

AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE MARCADORES DE INTENSIDADE DE EXERCÍCIO, ESTRESSE E ESTRESSE OXIDATIVO NO EXERCÍCIO DE LAÇO COMPRIDO EM EQUINOS

ANA JÚLIA PEREIRA DE MELO ¹, ELOIZE DE SOUZA ², LUCIANA PEREIRA MACHADO³

1 Introdução

A prova de laço comprido consiste em laçar pelo chifre com uma corda trançada em couro um bovino solto em uma pista (COSTA *et al.*, 2016). Por ser um exercício de alta intensidade e de curta duração, o organismo desencadeia respostas fisiológicas que podem alterar as concentrações de lactato, malondialdeído e cortisol. Os estudos sobre o exercício de laço comprido são escassos, por isso caracterizar o impacto do exercício de laço comprido no metabolismo oxidativo é importante para nortear estudos futuros que venham a desenvolver protocolos de treinamento, manejo e suplementação adequados, visando melhorar a performance e o bem-estar dos animais (CAPPELLI *et al.* 2008; TODESCHINI, 2017).

2 Objetivos

O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito do exercício de laço comprido no metabolismo oxidativo dos equinos e sua relação com os marcadores de intensidade de exercício e de estresse.

3 Metodologia

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob protocolo nº 7806021122, com a utilização de amostras biológicas obtidas de projeto anterior desenvolvido pelo grupo de pesquisa. O presente estudo analisou amostras de soro e plasma de 10 fêmeas equinas, entre 3 e 8 anos de idade, oriundas de propriedades com manejo e alimentação semelhantes. No projeto que forneceu as amostras, os equinos realizaram o

¹ Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, contato: anajulia.melo@estudante.uffs.edu.br

² Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza.

³ Docente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, **Orientadora.**

exercício em uma cancha com aproximadamente 100 metros de comprimento, montados pelos ginetes, em direção a um protótipo bovino tracionado por uma motocicleta, com velocidade mantida em 30km/h. A simulação foi realizada sempre no horário das 16:00 às 18:00 h. As amostras permaneceram armazenadas em ultrafreezer a -80°C, até a análise.

Foram avaliados os seguintes momentos: antes do início do exercício com o animal selado e montado (M0), logo após um conjunto de 5 corridas (E1), 30 minutos (E2), 4 horas (E3) e 24 horas (E4) após a quinta corrida. Foram analisados os resultados das concentrações lactato que foram determinadas em plasma com fluoreto de sódio+EDTA, pelo método enzimático Trinder, em analisador bioquímico automático (Wiener lab. CM 250® - Wiener lab Group, Rosario – Argentina) utilizando kits comerciais, calibradores e soros controles comerciais, conforme orientação do fabricante (Wiener lab Group).

Os resultados das concentrações sanguíneas do cortisol foram determinados utilizando kit comercial imunoenzimático (Cortisol Test System, Monobind Inc, Lake Forest, USA), conforme recomendações dos fabricantes. Sendo o resultado final obtido em leitor do tipo ELISA (Multiskan FC - Thermo Scientific - Uniscience®), através da curva padrão.

Foi realizada a dosagem do MDA plasmático, utilizado como marcador de lipoperoxidação e avaliado pelo teor de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) e leitura das densidades ópticas a 532nm (BIO2000, Bioplus), segundo metodologia de Estebauer e Cheeseman (1990). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$ utilizando-se curva de calibração com padrão de MDA (1,1,3,3-tetrahidroxipropano, Sigma® - Saint Louis, EUA).

A análise estatística foi realizada com o programa Sigma Stat-3, aplicando a análise de variância (ANOVA) para dados paramétricos e teste de Kruskal-Wallis para dados não paramétricos. Também foi aplicado o teste de correlação de Pearson entre as variáveis. Todas as análises foram realizadas com nível de significância de 5%.

4 Resultados e Discussão

A prova do laço comprido promoveu elevação significativa do lactato (Tabela 1), porém abaixo do limiar aeróbico. O lactato é um indicador clássico do exercício anaeróbico que eleva-se proporcionalmente à intensidade da atividade, sendo classificado o exercício como anaeróbico quando atinge valores superiores a de 4 mmol/L (AMARAL *et al.*, 2013). Isso sugere que a prova promove demanda metabólica com incremento do sistema glicolítico anaeróbico durante a prova, embora de forma discreta.

Compagnoni *et al.* (2020) observaram resultados semelhantes ao realizarem um estudo com equinos da raça quarto de milha para avaliar a intensidade do treinamento no exercício de laço comprido no qual mensuraram o lactato e a glicose, os quais se apresentaram elevados após o exercício em comparação ao valor basal, mas ainda dentro dos valores de referência, assim, os animais foram considerados adaptados à atividade.

Tabela 1 – Mediana e percentis [P₂₅, P₇₅] do lactato e cortisol, médias e desvio-padrão da concentração de malondialdeído (MDA) em equinos submetidos a uma prova simulada de exercício de laço comprido, avaliados antes do exercício com o animal selado e montado (M0), e logo após (E1), 30 minutos (E2), 4 horas (E3) e 24 horas (E4) após um conjunto de cinco corridas.

Parâmetros	Repouso		Momentos pós-exercício				P
	M0	E1	E2	E3	E4		
Lactato (mmol/L)	0,715 ^b [0,66 - 0,99]	1,33 ^a [1,22 - 2,66]	1,105 ^{ab} [0,66 - 1,33]	0,77 ^b [0,66 - 0,79]	0,56 ^b [0,56 - 0,56]	0,001	
Cortisol (µg/dL)	11,7 [8,61 - 15,72]	13,9 [10,2 - 24,5]	14,55 [11,0 - 21,9]	8,84 [5,00 - 12,16]	9,22 [7,53 - 13,08]	0,057	
MDA (µmol/L)	4,03 ± 0,7	4,42 ± 1,3	4,22 ± 1,3	4,64 ± 1,0	4,58 ± 0,7	0,742	

Letras diferentes indicam diferença significativa entre momentos na mesma linha pelo teste Kruskal-Wallis, seguido por teste de Dunn 's, p<0,05.

Fonte: elaborada pelo autor, 2023.

Analisando o cortisol, embora as variações observadas não tenham atingido significância estatística, houve uma tendência de aumento (p=0,057) com rápido retorno aos valores basais, sugerindo a possível ativação fisiológica do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (eixo HHA) em resposta ao estímulo do exercício (GRAAF-ROELFSEMA *et al.*, 2007).

Ferraz e seus colaboradores (2010) concluíram que o cortisol é um bom marcador de estresse ao avaliar 12 equinos da raça Puro Sangue Árabe em treinamento, em que houve um aumento das concentrações plasmáticas de cortisol conforme a elevação da intensidade do esforço. Em estudo realizado com equinos submetidos a prova de vaquejada, os autores justificam que fatores estressantes da competição podem levar ao aumento do cortisol, assim como à manipulação antes da prova e falta de treinamento dos animais (LOPES *et al.*, 2009).

Os resultados obtidos neste estudo indicaram que o malondialdeído (MDA), marcador de estresse oxidativo, não apresentou alterações significativas (Tabela 1), sugerindo a ausência de um aumento substancial nas espécies reativas de oxigênio em resposta ao exercício. O estresse oxidativo se estabelece quando a ação dos radicais livres supera a capacidade antioxidante, tendo como uma de suas consequências a lipoperoxidação das membranas lipídicas, resultando em maior concentração de malondialdeído (MDA) (MACHADO *et al.*, 2009; FERNANDES *et al.*, 2012; BRUMMER *et al.*, 2013). Todeschini (2017) obteve o mesmo resultado para o MDA com equinos da raça Crioula submetidos à prova simulada de laço comprido, assim como Barbosa (2012) relatou que o exercício de esteira não foi intenso o suficiente para promover estresse oxidativo.

Foi realizada a correlação de Pearson entre os marcadores de metabolismo oxidativo, intensidade de exercício e de estresse e não houveram correlações significativas entre os parâmetros analisados. O número limitado de animais e/ou variação individual pode ter influenciado na ausência de correlação, assim futuras pesquisas com outras amostragens podem proporcionar resultados mais definitivos sobre as interações dos parâmetros.

5 Conclusão

Os resultados deste estudo apontam adaptação dos animais ao exercício de laço comprido, com elevação transitória do lactato dentro dos limites fisiológicos, o comportamento do cortisol não indica presença de estresse e o exercício nas condições realizadas não produz estresse oxidativo.

Referências Bibliográficas

AMARAL, L. A. *et al.* Limiar anaeróbico (V4) e frequência cardíaca de cavalos Crioulos condicionados para prova funcional. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.65, n.1, p.181-188, 2013.

BARBOSA, T. S. Lesões oxidativas e atividade antioxidante em equinos submetidos a exercícios em esteira e suplementados com vitamina E (dl-alfa-tocoferol). 2012.

BRUMMER, M.; HAYES, S., DAWSON, K.A.; LAWRENCE, L.M. Measures of antioxidant status of the horse in response to selenium depletion and repletion. **Journal of Animal Science**, v.91, p.2158-2168, 2013.

CAPPELLI, K. *et al.* Exercise induced stress in horses: selection of the most stable reference genes for quantitative RT-PCR normalization. **BMC molecular biology**, v. 9, n. 1, p. 1-8, 2008.

COMPAGNONI, I. S. *et al.* Avaliação da intensidade do treinamento em equinos no laço comprido. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, 2020.

COSTA, L. A. G., *et al.* **Cartilha com orientações e boas práticas para a realização de rodeios crioulos**. 2. ed. p. 12, Rio Grande do Sul, 2016.

ESTEBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in enzymology**, v. 186, n. 42, p. 407 – 421, 1990.

FERRAZ, G. C. *et al.* Influência do treinamento aeróbio sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, p. 23-29, 2010.

FERNANDES W.R.; RODRIGUES J.A.; MICHIMA L.E.S.; SIQUEIRA R.F. Avaliação do estresse oxidativo em cavalos de trote através da mensuração de malondialdeído (MDA) e glutatona reduzida (GSH) eritrocitária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, p.677-680, 2012.

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

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.

MACHADO, L.P.; KOHAYAGAWA, A.; SAITO, M.E.; SILVEIRA, V.F.; YONEZAWA, L.A. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse na medicina veterinária. **Revista de Ciências Agroveterinárias (UDESC)**, v. 8, p. 84-94, 2009.

TODESCHINI, P. R. B. **Avaliação hematológica, bioquímica e do metabolismo oxidativo em equinos da raça crioula submetidos à prova simulada de laço comprido**. (Dissertação) Mestrado em Ciência Animal – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, p. 19 – 29, 2017.

Palavras-chave: Cavalo; Lipoperoxidação; Malondialdeído; Metabolismo Oxidativo; Radicais Livres.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2022-0471

Financiamento: Fundação Araucária