

CARACTERIZAÇÃO DO RITMO CIRCADIANO DO CORTISOL E PERFIL BIOQUÍMICO DE EQUINOS CRIoulos SUBMETIDOS À PROVA SIMULADA DE LAÇO COMPRIDO ¹

BEATRIZ DE FREITAS RODRIGUES^{2*}, BIANCA DE FÁTIMA DALLO³,
JUCEMARA MADEL DE MEDEIROS⁴, FABIANA RANCRAPÉ⁴, LUCIANA
PEREIRA MACHADO ⁵

1 INTRODUÇÃO

O rebanho equino brasileiro é de cerca de 5,8 milhões, sendo que entre os estados com o maior número de cabeças temos o Rio Grande do Sul e o Paraná que possuem o laço comprido como modalidade de esporte equestre tradicional (IBGE, 2017). Considerado um exercício de explosão por ter alta intensidade e curta duração leva a alterações nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos, que devem ser conhecidos para um melhor treinamento dos animais visando sua saúde e bem-estar (MATTOSINHO *et al.*, 2017).

2 OBJETIVOS

Avaliar o efeito da regularidade de competições na resposta do cortisol e nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos de equinos submetidos ao exercício de laço comprido.

3 METODOLOGIA

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFFS) (5648061120). Contudo devido a Pandemia do Covid-19 as atividades da pesquisa e as provas de laço comprido foram suspensas. Assim para a realização do trabalho foram utilizados dados já coletados em projeto anterior (PES- 2018-0963), em prova simulada de laço comprido, os quais foram reagrupados e analisados seguindo os objetivos do presente projeto.

1 Título do subprojeto: Caracterização do Ritmo Circadiano do Cortisol Plasmático, Perfil Bioquímico e Metabolismo Oxidativo de Equinos na Modalidade de Laço Comprido

2 Discente de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, **Bolsista IC/UFFS, contato: beatriz.rodrigues@estudante.uffs.edu.br**

3 Médica Veterinária e Residente nível 1 da Universidade Federal do Paraná, *Campus* Palotina

4 Discente de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza

5 Docente da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, **Orientador.**

Essa pesquisa foi realizada no município de Realeza, Paraná, com a utilização de 10 éguas da raça Crioula de idade e peso médio de 5,8 anos e 404 kg oriundas de propriedades até 20 km de distância do local, com manejo e alimentação semelhantes. Foram colhidos dados de idade, raça, treinamento, nutrição, escore de condição corporal por inspeção e palpação, e peso com a utilização de fita de pesagem para equinos.

Os animais foram divididos em 2 grupos de acordo com seu histórico de competição, no qual o grupo competidor regular (GR) treinava e participava de provas da modalidade laço comprido de forma frequente e o grupo competidor esporádico (GE) participava de forma casual, não possuindo treinamento.

A prova simulada de laço comprido ocorreu sempre no mesmo período, entre 16 às 18 horas. Os equinos montados eram conduzidos em galope na direção a um protótipo bovino tracionado por uma motocicleta, com velocidade constante de 30 km/h, dentro de uma cancha de 100 metros de comprimento. Foram avaliados os momentos de repouso, na manhã (6-8h) do dia da simulação (R1) e antes do início do exercício com o animal selado e montado (R2). Após exercício foram avaliados: logo após cinco corridas (E1), 30 minutos (E2), 4 horas (E3) e 24 horas (E4) após a quinta corrida. Foram mensurados frequência cardíaca (FC) com estetoscópio clínico, frequência respiratória (FR) pela contagem dos movimentos respiratórios, temperatura retal (TR) com termômetro clínico digital.

Foram colhidos 4 mL de sangue em tubos a vácuo sem anticoagulante por punção de veia jugular. Com o soro obtido após centrifugação foram realizadas as dosagens bioquímicas, utilizados kits comerciais e soro controle universal (Labtest®-Lagoa Santa/MG, Brasil/Wiener lab Group, Rosario–Argentina) e processadas em analisador bioquímico automático (Labmax Pleno, Labtest/ Wiener lab. CM 250®).

As concentrações do cortisol sérico foram determinadas com a utilização de kit comercial imunoenzimático (Cortisol Test System, Monobind Inc, Lake Forest, USA), de acordo com as orientações dos fabricantes e os resultados obtidos em leitor do tipo ELISA (Multiskan FC-Thermo Scientific-Uniscience®), utilizando-se a curva padrão. O ritmo circadiano do cortisol (RCC) foi determinado pelo método proposto por DOUGLAS (1999) sendo utilizado os dados obtidos em R1 e E3 para realizar o cálculo de $[RCC = (\text{valor maior-menor})/\text{valor maior}]$ e considerados alterados os valores abaixo de 0,3.

Para a análise estatística utilizando o programa estatístico SigmaStat, em cada grupo foi aplicado o teste T pareado para comparar os momentos pós exercício com o repouso (R2),

para as variáveis paramétricas e para as não paramétricas o teste de Wilcoxon. Para a comparação entre os grupos, em cada momento, foi utilizado o teste T, para as variáveis paramétricas, e o teste de Mann-Whitney para as não paramétricas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como observado nas Tabelas 1 e 2, em ambos os grupos houve elevação dos parâmetros em E1 em relação a R2, porém essas diferenças apenas foram significativas em ambos os grupos na FC e TR, no GR para proteínas totais (PT) e ácido úrico e em GE, para albumina (ALB) e aspartato Aminotransferase (AST). Os valores de FC, FR, globulinas, AST e creatinaquinase (CK) em GE, se apresentaram acima dos valores de referência, enquanto em GR isso ocorreu apenas com a FR e as globulinas e com a CK, a FC e a TR em E1.

Tabela 1: Médias e desvio-padrão dos parâmetros ambientais e fisiológicos avaliados nos grupos esporádico (GE) e regular (GR) nos momentos na manhã do exercício (R1), antes do exercício (R2), logo após (E1), 30 minutos (E2), 4 horas (E3) e 24 horas após (E4)

		§ VR	R1	R2	E1	E2	E3	E4
TA (°C)	GE	-	20,5 ± 2,2	32,5 ± 4,5	29,9 ± 2,6	28,5 ± 2,8	26,3 ± 1,1	28 ± 0,7
	GR	-	22,8 ± 1,7	31,4 ± 3,1	30 ± 3,1	28,6 ± 3,9*	24,9 ± 2,2*	28,2 ± 2
UR (%)	GE	-	72,2 ± 9,3	44 ± 10,9	47,2 ± 8,7	47,6 ± 9,6	54,8 ± 4,6	53,4 ± 13,9
	GR	-	67,4 ± 6,2	50,6 ± 6,3	55,6 ± 8,2	61,8 ± 19,5	71,5 ± 7,8*	67,3 ± 8,6*
FC (bat/min)	GE	32 – 44	47,4 ± 14,6	48,8 ± 5,2	84,2 ± 3,8*	48,8 ± 5,9	50,4 ± 6,7	46,4 ± 8,3
	GR	32 – 44	35,2 ± 6,6	42,4 ± 5,4	88,8 ± 16,6*	48,8 ± 17,7	42 ± 6,9	37,3 ± 10,1
FR (mov/min)	GE	8 – 16	25,6 ± 10	38,8 ± 4,8 a	68 ± 22,6	36 ± 23,8	30 ± 7,7	32,8 ± 7,2
	GR	8 – 16	22,4 ± 3,6	30,4 ± 5,4 b	52 ± 10,6	32,8 ± 8,2	30 ± 7,7	25,3 ± 6,1
TR (°C)	GE	37,2 – 38,2	37,3 ± 0,4 a	37,7 ± 0,2	38,5 ± 0,5*	38,2 ± 0,7	37,8 ± 0,4	37,6 ± 0,2
	GR	37,2 – 38,2	37,8 ± 0,2 b	37,6 ± 0,4	38,5 ± 0,3*	38,2 ± 0,5	37,9 ± 0,2	37,9 ± 0,1

§ Valores de referência para equinos adultos em repouso, segundo Cunningham (1999). FC: Frequência cardíaca (batimentos/minuto);

FR: Frequência respiratória (movimentos/minuto); TR: Temperatura retal; TA: Temperatura Ambiente; UR: Umidade Relativa do Ar;

* Difere do R2 (p < 0,05). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre grupos (p < 0,05). Fonte: elaborada pelo autor, 2021.

Tabela 2: Médias e desvio-padrão dos parâmetros bioquímicos avaliados nos grupos esporádico (GE) e regular (GR) nos momentos na manhã do exercício (R1), antes do exercício (R2), logo após (E1), 30 minutos (E2), 4 horas (E3) e 24 horas após (E4)

		§ VR	R1	R2	E1	E2	E3	E4
Proteína Total (g/dL)	GE	5,5 – 7,5	6,6 ± 0,3 a	6,2 ± 0,6	6,5 ± 0,4	6,4 ± 0,4 a	6,2 ± 0,5	6,3 ± 0,5
	GR	5,5 – 7,5	5,8 ± 0,7 b	5,8 ± 0,3	6,1 ± 0,4*	5,8 ± 0,4 b	6,4 ± 1,3	5,9 ± 0,3
Albumina (g/dL)	GE	2,6 – 3,8	2,2 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,3 ± 0,1*	2,2 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,1
	GR	2,6 – 3,8	2,1 ± 0,2	2 ± 0,2	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,1*
Globulinas (g/dL)	GE	2, 0 – 3, 52	4,4 ± 0,4	4,1 ± 0,6	4,2 ± 0,5	4,2 ± 0,4	4,1 ± 0,4	4,2 ± 0,5
	GR	2, 0 – 3, 52	3,7 ± 0,6	3,7 ± 0,3	3,9 ± 0,5	3,7 ± 0,4	3,5 ± 2,2	2,8 ± 2,1
AST	GE	150 – 400	305,2 ± 48,4 a	254 ± 68,6	322,4 ± 22,5*	292,2 ± 57,2	242,6 ± 70,8	252,8 ± 58,4
	GR	150 – 400	224,6 ± 51,4 b	260,2 ± 74,2	282,2 ± 73,6	286,4 ± 96,1	262,7 ± 62,2	260,3 ± 61,8
CK (U/L)	GE	100 – 300	537,3 ± 149,5 a	522,4 ± 287,1	310,8 ± 108,2	381,1 ± 217,5	387,8 ± 215,8	349,6 ± 176
	GR	100 – 300	200,6 ± 54,3 b	249,6 ± 63,1	452,7 ± 369,2	228 ± 61,9	178,9 ± 27,6	328,2 ± 236,3
Cortisol (µg/dL)	GE	---	12,1 ± 4,3	12,0 ± 4,6	15,1 ± 5,9	14,7 ± 4,5*	9,8 ± 3,5	10,8 ± 5,5
	GR	---	17,5 ± 13,4	16,9 ± 13,9	20,5 ± 15,5	21,4 ± 12,9	8,1 ± 4,2	10,6 ± 5,3
Lactato (mmol/L)	GE	0,5 – 1,02	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,2	1,8 ± 1,3	1,2 ± 0,4*	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0*
	GR	0,5 – 1,02	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	2 ± 1,2	0,8 ± 0,3	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,4
Glicose (mg/dL)	GE	70 – 1402	90,5 ± 9,2	91,6 ± 5,9	94,3 ± 12,1	97,8 ± 16,7	103,9 ± 22,1	89,6 ± 13,9
	GR	70 – 1402	93,8 ± 6,1	91,3 ± 3,2	95,2 ± 4,2	91 ± 6,2	96,1 ± 9,8	100,9 ± 9,2
Ácido úrico (mg/dL)	GE	<14	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,1
	GR	<14	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,8 ± 0,1*	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
Ureia (mg/dL)	GE	24 – 482	41,8 ± 7,8	43 ± 11,6	44,2 ± 10,2	44,8 ± 13,2	46,8 ± 10,1	42 ± 8,8
	GR	24 – 482	37,8 ± 1,6	36,8 ± 4,2	36 ± 3,8	37 ± 4,5	36 [33,5-40]	38,3 ± 3,1

§ Valores de referência para equinos adultos em repouso, segundo Cunningham (1999); McGowan; Hodgeson (2013). AST: Aspartato aminotransferase; CK: Creatininaquinase * Difere do R2 (p < 0,05). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre grupos (p < 0,05). Fonte: elaborada pelo autor, 2021.

Essas elevações são esperadas devido à alta demanda energética e gasosa do exercício de explosão que levam ao aumento das concentrações séricas de lactato pela alta necessidade de adenosina trifosfato (ATP), induzindo a produção de calor e aumento da TR. Assim, como tentativa de dissipar o calor existe o aumento da FC e FRA elevação de AST e CK ocorrem devido ao aumento de permeabilidade da membrana que os miócitos sofrem no exercício (MacLEAY, 2010; MATTOSINHO *et al.*, 2017).

O aumento dos parâmetros fisiológicos leva ao aumento da sudorese e da movimentação dos fluidos corporais, assim é comum os animais apresentarem um aumento das proteínas totais e da albumina devido à perda de fluidos. Sendo que por essa elevação não ocorrer acima dos valores de referência para a espécie, é um marco que os animais não tiveram uma perda excessiva (NAYLOR *et al.*, 1993; MATTOSINHO *et al.*, 2017). O aumento do ácido úrico encontrado denota a alta utilização de ATP e de proteínas para a gliconeogênese muscular nos exercícios de explosão (MacLEAY, 2010).

Ao realizar a comparação entre os grupos foram observados valores superiores de FC, FR, PT, ALB, globulinas, AST, CK e Ureia no GE em relação a GR, porém sendo apenas significativas para alguns destes em R1, R2 e E1. No lactato podemos observar que as concentrações em ambos os grupos eram parecidas e após o aumento em E1 apenas o GR teve o retorno aos valores basais no E2. Demonstrando a adaptabilidade do grupo regular ao exercício em comparação ao grupo esporádico (MacLEAY, 2010).

Observa-se elevação do cortisol em resposta ao exercício, que foi significativa apenas no R2 do GE. Com a utilização da fórmula proposta por DOUGLAS (1999) o valor de RCC não teve diferença estatística entre os grupos. Porém o GR obteve valores acima de 0,3, que é o esperado para a espécie, enquanto quatro animais do GE apresentaram valores abaixo de 0,3, com média de 0,17, que corresponde a RCC alterado, demonstrando o estresse causado pelo exercício em animais não adaptados. O que segundo LOPES e colaboradores (2009) pode ocorrer devido à falta de treinamento dos animais, porém segundo IRVINE e ALEXANDER (1994) a avaliação deveria ser realizada em vários dias para confirmar que a alteração se deu pelo exercício e não por fatores externos como o conforto do animal no ambiente ou alterações nesse microambiente que o animal está.

5 CONCLUSÃO

Os animais de ambos os grupos submetidos à prova simulada de laço comprido tiveram aumentos transitórios de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, porém o grupo de



competidores regulares apresentaram elevações mais próximas à normalidade e por isso podem ser considerados mais adaptados ao exercício a qual foram submetidos que os animais que competem de forma esporádica, sendo que estes ainda apresentaram alterações do ritmo circadiano do cortisol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DOUGLAS, E. Circadian Cortisol Rhythmicity and Equine Cushing's-Like Disease. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 19, n. 11, p. 684-753, 1999.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário**. Brasil, 2017. Disponível em: <https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultados_agro/pecuaria.html?localidade=0&tema=75665>. Acesso em: 10 jun. 2021.

IRVINE, C. H. G.; ALEXANDER, S. L. Factors Affecting the Circadian Rhythm in Plasma Cortisol Concentrations in the Horse. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 11, n. 2, p. 227-238, 1994.

LOPES, K. R. F. *et al.* Influência das Competições de Vaquejada sobre os Parâmetros Indicadores de Estresse em Equinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 538-543, 2009.

MacLEAY, J. M. Disorders of the Musculoskeletal System. *In*: REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELLON, D. C. **Equine Internal Medicine**. 3 ed. St. Louis: Elsevier, p. 488-544, 2010.

MATTOSINHO, R. O. *et al.* Alterações Hematológicas e Bioquímica Sérica de Equinos Atletas. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 4, n. 1, p. 82-91, 2017.

NAYLOR, J. R. J. *et al.* Effects of Dehydration on Thermoregulatory Responses of Horses During Low-intensity Exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 74, 994- 1001, 1993.

Palavras-chave: Cavalo Crioulo; Exercício; Enzimas Séricas; Intensidade; Lactato

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2020-0480.

Financiamento: UFFS.