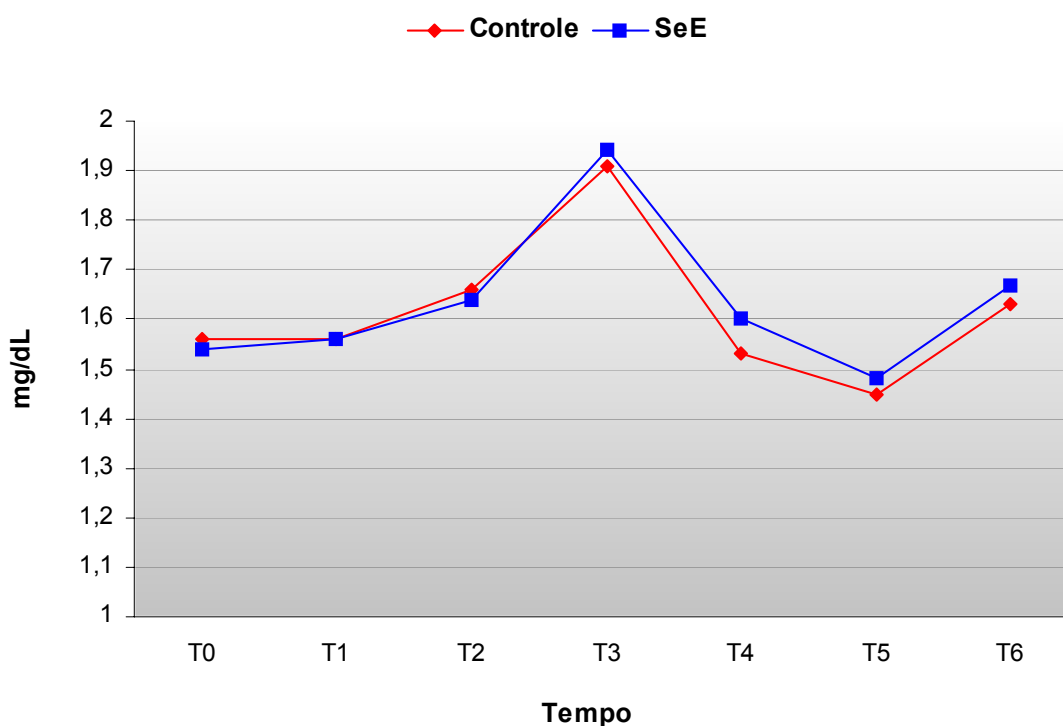


Gráfico 15 - Variações na creatinina sérica em miligramas por decilitro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	1,56	1,56	1,66	1,91	1,53	1,45	1,63	1,61	15,02
SeE	1,54	1,56	1,64	1,94	1,60	1,48	1,67	1,63	15,48
CV	12,07	7,85	10,29	14,00	16,49	16,45	11,72		

Figura 15 - Variações na creatinina sérica em miligramas por decilitro de equinos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias – 2004

5.14/15.1 Discussão

Tomando como padrão os valores comunicados por Hodgson e Rose (1994) para uréia de 24 a 48 mg/dL e de creatinina de 1,1 a 1,8 mg/dL, pode-se observar que as duas variáveis se encontram dentro dos limites considerados como fisiológicos, que ademais de indicarem uma boa perfusão renal e hidratação, sinalizam no caso da uréia que estes animais se encontram em equilíbrio energético não sendo preciso recorrer a outras vias de obtenção de energia como a sugerida por Hodgson e Rose, (1994).

5.16 PESO

Resultados

Não foram observadas variações significativas ($p < 0,05$) no peso dos animais no transcurso do experimento. Porém é de destacar que aqueles animais que receberam tratamento com vitamina E e Se mantiveram um peso superior ao dos animais não tratados invariavelmente, correspondendo as duas maiores diferenças numéricas aos dois últimos tempos (70 e 84 dias de iniciado o tratamento) devido principalmente ao aumento de peso no grupo de animais tratados. Na média total de ambos os grupos o grupo de animais tratados ficou por cima do grupo controle, porém sem diferença significativa.

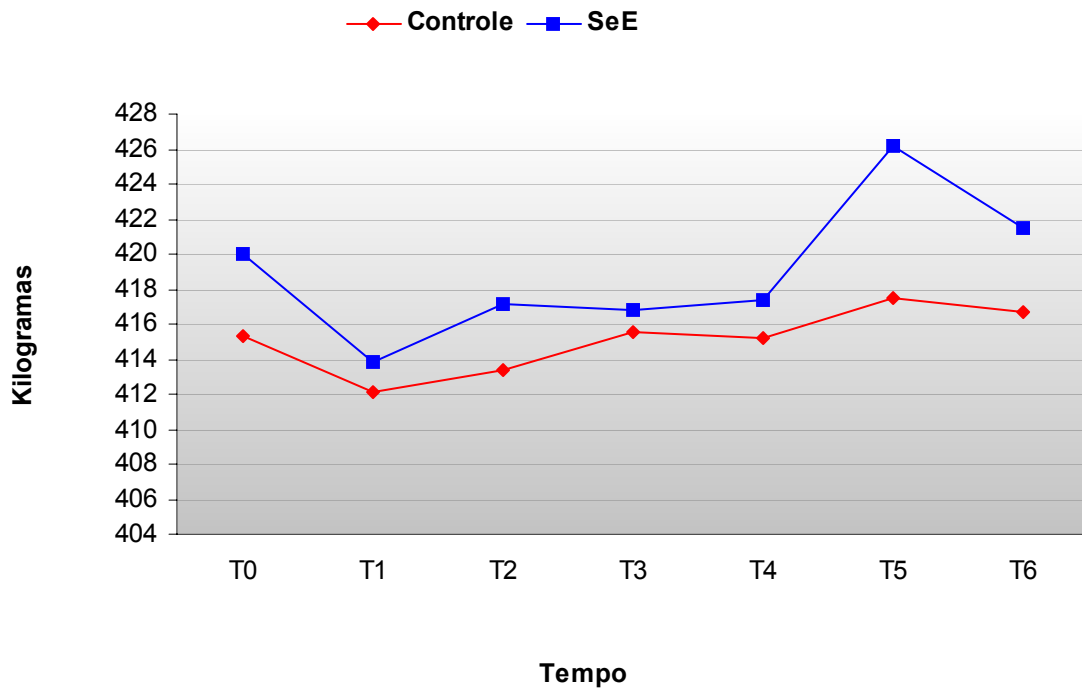


Gráfico 16 - Variações de peso de equínos em treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias-2004

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total	CV Total
Controle	415,33	412,16	413,33	415,5	415,16	417,50	416,66	415,09	13,01
SeE	420,00	413,83	417,16	416,83	417,33	426,16	421,50	418,97	12,4
CV	12,93	12,95	12,71	12,53	13,95	13,79	12,8		

Figura 16 - Variações de peso em equínos com treinamento de enduro com e sem tratamento de vitamina E e selênio a intervalos de 14 dias -2004

5.16.1 Discussão

Com o treinamento de enduro a tendência é a perder massa muscular com a finalidade de facilitar a dissipação de calor produzido pelo organismo e por sua vez

ter menos peso para trasladar por longas distancias (LEWIS, 2000). Em animais que já estão em treinamento esta perda de peso pode ser moderada ou inexistente, e no caso deste experimento o interesse de monitorar esta variável parte da premissa que os animais testados já atingiram o equilíbrio no peso, e que aqueles que recebem tratamento por terem mais defesas contra o estresse oxidativo conservarão um estado físico melhor e manterão o mesmo, enquanto aqueles que não recebem tratamento tenderiam a perder peso. O que demonstram os resultados para este caso é que os animais do grupo controle mantiveram seu peso de forma constante enquanto que os animais do grupo SeE sofreram variações para mais, tudo isto porem sem expressão significativa.

6 CONCLUSÕES

- Os efeitos benéficos da suplementação com substâncias antioxidantes via parenteral às doses recomendadas não se manifestam em toda sua expressão em animais que treinam e competem em provas de base de até 60 km. Provavelmente seu impacto seja maior em aquelas provas com percursos superiores aos 100 km, onde as exigências antioxidantes crescem exponencialmente.

- Os achados nos valores hematimétricos VCM e HCM merecem ser aprofundados, uma vez que existe um consenso geral a respeito das adaptações sanguíneas permanentes nesta modalidade imputável somente ao aumento de volume plasmático sem considerar variações na estrutura ou conteúdo dos eritrócitos.

REFERÊNCIAS

- AITKEN, M. M.; ANDERSON, M. G.; MACKENZIE, G.; SANFORD, J. Correlations between physiological and biochemical parameters used to assess fitness in the horse. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 45, n. 4, p. 361-379, 1974.
- ALLAWAY, W. H. Selenium in the food chain. **Cornell Veterinarian**, v. 63, n. 2, p. 151, 1973.
- ARAYA, O.; URZUA, R.; BUSTAMANTE, H. The effect of injectable barium selenate on the glutathion peroxidase activity of horses on pastures. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 36, n. 1, p. 31-37, 2004.
- BALOGH, N.; GAAI, T.; RIBICZEYNE, P.; PETRI, Á.; Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 30, n. 4, p. 214, 2001.
- BAYLE, W. M.; GABEL, A. A.; BARR, S. A. Cardiovascular effects of submaximal aerobic training on a treadmill in standarbred horses, using a standardized exercise test. **American Journal Veterinary Research**, v. 44, n. 4, p. 544-553, 1983.
- BEECH, J. Chronic exertional rhabdomyolysis. **Veterinary Clinics of North American Equine Practice**, v. 13, n. 1, p. 145-168, 1997.
- BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B. M.; Improved method for the determination of blood glutathione. **Journal of Laboratory and Clinic Medicine**, v. 61, n. 5, p. 882-888. 1963.
- BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. *Patologia clinica veterinária*. 2. ed. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1983. 260p.
- BLACKMORE, D. J.; WILETT, K.; AGNESS, D. Selenium and gamma-glutamyl transferase activity in the serum of thoroughbreds. **Research in Veterinary Science**, v. 26, p. 76-80, 1979.
- BLOOD, D. C.; GAY, C.C.; RADOSTITS, O. M. *Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1770p.

BURTON, G. W. Vitamin E: antioxidant activity: biokinetics and bioavailability. **Annually Revision in Nutrition**. v. 10., n. 11, p. 357-382, 1990.

CAMAS, T. G.; SIGLER, D. H. Metabolic response of Quarter Horse geldings to three different exercise tolerance tests after anaerobic conditioning. **Proceedings of Equine Nutrition and Physiology Society Symposium**. p. 47-52. 1989.

Confederação Brasileira de Hipismo – CBH. Histórico. Disponível em: < www.cbh-hipismo.com.br/enduro/historico.asp.> Acesso em: 27 out. 2004.

Confederação Brasileira de Hipismo – CBH. Regulamento. Disponível em: <<http://www.cbh-hipismo.com.br/regulamentos/regulamentos.asp>>. Acesso em: 27 out. 2004.

CHANDWANNEY, R.; LEICHTWEIS, S.; LEEUWENBURGH, C.; JI, L. L. Oxidative stress and mitochondrial function in skeletal muscle: Effects of aging and exercise training. **Journal of the American Aging Association**, v. 21, n. 3, p. 109-117, 1998.

CHIARADIA, E.; AVELLINI, L.; RUECA, F.; PATERNA, A.; PORCIELLO, F.; ANTONIONI, M. T.; GAITI, A. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. **Comparative Biochemical and Physiology, B: Biochemical Molecular Biology**. v. 119, n. 4, p. 833-836, 1998.

CISNEROS PREGO, E.; PUPO BALBOA, J.; CESPEDES MIRANDA, E.; Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutati n peroxidasa. Cuba: Instituto de Ciencias B sicas y Precl nicas "Victoria de Gir n", 1996. Trabajo de Revisi n.

CLARKSON, P. M.; THOMPSON, H. S. Antioxidants: What role do they play in physical activity and health? **American Journal of Clinics and Nutrition Society**. n. 72, p. 637–646, 2000.

COMBS, G. F. The Vitamins: Fundamental aspects in nutrition and health. 2. ed. New York: Academic Press.1998. 618p.

CROCKER, C. L. Rapid determination of urea, nitrogen in serum or plasma without deproteinization. **American Journal of Medicine Technology**. v. 33, n. 5, p. 361-5, 1967.

ERICKSON, H. H.; LUNDEN, C. S.; ERICKSON, B. K. Heart rate monitoring. **Equine Veterinary Data**, v. 11, n. 7, p. 170-173, 1989.

FEDDE, M. R.; ERICKSON, H. H. Increase in the blood viscosity in the sprinting horse: can it account for the high pulmonary arterial pressure? **Equine Veterinary Journal**. London, v. 30, n., p. 329-334, 1998.

Federation Equestre International - FEI. Normas para Competências de Enduro. Disponível em: <http://62.2.231.126/PDFS/E/04_01/endurance2000-en.PDF>. Acesso em: 27 out. 2004.

FEKETE, S. Physiological and pathological role of Vitamin E and Selenium in the animal husbandry and health. **Magyar Allatorvosok Lapja**, v. 120, n. 3, p. 165-168, 1998.

FRANKIEWIEZ-JOZK, A.; SZARSKA, E. Anti-oxidant level to exercise in the blood of endurance horses. **Biology in Sport**, v. 17, p. 217–227. 2000.

HACK, V.; STROBEL, G.; RAU, J.P.; WEICKER, H. The effect of maximal exercise on the activity of neutrophil granulocytes in highly trained athletes in a moderate training period. **European Journal of Applied Physiology**, v. , n. 65, p. 520-524, 1992.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. The Athletic Horse. Principles and Practice of Equine Sports Medicine. Philadelphia: W B Saunders, 1994.437p.

JI, L. L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. **Proceedings of the society for experimental biology and medicine**, v. 222, p. 283-292, 1999.

KOLB E.; SEEHAWER J. The effect of exercise on the immune system, and compensation by the administration of vitamins in horses. **Tierärztlich Umschau**, v. 55, n. 5, p. 256-264, 2000.

LAM, K. W.; WANG, L.; HONG, B. S.; TREBLE, D. Purification of phospholipid hydroxiperoxide glutathione peroxidase from bovine retina. **Current Eye Research**, v. 12, n. 1, p. 9-15. 1993.

LAWRENCE, L.; JACKSON, S; KLINE, K; MOSER, L.; POWELL, D.; BIEL, M. Observations on body-weight and condition of horses competing in a 150-mile endurance ride. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 12, n. 5, p. 320-324, 1992.

LEWIS, L. D. Nutrição clínica eqüina: Alimentação e cuidados. São Paulo: Editora Rocca. 2000. 710p.

LITTLEJOHN, A. Exercise-related cardiovascular problems. In: ROBINSON, N. E. (Ed). **Current therapy in equine medicine**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders. p.176, 1987.

LUCKE, J. N.; HALL, G. M. Biochemical changes in horses during a 50-mile endurance ride. **Veterinary Record**, v. 10, n. 2, p. 356, 1978.

LUTSGARTEN, J. A.; WENCK R. E. Simple, rapid, kinetic method for serum creatinin measurement. **Clinical Chemistry**, v. 18,n. 11, p. 1419-1422, 1972.

MASINI, A. P.; BARAGLI, P.; TEDESCHI, D.; LUBAS, G.; MARTELLI, F.; GAVAZZA, A.; SIGHIERI, C. Behavior of mean erythrocyte volume during sub maximal treadmill exercise in the horse. **Comparative Hematology International**, v. 10, n. 1, p. 38-42, 2000.

MAYLIN, G. A., RUBIN, D. S., LEIN, D. H. Selenium and vitamin E in horses. **Cornell Veterinarian**, v. 70, n. 3, p. 272 –289, 1980.

NAKANO, T.; SATO, M.; TAKEUCHI, M. Partial purification and properties of GPx from carp hepatopancreas. **Comparative Biochemical and Physiology**, v. 102, n. 1, p. 31-35, 1992.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of horses. National Washington, D.C.: National Academy Press, 1989.100p.

NUNES, I.J. Nutrição animal básica. 2. ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ Editora, 1998. 388 p.

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

ORTOLANI, E.L. Deficiência de selênio nos animais domésticos no Brasil. Revisão de literatura. **Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 9, n. 52, p. 14-18, 1989.

PAGAN, J. D.; KARNEZOS, P.; KENNEDY M. A. P.; CURRIER, T.; HOEKSTRA, K. E. Effect of selenium source on selenium digestibility and retention in exercised thoroughbreds. **Proceedings of 16th Equine Nutrition and Physiology Society**, p. 1-4, 1999.

POWERS, S. K.; JI, L. L.; LEEWENBURGH C. Exercise training –induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 31, n. 7, p. 987-997, 1999.

PUTMAN, M. E.; COMBEN, N. Vitamin E. **Veterinary Record**, v. 121, n. 3, p. 541-545, 1987.

REVINGTON, M. Hematology of racing thoroughbred in Australia 2: hematological values compared to performance. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, n. 2, p.145-148, 1983.

ROBINSON, E. Current therapy in equine medicine. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders. 1992. 847p.

ROSE, R. J.; ALLEN, J. R.; HODGSON, D. R; STEWART, J. H. Response to sub maximal treadmill exercise and training in the horse: changes in hematology, arterial blood gas and acid base measurements, plasma biochemical values and heart rate. **Veterinary Record**, v. 113, p. 612-618, 1983.

SCHIMIDT, M.; VON FOSTUER, M: Laboratory testing in veterinary medicine diagnosis and clinical monitoring. Bohrreringer Mannheim, Manheim, 1986. 253p.

SEN, C. K.; MARIN, E.; KRETZSCHMAR, M.; HANNINEN, O. Skeletal muscle and liver glutathion homeostasis in response to training, exercise, and immobilization. **Journal of Applied Physiology**, v. 73, n. 4, p. 1265-1272, 1992.

SNOW, D. H. Assessment of fitness in the horse. In: _____ **Equine Practice**. Philadelphia: Baillière Tindall, 1992. Chapter 18, p. 281-294.

SNOW, D. H. Hematological, biochemical and physiological changes in horses and ponies during the cross-country stage of driving trial competitions. **Veterinary Record**, v. 126, n. 2, p.233-239, 1990.

TAKANAMI, Y.; IWANE, H., KAWAI, Y.; SHIMOMITSU, T. Vitamin E supplementation and endurance exercise. Are there benefits? **Sports Medicine**, v. 9, n. 2, p. 73-83, 2000.

VERCESI, A. E. Mitocôndria: ATP, calor e morte celular. Universidade Estadual de Campinas. **Ciência Hoje**, v. 34, n. 199, p. 16-23, 2003.

VIDER, J. J.; LEHTMAA, T.; KULLISAAR, T.; VIHALEMM, K.; ZILMER, C.; KAIRANE, A.; LANDOR, T.; KARU ZILMER, M. Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. **Pathophysiology**. v. 7, n. 4, p.263–270. 2001.