

WILSON PINHEIRO DE CARVALHO FILHO

**PROTEÍNAS DE FASE AGUDA, ESTRESSE OXIDATIVO E COMPONENTES
HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE EQUINOS SUBMETIDOS AO
TRANSPORTE RODOVIÁRIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Leandro Abreu da Fonseca

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

C331p
2021

Carvalho Filho, Wilson, 1964-

Proteínas de fase aguda, estresse oxidativo e componentes
hematológicos e bioquímicos de equinos submetidos ao transporte
rodoviário / Wilson Carvalho Filho. - Viçosa, MG, 2021.
1 tese eletrônica (143 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Leandro Abreu da Fonseca.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento
de Veterinária, 2021.

Referências bibliográficas: f. 106-121.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.022>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Animais - Transporte. 2. Stress oxidativo. 3. Cavalos. 4.
Proteínas de fase aguda. I. Fonseca, Leandro Abreu da, 1980-. II.
Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária.
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 636.133

Bibliotecário(a) responsável: Renata de Fátima Alves CRB6/2578

WILSON PINHEIRO DE CARVALHO FILHO

**PROTEÍNAS DE FASE AGUDA, ESTRESSE OXIDATIVO E COMPONENTES
HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE EQUINOS SUBMETIDOS AO
TRANSPORTE RODOVIÁRIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 25 de novembro de 2021.

Assentimento:



Wilson Pinheiro de Carvalho Filho
Autor



Leandro Abreu da Fonseca
Orientador

*À minha esposa Claudia Judice.
Ao meu filho Eric Judice de Carvalho.
À minha mãe Luzia Praxedes de Carvalho
e ao meu pai Wilson P. de Carvalho (in memoriam).
Aos meus irmãos: Bruno P. de Carvalho,
Rômulo P. de Carvalho, Daniel P. de Carvalho e
Dênio P. de Carvalho.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, amigo e mestre Leandro Abreu da Fonseca, por acreditar no impossível e me aceitar como seu orientando, abraçando nossas ideias e as tornando alcançáveis. Meus agradecimentos pela atenção e paciência incondicionais.

À minha esposa e filho, pelas minhas ausências tantas.

À Fabricia Girardi, pelas incontáveis horas no laboratório, amizade, guloseimas, prosa e paciência nas minhas tantas invasões do seu lar.

À minha mãe e irmãos, pelo incentivo constante e crença em que eu seja alguém muito especial.

Ao meu pai (*in memoriam*), pelo legado de respeito, resiliência e lisura que me deixou.

Ao meu tio Arlindo Praxedes (*in memoriam*), pela maestria no convívio com os animais e legado de amor sem precedentes.

Ao Instituto de Diagnóstico Animal (IDAN), na pessoa do amigo Daniel Bressiani, pelo carinho e colaboração com análises clínicas.

Aos companheiros do Laboratório de Pesquisa em Patologia Clínica Veterinária (LPPCV), do DVT/UFV, pelo fundamental apoio do desenvolvimento desta tese. Sem eles, seria quase impossível eu finalizar esta tarefa.

Ao professor Pedro Ancelmo Nunes Ermita, pela colaboração com as análises estatísticas.

À Daniel Prestes Vieira e seus colaboradores da Fazenda Marimbondo, pela logística, concessão e manejo dos animais.

Ao Departamento de Veterinária da UFV e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. A todos os professores, técnicos e funcionários, em especial à secretária da Pós-Graduação Rosineia Cunha.

Ao Departamento de Biologia, na pessoa do professor Leandro Licursi; e ao pessoal do laboratório, em especial Daniel e Alessandra, que me aguentaram por tanto tempo me orientando e refazendo tantas vezes o trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

“Aqueles que se atrevem a falhar miseravelmente podem realizar muito. Precisamos encontrar tempo para parar e agradecer às pessoas que fazem a diferença em nossas vidas.”

(John F. Kennedy)

RESUMO

CARVALHO FILHO, Wilson Pinheiro de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2021. **Proteínas de fase aguda, estresse oxidativo e componentes hematológicos e bioquímicos de equinos submetidos ao transporte rodoviário.** Orientador: Leandro Abreu da Fonseca.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do transporte rodoviário de equinos sobre proteínas de fase aguda (PFA), estresse oxidativo e componentes hematológicos. Foram utilizados 11 equinos, mestiços Quarto de Milha, idade média de $8,5 \pm 1,4$ anos e peso de $447,1 \pm 21,2$ quilos. O experimento foi conduzido no município de Araruama, RJ, com amplitude térmica local variando de 15 a 34°C ($21,4 \pm 5,4$), umidade relativa do ar entre 58 e 93% ($78 \pm 11,4$). Os animais foram submetidos a duas viagens, a primeira de 50 km, que teve duração de uma hora e 40 minutos, com velocidade média de 30 km por hora. Após 21 dias, realizou-se a segunda jornada, desta vez, de 300 km com duração de cinco horas e 30 minutos e velocidade média de 54,5 km por hora. Para analisar as variáveis, foi coletado sangue em nove momentos em cada viagem: TAnVi (imediatamente antes do início da viagem), TTeVi (imediatamente após o término do percurso) e com seis (T6h), 24 (T24h), 48 (T48h), 72 (T72h), 96 (T96h), 120 (T120h) e 144 horas (T144h) após o término da viagem. Foram avaliados o hematócrito, proteínas totais, plaquetas, contagem global e diferencial de leucócitos; as proteínas de fase aguda: macroglobulina alfa 2 (ALF 2), ceruloplasmina (CP), transferrina (TRF), antitripsina alfa 1 (ALF 1), haptoglobina (HP), apolipoproteína alfa 1 (APO-A1), $\alpha 1$ glicoproteína ácida (GPA); marcadores de estresse oxidativo: óxido nítrico (NO), capacidade de redução férrica do plasma (FRAP), superóxido dismutase (SOD) e malondialdeído (MAD); atividade muscular: creatinoquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e atividade metabólica glicose (GLI) e lactato (LAC). A estatística utilizou ANOVA, comparações pelo teste de Tukey e não paramétricos por Kruskal-Wallis com *post hoc* de Dunn, significância considerada quando $p < 0,05$. Houve incremento de neutrófilos de TTeVi a T48h após os dois trajetos e dos leucócitos totais de TTeVi a T24h após os 300 km. A GLI não apresentou alteração entre as distâncias, porém apresentou depleção em TTeVi dos 300 km. Houve incremento do lactato após os 50 km em relação aos 300, bem como TTeVi dos 50 km. A AST apresentou incremento em TTeVi dos 300 km em relação aos 50. As PFAs

permaneceram sem alteração em todos os momentos. O estresse oxidativo foi percebido com depleção do SOD e incremento do MAD nos 300 km em relação aos 50. O percurso de 300 km ocasionou alterações mais acentuadas nas enzimas musculares, marcadores metabólicos e estresse oxidativo, sinalizando que o transporte de longa distância acarreta variações fisiológicas importantes.

Palavras-chave: Transporte. Estresse oxidativo. Bem-estar. Proteínas de fase aguda. Equinos.

ABSTRACT

CARVALHO FILHO, Wilson Pinheiro de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2021. **Acute phase proteins, oxidative stress and hematological and biochemical components of horses subjected to road transport.** Advisor: Leandro Abreu da Fonseca.

The aim of this study was to evaluate the effect of road transport of horses on acute phase proteins (APP), oxidative stress and hematological components. Eleven horses, crossbred Quarter Horses, mean age of 8.5 ± 1.4 years and weight of 447.1 ± 21.2 kg were used. The experiment was carried out in the city of Araruama, RJ, with local thermal amplitude ranging from 15 to 34°C (21.4 ± 5.4), relative humidity between 58 and 93% (78 ± 11.4). The animals were submitted to two trips, the first of 50 km, which lasted one hour and 40 minutes, with an average speed of 30 km per hour. After 21 days, the second journey took place, this time of 300 km lasting five hours and 30 minutes and an average speed of 54.5 km per hour. To analyze the variables, blood was collected at nine moments in each trip: TAnVi (immediately before the beginning of the trip), TTeVi (immediately after the end of the trip) and with six (T6h), 24 (T24h), 48 (T48h), 72 (T72h), 96 (T96h), 120 (T120h) and 144 hours (T144h) after the end of the trip. Hematocrit, total proteins, platelets, global and differential leukocyte counts were evaluated; acute phase proteins: macroglobulin alpha 2 (ALF 2), ceruloplasmin (CP), transferrin (TRF), antitrypsin alpha 1 (ALF 1), haptoglobin (HP), apolipoprotein alpha 1 (APO-A1), $\alpha 1$ acid glycoprotein (GPA); oxidative stress markers: nitric oxide (NO), ferric reducing ability of plasma (FRAP), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MAD); muscle activity: creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST) and metabolic activity glucose (GLI) and lactate (LAC). The statistics used ANOVA, comparisons by Tukey's test and nonparametric comparisons by Kruskal-Wallis with Dunn's post hoc, significance considered when $p < 0.05$. There was an increase in neutrophils from TAFTr to T48h after both paths and in total leukocytes from TAFTr to T24h after 300 km. The GLU also did not change between distances, but showed depletion in TAFTr of 300 km. Lactate increment after 50 km compared to 300, as well as TAFTr after 50 km. The AST showed an increase in TTeVi from 300 km compared to 50 km. The PFAs remained unchanged at all times. Oxidative stress was perceived with SOD depletion and MAD increase at 300 km

compared to 50 km. The 300 km route caused more pronounced changes in muscle enzymes, metabolic markers and oxidative stress, indicating that long-distance transport causes important physiological variations.

Keywords: Transport. Oxidative Stress. Welfare. Acute phase proteins. Horses.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Incidência de distúrbios associados ao transporte informada por empresa de transporte	23
Figura 2 – Moléculas de glicose	25
Figura 3 – Esquema da oxidação da glicose.....	26
Figura 4 – Relação entre diferentes órgãos na gliconeogênese	27
Figura 5 – Ciclo de Cori.....	28
Figura 6 – Tipos de CK	29
Figura 7 – Transaminação de L-asparto e cetoglutarato em oxalacetato e glutamato catalisada pela AST	30
Figura 8 – Reação de transformação do piruvato em lactato pela LDH	32
Figura 9 – Marcadores de estresse oxidativo.....	41
Figura 10 – Principais sistemas de defesa enzimática endógena das células aeróbicas	43
Figura 11 – Primeira linha de defesa antioxidante contra ERO.....	45
Figura 12 – Sequência dos danos causados pelo estresse oxidativo	47
Figura 13 – Caminhão que realizou o transporte dos animais	68
Figura 14 – Monitor cardíaco utilizado no experimento.....	69
Figura 15 – Concentrações de leucócitos nos diversos momentos de coleta dos dois percursos.....	76
Figura 16 – Variação das concentrações da AST nos diferentes momentos de coleta das duas distâncias.....	83
Figura 17 – Variação das concentrações da CK nos momentos de coleta dos dois trajetos	83
Figura 18 – Variação dos valores da glicose ao longo dos momentos de coleta	84
Figura 19 – Variação do lactato ao longo dos momentos	84
Figura 20 – Variação nas concentrações das variáveis nos diferentes momentos das duas viagens	89
Figura 21 – Variação nas concentrações das variáveis nos diferentes momentos das duas viagens	90

Figura 22 – Comportamento da ALFA 2, CP, TRF, e ALFA 1 nos diferentes trajetos	97
Figura 23 – Comportamento da HP, APO-A1, GPA dos equinos transportados nos diferentes momentos.....	99
Quadro 1 – Classificação e nomenclatura das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio.....	41
Quadro 2 – Sistema enzimático antioxidante conforme sua reação biológica e seus sítios de ação	42
Quadro 3 – Causas da inflamação	51
Quadro 4 – Atividade biológica das principais PFAs nos equinos.....	53
Quadro 5 – PFAs mais utilizadas com os respectivos testes e referência	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de referência para d-MRO, PAB e EO de acordo com idade e sexo em cavalos PSI	38
Tabela 2 – As proteínas de fase aguda (PFA) principais e moderadas que respondem a estímulos inflamatórios em várias espécies de animais domésticos.....	54
Tabela 3 – Temperatura, umidade relativa do ar nos dias de coleta de dados	64
Tabela 4 – Identificação do sexo, idade e peso dos animais seguidos da média	65
Tabela 5 – Detalhes das duas jornadas de transporte e período entre elas	67
Tabela 6 – Frequência cardíaca (FC) nos diferentes momentos de coleta e máxima durante cada viagem, exposta em média \pm desvio padrão	73
Tabela 7 – Médias e desvios padrão das concentrações plasmáticas do hematócrito (VG), proteína (PT) e plaquetas (PL) dos equinos transportados nas distâncias de 50 e 300 km.....	74
Tabela 8 – Influência da distância percorrida sobre os valores leucocitários absolutos dos equinos transportados (média \pm desvio padrão).....	75
Tabela 9 – Influência da distância percorrida sobre a aspartato aminotransferase (AST) dos equinos transportados.....	79
Tabela 10 – Influência da distância percorrida sobre a creatinoquinase (CK) dos equinos transportados.....	80
Tabela 11 – Influência da distância percorrida sobre a glicemia dos equinos transportados	81
Tabela 12 – Influência da distância percorrida sobre a lactacidemia dos equinos transportados	82
Tabela 13 – Influência da distância percorrida sobre os valores absolutos dos marcadores de estresse oxidativo: óxido nítrico (NO - μ M), capacidade de redução férrica do plasma (FRAP - μ M), superóxido dismutase (SOD - U/mL) e malondialdeído (MAD - mmol/mg) dos equinos transportados (média \pm desvio padrão).	89
Tabela 14 – Influência da distância percorrida sobre os valores absolutos das proteínas de fase aguda: α 2-macroglobulina (ALFA 2), ceruloplasmina (CP), transferrina (TRF), albumina (ALB), α 1-antitripsina (ALFA 1) dos equinos transportados (média \pm desvio padrão).....	96
Tabela 15 – Influência da distância percorrida sobre os valores absolutos das proteínas de fase aguda: haptoglobina (HP), apolipoproteína alfa 1 (APO-A1), α 1 glicoproteína ácida (GPA) dos equinos transportados (média \pm desvio padrão).....	98

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ALB	Albumina
ALF-1	Antripsina alfa 1
ALF-2	Macroglobulina alfa 2
APO-A1	Apolipoproteína alfa 1
APT	Antioxidantes plasmáticos totais
ATP	Adenosina trifosfato
ASA	Amiloide sérica A
CK	Creatino fosfoquinase
CP	Ceruloplasmina
CO ₃ ⁻	Radical carbonato
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EO	Estresse oxidativo
EOS	Estresse oxidativo no sangue
ERRO	Espécies reativas de oxigênio
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
FB	Fibrinogênio
FRAP	Capacidade de reação férrica do plasma
GLI	Glicose
GPA	Glicoproteína ácida
GSH-Px	Glutaciona peroxidase
GSH-Rd	Glutaciona redutase
GST	Glutaciona S transferase
HNO ₂	Ácido nitroso
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HOCl	Ácido hipocloroso
HP	Haptoglobina
IEO	Índice de estresse oxidativo
IgG-cl	Imunoglobulina de cadeia leve
IgG-cp	Imunoglobulina de cadeia pesada
km	Quilômetro
LAC	Lactato
LPS	Lipopolissacarídeo

MAD	Malonaldeído
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
MRO	Metabólitos reativos de oxigênio
NO	Óxido nítrico
NO ₂	Dióxido de azoto
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
N ₂ O ₃	Óxido nitroso
O ₂	Oxigênio molecular singlete
O ₂ ⁻	Ânion radical superóxido
OH	Radical hidroxila
ONOO ⁻	Peroxinitrito
ORVA	Obstrução recorrente das vias aéreas
PAB	Potencial antioxidante biológico
PFA	Proteína de fase aguda
PL	Plaquetas
PT	Proteína total
RFA	Reação de fase aguda
RNA	Ácido ribonucleico
RO	Radical alcoxila
ROO	Radical peroxila
SAP	Status antioxidante do plasma
SOD	Superóxido dismutase
TRF	Transferrina
VG	Volume globular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Justificativa.....	19
1.2. Objetivos	19
1.2.1. Objetivo geral.....	19
1.2.2. Objetivos específicos	20
1.3. Hipótese	20
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1. Aspectos gerais do transporte de equinos	21
2.2. Componentes hematológicos	23
2.3. Biomarcadores metabólicos e de atividade muscular	24
2.3.1. Glicose (GLI).....	25
2.3.2. Lactato (LAC).....	27
2.3.3. Creatina quinase (CK)	29
2.3.4. Aspartato amino transferase (AST)	30
2.3.5. Lactato desidrogenase (LDH)	31
2.4. O estresse oxidativo em equinos	32
2.4.1. Marcadores do estresse oxidativo	39
2.4.1.1. Índice de estresse oxidativo (IEO)	43
2.4.1.2. Superóxido dismutase (SOD).....	44
2.4.1.3. Catalase (CAT)	45
2.4.1.4. Glutathiona S-transferases (GST).....	46
2.4.1.5. Glutathiona peroxidase (GPx).....	46
2.4.1.6. Glutathiona reduzida (GSH).....	47
2.4.1.7. Óxido nítrico (NO)	48
2.4.1.8. Malondialdeído (MDA).....	48
2.4.1.9. Capacidade antioxidante de redução férrica (FRAP)	49
2.4.1.10. Carbonilação de proteínas	49
2.4.1.11. Potencial antioxidante biológico (PAB).....	50
2.5. A resposta de fase aguda e os principais marcadores.....	51
2.5.1. Amiloide sérica “A” (ASA)	54
2.5.2. Haptoglobina (Hp).....	55
2.5.3. Fibrinogênio (Fb)	56
2.5.4. α 1 glicoproteína ácida (GPA).....	57

2.5.5. Ceruloplasmina (Cp).....	58
2.5.6. α 1-antitripsina (ALFA 1) e α 2-macroglobulina (ALFA 2).....	59
2.5.7. Transferrina (TRF).....	59
2.5.8. Albumina (ALB).....	60
2.5.9. Apolipoproteína alfa 1 (APO-A1).....	60
2.5.10. Proteína C reativa (PCR).....	61
3. MATERIAIS E MÉTODOS	63
3.1. Comitê de ética.....	63
3.1.1. Autorização para uso de animal.....	63
3.1.2. Critérios para determinação do “n” amostral.....	63
3.2. Local de realização.....	64
3.3. Animais.....	65
3.3.1. Manejo geral dos animais.....	66
3.3.2. Avaliação laboratorial de triagem.....	66
3.3.3. Exame físico.....	66
3.4. Delineamento experimental.....	67
3.5. Tempos das coletas de amostras para exames laboratoriais.....	69
3.6. Coleta de sangue.....	70
3.7. Avaliações laboratoriais.....	70
3.7.1. CK, AST, glicose e lactato.....	70
3.7.2. Estresse oxidativo.....	70
3.7.3. Proteínas de fase aguda.....	70
3.7.4. Componentes sanguíneos.....	71
3.8. Análise estatística.....	71
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
4.1. Parâmetros hematológicos, enzimáticos musculares e metabólicos de equinos após transporte em distâncias de 50 e 300 quilômetros.....	73
4.1.1. Frequência cardíaca.....	73
4.1.2. Hematócrito, proteína total e plaquetas.....	73
4.1.3. Componentes leucocitários.....	74
4.1.4. Discussão.....	76
4.1.4.1. Parâmetros enzimáticos musculares e metabólicos.....	78
4.1.5. Conclusões.....	87
4.2. Avaliação dos marcadores de estresse oxidativo em equinos submetidos a transporte rodoviário de 50 e 300 km.....	88
4.2.1. Discussão.....	90

4.2.1.1. NO.....	90
4.2.1.2. SOD	91
4.2.1.3. MAD	92
4.2.1.4. FRAP.....	94
4.2.2. Conclusão.....	95
4.3. Influência do transporte rodoviário de 50 e 300 kg no proteinograma sérico de equinos	95
4.3.1. Discussão	99
4.3.1.1. α 1-antitripsina (ALFA 1) e α 2-macroglobulina (ALFA 2).....	100
4.3.1.2. Ceruloplasmina (CP).....	100
4.3.1.3. Transferrina (TRF)	101
4.3.1.4. Albumina (ALB).....	101
4.3.1.5. Haptoglobina (Hp)	102
4.3.1.6. Apolipoproteína alfa 1 – APO-A1	103
4.3.1.7. α 1 glicoproteína ácida (GPA).....	103
4.3.2. Conclusão.....	104
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	105
REFERÊNCIAS.....	106
APÊNDICE A – Registro do projeto de pesquisa na UFV	122
APÊNDICE B – Resultados 50 km	124
APÊNDICE C – Resultados 300 km	134

1. INTRODUÇÃO

O transporte é uma prática muito difícil de ser evitada no sistema de criação de equinos em virtude de frequentes deslocamentos para exposições, competições, compra e venda, abate, dentre outros. Em geral, é um episódio de estresse ao animal, com suas peculiares consequências ao seu bem-estar (CASELLA et al., 2012; PADALINO et al., 2017; PADALINO; DAVIS; RAIDAL, 2020). O transporte de animais envolve agrupamento e embarque no local de origem, confinando-os a um veículo em movimento ou estável, desembarcando e, geralmente, confinando-os em baias no destino, temporariamente ou de forma definitiva, seja em eventos comerciais, esportivos e alternância entre propriedades ou ainda para frigoríficos (BHATT et al., 2021).

O estresse pode interferir nos níveis de componentes sanguíneos, assim como a intensidade de um esforço físico. Entendendo que o transporte é um agente estressor e que desafia os animais em busca por equilíbrio constante dentro do veículo, são esperadas alterações fisiológicas paralelas ao incremento da sudorese, respiração e frequência cardíaca, que se refletem nos componentes hematológicos e bioquímicos (MATTOSINHO et al., 2017).

É sabido que o transporte é um estressor fisiológico e comportamental e que a indução em lesão celular se relaciona com a produção de radicais livres (WESSELY-SZPONDER et al., 2015). Essas consequências do metabolismo do oxigênio e do nitrogênio, denominadas de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs) produzem moléculas lesivas que comprometem a função celular (AVELAR et al., 2015; CAMPOS; LEME, 2017). No entanto, as informações não esclarecem se a distância é um motivador das respostas.

As proteínas de fase aguda (PFAs) são proteínas sanguíneas que podem ser utilizadas com finalidade de avaliar a resposta sistêmica do sistema imune a quadros de infecção, inflamação ou trauma (ECKERSALL; BELL, 2010). É consensual que há inflamação desencadeada por microlesões induzidas pelo esforço físico (TURLO et al., 2015). A literatura vincula sua alteração também ao transporte por longas horas, sem mencionar curtas distâncias nem o tempo de restabelecimento dos valores basais (CASELLA et al., 2012; WESSELY-SZPONDER et al., 2015).

Embora a literatura aborde com generosidade o tema do transporte de animais (CONNYSOON; MUHONEN; JANSSON, 2017; PERRY et al., 2018;

THOMPSON et al., 2019; LAMA et al., 2021; PADALINO; DAVIS; RAIDAL, 2020; PADALINO; RAIDAL, 2020; SZEMPLINSKI et al., 2020; ZHAO et al., 2020; BHATT et al., 2021), há uma lacuna de esclarecimentos no comportamento de variáveis fisiológicas, de estresse e inflamatórias em diferentes distâncias de transporte e o tempo de restabelecimento dessas variáveis.

Assim, este estudo objetivou verificar se o transporte rodoviário de equinos em distâncias de 50 e 300 quilômetros induz variação nas concentrações sanguíneas de biomarcadores metabólicos, de atividade muscular e de estresse oxidativo e de proteínas de fase aguda.

1.1. Justificativa

O transporte de animais é uma atividade que faz parte da rotina de qualquer criação e está presente em quase todos os segmentos desse tipo de negócio, desde compra ou venda até as competições. Em várias ocasiões, os eventos podem se localizar próximos ou muitas horas distantes. O transporte promove demanda física ao animal e pode implicar em diversas respostas indesejáveis, como desequilíbrio energético e imunossupressão.

Diante da necessidade de salvaguardar a integridade física dos animais, faz-se necessário o conhecimento das manifestações fisiológicas induzidas pelo transporte em diferentes distâncias, bem como o período de restabelecimento homeostático para que possam ser adotados procedimentos preventivos ou terapêuticos que garantam a manutenção da saúde e do bem-estar do animal.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

Verificar a influência do transporte de equinos em curta e longa distâncias sobre concentrações sanguíneas de proteínas de fase aguda, estresse oxidativo e componentes hematológicos.

1.2.2. Objetivos específicos

- Verificar o efeito do transporte em curta e longa distâncias nos níveis das PFAs.
- Analisar o efeito dos dois percursos nas concentrações da glicose, lactato e nas enzimas aspartato aminotransferase e creatinoquinase.
- Verificar se componentes hematológicos sofrem influência do transporte de curta e longa distâncias.
- Avaliar a influência das distâncias de 50 e 300 quilômetros no estresse oxidativo dos animais transportados, analisando os níveis sanguíneos de óxido nítrico (NO), superóxido dismutase (SOD), malondialdeído (MAD) e capacidade antioxidante de redução férrica (FRAP).
- Observar a frequência cardíaca antes, durante e após a jornada.
- Sugerir parâmetros temporais para manejo dos animais para pós-viagem, caso sejam evidenciados indicadores relevantes.

1.3. Hipótese

O transporte de equinos em distâncias curta e longa provoca alteração nas concentrações de componentes hematológicos, de biomarcadores de atividade muscular e metabólicos, de estresse oxidativo e em proteínas de fase aguda.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais do transporte de equinos

O transporte de animais de produção está relacionado com agrupamento e embarque no local de origem, submetendo-os a um veículo em movimento ou estável, desembarcando e, por vezes, confinando-os no local de destino (BHATT et al., 2021). O transporte é um episódio de estresse ao animal com suas peculiares consequências ao seu bem-estar (CASELLA et al., 2012; PADALINO et al., 2017).

O estresse do transporte de equinos é um importante influenciador em matérias associadas à saúde, envolvendo cuidados gastrointestinais, comportamentais e respiratórios. É sabido que há uma importante conexão entre o sistema nervoso central e a homeostase gastrointestinal, assim, mudanças que interfiram no equilíbrio da microbiota gastrointestinal podem impactar negativamente no sistema neuroendócrino e imunológico, causando doença do intestino irritável e doença inflamatória do intestino (SZEMPLINSKI et al., 2020). O aumento da possibilidade de um distúrbio após o transporte tem origem nos vários estressores vividos pelos animais durante a jornada, englobando variações de temperatura e umidade, declínio da qualidade do ar, desgaste físico e limitações de alimento e água. Os cuidados com a resposta após o transporte estão cada vez mais expressivos, uma vez que transportar cavalos ganhou importante notoriedade (PERRY et al., 2018).

Embora grande número de equinos seja transportado com finalidade específica de rendimento atlético, pouco se conhece sobre a resposta que o transporte exerce sobre o desempenho, com os resultados de estudos conflitantes. A qualidade do ar no veículo associado à densidade de animais por metro quadrado e o tempo de viagem provocam um decréscimo do desempenho físico após a jornada (PADALINO, 2014). Há sugestões de que em equinos, com experiência, o transporte em distâncias curtas, provoca leve resposta no desempenho. Thompson (2018) concluiu que o transporte e o esforço físico provocam alterações em parâmetros fisiológicos similares, porém cavalos com experiência em serem transportados sofrem menos a ação estressora da viagem. Outra proposição é a de que viagem de 194 quilômetros influenciaria negativamente o desempenho em uma corrida rápida. Animais sem experiência de transporte sofrem grande estresse e têm diminuído o seu desempenho esportivo (PADALINO, 2017).

Quando o animal é posicionado no veículo, ele é limitado a um espaço pequeno e pouco convencional, por estar preso em uma área individual por meio de divisórias, ou em função da pressão no ambiente empreendida pelos outros cavalos livres com os quais ele pode estar sendo transportado (GAREY et al., 2010).

O tipo de veículo e a habilidade do condutor também pode influenciar nas respostas fisiológicas e de estresse do animal. Grandes caminhões e motoristas sem experiência podem proporcionar um aumento nas condições de desconforto dos equinos, levando a respostas de estresse e demanda fisiológicas desfavoráveis (RILEY et al., 2018).

A distância à qual os animais são transportados tem importante influência sobre as reações fisiológicas e de estresse. É sugerido que o transporte de longa distância está vinculado a uma resposta de fase aguda, identificado por neutrofilia, e uma implicação do sistema imunológico notabilizado pela diminuição da responsividade dos linfócitos. A recuperação de 16 cavalos após 4.000 quilômetros se estabeleceu aos sete dias após a chegada. Esse tipo de transporte também está associado a alterações clínicas, incluindo o estado de antioxidante plasmático prolongado e perda de peso (PADALINO et al., 2017).

Aspectos de estresse emocional causados por ambientes com aglomeração e/ou barulho ou exercícios repetitivos em pisos que causem desconforto ao cavalo podem desencadear o que é denominado síndrome de *burnout*, um quadro em que o indivíduo ou animal perde interesse na atividade e cai o seu desempenho atlético ou de trabalho (BAYEVA; ZHEGUNOV, 2016).

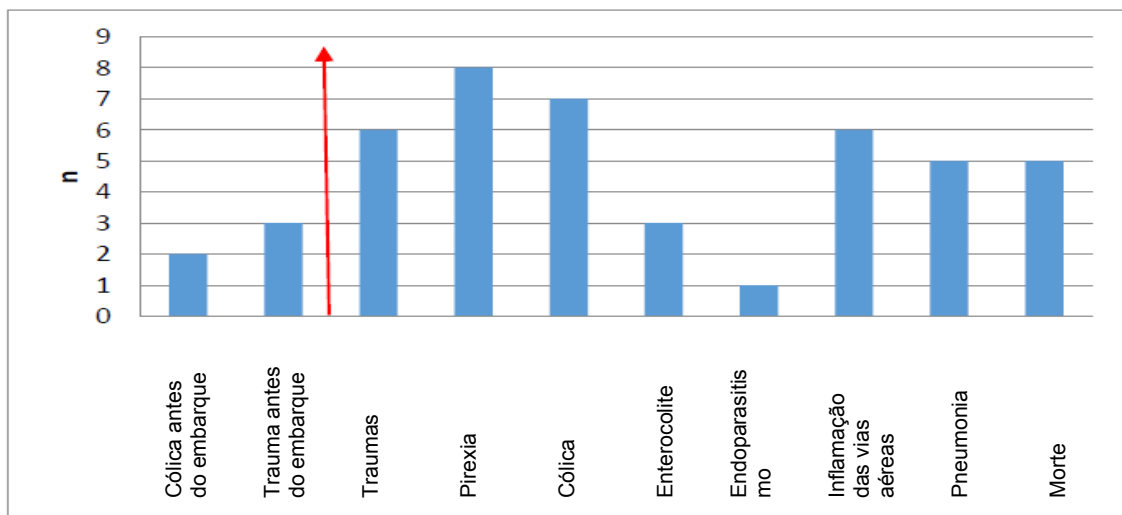
O sistema imune enfrenta situações de infecções e lesões de tecidos, estimulando a inflamação aguda, que é a mobilização de leucócitos, proteínas plasmáticas e líquido oriundo do sangue e tecido extravascular para o local de infecção ou lesão. Geralmente os leucócitos e as proteínas plasmáticas circulam no sangue e são atraídos para os locais lesionados, onde sustentam variadas funções no intuito de anular microrganismos e iniciar o reparo do tecido avariado (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

2.2. Componentes hematológicos

A análise do sangue é importante componente no diagnóstico de enfermidades, seja infeccioso, parasitário ou em função de algum evento específico, disfunção orgânica, além de contribuir no manejo de rotina de cavalos, como exames de rotina de neonatos, monitoramento do desempenho de equinos de esporte, análise pré-anestésica, bem como exames pré-compra. Os exames laboratoriais, por muitas vezes, são solicitados para aquisição de seguro e comumente fazem parte dos requerimentos de importação e/ou exportação (BARRELET; RICKETTS, 2002).

A variação biológica corresponde a flutuações fisiológicas e participa na formação total de um resultado laboratorial que indica a condição do animal. Conhecer essas variações pode favorecer a tomada de decisão clínica, possibilitando a identificação precoce do curso dos processos da enfermidade e produzir evidências da importância de uma intervenção. O transporte associado a diversas afecções em equinos foi relatado por transportadoras, com maior evidência para febre e síndrome cólica (Figura 1), embora tenha sido investigada e detectada maior incidência de problemas gastrointestinal e respiratórios (PADALINO et al., 2015).

Figura 1 – Incidência de distúrbios associados ao transporte informada por empresa de transporte



Fonte: Padalino et al. (2015).

O hemograma pode fornecer dados importantes para a compreensão da interferência do transporte nos parâmetros fisiológicos dos animais, em especial, o comportamento do leucograma para se acompanhar a atuação das células de defesa antes, durante e ao longo dos dias que se sucedem. Bem como as proteínas, para acompanhar desidratação, estado nutricional, enfermidades renais ou hepáticas.

O estresse pode induzir elevação na contagem de leucócitos e eritrócitos, no nível de hemoglobina e no hematócrito. Com o aumento da movimentação em busca do equilíbrio, a temperatura se eleva e o animal perde líquido por sudorese e pelo aparelho respiratório. Essa resposta pode diminuir o volume plasmático, intensificando a hemoconcentração (MATTOSINHO et al., 2017).

Em condições normais, as plaquetas são estruturas circulatórias com função primária de percorrer os vasos sanguíneos em busca de danos no endotélio. Vários componentes da matriz extracelular, receptores de superfície, são ativados após detecção de dano endotelial, iniciando uma cascata de sinalização, se propagando rapidamente nas plaquetas, que levam à formação de um coágulo ou trombo no ponto da lesão vascular. Ademais, a ativação plaquetária resulta na produção de mais de 300 moléculas bioativas de grânulos liberáveis (WERSALL; GOLEBIEWSKA; POOLE, 2017).

Diferente da maioria das células, as plaquetas não têm núcleo e, por consequência, não podem se ajustar a diferentes situações por síntese proteica novamente, apesar de haver alguma síntese proteica residual. A principal função das plaquetas é a hemostasia e seus principais receptores têm papel direto nesse processo. A diferença entre hemostasia fisiológica e trombose patológica é, a princípio, muito pequena. No entanto, é cada vez mais reconhecido que as plaquetas não apenas estão envolvidas na hemostasia, mas também apresentam outras funções menos conhecidas, como na inflamação, defesa antimicrobiana, crescimento tumoral, metástase e angiogênese (CLEMETSON; CLEMETSON, 2013).

2.3. Biomarcadores metabólicos e de atividade muscular

Um biomarcador é algo que se atribui a um parâmetro biológico quantificável, que é mensurado e avaliado como informador de respostas biológicas, patogênicas ou farmacológicas. Assim, taxa de filtração glomerular, enzimas específicas, proteínas

e perfil de expressão gênica são exemplos de biomarcadores (SELLECK; SENTHIL; WALL, 2017; MAMI et al., 2019).

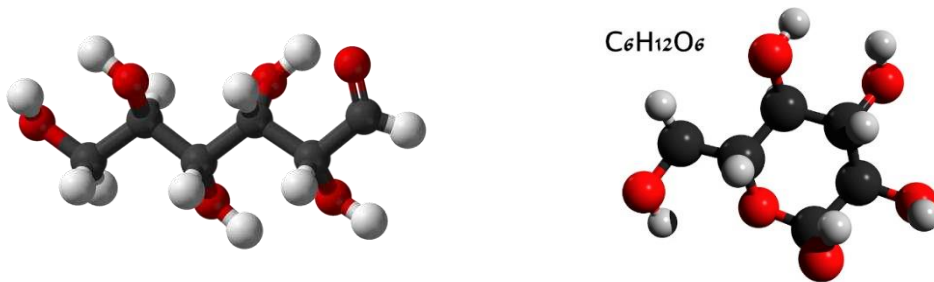
O esforço físico acontece quando há contração muscular para produzir força a fim de vencer algum tipo de resistência. Durante o exercício, acontecem mudanças bioquímicas na musculatura, resultando em interferência no equilíbrio celular. O incremento dos metabólitos musculares e o calor produzido pela contração durante o esforço podem reduzir a força muscular, bem como alterar a estabilidade de outros sistemas corporais do animal (MAMI et al., 2019).

O tecido muscular pode ser comprometido após esforço prolongado rigoroso em decorrência de aspectos metabólicos e/ou mecânicos. A lesão muscular eleva a permeabilidade da membrana muscular e pode levar à ruptura de fibras musculares, resultando na liberação de creatina quinase (CK), mioglobina, troponina e todos os biomarcadores de dano à membrana muscular, como por exemplo a AST e LDH (MAMI et al., 2019; MAZKO et al., 2021).

2.3.1. Glicose (GLI)

A glicose é, em termos quantitativos, o substrato oxidável elementar para a maioria dos organismos (Figura 2). Sua aplicação como energia é tida como multivalente e praticamente todas as células têm a capacidade de satisfazer suas exigências energéticas exclusivamente com esse açúcar. Certas células e órgãos, como por exemplo as hemácias e o cérebro, a glicose é indispensável, uma vez que é o substrato exclusivo do qual podem sintetizar ATP (MARZZOCO; TORRES, 2015).

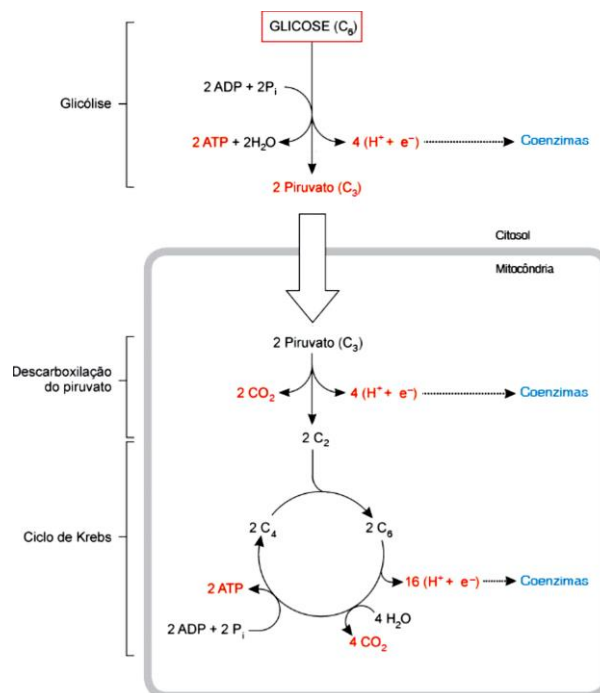
Figura 2 – Moléculas de glicose



Fonte: <https://mundoeducacao.uol.com.br/biologia/glicose.htm>.

A glicose é uma matriz de energia essencial para a fibra muscular; o metabolismo anaeróbico da glicose equivale a um recurso básico e rápido de produzir energia, mesmo que seja de baixo rendimento. A movimentação glicolítica é coordenada por numerosas condições, por exemplo, a disponibilidade de oxigênio e os níveis de ATP/ADP; a redução dessa relação incita a glicólise anaeróbica, elevando em até 100 vezes a geração de moléculas de piruvato (Figura 3). Esforços físicos com baixa ou moderada intensidade, uma parcela importante do piruvato produzido entra na mitocôndria e integra como um dos componentes do Ciclo de Krebs (FIGUEIREDO et al., 2021).

Figura 3 – Esquema da oxidação da glicose.



Nota: No citosol, a glicose é oxidada a duas moléculas de piruvato que, na mitocôndria, são oxidadas a CO_2 . CO_2 e os outros produtos da oxidação da glicose estão destacados em vermelho. Os prótons e elétrons ($\text{H}^+ + \text{e}^-$) são incorporados por coenzimas.

Fonte: Marzzoco e Torres (2015).

Devido à estimulação da glicogenólise hepática, todas as formas de exercício geralmente elevam a concentração da glicose plasmática. Porém, com os esforços mais longos, os níveis da glicose reduzem em consequência da depleção do glicogênio hepático. Depois de exercícios com duração curta, o incremento dos níveis plasmáticos da glicose está diretamente vinculado à intensidade da tarefa, podendo

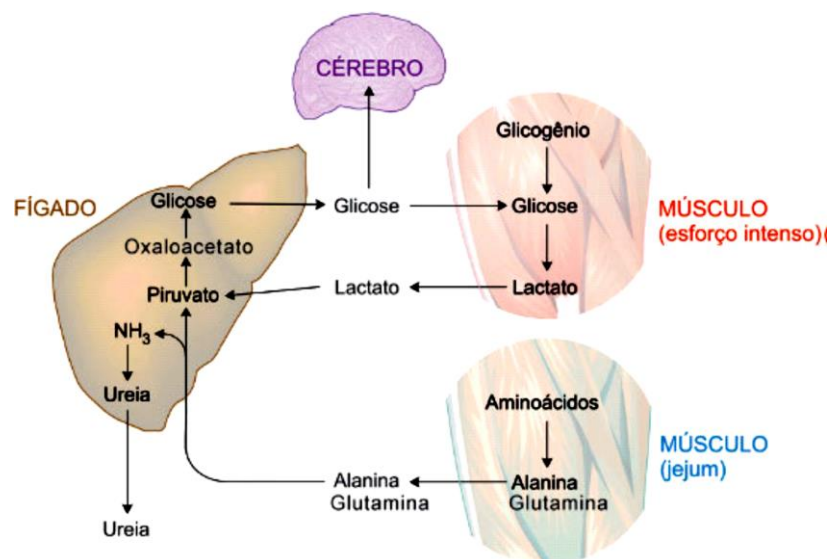
chegar entre 10 e 12 mmol/L – 180 a 206 mg/dL em equinos após corrida. Essa amplitude de variação dos valores plasmáticos da glicose tem relação com a dimensão que a atividade simpática está relacionada com a intensidade do esforço (McGOWAN; HODGSON, 2014).

2.3.2. Lactato (LAC)

Os níveis de lactato (LAC) são utilizados regularmente como referência clínica, bem como informações auxiliares para conhecimento do *status* físico de animais atletas e humanos (FONSECA et al., 2015).

A produção de lactato é incrementada a partir da ativação da via anaeróbia compensatória. O valor regular da concentração basal de LAC no sangue em equinos é por volta de 1 mmol/L. Os níveis sanguíneos originários dos músculos estão subordinados ao tipo, intensidade e duração do esforço (Figura 4). O mesmo lactato é uma fonte de energia importante para a célula muscular. Além de que, as adaptações provocadas pelo esforço físico são estimuladas por essas moléculas, induzindo à miogênese e ajustando a acidose muscular. Exercícios em velocidades acima de 8 a 10 m/s provocam débito de oxigênio que resulta na elevação da concentração de LAC no sangue (MAZKO et al., 2021).

Figura 4 – Relação entre diferentes órgãos na gliconeogênese



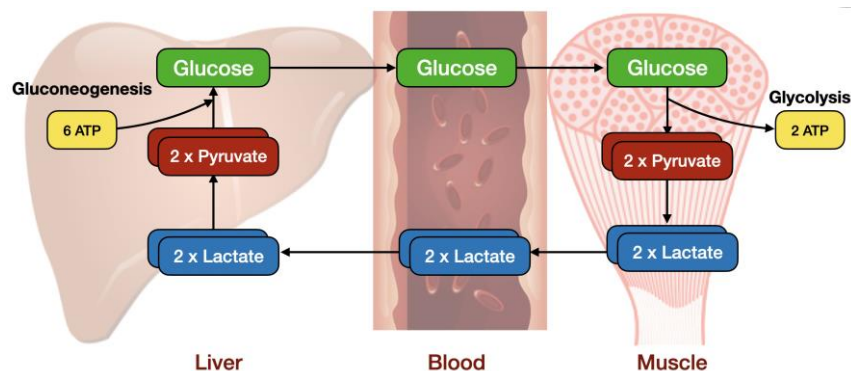
Nota: Esta via ocorre no fígado e nos rins, a partir de substratos produzidos pelo músculo: alanina e glutamina no jejum e lactato no esforço intenso.

Fonte: Marzocco e Torres (2015).

O incremento do lactato no plasma ou sangue acontece em função da difusão, do transporte ativo muscular esquelético ativo ou ambos. Em geral o lactato é mensurado no plasma e os valores são aproximadamente de 40% a 50% acima aos do sangue, mesmo que essa relação tenha variação considerável. A produção do lactato acontece no músculo em atividade no decorrer de todos os tipos de exercício, no entanto, a elevação mais acentuada só ocorre quando a intensidade do esforço atinge níveis altos. Quando acontece insuficiência de oxigênio para oxidar o piruvato mitocondrial, é observado o aumento do lactato no músculo. Aumento similarmemente acontece quando a glicogenólise é estimulada, com consequência de um incremento do piruvato, resulta na elevação do lactato, em função de um efeito de ação em massa. Assim, o aumento do lactato no plasma não retrata necessariamente insuficiência de oxigênio (McGOWAN; HODGSON, 2014).

A gliconeogênese a partir do lactato é especialmente importante em casos de períodos com intensa atividade física. Quando o suprimento de oxigênio é menor que a demanda, em geral durante ação muscular de alta intensidade, o piruvato produzido durante a glicólise é convertido em ácido láctico pela lactato desidrogenase, como mencionado anteriormente. Em vez de ficar acumulado dentro da célula muscular, o lactato gerado pela fermentação anaeróbia é liberado na corrente sanguínea e, em seguida, absorvido pelo fígado. Isso inicia a outra metade de um ciclo. No fígado, o lactato é convertido em piruvato e é reconstituída a molécula de glicose. Este fenômeno é conhecido como “ciclo de Cori”, conforme pode ser visualizado na Figura 5 (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000; McGOWAN; HODGSON, 2014).

Figura 5 – Ciclo de Cori



Fonte:

[https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Cell_and_Molecular_Biology/Book%3A_Basic_Cell_and_Molecular_Biology_\(Bergtrom\)/06%3A_Glycolysis_the_Krebs_Cycle_and_the_Atkins_Diet/6.04%3A_Gluconeogenesis](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Cell_and_Molecular_Biology/Book%3A_Basic_Cell_and_Molecular_Biology_(Bergtrom)/06%3A_Glycolysis_the_Krebs_Cycle_and_the_Atkins_Diet/6.04%3A_Gluconeogenesis).

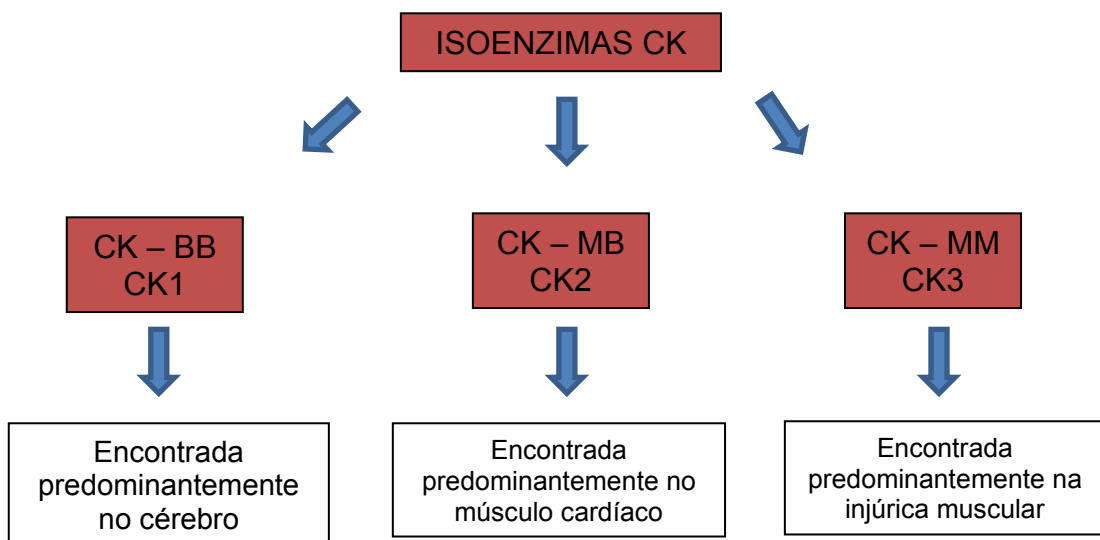
2.3.3. Creatina quinase (CK)

Os biomarcadores de dano muscular mais utilizados em equinos são a creatino fosfoquinase (CK) e aspartato aminotransferase (AST). Após o exercício extenuante, a atividade da CK aumenta de 4 a 35 vezes, enquanto a atividade de AST aumenta de 2 a 6 vezes (MAZKO et al., 2021).

Enzimas como a CK e AST são frequentemente empregadas como biomarcadores da atividade muscular (FISHER, 2014). A quantidade de CK liberada do músculo depende da localização na célula, tamanho da molécula e da lesão (BUZALA; KRUMRYCH; JANICKI, 2015; NOLETO et al., 2016).

A creatinoquinase é uma enzima presente especialmente nas mitocôndrias e no citoplasma do músculo esquelético, tecido cardíaco e cérebro (Figura 6). É encontrada na membrana mitocondrial interna das miofibrilas do músculo esquelético. Essa enzima está vinculada à transferência e ao armazenamento de energia celular por meio da movimentação do fosfato de creatina para difosfato de adenosina (ADP) e, então, forma a adenosina trifosfato (ATP). Ainda está ligada à passagem do fosfato da mitocôndria para o citoplasma das células musculares (COPPER et al., 2017).

Figura 6 – Tipos de CK



Fonte: Adaptado de <https://labpedia.net/creatine-kinase-ck-creatine-phosphokinase-cpk/>.

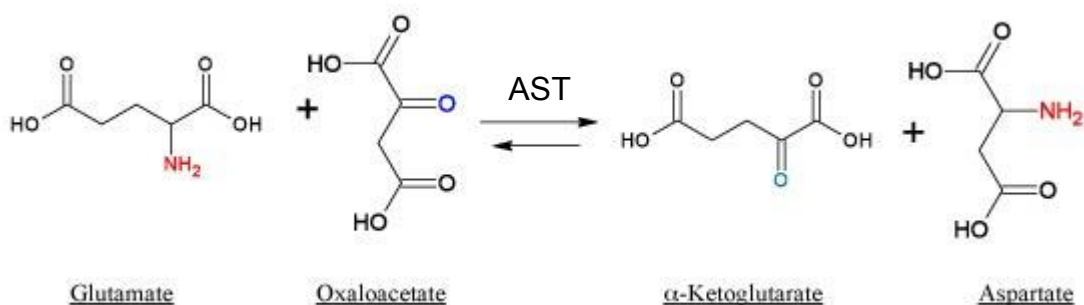
A CK tem sido observada como um importante indicador de dano muscular induzido por esforço físico. As mudanças de valores em diferentes constituintes sanguíneos após atividades físicas são evidentes, mas rapidamente desaparecem. A insistência da atividade pode levar a uma não recuperação da homeostase e ser um indicativo de excesso de trabalho muscular. Analisar a atividade da CK sanguínea pode ser benéfico para verificar as adaptações fisiológicas desejáveis e determinar as cargas em atividades esportivas equinas (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000; BUZALA; KRUMRYCH; JANICKI, 2015; MAZKO et al., 2021).

2.3.4. Aspartato amino transferase (AST)

A aspartato amino transferase (AST) anteriormente recebia a denominação de transaminase glutâmico-oxalacética (TGO). Apresenta maior concentração nas células hepáticas, bem como musculares esqueléticas e cardíacas. Pode ser encontrada no citoplasma, mas também nas organelas celulares (NUNES et al., 2015).

A AST é uma enzima que tem a meia-vida por volta de sete a oito dias e tem atividade nos compartimentos musculares bem como nos hepatócitos. A atribuição da AST é catalisar a transaminação de L-aspartato e alfa-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato (Figura 7). Esta enzima está presente na maioria dos tecidos, em especial, na musculatura e no fígado (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000; PATELLI et al., 2016; McARDLE; KATCH; KATCH, 2016). A sua liberação mais lenta resulta em pico por volta de 24 horas após o estímulo de estressor (SOARES et al., 2013).

Figura 7 – Transaminação de L-asparto e cetoglutarato em oxalacetato e glutamato catalisada pela AST



Fonte: <https://www.aaltoscientific.com/product/aspartate-aminotransferase-sgot/>.

A maior atividade da AST é observada no miocárdio, fígado, músculos esqueléticos, com menores concentrações nos rins, pâncreas, baço, cérebro, pulmões e eritrócitos (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000). Seu incremento está associado a enfermidades hepatobiliares, distrofia muscular progressiva, infarto cardíaco, dermatomiosite, embolia pulmonar, pancreatite, bem como insuficiência cardíaca congestiva, se caracterizando, em virtudes disso, ser uma enzima inespecífica (THOMASSIAN, 1984).

Os valores de referência para a AST em equinos estão entre 199 e 374 U/L (CORNELL UNIVERSITY, 2018) e 226 a 366 U/L (KANEKO et al., 2008).

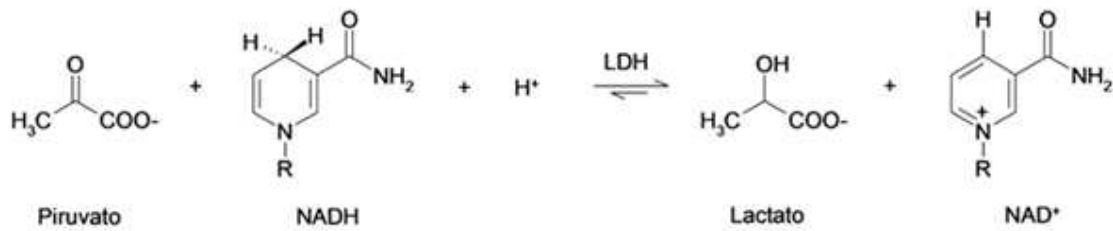
2.3.5. Lactato desidrogenase (LDH)

A lactato desidrogenase (LDH) engloba cinco isoenzimas, tendo ocorrência em tecidos variados, particularmente na musculatura esquelética, estriada e hemácias, sendo ainda encontrada nos rins, pâncreas, ossos e pulmão. Em caso de injúria, na maior parte dos tecidos, culmina em extravasamento de LDH no espaço extracelular e sangue. É também uma enzima muito inespecífica, embora seja convencionalmente que sua elevação está mais relacionada a injúrias da musculatura esquelética, cardíaca e do fígado. O pico da atividade acontece em 48 a 72 horas. Após o evento e o retorno aos níveis normais acontecem de forma mais lenta que a AST (NUNES et al., 2015).

Esta enzima que está presente no meio intracelular de diversas células, como mencionado, tem a sua função de transformar o piruvato em lactato e a mesma reação reversa (Figura 8), garantindo energia em situações de anaerobiose (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000; MCGOWAN; HODGSON, 2014; McARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

Os valores de referência da LDH em equinos estabelecidos estão entre 218 e 555 U/L (CORNELL UNIVERSITY, 2018) e 162 e 412 (KANEKO et al., 2008).

Figura 8 – Reação de transformação do piruvato em lactato pela LDH



Fonte: http://rmct.ime.eb.br/arquivos/RMCT_3_tri_2011/RMCT_097_E5A_12.pdf.

2.4. O estresse oxidativo em equinos

A terminologia “estresse” inicialmente foi usada na literatura biomédica como uma apresentação da elevada atividade no sistema hormonal característico ao que se relaciona aos esteroides do córtex adrenal e o termo “oxidativo”, frequentemente relacionado ao metabolismo do oxigênio nos sistemas biológicos (BREITENBACH; ECKL, 2015).

O estresse oxidativo pode ser definido como a desigualdade entre os oxidantes e os antioxidantes, em que o trabalho oxidante supera a eficácia de anulação dos antioxidantes, ocasionando dano celular (SOFFER, 2007). Essa consequência do metabolismo do oxigênio e do nitrogênio geram moléculas danosas, nomeadas de espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN). O que concede esse atributo lesivo a essas moléculas é o recebimento de elétrons adicionais na última camada, permitindo que estabeleçam ligações com elementos celulares por meio de reações de óxido-redução, resultando em variações bioquímicas nesses elementos e danos na função da célula (AVELAR et al., 2015; CAMPOS; LEME, 2017).

A medicina veterinária amplamente se respalda em dados sobre o estresse oxidativo para melhor compreender os cursos das enfermidades, assim como o bem-estar animal. A medicina equina não é uma exceção. Já foi associado à particularidade de raça, enfermidades, estado nutricional, exercício físico e bem-estar (KIRSCHVINK; LEKEUX, 2002; PADALINO et al., 2017; ANKUR et al., 2018; MARYCZ et al., 2018; LACERDA et al., 2018; BAZANOW et al., 2020; NOCERA et al., 2020; JACKSON;

STRETTON; McARDLE, 2020, POURMOHAMMAD et al., 2020; SHONO et al., 2020; ISMAIL et al., 2021; SVETE et al., 2021; WITKOWSKA-PILASZEWICZ et al., 2021).

A atribuição mais importante das ERO é a defesa contra agressão de microrganismos e a “regulação redox” da expressão gênica. A formação de ERO é aumentada em estados inflamatórios durante a oxidação de neutrófilos e macrófagos (KIRSCHVINK; LEKEUX, 2002). Os radicais livres apresentam um ou mais elétrons desemparelhados, que são muito reativos e podem se conjugar com vasta diversidade de biomoléculas com competência de modificar suas particularidades físico-químicas (BARBOSA et al., 2011). Em especial, ao DNA, lipídeos e proteínas (BOTTEGARO et al., 2018).

Toda espécie que faça uso do oxigênio na respiração celular ou o nitrogênio resultante do metabolismo dos aminoácidos está exposta ao estresse oxidativo, em que a geração de espécies reativas é contínua e acontece no fim de cada ciclo da respiração celular (CAMPOS; LEME, 2017). Assim, estresse oxidativo é uma circunstância na qual o equilíbrio do nível de ERO é temporário ou cronicamente elevado, impactando o metabolismo da célula e sua regulação e danificando os componentes celulares (LUSHCHAK, 2014).

Padalino et al. (2017) avaliaram metabólitos reativos de oxigênio (MRO) e *status* antioxidantes do plasma (SAP) de cavalos após serem transportados por quatro dias, com um total de 51 horas em trânsito e 43 em paradas para descanso e foi observada elevação do SAP após o primeiro dia de viagem, sugestivo de ser uma mobilização de antioxidantes para confrontar os radicais livres e evitar o estresse oxidativo, por outro lado, não observaram variação dos MROs.

A oxidação acontece no corpo e tem atribuições positivas, pois é essencial na vida aeróbica e do metabolismo. Dessa forma, os radicais livres são formados de forma natural ou por desequilíbrio. No organismo estão envolvidos na geração de energia, fagocitose, sinalização entre as células, na normatização celular, ao iniciar a apoptose e produção de substâncias biológicas relevantes. Entretanto, o excesso dos radicais livres pode ter efeitos danosos, como a peroxidação dos lipídios da membrana e injúria às proteínas teciduais e de membranas, os carboidratos, DNA e enzimas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

As ERO não são obrigatoriamente radicais, pois podem ser geradas por meio de reações de transferência de energia ou de elétrons para o oxigênio. As ERO envolvem o ânion radical superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH), radical alcoxila (RO),

radical peroxila (ROO), radical carbonato (CO_3^-), que são radicalares e o seguintes não radicalares: peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o ácido hipocloroso (HOCL), os hidroperóxidos orgânicos (ROOH), o oxigênio molecular singlete (O_2) e o ozônio. Já nos ERN estão o óxido nítrico (NO), dióxido de azoto (NO_2), peroxinitrito (ONOO^-), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitratos (NO_3^-) e nitritos (NO_2^-) (OLIVEIRA, 2008).

Nos equinos, o estresse oxidativo é caracterizado por ter envolvimento em diversas enfermidades e como resultante do exercício. O cavalo é um interessante protótipo para investigar o estresse oxidativo, pois sua captação de oxigênio eleva de 30 (WILLIAMS, et al., 2005) a 60 (FAZIO et al., 2016) vezes acima do valor basal em um exercício máximo, provocando relevante produção de ERO no sistema de transporte de elétrons mitocondriais. O efeito do exercício no equilíbrio redox é extremamente complexo, dependendo do sexo e da intensidade e duração do exercício (FAZIO et al., 2016).

Investigações de várias vertentes buscam entender o estresse oxidativo nos equinos: sua origem, abrangência e controle. Algumas áreas chamam mais a atenção, como:

- **Enfermidades** (JACOBSEN; ANDERSEN, 2007; LYKESFELD; SVENDSEN, 2007; EL-DEEB; EI-BAHR, 2010; LASKOSKI et al., 2016; CONSTANTINI et al., 2018; TSUZUKI; KANBAYASHI; KUSANO, 2019; BASIT et al., 2020).
- **Exercícios físicos** (EL-DEEB; EI-BAHR, 2010; PAZZOLA et al., 2015; VALLE et al., 2015; ANDRIICHUK; TKACHENKO; TKACHOVA, 2016; KUSANO et al., 2016; PADALINO et al., 2017; ANKUR et al., 2018; BOTTEGARO et al., 2018).
- **Bem-estar animal** (WARAN; LEADON; FRIEND, 2007; KIRSCHVINK; MOFFARTS; LEKEUX, 2008; ONMAZ et al., 2011; NIEDZWIEDZ; KUBIAK; NICPON, 2013; WESSELY-SZPONDER et al., 2015; TSUZUKI et al., 2016; OMIDI et al., 2017; PADALINO et al., 2017; BENNETT-WIMBUSH et al., 2019).

Os organismos buscam sempre manter a homeostase e não é diferente no ambiente redox. Esse espaço é muito bem regulado a menos que seja induzida uma situação de oxidação exacerbada. Essa condição de equilíbrio é primordial para que sejam garantidas as funções celulares vinculadas às ERO, como ativação enzimática, síntese de DNA, crescimento e apoptose, além de aumentar atuação nos sinais de receptores de membrana, controlar o tônus muscular, o músculo liso, dentre outros (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2020).

Essa participação é especialmente importante nos equinos, devido aos comuns casos de síndrome cólica, que têm participação tanto do tônus muscular quanto dos movimentos peristálticos, ou ausência deles. Estudos vinculam o aumento do nível de peroxidação lipídica em equinos afetados por síndrome cólica ao estresse oxidativo e indicam maior produção de radicais peroxil e mais elevada a concentração de lipopolissacarídeos (LPS), o que fragilizam os eritrócitos e os expõem à lise (TRIPATHI; PANDY; SAGAR, 2018).

Distúrbios do trato gastrointestinal em equinos são muito comuns e foram associados a eventos relacionados ao estresse oxidativo, como a supressão de óxido nítrico. Um estudo analisou amostras sanguíneas de cavalos acometidos por enfermidades intestinais e foi observada redução importante na concentração de nitrito, que é um metabólito do óxido nítrico, em especial, os animais com ceco timpânico e com obstrução de cólon (SEREZHENKOV et al., 2020).

Nos cavalos, o estresse oxidativo pode exercer alguma função na patogênese da obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA), doença articular e outras. A relação de equilíbrio entre oxidante/antioxidante em processos fisiológicos, como reprodução e treinamento de equinos, também sofre impacto (ONMAZ et al., 2011).

Potros com pneumonia causada por *Rhodococcus equi* foram estudados e apresentaram elevação do *status* do estresse oxidativo, bem como nos MRO e no H₂O₂. A relação entre o estresse oxidativo e o *R. equi* leva à sugestão de terapia antioxidante para minimizar a ameaça da enfermidade, uma vez que já foi demonstrado que antioxidante como a vitamina “C” articula o equilíbrio oxidante e antioxidante e reduz inflamação em animais com obstrução recorrente das vias aéreas – ORVA (CROWLEY et al., 2013).

O estresse oxidativo também foi relatado em caso de cirurgia corretiva envolvendo lesão de estrangulamento em intestino delgado de equino e foi sugerida uma relação com desequilíbrio sistêmico de eletrólito/bicarbonato (BARDELL; ARCHER; MILNER, 2015).

Cavalos acometidos por síndrome metabólica foram investigados, retirando células-troncos do tecido adiposo e analisado o estado metabólico de células isoladas durante a diferenciação adipogênica e descobriu-se que a multipotência foi comprometida provavelmente pelo acúmulo de ERO e do estresse no retículo endoplasmático, ou seja, o microambiente adverso do tecido adiposo de cavalos com

síndrome metabólica afeta negativamente a multipotência e o metabolismo das células-troncos do adipócito (MARYCZ et al., 2018).

Laskoski et al. (2016) investigaram que o estresse oxidativo participa no desenvolvimento de injúria laminar em equinos com doenças gastrointestinais por meio dos peroxinitritos, as ERN e elevação do antioxidante superóxido dismutase (SOD). Discorrem que outras substâncias oxidantes podem também estar associadas, principalmente pelo decréscimo da superóxido dismutase (SOD) em tecido laminar de equinos saudáveis.

Foi evidenciada a participação do estresse oxidativo em cavalos com síndrome de úlcera gástrica equina, que culminou com sugestão de terapia antioxidante no protocolo de tratamento dos animais acometidos pela enfermidade. O malondialdeído (MDA), que é resultante da peroxidação lipídica, considerado um marcador do estresse oxidativo (EO), mostrou níveis mais exacerbados, indicando que a doença induziu ao estresse oxidativo. O óxido nítrico (NO) é tido como detentor de propriedade gastroprotetora que coordena a produção de ácido clorídrico, diminuindo a perfusão e atuando como antioxidante. Além do mais, estimula a formação do epitélio da mucosa. O estudo encontrou concentrações menores de NO no soro de equinos com síndrome de úlcera gástrica equina em relação aos cavalos saudáveis (SHAWAF; EL-DEEB; ELGIOUSHY, 2019).

O estresse oxidativo pode ser um agravante em casos em que já se instaurou a injúria. Foi relatado que o processo se desenvolve no líquido sinovial de equinos com artrite e pode danificar a cartilagem articular em locais onde não está presente a lesão. Nesses casos é recomendado tratamento intrarticular com substâncias antioxidantes, como o ácido hialurônico, vitamina “E” e astaxantina (TSUZUKI; KANBAYASHI; KUSANO, 2019).

Os equídeos são susceptíveis a enfermidades provocadas por protozoários hemoparasitas, como a piroplasmose causada pela *Theileria equi* e *Babesia caballi*, tendo o carrapato como vetor. Foi relatado que o *status* de oxidantes totais é mais elevado em animais soropositivos do que em cavalos saudáveis. Esse fenômeno é devido à carga parasitária e, em ambiente aeróbico, a produção dos radicais livres é inevitável. Essa produção acontece pelo processo de peroxidação lipídica, com a oxidação de membranas e lipoproteínas, o que resulta na geração de íons de hidroxila, incluindo os ânions superóxido e peróxido de hidrogênio. Tudo isso sofre também o

impacto da estação do ano, em virtude de a doença estar vinculada ao ciclo do carrapato (BASIT et al., 2020).

Há achados que relacionam enfermidade e exercício, como é o caso do esforço de animais com obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) com interessantes conclusões. Embora o exercício seja um forte estimulador na geração de ERO e com consequências danosas, como fadiga e lesão muscular, foi relatada que a condição oxidante no sangue em animais com ORVA provavelmente é mais dependente da doença do que do esforço (LYKESFELD; SVENDSEN, 2007).

Equinos de esportes são tentados cada vez mais a buscar aumentar os limites do seu desempenho. A compreensão entre o exercício e a oxidação acompanha essa busca na ampliação do limiar dos resultados. Foi relatado que o incremento do MDA, que é um dos produtos secundários mais conhecidos da peroxidação lipídica, usual como sinalizador de injúria da membrana celular, apenas se pronunciou após a distância de 80 km. A velocidade não afetou esse marcador e sim a distância percorrida. No entanto, é afirmado que o estado de condicionamento físico pode influenciar no sinalizador (BOTTEGARO et al., 2018).

A origem primária de oxidantes endógenos é a cadeia de transporte de elétrons das mitocôndrias, em que 1 a 3% do oxigênio reduzido na água pode formar superóxido (O_2). Esse meio de produção de oxidante é especialmente relevante durante o exercício, quando a utilização de oxigênio pode aumentar até 24 vezes no homem e até 40 vezes nos equinos (KIRSCHVINK; MOFFARTS; LEKEUX, 2008).

Oito cavalos de diferentes raças foram submetidos a um exercício intervalado de alta intensidade, que foi constituído por corrida de 800 metros em velocidade máxima com reinício do percurso após o retorno da frequência cardíaca a 100 batimentos por minuto. O exercício terminou após o aumento do tempo de o percurso atingir 10%, que aconteceu após a quarta corrida. Esse esforço provocou elevação no NO a partir de 30 minutos pós-exercício, com esse platô durando aproximadamente duas horas. É sugerido que o NO pode desempenhar uma função positiva importante na adaptação e/ou recuperação de esforços de alta intensidade e que pode ser prejudicado por fornecimento de antioxidantes exógenos (MACNICOL; LININGER; PEARSON, 2018).

Rabdomiólise é uma síndrome de degradação muscular resultante de esforço, que ocasiona ruptura da membrana celular e extravasamento de seus conteúdos para a corrente sanguínea, podendo levar a consequências renais graves, devido à

insistente filtração de componentes danosos aos glomérulos e que podem levar a óbito. Em animais com a enfermidade foi observada redução de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione (GSH) e óxido nítrico (NO). Esse decréscimo é atribuído à depleção de antioxidantes para combater o estresse oxidativo das ERO (EL-DEEB; EL-BAHR, 2010).

Em equinos atletas, estudos com suplementação antioxidante proporcionaram fundamentos de que os transtornos causados pelo exercício poderiam ser relativamente evitados. Muitos compostos antioxidantes presentes na dieta podem trazer benefícios à saúde, uma vez que esses produtos provocam um decréscimo na geração de diferentes biomarcadores do estresse oxidativo. Estudos mostram que suplementação contendo ácidos graxos poli-insaturados e vitamina “E” durante oito semanas pode promover aumento nos níveis de glutathione peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD) em equinos em treinamento ou manutenção, minimizando os impactos do estresse oxidativo (LACERDA et al., 2018).

Pesquisadores conduziram um estudo buscando estabelecer uma faixa de valores de referência dos metabólitos reativos de oxigênio (d-MRO), do potencial antioxidante biológico (PAB) e índice geral de estresse oxidativo em cavalos Puro Sangue Inglês de dois a cinco anos. Na Tabela 1, observam-se os valores de referência, com diferença entre as idades e o sexo, apresentados pelos animais (KUSANO et al., 2016).

Tabela 1 – Valores de referência para d-MRO, PAB e EO de acordo com idade e sexo em cavalos PSI

Anos de idade	2	3	4	5
Machos (n=191)	48	50	47	46
d-MRO	152,3 (98,3-206,3)	144,9 (101,5-188,3)	143,7 (100,6-186,3)	152,6 (107,5-197,6)
PAB	2691 (2246-3136)	2669 (2340-2998)	2616 (2262-2971)	2653 (2330-2976)
EO	18,1 (11,9-24,3)	18,8 (12,8-24,8)	18,6 (12,7-24,6)	17,8 (12,0-23,5)
Fêmeas (n=181)	50	49	46	36
d-MRO	171,7 (116,9-226,5)	167,9 (107,9-227,9)	145,5 (102,2-188,7)	156,4 (102,6-210,2)
PAB	2630 (2390-2932)	2630 (2328-2882)	2483 (2176-2655)	2695 (1832-2695)
EO	15,7 (10,2-21,2)	16,1 (10,5-21,7)	17,4 (11-23,2)	14,8 (9,9-19,7)

Fonte: Kusano et al. (2016).

O transporte de equinos também levantou a atenção de investigadores no que diz respeito ao estresse oxidativo e relatam que mudanças nos parâmetros oxidativo e antioxidativos, antioxidantes plasmáticos totais e metabólitos reativos ao oxigênio devem ser entendidos como segmentos da resposta de fase aguda provocada pelo estresse no transporte (ONMAZ et al., 2011).

O malondialdeído (MDA), que é um indicador de peroxidação lipídica durante o estresse oxidativo, foi observado com significativa elevação em equinos transportados por 550 quilômetros, durante 12 horas, em comparação ao nível antes da jornada, bem como os animais mais velhos apresentaram maior acréscimo em relação aos mais jovens (WESSELY-SZPONDER et al., 2015).

Animais após oito horas de transporte apresentaram antioxidantes plasmáticos totais elevados em relação ao estado antes da viagem e continuaram exacerbados após 24 horas do término do percurso. O aumento pode estar relacionado a um acréscimo nos níveis de antioxidantes de pequenas moléculas que se distribuem para o sangue, como bilirrubina, ácido úrico e albumina. Fundamentando-se no decréscimo no movimento de enzimas antioxidantes e elevação de antioxidantes específicos de pequenas moléculas, podendo se dizer que a expansão dos antioxidantes plasmáticos totais em equinos transportados resultou do incremento da ação de radicais livres, como consequência da dinâmica de estressores (NIEDZWIEDZ; KUBIAK; NICPON, 2013).

Cavalos transportados por 94 horas, sendo 51 horas em trânsito e 43 horas de paradas para descanso foram avaliados quanto ao estresse oxidativo e comparados com um grupo controle. Foram analisados os antioxidantes plasmáticos totais (APT) e os metabólitos reativos de oxigênio (d-MRO). Não foi encontrada diferença nos d-MRO, mas houve alteração nos APT com maior aumento registrado no desembarque e, após sete dias, os animais estabeleceram seus valores iniciais (PADALINO et al., 2017).

2.4.1. Marcadores do estresse oxidativo

A Organização Mundial da Saúde definiu biomarcador como qualquer substância, estrutura ou processo que possa ser medido no corpo ou em seus

produtos e influenciar ou prever a incidência de resultado ou doença (LIGUORI et al., 2018).

Marcadores oxidativos desempenham importante atribuição nos processos metabólicos que podem culminar na ocorrência de enfermidades. Essa característica os faz importantes na compreensão do funcionamento e nas consequências biológicas da avaria oxidativa, com a possibilidade de melhor planejamento de ações eficazes no controle e prevenção de tais processos (BARBOSA et al., 2008).

Devido à alta atividade e curta meia-vida, analisar diretamente as ERO que provocam estresse oxidativo tem certa complexidade na rotina clínica, no entanto, o avanço da tecnologia permitiu que a medição dos níveis do estresse oxidativo se tornasse relativamente mais fácil. Assim, recentemente, vem-se analisando o estresse oxidativo para monitorar a saúde de atletas humanos, equinos e cães (SHONO et al., 2020).

As espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio podem pertencer a duas categorias, as que são radicais e as não radicais como se segue no demonstrativo (Quadro 1).

A determinação de radicais livres possibilita identificar e localizar as ERO, mas são necessários equipamentos complexos, que nem sempre estão disponíveis. Logo, o emprego de marcadores oxidantes é muito praticado, tanto na pesquisa quanto na medicina humana. Existem duas classes de marcadores oxidantes, conforme pode ser visto na Figura 9:

- Antioxidantes, que compreendem enzimas (SOD, CAT, GPx), moléculas antioxidantes hidrofóbicas e hidrofílicas.
- Produtos oxidativos, como lipídios, proteínas ou material nuclear, que foram oxidados por ERO (KIRSCHVINK; LEKEUX, 2002).

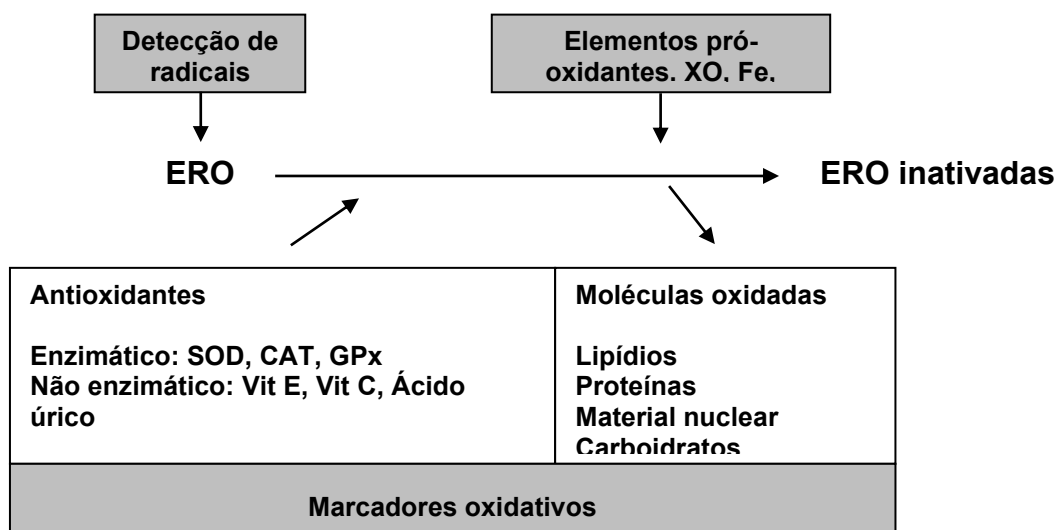
Quadro 1 – Classificação e nomenclatura das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio

Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)	
Radicais Livres	Não Radicais
Superóxido (O_2^-) Hidroxila (OH^\cdot) Hidroperoxila (HO_2^\cdot) Peroxila (RO_2^\cdot) Alcoxila Carbonato Dióxido de Carbono	Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) Ácido Hipobromoso ($HOBr$) Ácido Hipocloroso ($HOCl$) Ozônio (O_3) Oxigênio Singlet (1O_2) Peróxidos Orgânicos ($ROOH$) Peroxinitrito ($ONOO$) Ácido Peroxinitroso ($ONOOH$)
Espécies Reativas de Óxidos Nitrogênio (ERONs)	
Óxido Nitroso (NO^\cdot) Dióxido de Nitrogênio (NO_2^\cdot)	Ácido Nitroso (HNO_2) Cátion Nitroxil (NO^+) Anion Nitroxil (NO^-) Trióxido de Dinitrogênio (N_2O_2) Tetróxido de Dinitrogênio (N_2O_4) Peroxinitrito ($ONOO$) Ácido Peroxinitroso ($ONOOH$) Cátion Nitril (NO_2^+) Peroxinitritos Alxil ($ROONO$)

Nota: Espécies reativas é um termo que engloba qualquer composto que seja potencialmente reativo. Entre as EROs estão incluídas as espécies reativas radicais (radicais livres) e não radicais. Da mesma forma as ERONs, Radical livre refere-se a um átomo ou molécula altamente reativa que tenha um elétron desemparelhado em sua última camada eletrônica. As espécies não radicais são agentes oxidantes e podem se converter em radicais livres. Todo radical livre é uma espécie reativa, mas nem toda espécie reativa é um radical livre.

Fonte: Barbosa et al. (2008).

Figura 9 – Marcadores de estresse oxidativo



Fonte: Kirschvink e Lekeux (2002).

No Quadro 2, podem ser encontradas as principais enzimas antioxidantes com sua ação biológica e local de atuação.

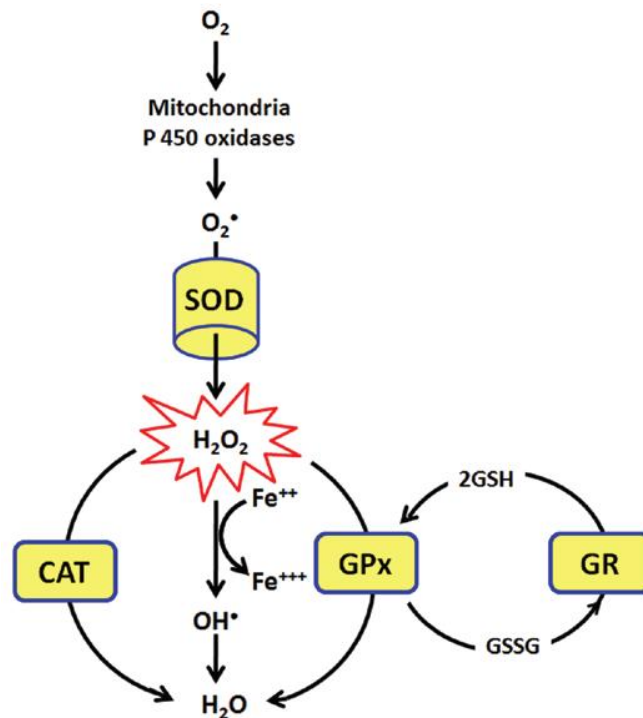
Quadro 2 – Sistema enzimático antioxidante conforme sua reação biológica e seus sítios de ação

Enzima (sigla)	Ação biológica	Locais
Superóxido dismutase (SOD)	Catalisa a desmutação do O_2^- , convertendo-o em H_2O_2 , que é menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas	Abundante nas células aeróbicas
Catalase (Cat)	Catalisa a água e oxigênio para formação de H_2O_2	Eritrócitos e baço, rins nos mamíferos e fígado
Glutaciona peroxidase (GSH-Px)	Catalisa a redução H_2O_2 e peróxidos orgânicos para o seu álcool correspondente, sendo que a glutadiona opera em ciclos entre a sua forma oxidada e a sua forma reduzida	Citosol
Glutaciona redutase (GSH-Rd)	Mantém o sistema de proteção celular íntegro através da redução da forma oxidada (GSSG) para a forma reduzida (GSH)	Fígado e linfonodos

Fonte: Adaptado de Oliveira e Schoffen (2010).

São vários os marcadores de estresse oxidativo (Figura 10) e estão disponíveis em grande variedade de fluidos fisiológicos, mas os mais investigados são o malondialdeído (MDA), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutaciona reduzida (GSH) óxido nítrico (NO) (TORODOVA et al., 2005; KIRSCHVINK; MOFFARTS; LEKEUX, 2008; PANDEY; RIZVI, 2010; CAMPOS; LEME, 2017; ANKUR et al., 2018; BOTTEGARO et al., 2018; LACERDA et al., 2018; TRIPATHI; PANDY; SAGAR, 2018; SHONO et al., 2020; NOGUEIRA et al., 2021).

Figura 10 – Principais sistemas de defesa enzimática endógena das células aeróbicas



Nota: São eles: Superóxido dismutase (SOD), Glutaciona peroxidase (GSH-Px), Glutaciona redutase (GSH-Rd), Catalase (Cat). Preservam os radicais superóxido e o peróxido de hidrogênio, transformando-os em espécies menos reativas. A SOD catalisa a dismutação do radical superóxido ($\bullet O_2$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Apesar de o H_2O_2 não ser um radical, ele é rapidamente convertido pela “reação de fenton” no radical $\bullet OH$, que é muito reativo. A GPx inutiliza o peróxido de hidrogênio, retirando hidrogênios de duas moléculas de GSH, ocasionando em dois H_2O e um GSSG. Assim a GR regenera a GSH do GSSG. A CAT, importante parte da defesa enzimática, neutraliza o H_2O_2 em H_2O .

Fonte: Pandey e Rizvi (2010).

2.4.1.1. Índice de estresse oxidativo (IEO)

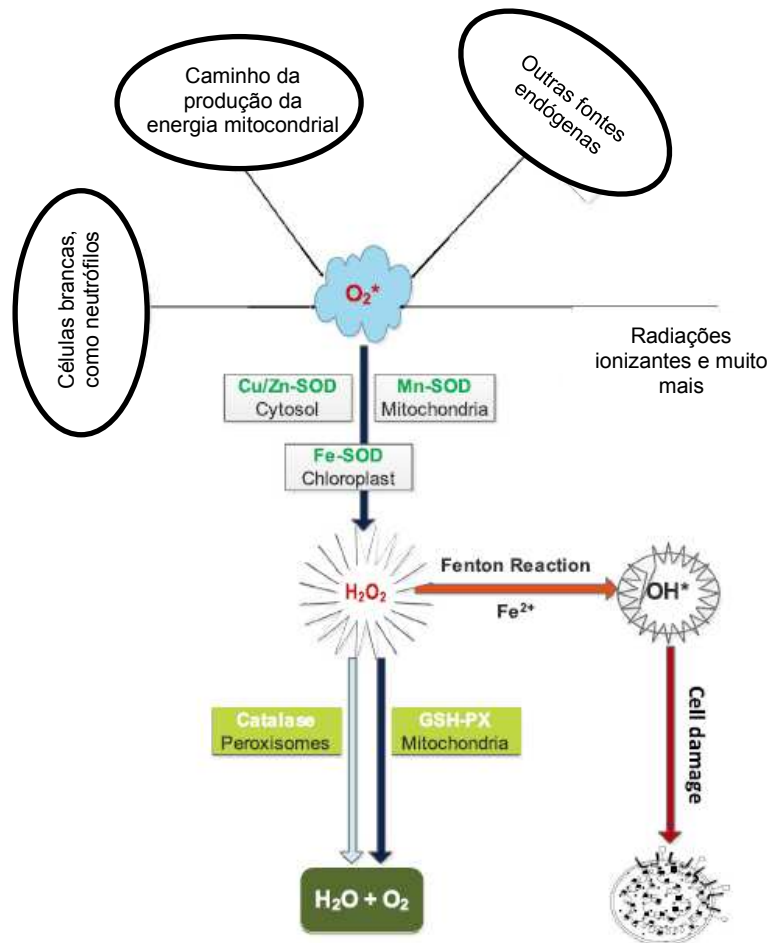
Uma outra maneira de se investigar o estresse oxidativo é por meio do “índice de estresse oxidativo” (IEO), que se dá por meio de equação que identifica níveis de metabólitos diacron reativos de oxigênio (d-ROMs) e o potencial antioxidante biológico (PAB), que são mais fáceis de serem medidos. De acordo com Shono et al. (2020), o IEO é calculado usando a fórmula:

$$IEO = d-ROM / PAB \times 100$$

2.4.1.2. Superóxido dismutase (SOD)

As superóxidos dismutases (SOD) são metaloenzimas que catalisam a dismutação do ânion superóxido em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio, conseqüentemente, compõem um segmento importante do sistema de defesa antioxidante celular (ANKUR et al., 2018). Outras enzimas, como a CAT e a GPx, podem degradar o peróxido de hidrogênio, pois este é mais reativo. As enzimas SOD podem ter três tipos: SOD-cobre/zinco, presente no citosol, lisossomos, núcleos e na zona intermembrana da mitocôndria; SOD-manganês, apenas presente nas mitocôndrias, com função de regular o nível de O₂ nas mitocôndrias; SOD-extracelular, que é uma glicoproteína encontrada no ambiente extracelular, em particular, nas células dos vasos pulmonares e no sangue. As SOD em geral são encontradas em todos os tecidos, com menor nível tecido nervoso. A diminuição da atuação da SOD pode ser gerada por mudanças nos níveis de cobre, zinco e manganês (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2017). Esta enzima é a primeira enzima de desintoxicação e o antioxidante celular mais potente. É uma enzima antioxidante endógena que age como parte do sistema de defesa de primeira linha contra as ERO – Figura 11 (IGHODARO; AKINLOYE, 2018). O prejuízo oxidativo às proteínas pode decorrer em perda da função bioquímica e mutações no DNA, erros na replicação, instabilidade do genoma e morte celular. Uma das maneiras que os equinos podem ter comprometido o equilíbrio oxidativo é quando estão acometidos por parasitose eritrocitária, o que foi relatado por Saleen e Al-Samaraif (2018), que identificaram decréscimo de SOD em animais infectados por *Theileria equi*, sugerindo que o parasita poderia adulterar a atividade da isoenzima pela produção de radicais livres.

Figura 11 – Primeira linha de defesa antioxidante contra ERO



Fonte: Ighodaro e Akinloye (2018).

2.4.1.3. Catalase (CAT)

A catalase é uma enzima antioxidante que é encontrada na maioria dos tecidos vivos que utilizam oxigênio. Participa na desintoxicação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Ela catalisa a transformação de duas moléculas de H_2O_2 em oxigênio molecular e duas moléculas de água (ANKUR et al., 2018; IGHODARO; AKINLOYE, 2018). É numerosa e eficiente. É encontrada, sobretudo, nos peroxissomos, mas ausente nas mitocôndrias dos mamíferos, exceto no coração de ratos. Isso resulta que a dissociação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio é executada pela glutatona peroxidase nas mitocôndrias das células dos mamíferos. Em vista disso, a competência da CAT de restringir os níveis de H_2O_2 nas células enfatiza sua importância nos mecanismos fisiológicos citados, além de ser uma

enzima antioxidante primária (IGHODARO; AKINLOYE, 2018). A CAT tem maior efetividade em ambientes intracelulares com maiores níveis de H_2O_2 . Em órgãos como o cérebro, coração e o pulmão, não são encontrados peroxissomos, em virtude disso os níveis de CAT são baixos, o que os deixam mais sensíveis injúrias oxidativas (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2017).

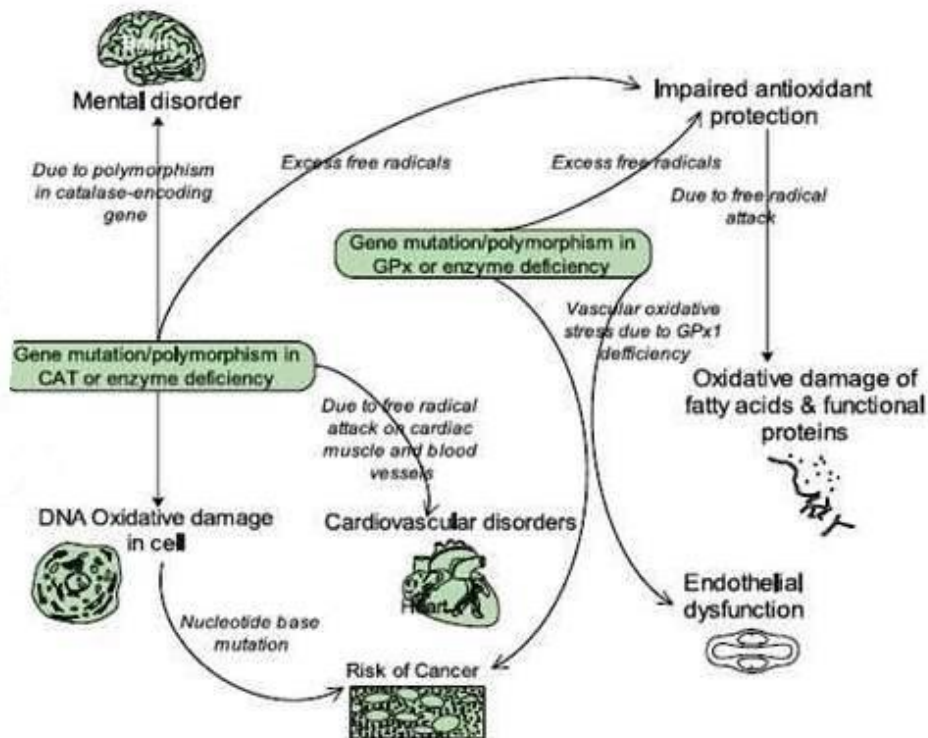
2.4.1.4. Glutathione S-transferases (GST)

Glutathione S-transferases (GST) é um grupo de isozimas metabólicas de fase II eucarióticas e procarióticas habitualmente conhecida devido à sua capacidade de catalisar a conjugação do estado reduzido de glutathione (GSH) a substratos xenobióticos com finalidade de desintoxicação (ALLOCATI et al., 2018). Desempenha também uma função essencial na desintoxicação de outros compostos deletérios, assim como contra o estresse oxidativo. No entanto, esse recurso também é explorado por células neoplásicas para adquirir barreira aos medicamentos e melhorar sua sobrevivência. Consequentemente, vários membros da família foram encontrados com expressão acentuada em vários tipos de neoplasia (ALLOCATI et al., 2018; ISMAIL et al., 2021).

2.4.1.5. Glutathione peroxidase (GPx)

A GPx é uma relevante enzima intracelular que, bem como a CAT, degradam os peróxidos de hidrogênio em água e peróxidos lipídicos em seus álcoois correspondentes, sobretudo, na mitocôndria e às vezes no citoplasma (IGHODARO; AKINLOYE, 2018). No entanto, a degradação do H_2O_2 ocorre distintivamente da CAT, a GPx a faz por meio de uma junção com a glutathione em sua forma reduzida (GSH). Esta enzima se encontra em abundante atividade nos rins, intestino e fígado, enquanto no cérebro apresenta baixa concentração (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2017). Foi descrito que baixos níveis de GPx podem levar a injúrias oxidativas aos lipídeos de membrana e proteínas funcionais, culminando em danos neurotóxicos (Figura 12), bem como disfunção endotelial pela elevação do estresse oxidativo vascular (IGHODARO; AKINLOYE, 2018).

Figura 12 – Sequência dos danos causados pelo estresse oxidativo



Fonte: Ighodaro e Akinloye (2018).

2.4.1.6. Glutathiona reduzida (GSH)

A GSH é um tripeptídeo tiol (L-glutamil-L-cisteinil-glicina), presente no citosol, núcleo e mitocôndrias de todas as células dos mamíferos e é fundamental para a manutenção da integridade do ciclo catalítico da glutathiona. É um elemento auxiliar na prevenção da produção de peroxinitrito, regenera a vitamina E, quando reduz o radical tocoferil em tocoferol e defende da oxidação de proteínas. Ademais, a GSH é co-substrato para GPx e para GST, contribui na redução das ligações dissulfeto de proteínas e na condução de aminoácidos. A biogênese da glutathiona acontece por meio da gama-glutamilcisteína sintetase e da GSH sintetase, sendo a forma reduzida (GSH) mais presente do que a forma oxidada (GSSG) (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2017). Há uma correlação relevante entre os níveis de GSSG e o sistema enzimático de defesa. Em situação de desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, ocorrerá alterações no estado redox da glutathiona, identificando-se uma instabilidade entre a produção de GSSG e o consumo GSH. Dessa forma, a intensidade do estresse

oxidativo pode ser acompanhada pela aferição de GSSH e/ou pela relação GSSG/GSH (BARBOSA et al., 2008).

2.4.1.7. Óxido nítrico (NO)

O NO intervém acerca de diversos eventos fisiológicos e está presente em uma grande parte do organismo, bem como envolvido em seus diferentes sistemas biológicos. Participa em mecanismos como vasodilatação, citotoxicidade coordenada por macrófagos, inibição da ativação, adesão e agregação plaquetária, manutenção da pressão arterial basal, otimização da transmissão sináptica. Pode ser um oxidante ou um redutor do ambiente onde se localiza (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002). Está também envolvido na formação de peroxinitrito, que cria o estresse oxidativo (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2017). O NO ou seus metabólitos resultantes da interação com o oxigênio e radicais superóxidos podem alterar moléculas, como lipídeos, ácidos nucléicos e proteínas, para gerar consequências fisiológicas ou patogênicas. Produção reduzida de NO diminui a perfusão nos tecidos e pode levar à criação de trombos, por outro lado sua elevação acentuada induz à vasodilatação intensa, culminando em choque, diminuição da ação plaquetária, comprometendo a homeostase (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002). O óxido nítrico é produzido pela conversão de L-arginina em L-citrulina por enzimas denominadas NO sintases. As três isoenzimas que geram NO estão situadas nas fibras musculares. Dois são expressos regularmente: o Tipo I, também nomeado “neuronal”, que está localizado no sarcolema de fibras rápidas; e tipo III, “endotelial”, que é produzido nas mitocôndrias; o terceiro tipo, “indutível”, é expresso especialmente no curso de um processo inflamatório (ALFARO, 2019).

2.4.1.8. Malondialdeído (MDA)

O malondialdeído (MDA) é um dialdeído volátil, de baixo peso molecular ($C_3H_4O_2$, – P.M.= 72,07), de cadeia curta 1,3 – dicarbonil e considerado um ácido moderadamente fraco ($pK_a = 4,46$ (LIMA; ABDALLA, 2001)). É produto da peroxidação lipídica; esta, por sua vez é um marcador do estresse oxidativo, pois acontece em função da degradação dos lipídeos. Os lipídeos poli-insaturados são vulneráveis à agressão oxidativa, originando reações com a formação de produtos finais como o

MDA. Por isso o MDA é medido como biomarcador do estresse oxidativo (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2017; SHAWAF; EL-DEEB; ELGIOUSHY, 2019). Esses ácidos graxos poli-insaturados nos fosfolipídios de membrana após sofrerem a ação de radicais livres modificam a estrutura e a função celular (TORODOVA et al., 2005). Foi relatado aumento de MDA em equinos infectados por *Theileiria equi* e os autores atribuíram ao parasito responsabilidade da elevação da peroxidação lipídica e do MDA, que aumentou os radicais livres e os danos à membrana celular (SALEEN; AL-SAMARAIF, 2018).

2.4.1.9. Capacidade antioxidante de redução férrica (FRAP)

O teste da FRAP está sujeito à capacidade de os antioxidantes reduzirem o ferro (III) a ferro (II). Este ensaio baseia-se na aferição direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) em reduzirem, em circunstâncias de pH baixo, o complexo Fe^{+3} /tripiridiltriazina (TPTZ), existente em excedente estequiométrico, para a forma ferrosa Fe^{+2} , de intensa cor azul e absorção máxima a 593 nm. Assim, o ensaio FRAP é capaz de detectar compostos que podem reduzir o complexo de ferro (III) em ferro (II) e exibir um potencial de redução padrão. Os valores do ensaio FRAP são conseguidos monitorando a redução a 593 nm, com leitura em contraste a um reagente branco a um pré-determinado intervalo de tempo após a mistura reagente/amostra, e confrontada com a outra que contém íons ferrosos em conhecida concentração (MANCINI-FILHO, 2004).

2.4.1.10. Carbonilação de proteínas

A presença de ROS induz à oxidação de proteínas, em especial, à oxidação de cadeias laterais de proteínas, com a consecutiva formação de grupos de proteínas carbonil. A concentração de proteínas carbonil no sangue se eleva em circunstâncias patológicas relacionadas ao estresse oxidativo. Em humanos, a carbonilação de proteínas é um dos biomarcadores mais largamente utilizados para se avaliar a injúria oxidativa às proteínas, visto que reflete a lesão celular induzida por diversificadas formas de ROS (RUGGERONE, 2018). Assim, como supracitado, a inflamação é identificada por eventos oxidativos e a constatação de proteínas carboniladas em amostras biológicas tem a possibilidade de ser empregada para dimensionar o grau

de estresse oxidativo associado à inflamação (COLOMBO et al., 2016). A carbonilação de proteínas é induzida por mecanismos variados, como ácido hipocloroso originário de neutrófilos e conjugação a produtos aldeídos de lipídios. A meia-vida das proteínas carboniladas é longa; assim, a análise do conteúdo do grupo carbonil proporciona um esclarecimento importante da extensão do estresse oxidativo em condições patológicas (NOCERA et al., 2020).

2.4.1.11. Potencial antioxidante biológico (PAB)

O estresse oxidativo do sangue (EOS) e o potencial, ou poder, antioxidante biológico (PAB) são usados como biomarcadores de estresse oxidativo. O poder antioxidante biológico (PAB) quantifica a capacidade antioxidante e o EOS quantifica o metabolismo das ROS. EOS e PAB têm uma correlação alta assim como d-ROM e PAB sendo usado como biomarcadores de OS confiáveis em equinos (KAMBAYASHI et al., 2018). As concentrações séricas de d-ROM e BAP em equinos são diferentes dos de cães e bovinos de leite e estes níveis podem apresentar uma larga faixa de variação, dependendo da espécie (SHONO et al., 2020). O PAB aparenta ser um marcador de estresse oxidativo mais confiável para se avaliar em equinos em atividades prolongadas, por apresentar menor variabilidade entre os animais (BOTTEGARRO et al., 2018).

Assim, as principais enzimas antioxidantes são SOD, catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GSH-Px). Como mencionado, o O_2 é convertido por SOD em H_2O_2 , que é decomposto em água e oxigênio por CAT, impedindo a produção de radicais hidroxila. Além disso, o GSH-Px converte radicais peróxidos e hidroxila em formas não tóxicas pela oxidação da glutathiona reduzida (GSH) em dissulfeto de glutathiona e depois reduzido a GSH pela glutathiona redutase. Outros marcadores: a glutathiona-S-transferase, NO e MDA (LIGUORI et al., 2018).

2.5. A resposta de fase aguda e os principais marcadores

Durante um estado de higidez, o sistema homeostático preserva o meio interno do organismo em condição ótima perante o meio externo, que apresenta sucessivas oscilações. Os sistemas que proporcionam adaptações aos organismos que respondem aos desafios externos vão da produção intracelular de proteínas responsivas ao calor típico dos procariontes até a vasta sucessão de eventos mais complexos que acontecem nos vertebrados. Acompanhada por uma diversidade de estímulos inflamatórios, a resposta localizada é seguida por várias modificações sistêmicas e metabólicas que são denominadas de resposta de fase aguda (MACKIEWICZ,; KUSHNER; BAUMANN, 1993).

A resposta de fase aguda (RFA) é um mecanismo tanto fisiológico quanto patológico de defesa vinculado à inflamação, que acontece nas inflamações agudas e crônicas, mesmo que a terminologia direcione aos eventos imediatos. Apresenta a peculiaridade de provocar alteração de elevação ou decréscimo dos níveis séricos de algumas proteínas particulares em decorrência de estímulo que acarrete injúria em determinado tecido. Estímulos que normalmente provocam a elevação dessas proteínas incluem infecção bacteriana, cirurgia ou trauma, fraturas, neoplasia (Quadro 3), queimadura, ataque viral, estados imunomediados, partos (MACKIEWICZ; KUSHNER; BAUMANN, 1993; SAFI, 2012; McGOVERN, 2018; MACEDO et al., 2017).

Quadro 3 – Causas da inflamação

Causas de inflamação
<ul style="list-style-type: none"> • Infecção bacteriana (ex.: garrotilho, pneumonia, pleurite, abscesso, peritonite, colite, enterite, artrite séptica, osteomielite); • Infecção viral (ex.: herpes vírus equino, influenza equina); • Doenças inflamatórias (enterite, colite, peritonite, enteropatia por areia, • Doenças inflamatórias intestinais • Injúria de tecidos (trauma, cirurgia, injúria muscular severa) • Doenças imuno mediadas (vasculite, linfangite, pênfigo foliáceo); • Endotoxemia/síndrome da resposta inflamatória sistêmica • Neoplasia • Vacinação

Fonte: McGovern (2018).

Durante a RFA acontece uma elevação rápida na geração de proteínas do sistema imune. Nesta fase aguda, todos os tipos de fatores estão presentes no sangue, que em geral são sintetizadas em uma condição saudável, mas depois em menor escala. A concentração pode aumentar em poucas horas em dezenas, centenas e milhares de vezes, dependendo do marcador (VAN DER BIE, 2006).

A RFA é uma resposta com agrupamento de reações inflamatórias sistêmicas inespecíficas, altamente complexas e bem orquestradas, que ocorre imediatamente após uma injúria. Mediadores da inflamação provocam os processos inflamatórios locais e sistêmicos. Os macrófagos ativados soltam uma relevante variedade de mediadores, em que as citocinas representam importância exclusiva para começar a seguinte sequência de reações. As citocinas que agem como elo sinalizador entre o local da injúria e os hepatócitos têm diferenciadas origens e atribuições. Na região da lesão, as citocinas atuam nas células estromais, como fibroblastos e células endoteliais, provocando um segundo impulso de citocinas. Essa onda secundária eleva o sinal homeostático e tem o início das cascatas celulares e de citocinas comprometidas no melindroso processo da RFA (SAFI, 2012).

A RFA compreende quatro segmentos elementares, os indutores (estímulo), que originam o processo inflamatório; os sensores, receptores de membrana celular, que identificam os indutores e deflagram a síntese dos mediadores da inflamação; os mediadores inflamatórios (citocinas, quimiocinas, 6 aminas bioativas, eicosanoides e produtos de cascatas proteolíticas), que agem nos tecidos alvo induzindo modificações em sua função como aumento da permeabilidade, o que permite a passagem das células de defesa, em especial os neutrófilos, para a região lesionada; e o tecido agredido (MEDZHITOV, 2010).

A característica principal da RFA é a produção de proteínas de fase aguda (PFA) positivas como fibrinogênio, haptoglobina e amiloide sérica “A” pelos hepatócitos, vinculadas à restauração da homeostase. Simultaneamente acontece diminuição da síntese de diferentes proteínas denominadas proteínas de fase aguda negativas, como a albumina e a transferrina (JACOBSEN; ANDERSEN, 2007; SAFI, 2012; DONDI et al., 2015; LECLERE et al., 2015; LONG; NOLEN-WALSTON, 2020).

O fígado exerce uma atribuição indispensável na imunidade inata e adaptativa e está essencialmente comprometido com a RFA. É o órgão que acomoda o maior agrupamento de macrófagos teciduais, que, por ocasião da resposta aguda, é uma fonte primordial de citocinas inflamatórias que coordenam a síntese de PFA pelos

hepatócitos e estão comprometidos com a sucessão de episódios da imunidade inata e em consequência, a adaptativa (JAIN et al., 2011; LECLERE et al., 2015; EHLLING et al., 2016; LONG; NOLEN-WALSTON, 2020).

Seja qual for o processo envolvendo equinos que tenha associação com a atividade esportiva, seja competição, treinamento, exercícios diversos e outros, indica possibilidade de gerar alteração na homeostase, provocando uma resposta aguda ao estresse. Essa resposta impulsionaria modificações fisiológicas distintas que exigiriam um ajuste entre os vários sistemas, dentre eles, os sistemas respiratório, cardiovascular, muscular, tegumentar, renal e hepático e o trato gastrointestinal (BARTOLOMÉ; COCKRAM, 2016; ARFUSO et al., 2020).

O prejuízo da imunidade mediada por células e a produção de cortisol são reconhecidos como dois constituintes da RFA, que é uma reação imune a estímulos não específicos identificados por transformações sistêmicas, fisiológicas e metabólicas, abrangendo o estresse oxidativo e produção de PFA (PADALINO et al., 2017).

As elevações das concentrações das PFA indicam uma típica reação de fase aguda e mostram o estado clínico do animal e têm atividades biológicas específicas, conforme pode ser visto no Quadro 4 (JAIN et al., 2011).

Quadro 4 – Atividade biológica das principais PFAs nos equinos

PFA	Atividade biológica
Amiloide sérica A	Transporte de colesterol das células danificadas para hepatócitos Efeito inibitório na febre Efeito inibitório sobre a ação oxidativa de neutrófilos Efeito inibitório <i>in vitro</i> na resposta imune Efeito quimiotático em monócitos, leucócitos e células T Indução da mobilização de cálcio por monócitos Inibição da ativação plaquetária
Haptoglobina	Vincula-se à hemoglobina Efeito bacteriostático Estimulação da angiogênese Papel no metabolismo lipídico/desenvolvimento de fígado gordo em bovinos Efeito imunomodulador Inibição da atividade respiratória dos neutrófilos

Fonte: Jain et al. (2011).

Em seres humanos e animais, a proteína C reativa (PCR), a haptoglobina (Hp) e a amiloide sérica A (ASA) são as proteínas de maior responsividade. Porém, a exteriorização dessas proteínas tem variação entre as espécies animais (Tabela 2). Nos equinos, a ASA é a que apresenta maior sensibilidade em face de uma RFA, seguida da manifestação moderada da Hp e PCR. Sendo esta última a que mais se altera em humanos e cães (CYWINSKA et al., 2012).

Tabela 2 – As proteínas de fase aguda (PFA) principais e moderadas que respondem a estímulos inflamatórios em várias espécies de animais domésticos

Espécie	Proteína principal	Proteína moderada
Felino	ASA	GPA, Hp
Canino	PCR, ASA	Hp, GPA
Equino	ASA	Hp, Fb (McGORVEN, 2018)
Bovino	Hp, ASA	GPA

Fonte: Adaptada de Cray et al. (2009), Eckersall e Bell (2010), McGovern (2018) e Kaur, Qureshi e Khadke (2020).

Nota: ASA – amiloide sérica “A”; PCR – proteína C reativa; Hp – haptoglobina; GPA – α 1-glicoproteína ácida; Fb – fibrinogênio.

A ASA é a única principal PFA positiva no cavalo. Uma PFA principal é determinada como aquela das quais as concentrações são baixas ou clinicamente indetectáveis em animais hígidos, no entanto, rapidamente elevam mais de 10 vezes por ocasião da RFA e decrescem rapidamente com o término da enfermidade (LONG; NOLEN-WALSTON, 2020).

2.5.1. Amiloide sérica “A” (ASA)

A amiloide sérica A (ASA) é uma apolipoproteína que apresenta em três isoformas e é agregada principalmente com lipoproteínas de alta densidade. É sintetizada principalmente no fígado. A produção extra-hepática da ASA semelhante acontece no colostro e no líquido sinovial, em especial a ASA3, presente nos dois últimos fluidos referidos (SAFI, 2012; LONG; NOLEN-WALSTON, 2020). Também foi

encontrada em líquido abdominal de equinos acometidos de distúrbio gastrointestinal (POLLOCK, 2017). A queda na recuperação ou uma nova agressão/secundária resulta em reagudização da resposta e em um retorno de elevados níveis (LONG; NOLEN-WALSTON, 2020). É uma proteína com densidade alta, pesando entre 9 e 14 kDa na forma desnaturada (ECKERSALL, 2008).

A ASA é aferida cada vez mais na rotina em cavalos: algumas das referências incluem, mas não limitam cirurgia, líquido sinovial, inflamação, doenças gastrointestinais, reprodutivas, respiratórias, músculo esqueléticas, parasitárias, neonatologia e exercício. Até o momento, a maioria dos estudos concentrou-se nas modificações dos níveis da ASA após enfermidades ou injúrias (POLLOCK, 2017).

A ASA apresenta relevante utilidade em cavalos, pois tem característica de baixas concentrações ou indetectáveis em animais clinicamente saudáveis. A sua elevação nos equinos após injúria é amplamente relatada. Pode aumentar mais de 100 vezes após lesão tecidual, infecção ou inflamação (SAFI, 2012). É relatado um incremento das concentrações no sangue de até 1.000 vezes após seis horas da injúria (WESTERMAN et al., 2016; LONG; NOLEN-WALSTON, 2020). Essa proteína vem sendo largamente utilizada no monitoramento da saúde de equinos de corrida como um indicador de injúrias, observando-se a elevação de 10 a 1.000 vezes em 24 a 48 horas após a lesão (TURLO et al., 2015).

A literatura científica, normalmente, utiliza como valor de referência para a ASA < 20 µg/mL, mas vem sendo empregado o valor < 5 µg/mL para considerar o animal em estado de hígidez (WESTERMAN et al., 2016; BARROS, 2018).

Foi relatada a correlação entre a elevação da ASA a exercícios físico de longa duração e não a de alta intensidade de curta duração, sugerindo que esse marcador pode ser usado para avaliar a hígidez de animais em atividades intensas ou monitorar a extensão da lesão nas atividades que envolvem longa distância (NOLEN-WALSTON, 2015; SIQUEIRA; FERNANDES, 2017; CARVALHO FILHO et al., 2019).

2.5.2. Haptoglobina (Hp)

A haptoglobina (Hp) é uma glicoproteína formada por duas subunidades polipeptídicas (2 α e 2 β); α com 16 a 23 kDa e β com 35 a 40 kDa de peso molecular. Sua produção é hepática e pode ser encontrada dentro da fração α 2-globulina. Em

equinos, a resposta da Hp tem sido associada a processos inflamatórios sistêmicos e procedimentos cirúrgicos (POLLOCK, 2017).

É uma proteína que faz ligação à hemoglobina desprendida de eritrócitos com o objetivo de diminuir a atividade oxidativa. O complexo haptoglobina-hemoglobina é empregado para identificar e monitorar anemia hemolítica intravascular (JAIN et al., 2011).

A Hp é uma proteína de fase aguda moderada e apresenta aumento lento, entretanto, continua com a concentração elevada por mais tempo e é um marcador para quadros de inflamação sistêmica agudos e crônicos. Essa elevação pode ser observada tanto no soro quanto no líquido sinovial em equinos com artrite (BARRACHINHA et al., 2016).

A essa proteína também foi conferida a propriedade de avaliar lesão de esforço por longa duração, pois ela se eleva em atividades prolongadas (AMARAL et al., 2015). Também para acompanhar o pós-cirúrgico de equinos, pois pode demorar dias para voltar ao perfil inicial devido a sua maior persistência, sete dias ou mais (BARRACHINHA et al., 2016), além de apresentar maior resposta à cirurgia do que a quadros inflamatórios adquiridos (WESTERMAN et al., 2015).

A haptoglobina não inicia a elevação até 12 a 24 horas após um estímulo inflamatório, enquanto o ASA pode aumentar > 100 vezes em 6 a 12 horas após um estímulo inflamatório. Mesmo assim, a aferição da Hp tem valor clínico. Concentração alta acima da referência (10 to 70 mg/dL) no momento da admissão no animal com cólica no hospital pode sugerir um distúrbio inflamatório crônico. A avaliação das PFA principais e moderadas favorece uma melhor avaliação da severidade e duração de uma enfermidade, uma vez que as principais PFA crescem e decrescem rapidamente em virtude da meia-vida relativamente curta, enquanto as PFA moderadas elevam e abaixam mais lentamente (WESTERMAN et al., 2016). Outro valor de referência é sugerido por Barros (2018), que pode variar dentre 200 de 400 mg/L.

2.5.3. Fibrinogênio (Fb)

O fibrinogênio (Fb) é uma PFA moderada que pode ser estimada com facilidade por precipitação térmica e refratometria (HP de fibrinogênio) ou medida com mais precisão por outros métodos. Embora os níveis de fibrinogênio não se elevem até 24 a 72 horas após o começo da lesão inflamatória e, apesar de não ser um

indicador muito sensível da inflamação, o fibrinogênio é frequentemente avaliado na prática equina (FERNANDEZ; ROY, 2019).

O Fb apresenta um peso molecular alto, aproximadamente 340 kDa e constitui cinco por cento do plasma sanguíneo e tem grande relevância na cascata de coagulação, onde fornece substratos para se formar a fibrina e matriz para migração de células inflamatórias (WEISS; WARDROP; SCHALM, 2010). Os valores de referência para os equinos estão entre 100 e 400 mg/dL (KANEKO et al., 2008; BARROS, 2018).

O Fb pode ter suas concentrações elevando-se de 1 a 10 vezes em um período de 24 a 72 horas. Essa elevação um tanto tardia indica que é menos apropriada que a ASA para identificar inflamação mais aguda. Os resultados elevados podem ser influenciados pela desidratação e o decréscimo por hipoproteinemia, embora sejam alterações relativamente amenas (McGOVERN, 2018).

O dispêndio de fibrinogênio no processo de coagulação, seja localizada ou disseminada, assim como a elevação da fibrinólise, que pode estar associada à hemorragia, podem mascarar a elevação devido à inflamação (OVERMANN, 2018). A hiperfibrinogenemia severa é frequente em equinos com abscesso interno (McGOVERN, 2018).

Foi encontrado aumento do fibrinogênio em cavalos após serem transportados por longa distância (WESSELY-SZPONDER et al., 2015), bem como em animais com asma em relação a saudáveis (PIHL et al., 2017).

Embora haja uma convenção de que outras PFA com resposta mais rápida e de maior intensidade em várias espécies, como mencionado, a mensuração do fibrinogênio plasmático como metodologia de diagnóstico e prognóstico em casos de inflamação até o momento é a mais empregada em virtude da simplicidade de determinação (WEISS; WARDROP; SCHALM, 2010).

2.5.4. α 1 glicoproteína ácida (GPA)

A α 1 glicoproteína ácida (GPA) é uma PFA que apresenta peso molecular por volta de 43 kDa (ECKERSALL, 2008). Apesar de sua produção e liberação acontecer especialmente nos hepatócitos, sua síntese extra-hepática e expressão gênica já são conhecidas. É uma proteína com relevante teor de carboidratos (45%) e desempenha algumas atribuições fisiológicas, como ação imunomoduladora e aptidão para se ligar

e carrear substâncias endógenas (MACKIEWICZ; KUSHNER; BAUMANN, 1993; FOURNIER et al., 2000). É uma proteína que também se eleva de forma lenta e igualmente permanecendo por mais tempo no organismo. Embora essa característica dê uma vantagem se der um marcador de evolução de processos inflamatórios, podendo ser observada a progressão de um processo agudo a crônico (ECKERSALL, 2008), ela não é utilizada comumente na rotina de equinos. Já foi avaliada em equinos acometidos com síndrome cólica e percebido incremento, em especial, nos animais que vieram a óbito após a cirurgia (FAGLIARI et al., 2008; DI FILIPPO; NOGUEIRA; SANTANA, 2011). A GPA é uma das proteínas mais fortemente glicosadas no soro e seu principal monitoramento está associado aos processos inflamatórios crônicos, em vez de agudos (WALSH, 2021). A AGP está vinculada à modulação da reação do sistema imunológico, impedindo a fagocitose, a ativação de neutrófilos e a agregação das plaquetas, além de poder ter determinada atribuição na maturação dos linfócitos T e B. Em equinos, AGP apresenta elevação máxima de dois a três dias após orquiectomia ou cirurgia intestinal com regresso aos valores basais em 14 a 28 dias (WALSH, 2021).

2.5.5. Ceruloplasmina (Cp)

A ceruloplasmina é uma α_2 -glicoproteína com resposta moderada, de peso molecular entre 100 e 155 kDa, conforme a espécie. Apresenta ligação com maioria do cobre livre, envolvendo a maior parte do cobre circulante, aproximadamente 95 % em todas as espécies, com exceção do cão, em que a Cp corresponde somente a 40 % do cobre no plasma (KANEKO et al., 2008). É a principal proteína de transporte de cobre no sangue e está envolvida no metabolismo do ferro. Uma das principais funções é a de antioxidante, uma vez que apresenta relevante atividade de ferroxidase e pode sequestrar outros radicais livres (BUITRAGO et al., 2020). Também não está entre as PFA mais utilizadas na rotina de atendimento de equinos (RAMOS et al., 2018), embora tenha participação relevante no mecanismo de cicatrização de ferimentos e na síntese do colágeno (JAIN et al., 2011).

2.5.6. α 1-antitripsina (ALFA 1) e α 2-macroglobulina (ALFA 2)

A α 1-antitripsina (60 kDa) inibe uma abundante diversidade de proteases. Ela salvaguarda a integridade dos tecidos contra enzimas de células inflamatórias, especialmente elastase de neutrófilos. A α 2-macroglobulina é uma proteína plasmática grande (182 kDa) sintetizada pelo fígado. É também competente na inativação de extensa variedade de proteinases, englobando serina, cisteína, aspártica e metaloproteinases (ECKERSALL, 2008; KRASTEVA; KISSELOVA, 2011). O incremento dessas proteínas já foi relatado em equinos com síndrome cólica (FAGLIARI et al., 2008), no entanto, é mencionado o fato de a finalidade diagnóstica ainda não ser explicada (ECKERSALL, 2008). A ALFA 1 é referida como um reagente de fase aguda hepática positiva e sua concentração plasmática se eleva de três a quatro vezes por ocasião de uma resposta de fase aguda. Uma modulação mais sutil da reação à inflamação em função da inibição da proteinase pela macroglobulina é a diminuição dos peptídeos bioativos, que conjuntamente são liberados pelas etapas da proteólise da coagulação e cascatas do complemento (ROBERTS, 1993). Apresentam resposta de fase aguda moderada e já foi descrita sua elevação em enfermidades, como síndrome nefrótica, bem como doença hepática crônica (ECKERSALL, 2008).

2.5.7. Transferrina (TRF)

A transferrina é uma glicoproteína que apresenta peso molecular de 76 kDa, responsável pelo transporte de íons de ferro na circulação, cujo teor sérico tende a decrescer na presença de condição inflamatória (DI FILIPPO; NOGUEIRA; SANTANA, 2011). É uma β -globulina sintetizada no fígado, tecido linfoide, ovários, testículos e glândula mamária. É o transportador de ferro fundamental para os tecidos de armazenamento e para a medula óssea (ASSENZA et al., 2016). O ferro é essencial para todos os organismos, desempenhando função central na replicação do DNA, quando exige o ferro como cofator de enzimas. No entanto, o ferro livre pode ser tóxico, favorecendo a formação de radicais livres. Em razão disso, é importante que o ferro seja transportado na forma inativa redox. Assim, a função primordial da TRF é transportar o ferro de forma segura até as células em desenvolvimento (GOMME; McCANN; BERTOLINI, 2005). Em ocasiões em que é percebida uma

deficiência na absorção de ferro, a síntese da transferrina é provocada e o ferro livre é indisponibilizado para os micro-organismos agressores. Isso atribui a essa proteína propriedades antibacteriana e antiviral. Em circunstâncias de déficit de ferro, pode ser observado um incremento na concentração plasmática da transferrina (CONTIN, 2015).

2.5.8. Albumina (ALB)

A ALB é uma proteína de fase aguda com peso molecular de 65 kDa. São várias as funções da albumina (ALB), dentre elas, a conservação da pressão coloidosmótica no interior dos compartimentos intravascular e extravascular; transportadora de hormônios e íons endógenos, assim como fármacos; eliminadora de espécies de radicais livres provenientes do oxigênio em sítios de inflamação, participa ainda no equilíbrio ácido-base e contribui para a eliminação de resíduos de produtos e mediador da coagulação (MAZZAFERRO; EDWARDS, 2020). A albumina é uma proteína de fase aguda negativa e, portanto, é reduzida na inflamação, devido à diminuição de sua produção no fígado e é mais perceptível em casos crônicos (ECKERSALL, 2008; McGOVERN, 2018). Apresenta peso molecular de 6 kDa e representa 60% da proteína total no. A albumina, a proteína circulante em maior quantidade no plasma, desempenha relevantes atribuições antioxidantes. Atua mediante seus múltiplos sítios de ligação e especialidade de captura de radicais livres. Em situações fisiológicas ou patológicas, a função vinculada a variações no estado redox, a estrutura da ALB e suas características antioxidantes positivas podem ser mudadas (NIEDZWIEDZ et al., 2012).

2.5.9. Apolipoproteína alfa 1 (APO-A1)

A Apo A1 é uma proteína de fase aguda negativa pertencente a um grupo de lipoproteínas sintetizadas no fígado com a responsabilidade de remover o colesterol e conduzi-lo para o fígado, onde é excretado na bile ou reaproveitado (CARVALHO FILHO et al., 2019; KOSINSKA et al., 2021). Trata-se de uma proteína negativa que integra a estrutura superficial da lipoproteína de alta densidade (HDL). Em animais com processos inflamatórios agudos, a amiloide sérica A se liga ao HDL para exercer sua atribuição, isso acarreta o desligamento da APO-A1, que é rapidamente retirada

da circulação, e assim se dá a característica negativa, ou seja, sua redução em processos inflamatórios (SOUTO et al., 2019). Estudo sobre PFAs em equinos submetidos a exercício de hipismo verificou decréscimo da APO-A1 24 horas após o esforço físico e elevação de outras PFAs positivas (CARVALHO FILHO et al., 2019). Foi relatado que a apolipoproteína tem possibilidade de ser um potencial biomarcador para enfermidades hepáticas, como esteatose hepática não alcoólica ou fibrose hepática, em humanos. Isso pode sugerir que alterações indicam distúrbios no metabolismo lipídico do fígado causados por enfermidade respiratória induzida por transporte (NAHUM et al., 2011; MINAMIJIMA et al., 2021). A APO-A1 é a porção proteica fundamental da lipoproteína (HDL). Após seu propósito no efluxo de colesterol, a outra particularidade mais analisada é sua peculiaridade anti-inflamatória. Além de que se envolve na peroxidação lipídica e nos receptores imunes inatos. Essa ação anti-inflamatória acontece em função de particularidades, essencialmente o potencial de inibir a migração pelo endotélio de células imunes a fim de inibir a ativação de monócitos e geração de citocinas estimuladas pelo contato de células T, com o intuito de impedir a peroxidação de lipídios e prejudicar receptores imunes inatos (VUILLEUMIER et al., 2013).

2.5.10. Proteína C reativa (PCR)

A proteína C reativa (PCR) é uma pentraxina formada por cinco subunidades (20 kDa) em um mesmo plano que forma uma estrutura pentamétrica. É uma PFA principal em humanos e cães, mas sem relevante sensibilidade nos equinos (KANEKO, 2008; CRAY et al., 2009; ECKERSALL; BELL, 2010; McGOVERN, 2018; KAUR; QURESHI; KHADKE, 2020).

Após o ataque bacteriano, a PCR se conecta ao patógeno e aciona a via clássica do complemento, resultando na opsonização da bactéria. A conexão da proteína ao patógeno da mesma forma interage com receptores específicos nos fagócitos, estimula a síntese de citocinas anti-inflamatórias e modula a atividade dos neutrófilos (KANEKO, 2008). Em bovinos, gatos e equinos, a resposta da PCR é reduzida em relação a espécies já mencionadas (ECKERSALL, 2008).

Em equinos adultos, os níveis de PCR são incrementados em 24 horas após o estímulo inflamatório e atinge o valor máximo em 3 a 5 dias. Após o tratamento, a

PCR decresce para o nível basal de duas a três semanas. (KAUR; QURESHI; KHADKE, 2020).

As proteínas de fase aguda são amplamente estudadas e apresentam metodologia específica para sua identificação e mensuração e podem ser identificadas no Quadro 5.

Quadro 5 – PFAs mais utilizadas com os respectivos testes e referência

PFA	Método diagnóstico	Referência
ASA	ELISA, eletroforese, imunoturbidimetria, imunocromatografia	Jacobsen e Andersen (2007), Cray et al. (2009), Christensen et al. (2012), Queiroz et al. (2016), Barros (2018) e Souto et al. (2019)
Hp	Eletroforese, imunoturbidimetria, ELISA*	Salgado et al. (2011), Queiroz et al. (2016), Ramos et al. (2018), Abcam (2019)*, Souto et al. (2019)
Fb	Imunoturbidimetria, refratometria, precipitação térmica, polimerização molecular (cronométrica), espectrofotometria	Di Filippo et al. (2009), Hooijberg et al. (2014), Bastos et al. (2016), Barros (2018) e Ramos et al. (2018)
Proteína C reativa	ELISA, imunoturbidimetria, imunocromatografia	Anziliero et al. (2013), Barroso (2016) e Queiroz et al. (2016)

Fonte: Abcam (2019)*.

Nota: *Apenas para pesquisa.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Comitê de ética

3.1.1. Autorização para uso de animal

A realização do estudo experimental seguiu as Normas de Condutas para o Uso de Animais no Ensino, Pesquisa e Extensão do Departamento de Veterinária (DVT) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, os princípios éticos para pesquisa animal estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e a Legislação brasileira vigente. O delineamento experimental foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais da UFV e aprovado sob o número CEUA/UFV 46/2019.

3.1.2. Critérios para determinação do “n” amostral

Para a definição do tamanho da amostra desta tese empregou-se o critério de intervalo de confiança de 10% de valores médios e desvio padrão obtidos no trabalho de referência da variável cortisol que será estudada nesta tese (KEDZIERSKI; BELKOT, 2018). A seguir, utilizou-se o seguinte cálculo amostral:

$$\begin{aligned}
 n &= [1,96 \cdot \sigma / \text{erro amostral (10\%)} \text{ ou } (p < 0,10) \text{ da média}]^2 \\
 n &= 1,96 \times (\text{DP} / 10\% \text{ média})^2 \\
 n &= 1,96 \times (33,6 / 9,6)^2 \\
 n &= 1,96 \times (3,5)^2 \\
 n &= 1,96 \times 12,25 \\
 n &= 24
 \end{aligned}$$

Empregou-se a fórmula na variável cortisol após a viagem.

Embora a determinação da amostra seja 24, este estudo foi realizado com 12 animais em virtude de se fazer apenas um carregamento de animais. Como o exemplo da referência aqui utilizada que fez uso de 16 animais. Paladino et al. (2017) utilizaram 10 equinos para percorrer 4000 quilômetros e verificar variações no estresse oxidativo

e em 2012 verificou alterações metabólicas em 12 animais. Niedzwiedz, Kubiak e Nicpon (2013) avaliaram alterações fisiológicas em 60 equinos após oito horas de viagem.

Todo o procedimento foi realizado pelo médico veterinário Wilson Pinheiro de Carvalho Filho, CRMV/ES -1969/VP.

3.2. Local de realização

O experimento foi conduzido na fazenda Marimbondo, município de Araruama, no estado do Rio de Janeiro (latitude -22.8148, longitude -42.4227) entre os dias 24 de julho e 14 de agosto de 2019. Foi observada uma amplitude térmica local de 15 a 34°C, umidade relativa do ar entre 58 % e 93% (Tabela 3).

Tabela 3 – Temperatura, umidade relativa do ar nos dias de coleta de dados

Momentos	Antes	Após	6h	24h	48h	72h	96h	120h	144h	Média ± DP
JULHO										
Dia	24	24	24	25	26	27	28	29	30	
Temperatura (°C)	17	18	15	16	17	18	21	23	26	19±3,6
Umidade relativa (%)	82	95	83	81	89	80	76	75	61	80±9,5
Temp. Veículo (°C)		22,4								
AGOSTO										
Dia	14	14	14	15	16	17	18	19	20	
Temperatura (°C)	26	34	28	16	17	18	22	25	28	24±6
Umidade relativa (%)	58	65	83	93	92	85	76	74	59	76±13,3
Temp Veículo (°C)		37,5								

As análises hematológicas e bioquímicas das amostras sanguíneas foram realizadas parte no laboratório do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (LPPCV/DVT/UFV) e parte no Instituto de Diagnóstico Animal (IDAN), no Espírito Santo. As análises do estresse oxidativo foram feitas no Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia do Departamento de Biologia Geral da UFV. As proteínas de fase aguda foram analisadas no Laboratório de Pesquisa em

Patologia Clínica Veterinária do Departamento de Veterinária (LPPCV/DVT/UFV) e no Laboratório de Proteômica e Bioquímica de Proteínas da UFV.

3.3. Animais

Foram utilizados 11 equinos, sete machos castrados e quatro fêmeas não gestantes, mestiços da raça quarto de milha, na faixa etária entre cinco e doze (média $8,5 \pm 1,4$) anos e média de peso de $447,1 \pm 21,2$ quilos (Tabela 4).

Tabela 4 – Identificação do sexo, idade e peso dos animais seguidos da média

Animal (nº)	Sexo	Idade (anos)	Peso (quilos)
1	M	7	420
2	M	10	530
3	M	10	473
4	M	7	436
5	M	9	398
6	M	10	440
7	M	10	415
8	F	7	450
9	F	7	445
10	F	6	461
11	F	5	450
Média		8,5	447,1
DP		1,4	21,2

Os animais pertencem a um criador particular do município de Araruama, no estado do Rio de Janeiro. Nenhum animal envolvido no experimento executou atividades de trabalho durante o período de execução da investigação. Nenhum dos equinos tinha histórico de ocorrência clínica nos últimos 365 dias anteriores ao experimento. Foram submetidos ao transporte em condições de higiene, sob exame físico e clínico que indicou satisfatório estado de saúde.

3.3.1. Manejo geral dos animais

Os animais fazem parte do plantel destinado ao trabalho diário no manejo de criação de gado de corte. O trabalho consiste basicamente em conduzir o cavaleiro pelo pasto para vistoria do rebanho bovino, em torno de seis a oito horas diárias. Todos os equinos ficam em pasto aberto misto de capim estrela (*Cynodon nlemfuensis*), grama nativa (*Paspalum notatum*), quicuío (*Pennisetum clandestinum*) e capim-milhã (*Paspalum conspersum*) com água e sal mineral *ad libitum*.

3.3.2. Avaliação laboratorial de triagem

Foram realizadas análises sanguíneas para certificação da saúde dos animais 15 dias antes das atividades. Foi feito hemograma e análise bioquímica sérica com mensuração da aspartato aminotransferase (AST), e creatinoquinase (CK) como critério de exclusão de animais apresentando discrepância com os valores de referência. Todos os animais se encontravam dentro dos valores de referência para a espécie (KANEKO, 2008).

3.3.3. Exame físico

O exame físico seguiu as recomendações semiológicas em equinos (SPEIRS, 1997).

A frequência cardíaca foi aferida pela contagem de batimentos cardíacos por minuto, por auscultação cardíaca na região entre o quarto e o quinto espaços intercostais esquerdo, por meio de estetoscópio (Master Classic Stethoscope for Large Animals Littman®). Valor de referência entre 25 e 50 batimentos por minuto.

O tempo de enchimento capilar foi obtido observando-se o enchimento total da mucosa gengival, imediatamente após essa receber uma pressão digital durante três segundos. Retorno do enchimento em até três segundos.

A motilidade intestinal foi observada através estetoscópio (Master Classic Stethoscope for Large Animals Littman®). Na porção dos quadrantes superiores e inferiores do abdômen, registrando-se a frequência dos ruídos por três minutos em cada quadrante. Observa-se entre um e três sons de descarga por minuto.

A frequência respiratória foi mensurada pela observação dos movimentos respiratórios durante um minuto. Observando-se a referência entre oito e 14 movimentos por minuto.

A temperatura retal mensurada em graus Celsius (°C) por meio de termômetro clínico digital (Termomed Incoterm®) durante três minutos. Valor de referência entre 37,5 e 38,5 graus celsius.

3.4. Delineamento experimental

Os animais foram submetidos a duas viagens. A primeira, de 50 quilômetros, onde 48 quilômetros foram rodados em rodovia pavimentada e dois em rodovia de terra sem pavimento asfáltico. Após 21 dias foi realizada a segunda jornada, desta vez de 300 quilômetros, rodados 298 em rodovia com pavimento asfáltico e dois em rodovia de terra (Tabela 5). As saídas das duas viagens aconteceram as sete horas da manhã. O percurso de 50 quilômetros teve uma duração de uma hora e 40 minutos, observando-se uma velocidade média de 30 km por hora em função de condições atmosféricas (chuva). O percurso de 300 km durou cinco horas e 30 minutos, com velocidade média de 54,5 km por hora. Não houve paradas nem fornecimento de alimento ou água durante a viagem.

Tabela 5 – Detalhes das duas jornadas de transporte e período entre elas

	PRIMEIRA VIAGEM		SEGUNDA VIAGEM
Distância	50 km	21 dias após	300 km
Data	24 – 07 – 2019		14 – 08 – 2019
Duração	1 hora 40 minutos		5 horas 30 minutos
Velocidade	30 km/h		54,5 km/h

Os cavalos foram transportados em um caminhão Mercedes Benz® modelo 1113, de três eixos, fabricado no ano de 1978, de laterais fechadas, sem aclimação, com piso gradeado e pó de serragem (14 m x 2,6 m) típico para este tipo de transporte na região (Figura 13). O veículo foi conduzido pelo mesmo motorista.

Figura 13 – Caminhão que realizou o transporte dos animais



Fonte: Arquivo pessoal do autor (2020).

No interior do caminhão na parte central da carroceria, a um metro do piso, foi afixado um medidor de temperatura e umidade (Testo 174H®).

Na preparação para as viagens os animais foram conduzidos dos piquetes para o curral de embarque, encabrestados e aguardaram alguns minutos para que fosse realizada a primeira coleta de sangue. Em seguida, foram instalados os monitores de frequência cardíaca (Polar Equine RS800CX G3®) – Figura 14 – e conduzidos individualmente para o caminhão onde foram amarrados nas laterais da carroceria com o cuidado de que tivessem alguma liberdade de movimento da cabeça, mas esta não chegava a menos de 50 centímetros do assoalho.

Figura 14 – Monitor cardíaco utilizado no experimento



Fonte: <https://www.fitsense.co.uk/polar-equine-rs800cx-g3.htm>.

Após cada viagem os animais foram desembarcados individualmente, retirados os frequencímetros, anotados os dados e feita a segunda coleta sanguínea na mesma sequência inicial. Momento que se fez a anotação da temperatura do ambiente da carroceria do veículo. Em seguida eram liberados para um piquete próximo ao curral, onde aguardaram a terceira coleta de sangue seis horas após o término da viagem, com acesso a água e forragem.

Todos os dias os animais eram manipulados no mesmo horário da chegada de cada uma das viagens e na mesma ordem.

3.5. Tempos das coletas de amostras para exames laboratoriais

O sangue foi coletado em nove momentos em cada viagem, 50 e 300 quilômetros, a saber: TAnVi (imediatamente antes do início da viagem), TTeVi (imediatamente após o término do percurso) e com seis (T6h), 24 (T24h), 48 (T48h), 72 (T72h), 96 (T96h), 120 (T120h) e 144 horas (T144h) após o término da viagem.

3.6. Coleta de sangue

Todos os materiais utilizados eram estéreis. A coleta do sangue foi realizada por venopunção da veia jugular externa, com prévia anti-sepsia, por meio de sistema Vacutainer[®], utilizando agulhas Flashback[®] 25 x 8. O sangue foi fracionado em tubos com EDTA a 10%, de bioquímica com ativador de coágulo e fluoreto para lactato. As amostras foram centrifugadas para obtenção de soro e plasma, em seguida congeladas a -20°C para posterior análise no laboratório.

3.7. Avaliações laboratoriais

3.7.1. CK, AST, glicose e lactato

Foram utilizados kits comerciais para analisar a CK e AST pelo ensaio cinético enzimático, mediante reagentes CK NAC UV – k010-1, Bioclin[®] e Transaminase AST (TGO), Cinética – K048-6 – Bioclin[®], respectivamente; lactato por método enzimático UV, com reagente Lactato – K084-2 – Bioclin[®]; glicose pelo método enzimático colorimétrico, usando o reagente Glicose monoreagente – k082 Bioclin[®], de acordo com metodologia recomendada pelo fabricante, utilizando o aparelho HumaStar 200[®].

3.7.2. Estresse oxidativo

O estresse oxidativo foi analisado através da mensuração do óxido nítrico (NO), capacidade de redução férrica do plasma (FRAP), superóxido dismutase (SOD) e malondialdeído (MAD), por meio de espectrofotometria

3.7.3. Proteínas de fase aguda

As proteínas de fase aguda α 2-macroglobulina (ALFA 2), ceruloplasmina (CP), transferrina (TRF), albumina (ALB), α 1-antitripsina (ALFA 1), haptoglobina (HP), apolipoproteína alfa 1 (APO-A1), α 1 glicoproteína ácida (GPA) por corrida eletroforética das amostras de soro em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), de acordo com técnica descrita por Laemmli (1970) modificada e espectrometria de massa para identificação precisa dos marcadores inflamatórios e

melhor direcionamento na interpretação do momento onde o animal retorna ao seu estado íntegro de repouso.

3.7.4. Componentes sanguíneos

A determinação do hematócrito, ou volume globular (VG) se deu pelo uso de micro tubos preenchidos em 70 por cento com o sangue com anticoagulante homogeneizado e selada em uma extremidade com fogo, posteriormente foi colocado em uma centrífuga de micro hematócrito, de acordo com o fabricante (Modelo 80-2B Centribio®), então centrifugados a 3000 rotações durante cinco minutos e em seguida colocado de encontro ao cartão de leitor para micro-hematócrito (THRALL et al., 2015).

Para determinação das proteínas plasmáticas totais após a metodologia utilizada para a leitura do VG, partiu-se o micro tubo na porção contendo apenas o plasma e este foi submetido à refratometria no Refratômetro – modelo RTP-20ATC - Instrutherm® (THRALL et al., 2015). As plaquetas foram estimadas por meio da contagem média em esfregaço sanguíneo, observada em microscópio óptico, aumento de 1000x, em 10 campos, multiplicado por 1500 (O'CONNOR, 1984). Os leucócitos foram determinados por macrodiluição e contagem dos quatro quadrados dos cantos da câmara de Neubauer e multiplicado por 50. A diferenciação dos segmentados, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos se deu por contagem dos 100 leucócitos em esfregaço, observados em objetiva de imersão de 100x.

O processamento das amostras ocorreu em parte no Instituto de Diagnóstico Animal (IDAN), no Espírito Santo e parte no Departamento de Veterinária e de Biologia, da Universidade Federal de Viçosa.

3.8. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise descritiva e os resultados expressos em média e desvio padrão. A homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Levene. Para a avaliação dos efeitos principais do Tempo, da Distância e da interação Tempo x Distância, utilizou-se a ANOVA fatorial de desenho misto. As múltiplas comparações foram realizadas pelo teste de Tukey. Quando não foi possível realizar a ANOVA empregou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com post

hoc de Dunn. Todas as análises foram realizadas no pacote estatístico Minitab 17 e a significância considerada quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Parâmetros hematológicos, enzimáticos musculares e metabólicos de equinos após transporte em distâncias de 50 e 300 quilômetros

4.1.1. Frequência cardíaca

Na Tabela 6, pode ser acompanhada as variações da frequência cardíaca nos diferentes momentos das duas viagens para monitoramento dos animais.

Tabela 6 – Frequência cardíaca (FC) nos diferentes momentos de coleta e máxima durante cada viagem, exposta em média \pm desvio padrão

	50 km	300 km
TAnVi	47,4 \pm 6,4	41,8 \pm 7,9
TTeVi	61,5 \pm 14,3	47,1 \pm 10,4
T6h	53,3 \pm 10,6	45,8 \pm 7,0
T24h	48,7 \pm 7,4	50,2 \pm 5,2
T48h	49,0 \pm 7,5	44,4 \pm 6,3
T72h	49,7 \pm 7,9	45,8 \pm 6,0
T96h	49,7 \pm 9,9	41,5 \pm 4,5
T120h	48,0 \pm 6,8	42,2 \pm 4,1
T144h	47,3 \pm 7,2	36,0 \pm 3,6
FC max	97	90

Nota: TAnVi (imediatamente antes do início da viagem), TTeVi (imediatamente após o término do percurso) e com seis (T6h), 24 (T24h), 48 (T48h), 72 (T72h), 96 (T96h), 120 (T120h) e 144 horas (T144h) após o término da viagem.

4.1.2. Hematócrito, proteína total e plaquetas

Os resultados das variáveis hematológicas hematócrito (VG), proteínas totais e plaquetas estão apresentados na Tabela 7, expressos em média \pm desvio padrão. Não foi observada desigualdade nas concentrações das variáveis entre as distâncias nem entre os momentos após os trajetos. As variações das concentrações estão ilustradas na Figura 15.

Tabela 7 – Médias e desvios padrão das concentrações plasmáticas do hematócrito (VG), proteína (PT) e plaquetas (PL) dos equinos transportados nas distâncias de 50 e 300 km

Distância (km)	Tempo	VG	PT	PL
50	TAnVi	36.27 ± 3.69 ^{Aa}	7.764 ± 0.375 ^{Aa}	175.5 ± 46.5 ^{Aa}
	TTeVi	34.73 ± 3.80 ^{Aa}	7.664 ± 0.480 ^{Aa}	175.5 ± 44.3 ^{Aa}
	T6h	32.00 ± 7.22 ^{Aa}	7.982 ± 0.481 ^{Aa}	156.3 ± 39.8 ^{Aa}
	T24h	37.55 ± 4.87 ^{Aa}	7.864 ± 0.350 ^{Aa}	202.9 ± 83.8 ^{Aa}
	T48h	35.72 ± 3.17 ^{Aa}	7.573 ± 0.388 ^{Aa}	220.0 ± 83.4 ^{Aa}
	T72h	34.00 ± 3.92 ^{Aa}	7.691 ± 0.485 ^{Aa}	175.3 ± 32.3 ^{Aa}
	T96h	33.91 ± 4.06 ^{Aa}	7.636 ± 0.452 ^{Aa}	169.1 ± 40.4 ^{Aa}
	T120h	35.36 ± 4.80 ^{Aa}	7.582 ± 0.419 ^{Aa}	168.2 ± 29.60 ^{Aa}
	T144h	35.09 ± 4.64 ^{Aa}	7.545 ± 0.416 ^{Aa}	175.5 ± 35.0 ^{Aa}
300	TAnVi	36.09 ± 3.48 ^{Aa}	7.527 ± 0.388 ^{Aa}	167.0 ± 37.6 ^{Aa}
	TTeVi	34.27 ± 3.22 ^{Aa}	7.555 ± 0.378 ^{Aa}	220.1 ± 45.2 ^{Aa}
	T6h	34.64 ± 4.34 ^{Aa}	7.491 ± 0.401 ^{Aa}	140.0 ± 28.3 ^{Aa}
	T24h	38.73 ± 4.63 ^{Aa}	7.718 ± 0.392 ^{Aa}	127.6 ± 33.6 ^{Aa}
	T48h	37.55 ± 4.87 ^{Aa}	7.646 ± 0.324 ^{Aa}	167.0 ± 48.4 ^{Aa}
	T72h	36.91 ± 4.64 ^{Aa}	7.636 ± 0.391 ^{Aa}	139.5 ± 31.2 ^{Aa}
	T96h	35.00 ± 4.80 ^{Aa}	7.409 ± 0.373 ^{Aa}	121.4 ± 14.17 ^{Aa}
	T120h	35.45 ± 4.72 ^{Aa}	7.500 ± 0.365 ^{Aa}	142.6 ± 30.9 ^{Aa}
	T144h	34.91 ± 4.11 ^{Aa}	7.427 ± 0.403 ^{Aa}	148.5 ± 67.4 ^{Aa}
Efeitos principais				
		VG	PT	PL
Tempo		0.032	0.241	*
Distância		0.121	0.008	*
Tempo*Distância		0.897	0.594	*

* Análise realizada pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Médias do mesmo tempo seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre as distâncias.

Médias do mesmo grupo seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os tempos.

Médias não seguidas de letras indicam ausência de diferença.

4.1.3. Componentes leucocitários

Os resultados das contagens de leucócitos totais, segmentados, linfócitos, monócitos eosinófilos e basófilos estão apresentados na Tabela 8, expressos em média ± desvio padrão. Não foi observada disparidade entre as distâncias em nenhuma variável, no entanto, identificou-se incremento dos leucócitos por até 24 horas após o trajeto de 300 quilômetros, sem influência dos 50 km; elevação nos segmentados logo após a viagem de 50 quilômetros e por 48 horas após a de 300;

depleção dos linfócitos 24 horas após 50 quilômetros sem interferência do trajeto mais longo; monócitos, eosinófilos e basófilos sem alterações significativas. As variações das concentrações podem ser observadas na Figura 15.

Tabela 8 – Influência da distância percorrida sobre os valores leucocitários absolutos dos equinos transportados (média \pm desvio padrão)

Dist. (km)	T	LEU	SEG	LINF	MON	EOS	BAS
50	TAnVi	10882 \pm 1232 ^a	6335 \pm 1049 ^b	3739 \pm 1079 ^b	298.5 \pm 135	429.8 \pm 305	69.5 \pm 71
	TTeVi	13905 \pm 2723 ^a	9192 \pm 2249 ^{ac}	4072 \pm 1304 ^b	197.6 \pm 138	403.5 \pm 255	39.5 \pm 69
	T6h	14145 \pm 2467 ^a	9687 \pm 2189 ^{ac}	3835 \pm 1053 ^b	295.1 \pm 185	264.1 \pm 293	62.4 \pm 74
	T24h	13318 \pm 1569 ^a	6303 \pm 1635 ^{bd}	6129 \pm 1647 ^a	449.5 \pm 179	342.8 \pm 221	71.5 \pm 92
	T48h	13818 \pm 2023 ^a	7882 \pm 1413 ^{cd}	4901 \pm 1525 ^{ab}	363.0 \pm 242	498.3 \pm 275	91.6 \pm 146
	T72h	13100 \pm 1304 ^a	6732 \pm 1248 ^{bd}	5698 \pm 1688 ^{ab}	284.4 \pm 200	338.0 \pm 356	48.0 \pm 92
	T96h	12645 \pm 3223 ^a	6939 \pm 1610 ^{bd}	4683 \pm 1407 ^{ab}	424.0 \pm 355	528.0 \pm 466	60.4 \pm 96
	T120h	13650 \pm 2819 ^a	7803 \pm 1851 ^{acd}	4938 \pm 1658 ^{ab}	378.0 \pm 366	407.0 \pm 395	90.8 \pm 102
T144h	12773 \pm 2313 ^a	7119 \pm 1319 ^{ab}	4868 \pm 1310 ^{ab}	355.0 \pm 89	365.9 \pm 312	57.0 \pm 87	
300	TAnVi	11100 \pm 2781 ^b	5741 \pm 1464 ^b	4367 \pm 1042 ^{ab}	133.1 \pm 125	284.1 \pm 237	10.4 \pm 34
	TTeVi	15073 \pm 3437 ^a	10804 \pm 2952 ^a	3685 \pm 1377 ^b	138.9 \pm 167	411.0 \pm 396	35.8 \pm 66
	T6h	14877 \pm 2522 ^a	10469 \pm 2358 ^a	3970 \pm 646 ^{ab}	214.0 \pm 186	156.4 \pm 166	52.3 \pm 104
	T24h	15059 \pm 2726 ^a	8163 \pm 1698 ^{ac}	4904 \pm 144 ^{ab}	460.0 \pm 385	581.0 \pm 337	106.4 \pm 151
	T48h	13468 \pm 2987 ^{ab}	7982 \pm 2301 ^c	4602 \pm 1410 ^{ab}	368.9 \pm 173	390.0 \pm 271	110.5 \pm 131
	T72h	14009 \pm 2469 ^{ab}	7594 \pm 2397 ^{bc}	5304 \pm 1104 ^{ab}	418.9 \pm 295	543.0 \pm 349	149.2 \pm 125
	T96h	12423 \pm 1631 ^{ab}	6841 \pm 1340 ^{bc}	4806 \pm 799 ^{ab}	261.5 \pm 176	518.1 \pm 240	55.1 \pm 65
	T120h	12091 \pm 3072 ^{ab}	6921 \pm 2008 ^{bc}	4376 \pm 1265 ^{ab}	219.9 \pm 111	437.8 \pm 290	85.7 \pm 93
T144h	11923 \pm 2093 ^{ab}	6571 \pm 971 ^{bc}	4526 \pm 1435 ^{ab}	263.1 \pm 177	373.0 \pm 409	71.5 \pm 70	
Efeitos principais							
		LEU	SEG	LINF	MON	EOS	BAS
Tempo		0.000	*	0.000	0.002	0.106	0.205
Distância		0.576	*	0.409	0.048	0.775	0.40
Tempo* Distância		0.460	*	0.898	0.359	0.461	0.380

* Análise realizada pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

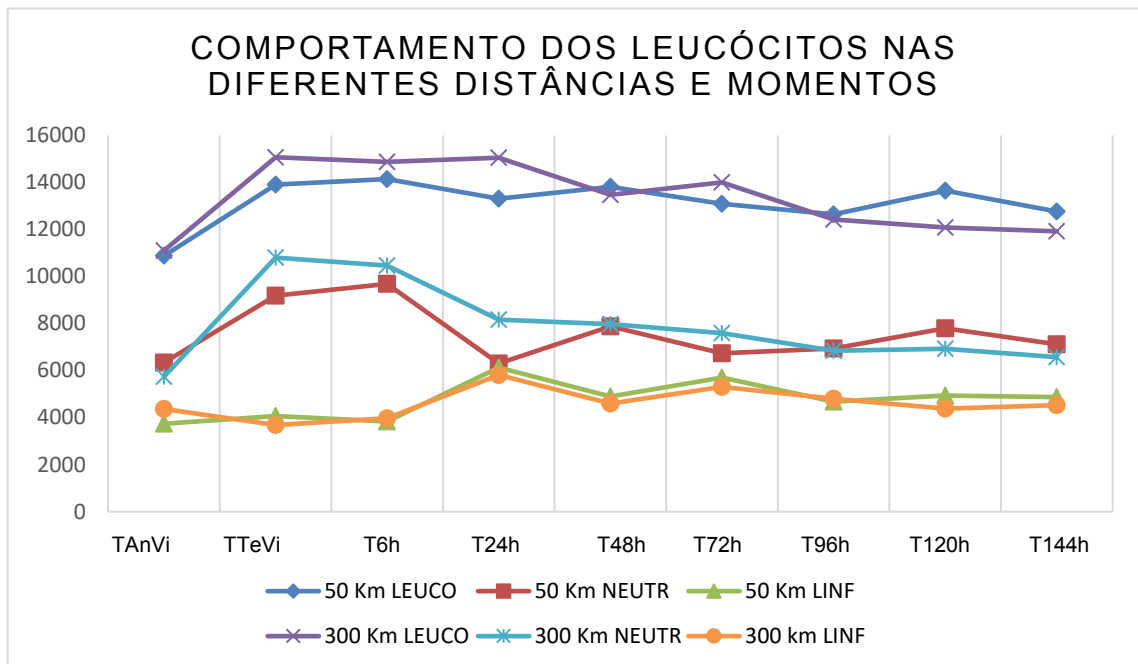
Médias do mesmo tempo seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre as distâncias.

Médias do mesmo grupo seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os tempos.

Médias não seguidas de letras indicam ausência de diferença ($p < 0,05$).

Distância (Dis), tempo (T), leucócitos (LEU), segmentados (SEG), finfócitos (LIN), monócitos (MON), eosinófilos (EOS), basófilos (BAS).

Figura 15 – Concentrações de leucócitos nos diversos momentos de coleta dos dois percursos



4.1.4. Discussão

Este estudo não observou diferença estatística nas variáveis hematócrito (VG), proteína total (PT) e plaquetas. Uma demanda de esforço pode provocar mudanças rápidas e redistribuição de fluidos e eletrólitos pelos compartimentos corporais, resultando em redução do volume plasmático após o esforço. Porém, essas possíveis alterações são proporcionais à duração e intensidade da solicitação fisiológica. As condições ambientais podem levar a maiores ou menores perdas de fluido por meio da água da respiração e do suor (HURCOMBE, 2020). Isto pode ser uma explicação para a ausência de alterações, uma vez que a temperatura das viagens estavam amenas e provavelmente o trajeto não foi de intensidade suficiente para induzir tais variações no organismo.

As condições de estresse físico ou psicológico provocam a liberação de catecolaminas que, por sua vez, levam à contração esplênica estimulada pelo desafio fisiológico que o animal sofreu, fazendo com que mais plaquetas estejam circulando (FERLAZZO; FAZIO; MEDICA, 2020). Isto sugere que o trajeto de 300 quilômetros foi

mais desafiador para os cavalos. O fenômeno do afluxo sanguíneo do baço para a corrente sanguínea referido, sugere um incremento dos eritrócitos (MATTOSINHO et al., 2017), porém isto não foi verificado no presente estudo. Investigação com equinos em prova de enduro de 40 quilômetros não observou diferença no valor eritrocitário (OROZCO et al., 2006). Estudo em equinos sedentários transportados por três e seis horas também não observaram alterações no hematócrito, nas proteínas totais nem nas plaquetas (THOMPSON et al., 2019). Outra investigação com equinos transportados por 12 horas não verificou alterações no VG, PT e PL (PADALINO; DAVIS; RAIDAL, 2020).

Não houve variação nos leucócitos totais provocada pelo percurso de 50 quilômetros, que vai em concordância com estudo de Padalino et al. (2017) com equinos transportados por diferentes distâncias por quatro dias. Na distância de 300 quilômetros foi identificada diferença nos leucócitos entre o repouso e imediatamente após o transporte e ainda por 24 horas (T24h). Padalino, Davis e Raidal (2020) investigaram 14 cavalos Puro Sangue Inglês, transportados por seis horas e não observaram variação no hematócrito, porém incremento de leucócitos e neutrófilos logo após o transporte. Thompson et al. (2019), estudando equinos sedentários transportados por 25 minutos, três e seis horas, observaram elevação de neutrófilos em todas as distâncias, indicando resposta ao estresse de curto prazo. Outro estudo de Padalino e Raidal (2020) igualmente identificou elevação nos leucócitos com incremento de segmentados em 12 éguas transportadas por 12 horas, típico do estresse. Os estudos supracitados corroboram a neutrofilia observada na presente investigação. O agente estressor estimula um incremento plasmático do ACTH e cortisol, que por sua vez estimulam a produção de neutrófilos e a migração rumo aos tecidos, essa resposta é similar ao ocorrido com as catecolaminas no eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal (MATTOSINHO et al., 2017). O cortisol provoca a liberação de neutrófilos da medula óssea na corrente sanguínea, a elevação do débito cardíaco leva a turbilhonamento do sangue, o que promove a mobilização de leucócitos de regiões periféricas como parede dos vasos sanguíneos (SIQUEIRA; FERNANDES, 2017).

Após a viagem de 50 km, observou-se elevação de linfócitos em 24 horas. No entanto, na jornada de 300 km houve um decréscimo linfocitário após a viagem em relação ao repouso, em concordância com o estudo de Orozco et al. (2006) com

cavalos de enduro após prova, o que é justificado pelo fato de que o recrutamento dos linfócitos é atenuado pelo aumento do cortisol, o que pode se entender em função de a viagem ser mais longa, por tanto mais agressiva ao organismo. Investigação de Thompson et al. (2019) com equinos transportados por seis horas similarmente encontraram leucocitose e neutrofilia por até 24 horas. Éguas transportadas por 12 horas apresentaram incremento do número de neutrófilos após a viagem em comparação com grupo em confinamento (PADALINO; DAVIS; RAIDAL, 2020).

Eventos isolados após o trajeto dos 50 km, como elevação dos linfócitos 24 horas após o transporte dos 50 quilômetros, sugerindo uma linfocitose adrenérgica ainda como resposta do estresse ao transporte e ao manejo do experimento também se identificou neutrofilia a 48 e 120 horas após. Estas últimas alterações podem ter ocorrido em função do manejo no trânsito do piquete ao curral, uma vez que em via geral acontece estabilização fisiológica 24 horas após o estímulo estressor, sugerindo que foi uma resposta de curto prazo (JI et al., 2013; PADALINO; RAIDAL, 2020). O transporte tem efeitos sobre o bem-estar fisiológico e imunológico de cavalos transportados, resultando em estressores, independentemente da adaptação ou do condicionamento (THOMPSON et al., 2019).

4.1.4.1. Parâmetros enzimáticos musculares e metabólicos

Os resultados das variáveis enzimático-musculares creatinoquinase (CK) e Aspartato aminotransferase (AST) e metabólicas glicose e lactato estão apresentados nas Tabelas 9, 10, 11 e 12, expressos em média \pm desvio padrão. Não foi observada desigualdade nas concentrações da AST entre os momentos após os trajetos, porém identificou-se divergência na concentração seis e 24 horas após os 50 km comparada ao de 300, bem como no sexto e sétimo dia. O estudo não identificou alteração nas concentrações da CK. A glicose se manteve estável entre as distâncias e após os 50 km, mas se elevou imediatamente após os 300 e se manteve assim por quatro dias. No trajeto de 50 km o lactato teve incremento após a viagem que perdurou por 24 horas. Os 300 km não induziram variação imediata, porém foi identificada redução em relação ao repouso a partir do quarto dia. Período quem que também se diferenciou com os comparativos momentos após o trajeto de 50 km. Podem observados as variações das concentrações das variáveis nos diversos momentos de coleta dos dois trajetos nas Figuras 16 (AST), 17 (CK), 18 (GLI) e 19 (LAC).

Tabela 9 – Influência da distância percorrida sobre a aspartato aminotransferase (AST) dos equinos transportados

Distância (Km)	Tempo	Média (U/L)	Desvio Padrão
50 km	TAnVi	143.45 ^A	30.81
	TTeVi	147.7 ^A	45.1
	T6h	141.0 ^B	33.7
	T24h	138.5 ^B	38.0
	T48h	149.0 ^A	43.6
	T72h	142.9 ^A	53.1
	T96h	132.2 ^A	48.7
	T120h	114.4 ^B	55.5
	T144h	130.1 ^B	37.9
300 km	TAnVi	164.7 ^{Aa}	60.3
	TTeVi	203.1 ^{Aab}	83.1
	T6h	221.8 ^{Aab}	57.4
	T24h	226.4 ^{Aab}	50.7
	T48h	196.0 ^{Aab}	49.0
	T72h	218.2 ^{Aab}	51.8
	T96h	211.8 ^{Aab}	48.7
	T120h	230.8 ^{Aab}	49.9
	T144h	246.3 ^{Ab}	81.2
Efeitos principais			
Tempo		Distância	Tempo*Distância
p-valor = 0,982		p-valor = 0.000	p-valor = 0.368

Médias do mesmo tempo seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os grupos (distância).

Médias do mesmo grupo seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os tempos.

Tabela 10 – Influência da distância percorrida sobre a creatinoquinase (CK) dos equinos transportados

Distância (km)	Tempo	Média (U.L)	Desvio Padrão
50	TAnVi	92.95	35.7
	TTeVi	146.64	144.5
	T6h	107.86	71.2
	T24h	112.39	64.4
	T48h	90.70	40.4
	T72h	116.35	59.7
	T96h	91.79	35.8
	T120h	91.725	46.4
	T144h	81.67	39.5
300	TAnVi	162.49	38.6
	TTeVi	190.43	60.4
	T6h	135.42	57.1
	T24h	152.81	35.2
	T48h	111.26	40.0
	T72h	147.08	51.7
	T96h	132.73	45.3
	T120h	120.87	18.8
	T144h	145.81	67.4
Efeitos principais			
Tempo		Distância	
p-valor = 0,012		p-valor = 0.000	
		Tempo*Distância	
		p-valor = 0,898	

Médias do mesmo tempo seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os grupos (distância).

Médias do mesmo grupo seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os tempos.

Médias não seguidas de letras indicam ausência de diferença ($p < 0,05$).

Tabela 11 – Influência da distância percorrida sobre a glicemia dos equinos transportados

Distância (km)	Tempo	Média (mg/dL)	Desvio Padrão
50	TAnVi	86.35 ^a	17.80
	TTeVi	80.43 ^a	15.20
	T6h	82.51 ^a	11.41
	T24h	77.14 ^a	19.12
	T48h	85.06 ^a	13.85
	T72h	79.17 ^a	17.25
	T96h	76.34 ^a	8.92
	T120h	81.57 ^a	10.99
	T144h	79.60 ^a	15.20
300	TAnVi	76.96 ^{bc}	8.90
	TTeVi	113.4 ^a	15.15
	T6h	88.78 ^b	11.40
	T24h	74.25 ^{bc}	11.98
	T48h	69.02 ^{bc}	6.83
	T72h	67.99 ^c	14.49
	T96h	70.13 ^{bc}	15.23
	T120h	75.22 ^{bc}	9.51
	T144h	69.14 ^{bc}	11.47
Efeitos principais			
Tempo		Distância	
p-valor = 0,000		p-valor = 0,178	
Tempo*Distância			p-valor = 0,000

Médias do mesmo tempo seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os grupos (distância).

Médias do mesmo grupo seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os tempos.

Tabela 12 – Influência da distância percorrida sobre a lactacidemia dos equinos transportados

Distância (km)	Tempo	Média (mmol/L)	Desvio Padrão
50	TAnVi	1,40 ^{Ab}	0,19
	TTeVi	2,16 ^{Aa}	0,84
	T6h	1,98 ^{Aab}	0,42
	T24h	1,64 ^{Aab}	0,26
	T48h	1,53 ^{Ab}	0,19
	T72h	1,51 ^{Ab}	0,17
	T96h	1,58 ^{Ab}	0,19
	T120h	1,56 ^{Ab}	0,27
	T144h	1,47 ^{Ab}	0,22
300	TAnVi	1,30 ^{Aab}	0,22
	TTeVi	1,61 ^{Ba}	0,49
	T6h	1,61 ^{Aa}	0,54
	T24h	1,25 ^{Aab}	0,20
	T48h	1,47 ^{Aa}	0,15
	T72h	0,91 ^{Bb}	0,26
	T96h	0,87 ^{Bb}	0,27
	T120h	0,90 ^{Bb}	0,29
	T144h	0,84 ^{Bb}	0,31
Efeitos principais			
Tempo		Distância	
p-valor = 0,000		p-valor = 0.000	
Tempo*Distância			
p-valor = 0.037			

Médias do mesmo tempo seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os grupos (distância).

Médias do mesmo grupo seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os tempos.

Figura 16 – Variação das concentrações da AST nos diferentes momentos de coleta das duas distâncias

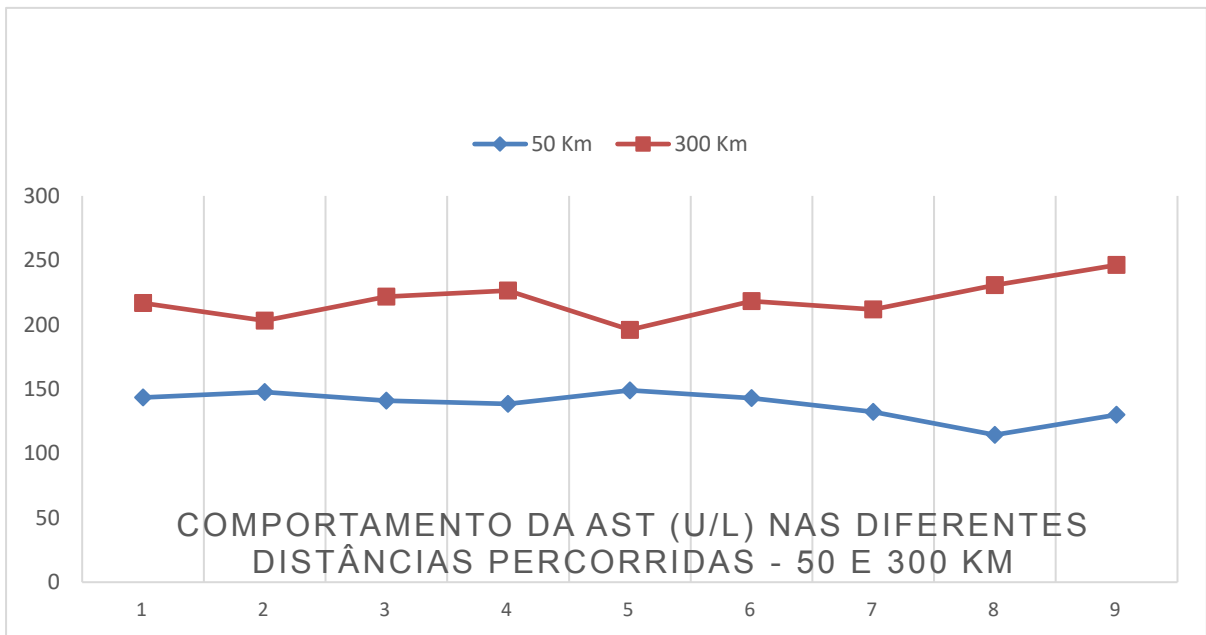


Figura 17 – Variação das concentrações da CK nos momentos de coleta dos dois trajetos

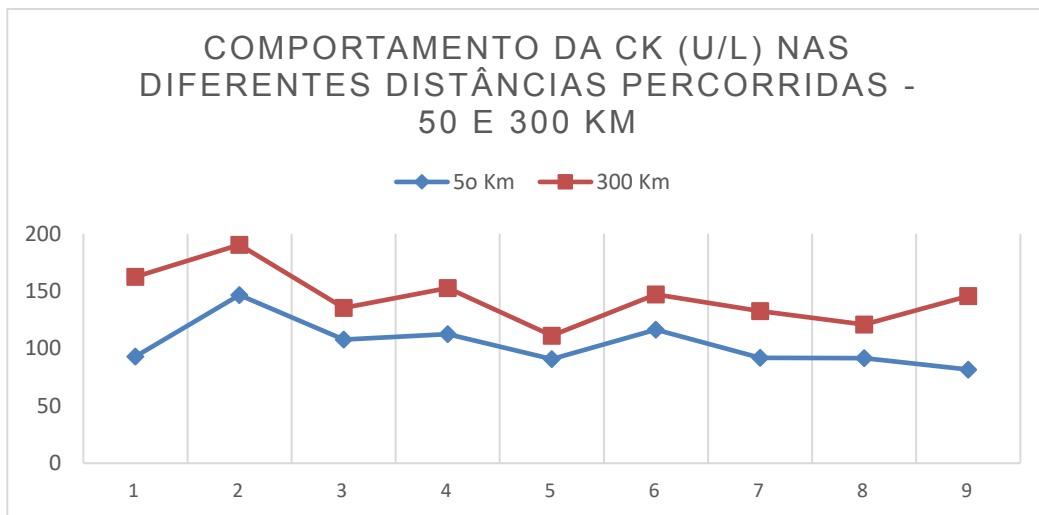


Figura 18 – Variação dos valores da glicose ao longo dos momentos de coleta

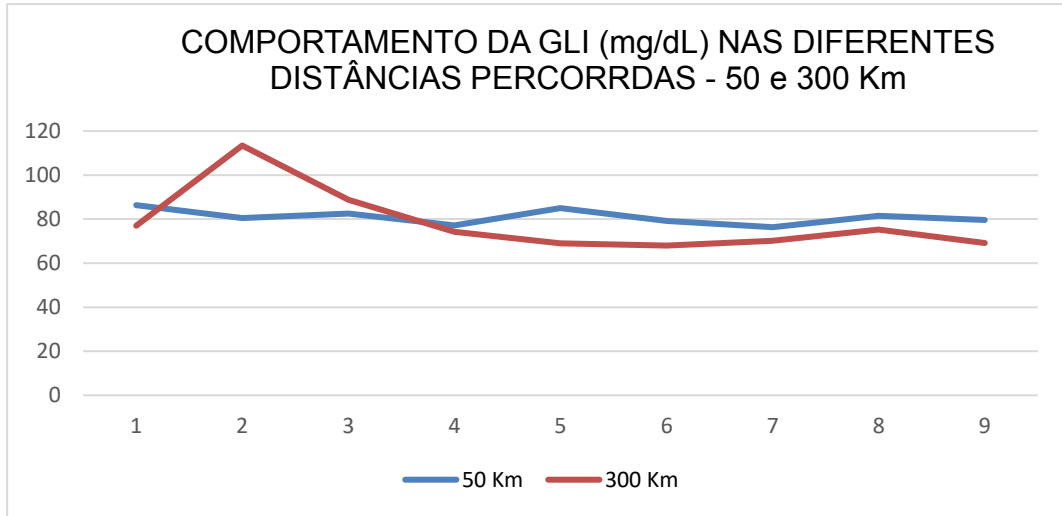
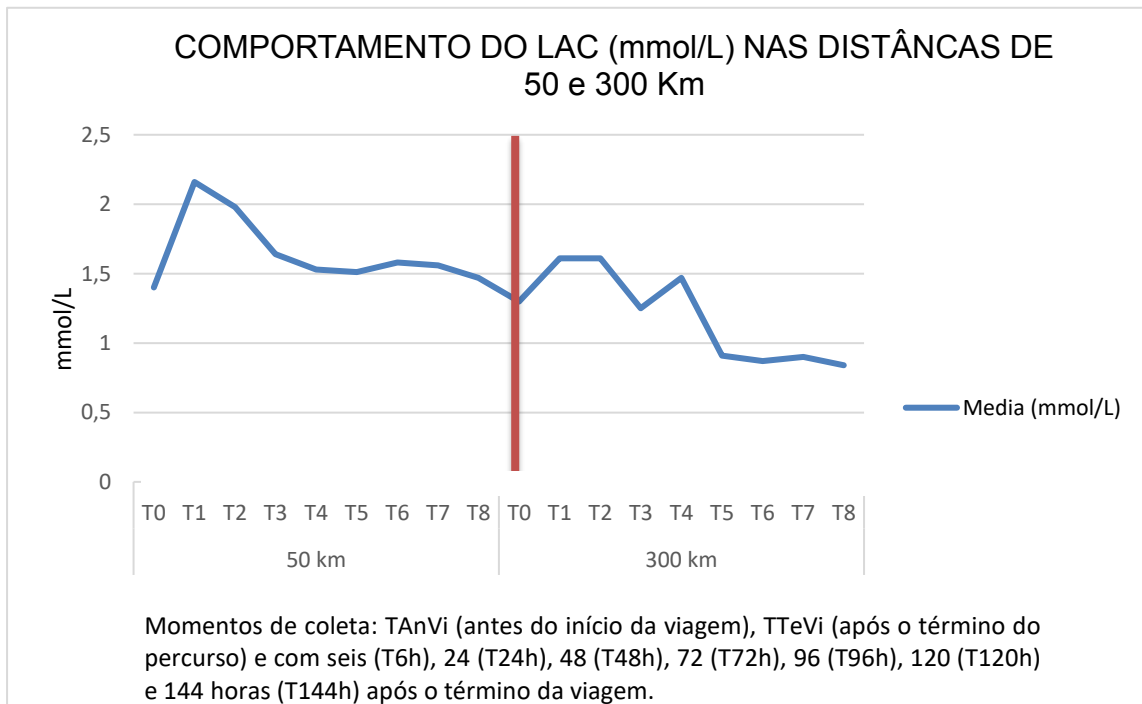


Figura 19 – Variação do lactato ao longo dos momentos



Uma importante porção dos criadores ignoram que o transporte possa estressar os animais mais experientes, embora seja constatado estresse no embarque, desembarque, durante a viagem pela quantidade de movimento do veículo etc. (NAZARENO et al., 2015; PADALINO et al., 2017; BHATT et al., 2021). Os valores relativos à concentração plasmática da AST deste estudo ($216,8 \pm 60,3$ U/L) e os de CK ($92,95 \pm 35,7$ U/L) estiveram diferentes do preconizado, 226-366 U/L – AST e 2,4-23,4 U/L – CK (KANEKO, 2008), embora nenhum animal tenha apresentado sinal clínico anormal ou sofrido injúria durante o experimento. As enzimas aspartato amino transferase (AST) e creatinoquinase (CK) são amplamente utilizadas no para o diagnóstico e prognóstico de injúrias musculares.

No presente estudo, não foi observada diferença no comportamento da AST entre os momentos de coleta de cada viagem, no entanto percebeu-se variação entre a distância de 50 e 300 quilômetros, especificamente elevação após seis e 24 horas após a jornada mais longa. A fadiga muscular pode ser identificada através de observação do incremento da concentração da AST e CK e o grau desta manifestação está vinculada à solicitação fisiológica (MAZKO et al., 2021). Assim, a alta da concentração da AST seis e 24 horas após a jornada de 300 quilômetros sugere que o referido trajeto solicitou mais da musculatura dos animais. O tempo de elevação é justificado pelo fato de que o pico pode acontecer em até 24 horas após a agressão muscular (MATTOSINHO et al., 2017). Foram evidenciados eventos isolados com a elevação da AST cinco e seis dias após o trajeto dos 300 quilômetros, bem como no momento T8 em relação ao repouso, que pode ser interpretado como alguma variação inadequada no manejo dos animais ou episódio desconhecido nos piquetes que induziu relevante solicitação muscular. O manejo é entendido como a interação entre os animais e as pessoas que os tocam, conduzem, alimentam, zelam etc. e tem importante impacto no bem-estar e no perfil psico-fisiológico que caracterizam este estar (PADALINO, 2015). Um estudo com equinos para abate, transportados por 55 quilômetros similarmente não observou variação da AST em animais entre 10 e 12 anos após o transporte, porém animais mais jovens, de seis a 18 meses, conduzidos por 550 quilômetros apresentaram incremento da referida enzima (WESSELY-SZPONDER et al., 2015).

A CK não variou significativamente, no entanto, é interessante notar que o gráfico do comportamento desta enzima ilustra os valores da concentração mais acentuados no trajeto de 300 quilômetros em relação ao de 50 (Figura 17). Um estudo

com jumentos transportados por 950 quilômetros durante 21 horas verificou elevação significativa da AST e CK após o final da jornada sugerindo injúria muscular (ZHAO et al., 2020). Investigação com 26 éguas adultas transportadas por 880 quilômetros observou elevação da atividade da CK após a viagem (PADALINO; DAVIS; RAIDAL, 2020). Fisiologicamente, um incremento na CK está associado a exercícios moderados ou ao início de um programa de atividade física. No entanto, altas concentrações podem indicar miopatias, como rabdomiólise por esforço (VALBERG, 2008). Um estudo com 60 equinos, entre quatro e 10 anos, transportados por oito horas, apresentou aumento das concentrações de AST (375 U/L) e CK (373 U/L), após a viagem (NIEDZWIEDZ et al., 2012), acima dos encontrados pelo presente (AST – 203 U/L; CK – 190 – U/L) embora ambos não tenham induzido sinais clínicos típicos de enfermidades. As insignificantes elevações dos biomarcadores de lesão muscular deste estudo não sugerem ausência de injúrias, visto que a CK estava acima dos valores de referência (KANEKO, 2008).

A glicose não apresentou diferença entre as viagens, nem variação induzida pelo trajeto de 50 quilômetros. O gráfico ilustra a estabilidade do componente no primeiro percurso. Logo após o trajeto dos 300 quilômetros observou-se incremento significativo da glicose (de $76,96 \pm 8,9$ para $113,4 \pm 15,2$). Este resultado encontra concordância com os achados de Fazio et al. (2015) que verificaram equivalente elevação da glicose e do lactado após duas horas de viagem em coelhos transportados, com a estabilização destes parâmetros 24 horas após a viagem. A viagem de 300 km durou mais de cinco horas, assim, o esforço físico dos animais dentro do caminhão fez com que o organismo tenha feito uso de todas as vias metabólicas findado na via aeróbia por busca de geração de energia. Em função do trabalho muscular intenso, o músculo faz uso do glicogênio de reserva como fonte de energia, a via glicolítica. Por um período curto de esforço intenso a distribuição de oxigênio pode não ser suficiente para oxidar totalmente o piruvato. Assim a glicose é convertida em piruvato e depois em lactato, pela via anaeróbia. Estudo de Zhao et al. (2020) conduzindo jumentos por 21 horas, embora verificasse elevação da glicose após a viagem esta variação não foi significativa. Rizzo et al. (2017) conduziram equinos por 145 quilômetros e verificaram incremento da glicose e lactato e atribuíram ao estímulo induzido pela liberação de catecolaminas provocada pelo transporte.

O metabolismo da glicose e do lactato está estreitamente ligado ao ciclo de Cori. O lactato muscular é difundido para a corrente sanguínea e chega ao fígado

onde é convertido em glicose através da gliconeogênese e subsequentemente reconduzida à corrente sanguínea. Este fenômeno denominado de Ciclo de Cori pode explicar o aumento da glicose após a viagem de 300 quilômetros. A não variação da glicose após os 50 quilômetros pode ser em função de não ter havido tempo suficiente para acontecer o Ciclo de Cori e isso se justifica pelo fato de o lactato ter apresentado elevação no momento TTeVi dos 50 km e não dos 300. Atividades com elevada intensidade conduzidas por um período curto requerem extrema demanda energética, por isso a ressíntese de ATP deve ocorrer em alta potência pelos sistemas (TRANQUILLE et al., 2016). O lactato é um essencial precursor gliconeogênico, uma vez que pode ser convertido primeiro em piruvato e a seguir em glicose por gliconeogênese. O oposto também é possível com a glicose convertida em lactato a partir da redução do piruvato via lactato desidrogenase em condições aeróbias ou anaeróbicas (MAUGAH; GLEESON; GREENHAFF, 2000; DUNKEL et al., 2021). Investigação executada por Carvalho Filho et al. (2019) com equinos após exercício físico anaeróbio revelou incremento do lactato e depleção da glicose, equivalentes aos apresentados após a viagem de 50 quilômetros. Embora o retorno aos níveis basais aconteça de forma relativamente rápida, os valores do lactato após o trajeto de 300 quilômetros apresentaram alguma redução em relação os pós 50, talvez ainda em reflexo de todo o processo do metabolismo sofrido, que pode ser percebido pela ilustração gráfica de forma clara o fenômeno ocorrido com o lactato relacionado ao menor trajeto.

É importante que se faça similar estudo em animais que são transportados com maior frequência para verificar a existência de adaptação ou eventos recorrentes de estresse.

Com base nos resultados recomenda-se pelo menos 24 horas de repouso após transporte para que seja restabelecida a homeostase.

4.1.5. Conclusões

O transporte não provocou alterações no hematócrito, proteínas totais e nas plaquetas.

Os trajetos de 50 e 300 km demonstraram ser desafiadores fisiologicamente, percebido pela neutrofilia em até seis horas após 50 quilômetros e leucocitose com

neutrofilia por 24 horas, após 300 km. Se caracterizando o último como de maior intensidade.

A viagem de 300 quilômetros se estabeleceu como agente de mais intensidade ao organismo, observado pelo incremento da AST. A CK não foi significativamente alterada.

O trajeto de 50 km provocou elevação do lactato, demonstrando ser um desafiador anaeróbio importante.

4.2. Avaliação dos marcadores de estresse oxidativo em equinos submetidos a transporte rodoviário de 50 e 300 km

Os resultados dos biomarcadores de estresse oxidativo óxido nítrico (NO), capacidade de redução férrica do plasma (FRAP), superóxido dismutase (SOD e malondialdeído (MAD) estão apresentados na Tabela 13, expressos em média \pm desvio padrão. Não foi observada desigualdade nas concentrações do NO entre as distâncias, nem após o trajeto de 50 km, mas foi identificada diferença entre T6h, seis horas após a viagem e T24h, 24 horas após, bem como entre T6h e T120h, sexto dia após. A FRAP não apresentou alteração entre as duas distâncias, mas foi percebida diferença após o percurso de 50 km entre imediatamente após (TTeVi) e o sexto dia. Não houve discrepância entre os momentos seguintes à viagem de 300 km. Foi identificada variação nas concentrações da SOD entre as distâncias de 50 e 300 km, ainda ocorreu discrepância entre os momentos T6h, T24h, T72h e T96h em comparação ao T144h, sétimo dia após a viagem de 50 km. Após o trajeto mais longo a concentração em todos os momentos divergiu em relação ao repouso (TAnVi). Os valores do MAD sofreram modificações entre as duas distâncias, bem como entre os momentos T6h, T24h e T72h em relação ao T120h e T144h após 50 km de viagem. Após o trajeto de 300 km também foram observadas diferenças entre os momentos TeVi, T6h, T24h, 72h e T144h em relação aos demais. O comportamento das variáveis pode ser observado nas Figuras 20 (NO, SOD) e 21 (FRAP, MAD).

Tabela 13 – Influência da distância percorrida sobre os valores absolutos dos marcadores de estresse oxidativo: óxido nítrico (NO - μM), capacidade de redução férrica do plasma (FRAP - μM), superóxido dismutase (SOD - U/mL) e malondialdeído (MAD - mmol/mg) dos equinos transportados (média \pm desvio padrão).

Dist. (km)	Tempo	NO	FRAP	SOD	MAD
50	TAnVi	11,80 \pm 3,38 ^{Aa}	0,407 \pm 0,085 ^{Aab}	27,30 \pm 10,82 ^{Aab}	0,40 \pm 0,12 ^{Bab}
	TTeVi	12,08 \pm 3,61 ^{Aa}	0,380 \pm 0,088 ^{Ab}	28,56 \pm 8,21 ^{Aab}	0,43 \pm 0,17 ^{Bab}
	T6h	11,21 \pm 2,34 ^{Aa}	0,408 \pm 0,089 ^{Aab}	33,75 \pm 4,93 ^{Aa}	0,40 \pm 0,19 ^{Bb}
	T24h	13,07 \pm 3,14 ^{Aa}	0,474 \pm 0,056 ^{Aab}	34,98 \pm 5,35 ^{Aa}	0,30 \pm 0,06 ^{Bb}
	T48h	13,94 \pm 4,23 ^{Aa}	0,472 \pm 0,049 ^{Aab}	31,37 \pm 5,89 ^{Aab}	0,47 \pm 0,18 ^{Bab}
	T72h	11,41 \pm 2,69 ^{Aa}	0,494 \pm 0,038 ^{Aa}	34,42 \pm 4,23 ^{Aa}	0,27 \pm 0,07 ^{Bb}
	T96h	11,81 \pm 3,09 ^{Aa}	0,481 \pm 0,029 ^{Aab}	33,11 \pm 5,10 ^{Aa}	0,43 \pm 0,16 ^{Bab}
	T120h	11,88 \pm 3,42 ^{Aa}	0,495 \pm 0,061 ^{Aa}	32,06 \pm 6,70 ^{Aab}	1,44 \pm 0,59 ^{Aa}
	T144h	16,07 \pm 4,43 ^{Aa}	0,420 \pm 0,048 ^{Aab}	20,21 \pm 6,17 ^{Ab}	1,38 \pm 0,15 ^{Aa}
30	TAnVi	11,76 \pm 4,64 ^{Aab}	0,398 \pm 0,051 ^{Aa}	25,07 \pm 10,62 ^{Aa}	0,55 \pm 0,19 ^{Bb}
	TTeVi	6,18 \pm 6,42 ^{Aab}	0,399 \pm 0,087 ^{Aa}	6,77 \pm 4,85 ^{Bab}	1,19 \pm 0,40 ^{Aa}
	T6h	5,18 \pm 2,19 ^{Ab}	0,411 \pm 0,069 ^{Aa}	6,22 \pm 1,92 ^{Bab}	1,69 \pm 1,54 ^{Aa}
	T24h	13,05 \pm 8,31 ^{Aa}	0,445 \pm 0,068 ^{Aa}	4,56 \pm 1,88 ^{Bb}	1,16 \pm 0,40 ^{Aa}
	T48h	10,95 \pm 5,91 ^{Aab}	0,448 \pm 0,054 ^{Aa}	6,04 \pm 2,66 ^{Bb}	1,07 \pm 0,34 ^{Aab}
	T72h	7,33 \pm 5,16 ^{Aab}	0,424 \pm 0,099 ^{Aa}	5,51 \pm 2,42 ^{Bb}	1,58 \pm 1,77 ^{Aa}
	T96h	6,07 \pm 4,12 ^{Aab}	0,418 \pm 0,089 ^{Aa}	5,19 \pm 2,57 ^{Bb}	1,06 \pm 0,25 ^{Aab}
	T120h	13,15 \pm 6,47 ^{Aa}	0,404 \pm 0,094 ^{Aa}	7,09 \pm 6,83 ^{Bab}	1,12 \pm 0,45 ^{Aab}
	T144h	10,35 \pm 6,69 ^{Aab}	0,407 \pm 0,073 ^{Aa}	5,56 \pm 2,75 ^{Bb}	1,15 \pm 0,42 ^{Aa}

Médias do mesmo tempo seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre as distâncias. Médias do mesmo grupo seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os tempos. Médias não seguidas de letras indicam ausência de diferença ($p < 0,05$).

Figura 20 – Variação nas concentrações das variáveis nos diferentes momentos das duas viagens

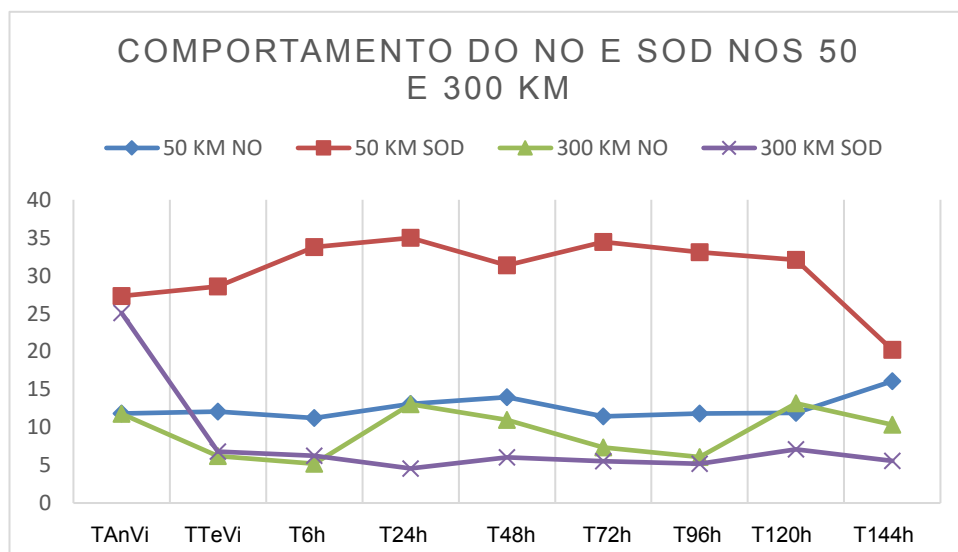
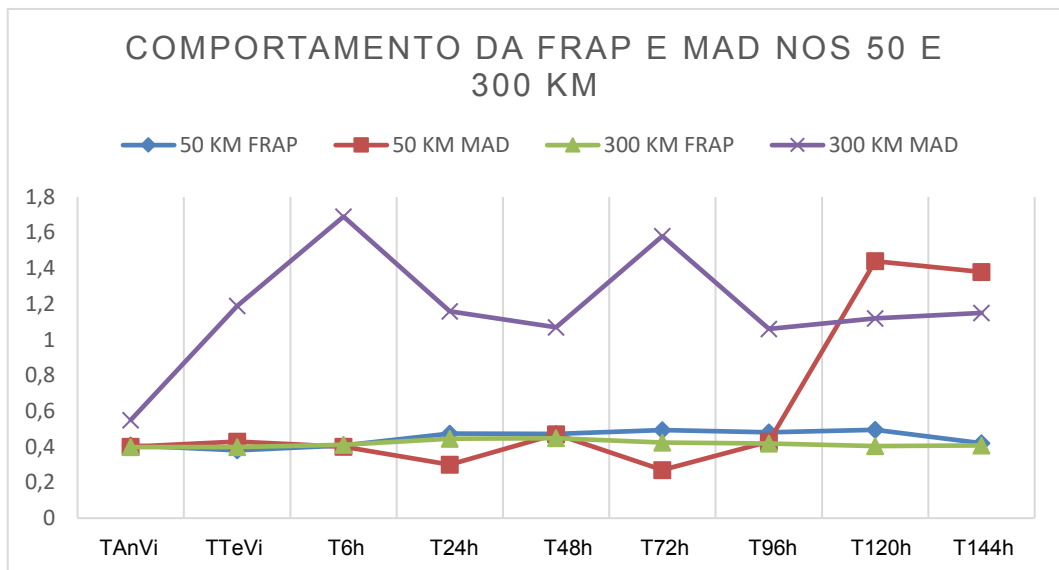


Figura 21 – Variação nas concentrações das variáveis nos diferentes momentos das duas viagens



4.2.1. Discussão

O estresse oxidativo se estabelece a partir de quando os elementos oxidativos em especial as espécies reativas de oxigênio extrapolam as defesas antioxidantes e comprometem a estabilidade (BAZANOW et al., 2020). Esforço físico de variadas intensidades induzem estresse oxidativo tanto em humanos quanto em cavalos e os desajustes redox provocados pelo esforço no músculo esquelético podem colaborar para a fadiga e lesão musculares, além de a peroxidação lipídica induzida pelo esforço também ser capaz de ocasionar miopatia e hemólise (SVETE et al., 2021).

4.2.1.1. NO

Não foi verificada diferença no comportamento do óxido nítrico (NO) entre os dois tratamentos (distâncias) bem como entre os momentos de avaliação no trajeto de 50 quilômetros. Estudo elaborado por Macnicol, Lininger e Pearson (2018) observou elevação do NO em equinos submetidos a atividade de alta intensidade (superior a 80% da frequência cardíaca máxima) em esteira, no entanto, o trajeto de 50 quilômetros do presente estudo induziu elevação da frequência cardíaca média em apenas 25% (61,5 BPM) e o de 300 elevou em 20%, ou seja, a intensidade foi muito

baixa para induzir variação. Estudo com 18 bezerros Angus transportados por 900 milhas, durante 22 horas não identificou indução na variação no NO após o trajeto (ALFARO, 2019). Foi estudada a biodisponibilidade do NO em equinos com enfermidade intestinal e observou-se importante redução, em especial nos animais com ceco timpânico e obstrução de cólon e os autores atribuíram à possibilidade da causa ser à falta do NO (SEREZHENKOV et al., 2020). A indicação de níveis elevados ou diminuídos de liberação de NO foi relatada vinculada certos distúrbios neurológicos (NJOKU et al., 2002). Logo após a viagem de 300 quilômetros observou-se variação entre os momentos T6h e T24h, com o valor menor no primeiro e o maior nas 24 horas. Animais acometidos por habronemose apresentaram declínio de NO e os níveis aumentaram à medida que foi percebida recuperação da infecção pelo nematódeo (EL-DEEB et al., 2018). Embora em diferente espécie animal, Wang et al. (2019) executaram estudo de simulação de transporte por duas horas com 12 ratos e observaram elevação do NO, ansiedade e disfunção comportamental, porém não mencionaram a intensidade e parâmetros fisiológicos.

4.2.1.2. SOD

A superóxido dismutase apresentou variação entre as duas distâncias, evidenciando decréscimo de 76% após a viagem de 300 quilômetros (TTeVi), $6,77 \pm 4,85$ U/g em comparação com o pós trajeto de 50 quilômetros (TTeVi), $28,56 \pm 8,21$ U/g. Onmaz et al. (2011) analisaram a SOD em equinos transportados por um percurso durante 12 horas, com velocidade média de 60 quilômetros por horas e equitativamente identificaram $38,4 \pm 5,89$ U/g antes e $23,1 \pm 4,48$ U/g após, representando 40% de depleção na concentração da enzima. A enzima SOD proporciona a transformação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular e, desta maneira, baixa a proporção de superóxido celular, evidenciando propriedades antioxidantes (ONMAZ et al., 2011). No presente estudo, a atividade plasmática de SOD mensuradas nos equinos imediatamente após o trajeto de 300 quilômetros foram significativamente reduzidas em comparação ao percurso de 50 e comprovam que os radicais livres extrapolaram a capacidade antioxidante do organismo estressado, levando a um estresse oxidativo. No entanto, Ankur et al. (2018) avaliaram a SOD em 20 equinos sob exercício de trote por duas horas e não observaram variação induzida pelo esforço, porém não mencionaram se os animais

estavam sob dieta antioxidante. Similarmente foi relatado por Pourmohammad et al. (2020), que não houve variação no comportamento da SOD em 25 equinos após exercício físico, que consistiu em 20 minutos de aquecimento, caminhada por uma hora e trote e galope por 10 minutos. Molinari et al. (2020) não observaram variação da SOD em investigação com animais livres em pastagens em comparação aos confinados em baias, declarando não haver fatores de risco que possam interferir negativamente no status redox em relação às condições de habitação dos equinos estudados. A suplementação com inclusão de ácidos graxos poli-insaturados e vitamina E podem elevar os níveis de SOD em equinos em atividades de esforço e consequentemente minimizar as implicações do estresse oxidativo (LACERDA et al., 2018; SEMBRATOWICZ et al., 2020). A variação da enzima é dependente do esforço solicitado, da dieta e de fatores químicos (BAZANOW et al., 2020). Uma investigação com 30 caprinos transportados por 350 quilômetros durante sete horas similarmente identificou decréscimo da SOD logo após a viagem e os valores só foram restabelecidos após sétimo dia, assim como no presente estudo, atribuindo a variação à superioridade dos radicais livres sobre os antioxidantes (POLYCARP; OBUKOWHO; YOSOFF, 2016).

4.2.1.3. MAD

Os valores plasmáticos de malondialdeído tem sido extensamente empregado como biomarcador mais frequente para se avaliar a peroxidação lipídica na biologia e medicina (POLYCARP; OBUKOWHO; YOSOFF, 2016). Foi observada elevação do MAD após o trajeto dos 300 quilômetros, que persistiu por 24 horas (T24h), confirmando que o transporte induziu estresse oxidativo. O percurso mais longo ainda apresentou diferença de elevação até 96 horas, quinto dia, em comparação com os mesmos momentos após a viagem de 50 quilômetros, demonstrando que o transporte de 300 quilômetros desequilibrou a relação dos oxidantes com os antioxidantes e a distância menor não. Este episódio é confirmado com o decréscimo da SOD relatado anteriormente. Identificou-se episódio isolado inconsistente de elevação do MAD nos momentos T120h e T144h após o percurso de 50 quilômetros, sem justificativa na literatura, que sugere algum episódio estressante ocorrido no piquete durante à noite. Também foi observada elevação isolada no quinto e sétimo dia após o trajeto de 300 quilômetros, que pode ser entendido como ainda não estabelecida a recuperação do

equilíbrio redox, equivalente ao identificado por Polycarp, Obukowho e Yosoff (2016) em caprinos transportados. Estudo com equinos transportados por 550 quilômetros, durante 12 horas identificou equivalente elevação por até 24 horas. No mesmo trabalho avaliaram cavalos transportados por 50 quilômetros e foi observado incremento do MAD, embora menos intenso que na viagem mais longa (WESSELY-SZPONDER et al., 2015) diferente dos resultados do presente estudo que não reconheceu variação, portanto, sem caracterização de estresse oxidativo na viagem de menor distância. Investigação sobre o estresse oxidativo em animais, realizou o transporte de 30 caprinos durante sete horas, por 350 quilômetros, avaliando diversos parâmetros, dentre eles o MAD, que teve incremento verificado após o trajeto ao longo de três dias, em seguida a concentração diminuiu de forma constante até os valores basais a partir do sétimo dia. O MAD também teve elevação relatada em equinos logo após protocolo de exercício moderado em ambientes poluídos, em estudo verificando o efeito do selênio e vitamina E (VELÁZQUEZ-CANTÓN et al., 2018). Bazanow et al. (2020) compararam o MAD de populações de cavalos da raça Hucul semi-isoladas com outras da raça Árabe, comercialmente manipulados e relataram valores superiores no segundo grupo, sincrônico aos níveis inferiores de SOD, indicando que o segundo grupo sofre com o desequilíbrio antioxidante/oxidante, consumando o estresse oxidativo, comportamento destes dois componentes que refletem similaridade ao do presente estudo. Esta elevação do MAD e o decréscimo do antioxidante, SOD também foi encontrado por Saleen e Al-Samaraif (2018) em equinos acometidos por hemoparasitose, igualmente indicando a atividade dos radicais livres nos animais. O resultado do presente estudo também foi equivalente ao de Svete et al. (2021) quando submeteu cavalos destreinados a exercício físico e observou incremento do MAD por até 24 horas após o esforço. O estresse oxidativo também foi estudado para compreender a extensão de distúrbios comportamentais associados ao estresse psicológico. Omidí et al. (2017) investigaram equinos que apresentavam inconvenientes hábitos típicos de animais confinados em baias, em especial cavalos com estereotípia oral e relataram não haver diferença no MAD dos animais acometidos em relação aos saudáveis, assim como não encontraram diferença nos valores de cortisol e β endorfina. Bottegaro et al. (2018) relataram desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em equinos submetidos a exercício de 80 e 40 quilômetros com elevação do MAD em ambos os percursos, embora terem mencionado uma importante variação de valores de concentração entre os animais.

Um estudo investigou o elo direto entre biomarcadores de estresse oxidativo, defesas antioxidantes e a atribuição salutar de exercícios físicos regulares em equinos de esporte bem condicionados de raças variadas e os resultados sugerem que a atividade regular em equinos treinados estimula os mecanismos de defesa antioxidante, observado pela redução do MDA após os treinamentos (ANDRIICHUK; TKACHENKO; TKACHOVA, 2016). Nos diferentes estudos os resultados confirmam o aumento da peroxidação lipídica durante diferentes situações de desafio oxidativo, seja no transporte, esporte ou enfermidade.

4.2.1.4. FRAP

A capacidade antioxidante total (CAT) de uma amostra retrata o impacto aditivo dos antioxidantes não enzimáticos e pode ser avaliada por vários métodos, como aqueles baseados na capacidade de redução férrica do plasma - FRAP (RUBIO et al., 2019). Não foi observada variação entre as distâncias de 50 e 300 quilômetros, igualmente não foi identificada alteração entre os momentos após o maior percurso. Após a viagem de menor duração foram percebidas alterações no quarto e sexto dia sem fundamento na literatura e que sugere possível episódio estressante no piquete durante à noite. Situações como esta se estabelecem como ponto fraco do estudo, pois o completo controle dos animais não acontece, visto que permanecem no piquete, sujeitos a situações comuns da vida livre e apenas são trazidos para o contato no momento da coleta, a cada 24 horas posteriormente a viagem. No entanto, se torna uma condição mais próxima da realidade, similarmente relatado por Bazanow et al. (2020) que estudou equinos de populações semi-isoladas e Molinari et al. (2020) que avaliou o estresse oxidativo em cavalos estabulados e em pastejo livre entre duas raças. A diferença nos níveis da FRAP, pode sugerir uma resposta peculiar de raças ao estresse oxidativo em uma base genética, ou seja, diferença entre elas. Foi relatado crescimento significativo nos valores da FRAP nos cavalos sujeitos a confinamento em baias e foram mais exacerbados nos indivíduos de maior idade, superior a 14 anos (MOLINARI et al., 2020). Ovelhas foram submetidas a um ensaio com indução de estresse por tosquia durante cinco minutos para validação de análise da FRAP via saliva e evidenciou-se incremento do marcador antioxidante, sugerindo uma maior mobilização para manter o equilíbrio redox e proteger as células de injúrias (RUBIO et al., 2019). Cavalos da raça Zanskar estiveram expostos a um estudo para

averiguar o impacto do transporte de carga em alta altitude, em que foram submetidos a uma caminhada de quatro quilômetros em altitude de 3.500 metros conduzindo cargas de 60 e 80 quilos. Verificaram incremento da FRAP tanto nos animais sem carga como nos demais, com maior elevação nos que transportaram o maior peso, os autores atribuíram o aumento à elevação da concentração de ácido úrico (VIVEK et al., 2018). Contraditório resultado foi encontrado em cavalos árabes após exercício de quatro horas, que não indicaram alteração nos valores da FRAP após o esforço físico em comparação com o repouso, igualmente sem alteração foi relatada a condição da SOD, embora não tenha sido relatada a suplementação de antioxidante, foi atribuída a decorrência ao bom condicionamento físico dos animais (POURMOHAMMAD et al., 2020).

4.2.2. Conclusão

As viagens curta e longa provocaram estresse oxidativo nos animais caracterizado por variações de marcadores.

O longo percurso apresentou maior estresse oxidativa ao grupo de animais estudado, com incremento do MAD.

A SOD sofreu influência mais profunda após o percurso de 300 km, bem como nos momentos subsequentes ao fim da jornada, com importante depleção. O menor trajeto não foi bastante para induzir desequilíbrio após o fim da viagem.

O NO não manifestou diferença de valores entre a distância curta e longa, no entanto o trajeto de 300 km provocou incremento seis e 24 horas após o fim da viagem.

A FRAP manteve constância nas concentrações entre os momentos e entre as distâncias, sugerindo que o desafio não foi suficiente para induzir desequilíbrio.

4.3. Influência do transporte rodoviário de 50 e 300 kg no proteinograma sérico de equinos

Os resultados das proteínas de fase aguda α 2-macroglobulina (ALFA 2), ceruloplasmina (CP), transferrina (TRF), albumina (ALB) e α 1-antitripsina (ALFA 1) estão apresentados na Tabela 14 e na Figura 22 e os da haptoglobina (HP), apolipoproteína alfa 1 (APO-A1) e α 1-glicoproteína ácida (GPA) estão na Tabela 15 e Figura 23, expressos em média \pm desvio padrão. Não foram observadas divergências

entre os valores de concentração entre os 50 e 300 km nem entre os momentos após cada percurso.

Tabela 14 – Influência da distância percorrida sobre os valores absolutos das proteínas de fase aguda: α 2-macroglobulina (ALFA 2), ceruloplasmina (CP), transferrina (TRF), albumina (ALB), α 1-antitripsina (ALFA 1) dos equinos transportados (média \pm desvio padrão)

km	Tem	ALFA 2	CP	TRF	ALB	ALFA 1
50	TAnVi	103.37 \pm 27.9	83.3 \pm 61.8	647.9 \pm 213.5	3209.0 \pm 975.0	319.1 \pm 180.2
	TTeVi	156.60 \pm 70.2	80.2 \pm 45.3	743.3 \pm 250.1	3082.0 \pm 836.0	348.4 \pm 141.7
	T6h	124.40 \pm 62.9	82.3 \pm 51.4	787.7 \pm 245.7	3291.0 \pm 915.0	426.1 \pm 324.0
	T24h	165.40 \pm 110.9	93.6 \pm 41.3	871.0 \pm 347.0	3018.0 \pm 371.0	273.0 \pm 95.5
	T48h	112.40 \pm 53.0	67.0 \pm 38.1	681.5 \pm 269.2	2802.0 \pm 383.0	253.5 \pm 43.8
	T72h	140.02 \pm 48.0	78.7 \pm 43.6	750.8 \pm 190.9	2727.3 \pm 261.1	322.2 \pm 107.8
	T96h	167.10 \pm 78.3	83.7 \pm 35.6	770.7 \pm 212.0	2854.5 \pm 277.0	331.2 \pm 162.1
	T120h	144.10 \pm 54.5	89.4 \pm 33.7	847.0 \pm 365.0	2790.9 \pm 320.8	327.6 \pm 122.7
	T144h	140.90 \pm 58.1	73.4 \pm 29.1	690.5 \pm 225.0	3038.0 \pm 528.0	301.1 \pm 162.3
300	TAnVi	190.40 \pm 104.8	114.2 \pm 38.9	537.1 \pm 252.2	2600.0 \pm 358.0	287.8 \pm 148.6
	TTeVi	162.40 \pm 72.4	101.4 \pm 25.9	693.8 \pm 140.8	2690.9 \pm 202.3	249.8 \pm 86.8
	T6h	208.00 \pm 78.5	132.9 \pm 64.0	656.5 \pm 214.5	2636.0 \pm 413.0	289.8 \pm 144.8
	T24h	235.10 \pm 95.4	140.5 \pm 33.4	620.5 \pm 269.5	2600.0 \pm 438.0	303.5 \pm 132.3
	T48h	181.80 \pm 102.5	110.8 \pm 43.4	563.0 \pm 206.5	2463.6 \pm 246.1	210.5 \pm 93.2
	T72h	143.40 \pm 52.8	101.5 \pm 42.7	532.2 \pm 196.8	2645.5 \pm 284.1	217.3 \pm 110.3
	T96h	194.80 \pm 76.2	113.9 \pm 32.2	553.8 \pm 193.3	2700.0 \pm 420.0	253.0 \pm 89.1
	T120h	174.30 \pm 85.9	109.1 \pm 33.2	603.9 \pm 260.5	2609.1 \pm 207.1	306.1 \pm 73.7
	T144h	191.50 \pm 80.6	128.4 \pm 37.9	569.1 \pm 203.2	2627.3 \pm 313.3	301.5 \pm 238.9
Efeitos principais						
		ALFA 2	CP	TRF	ALB	ALFA 1
	Tempo	0.250	0.420	0.331	0.347	0.351
	Distância	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013
	Tempo*Distância	0.452	0.796	0.874	0.528	0.673

Médias do mesmo tempo seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre as distâncias. Médias do mesmo grupo seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os tempos. Médias não seguidas de letras indicam ausência de diferença ($p < 0,05$).

Figura 22 – Comportamento da ALFA 2, CP, TRF, e ALFA 1 nos diferentes trajetos



Tabela 15 – Influência da distância percorrida sobre os valores absolutos das proteínas de fase aguda: haptoglobina (HP), apolipoproteína alfa 1 (APO-A1), α 1 glicoproteína ácida (GPA) dos equinos transportados (média \pm desvio padrão)

Distância (km)	Tempo	HP	APO-A1	GPA
50m	TAnVi	204.0 \pm 103.6	697.1 \pm 264.9	116.3 \pm 50.5
	TTeVi	250.6 \pm 121.0	721.2 \pm 266.6	135.7 \pm 70.2
	T6h	282.8 \pm 162.7	701.9 \pm 293.2	128.1 \pm 56.3
	T24h	341.4 \pm 165.5	749.3 \pm 254.1	142.4 \pm 73.7
	T48h	296.5 \pm 157.3	699.7 \pm 294.2	135.1 \pm 96.5
	T72h	226.0 \pm 80.2	738.1 \pm 303.5	142.7 \pm 49.8
	T96h	261.2 \pm 156.7	828.1 \pm 274.0	114.6 \pm 45.9
	T120h	272.2 \pm 136.1	782.1 \pm 226.3	136.5 \pm 38.7
300 km	T144h	255.4 \pm 119.8	678.5 \pm 217.0	118.7 \pm 42.6
	TAnVi	188.3 \pm 78.2	424.4 \pm 182.3	100.3 \pm 62.1
	TTeVi	283.6 \pm 210.5	426.3 \pm 218.3	96.8 \pm 51.2
	T6h	249.4 \pm 71.9	471.9 \pm 191.6	102.2 \pm 47.1
	T24h	281.1 \pm 101.1	441.2 \pm 243.7	118.3 \pm 72.2
	T48h	254.4 \pm 87.6	360.9 \pm 181.9	101.0 \pm 49.0
	T72h	207.3 \pm 82.2	344.1 \pm 204.8	78.4 \pm 37.4
	T96h	232.2 \pm 119.7	463.6 \pm 220.0	90.5 \pm 42.3
T120h	228.3 \pm 88.7	448.5 \pm 243.7	78.6 \pm 32.9	
T144h	302.0 \pm 129.0	529.9 \pm 273.3	104.4 \pm 69.8	
Efeitos principais				
		HP	APO-A1	GPA
	Tempo	0.120	0.861	0.903
	Distância	0.312	0.000	0.000
	Tempo*Distância	0.897	0.849	0.839

Médias do mesmo tempo seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre as distâncias.

Médias do mesmo grupo seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença ($p < 0,05$) entre os tempos.

Médias não seguidas de letras indicam ausência de diferença ($p < 0,05$).

4.3.1.1. α 1-antitripsina (ALFA 1) e α 2-macroglobulina (ALFA 2)

O presente estudo não identificou variação nestas proteínas, porém pode-se perceber na Figura 22, curva ascendente da ALFA 1 com pico seis horas após a viagem de 50 km e 24 horas após o trajeto de 300. A ALFA 2 também mostrou interessante comportamento com incremento 24 horas e no quarto dia após o percurso de 50 km e ascendência seis e 24 horas após a viagem dos 300. Estudo comparando equinos hígdos com outros acometidos por síndrome cólica observaram diferença com especial incremento nos casos com indicação cirúrgica (SOUTO et al., 2019), semelhante ao achado no estudo com cavalos com cólica originária em diferente segmento intestinal (DI FILLIPO; NOGUEIRA; SANTANA, 2011). Os presentes achados sugerem que as viagens não provocaram agressões suficientes para determinar a variação, porém o comportamento destas PFAs acompanhou a neutrofilia, relevando seu papel inibidor da elastase de neutrófilos (PERLMUTTER, 1993; SALGADO et al., 2011). A α 1-antitripsina (ALFA 1) e α 2-macroglobulina (ALFA 2) manifestam resposta de fase aguda moderada e apresentam função anti-protease, isto é, sua atribuição essencial é neutralizar a atuação de enzimas proteolíticas liberadas por células imunológicas por ocasião de episódios inflamatórios, a fim de reduzir injúrias teciduais (ECKERSALL, 2008; KANEKO, 2008).

4.3.1.2. Ceruloplasmina (CP)

O presente estudo não identificou variação significativa entre as distâncias nem entre os momentos. Embora imediatamente após os trajetos tenha ocorrido ligeira depleção, contrário ao achado em equinos após competição de hipismo que apresentou incremento (CARVALHO FILHO, 2019). Ainda que sejam atividades diferentes ambos necessitam de algum tipo de esforço físico. Souto et al. (2019) observou elevação da CP em equinos com síndrome cólica. Foi relatado que o incremento dos valores de CP protege contra o estresse oxidativo vinculados à prenhez e que as alterações das concentrações sugerem ação para manutenção e controle da homeostase do redox e do processo inflamatório ao longo do curso da estação (BUITRAGO et al., 2020).

4.3.1.3. Transferrina (TRF)

Não foram observadas variações significativas entre as distâncias, tão pouco entre os momentos. Analisando a Figura 22, observa-se que o comportamento da TRF após o trajeto de 300 km foi inferior em comparação à menor distância, porém não suficiente para gerar diferença significativa. A TRF analisada em equinos de hipismo após sequência de provas, apresentou incremento valoroso (ASSENZA et al., 2016). Os autores sugerem que a elevação nas concentrações pode ser em função de hemoconcentração imediatamente após o exercício. Di Filippo, Nogueira e Santana (2011) verificaram decréscimo da TRF em equinos com síndrome cólica em relação a animais hígidos.

4.3.1.4. Albumina (ALB)

Não houve disparidade da Albumina entre os trajetos percorridos nem entre os momentos de cada percurso. Esta proteína se manteve relativamente estável. O resultado corresponde aos achados em cavalos de hipismo após competições, onde também não foi observada variação (CARVALHO FILHO et al., 2019). Estudo avaliando a influência de programas de treinamento com esforço intenso no comportamento de PFAs em equinos saudáveis similarmente não verificou variação nos valores da albumina (ARFUSO et al., 2020). Da mesma forma Zhao et al. (2020) relataram ausência de variação nas concentrações de ALB em jumentos transportados por 21 horas. Fernandez e Roy (2019), em estudo sobre proteínas plasmáticas e sua relação com o fibrinogênio, reconhecem que os valores da albumina não se estabelecem necessariamente como indicadores consumados de inflamação, no entanto os utiliza por ter interpretação mais direta. Souto et al. (2019) não verificaram alteração em equinos com síndrome cólica em comparação com animais saudáveis. No entanto, Padalino et al. (2017) relataram incremento em equinos logo após viagem de 94 horas e associaram a alteração à desidratação ou hemoconcentração. Outro estudo avaliando o comportamento de cavalos durante viagem de oito horas verificou o incremento da ALB e vinculou à afecção das vias aéreas em função de baixa qualidade do ar no veículo combinada com atitude de movimentação da cabeça próxima ao solo (PADALINO et al., 2018). Ferlazzo, Fazio e Medica (2020), da mesma forma, relataram aumento em equinos em caminhada por

dois dias e em seguida transportados por 70 quilômetros. Terhaar, Allbaugh e Mochel (2021) encontraram incremento de ALB em lágrimas de equinos com lesão ocular quando comparados a animais hígidos. Relatos são contraditórios na literatura, a albumina é uma proteína de fase aguda negativa e, portanto, é reduzida na inflamação, devido à diminuição de sua produção no fígado (McGOVERN, 2018).

4.3.1.5. Haptoglobina (Hp)

Não foi identificada variação significativa na Hp entre as distâncias, bem como entre os momentos. Vale chamar a atenção para 24 horas após a viagem de 50 km com incremento perceptível na Figura 23 e imediatamente após os animais terem serem transportados por quase seis horas, embora sem aval estatístico. Estudo investigando comportamento da Hp em equinos transportados que apresentavam doença respiratória provocada pelo traslado de aproximadamente 18 horas em comparação a outro grupo saudável, similarmente não apontou alteração nas concentrações desta proteína. Foram sugeridas interferências do tempo das amostras, distância de condução dos animais e bom condicionamento físico anterior à viagem como prováveis razões da não variação (NINAMIJIMA et al., 2021). Já foi relatado incremento da Hp de um e meio a 10 vezes em equinos com peritonite ou após cirurgia (ALONSO et al., 2020; ZAK et al., 2020). Contrário ao estudo de Souto et al. (2019) que não identificou evidência de variação da Hp em equinos acometidos por síndrome cólica em comparação com animais hígidos. Investigação buscando evidências sobre PFAs em equinos com sobrepeso relatou elevação da Hp nestes animais, em confronto com outros de escore corporal considerado adequado (GIRADI et al., 2019). Estudo verificando a interferência da alta intensidade de esforço na resposta de fase aguda em equinos mencionou que a Hp é pouco apropriada para medir inflamação em exercício, uma vez que apresenta elevada concentração no sangue de animais hígidos e a extensão da resposta é menor que outras, como por exemplo a ASA. Além de a elevação poder estender por dias após o estímulo inflamatório, com incremento inicial entre 12 e 24 horas e pico entre 72 e 144 horas (ARFUSO et al., 2020), o que não foi observado no presente estudo. Outra investigação com equinos de esporte em competição de hipismo equitativamente não observou discrepância da Hp após a atividade em comparação ao repouso (CARVALHO FILHO et al., 2019). A Haptoglobina é uma glicoproteína positiva notória

por compor um complexo com a hemoglobina, possibilitando sua fagocitose. Esse procedimento acontece em episódios patológicos ou fisiológicos que resultam na hemólise, impedindo que essa molécula provoque injúrias aos tecidos (LEVY et al., 2010).

4.3.1.6. Apolipoproteína alfa 1 – APO-A1

A APO-A1 permaneceu sem alterações entre as duas distâncias bem como entre os momentos. Apesar da ausência de discrepância estatística, é interessante observar a estabilidade entre o repouso e após a viagem no trajeto de 50 km superior em comparação às coletas dos 300 km, podendo-se perceber a peculiaridade negativa da proteína frente a insultos. É sabido que a Apo A1 é uma PFA negativa, pertencente a um grupo de lipoproteínas sintetizadas no fígado com atribuição de retirar o colesterol do organismo para sua excreção ou reuso hepático. A ASA se conecta ao HDL afim de desempenhar parte de sua atribuição, levando a Apo A1 ser desligada, assim é prontamente removida do organismo, corroborando decréscimo de seus valores (COETZEE et al., 1986; SCOPPETTA et al., 2012; SOUTO et al., 2019). No entanto, foi descrito que o decréscimo das concentrações das PFAs negativas acontece em função da atenuação da taxa de síntese e que esta acontece em função do decremento da transcrição de seu gene ou tradução do mRNA (ALDRED; SCHREIBER, 1993).

4.3.1.7. α 1 glicoproteína ácida (GPA)

O presente estudo não identificou alteração nos níveis da GPA entre as distâncias, bem como entre os momentos. Pode-se notar um padrão moderadamente elevado após o percurso de 50 km, em relação ao de 300 km, estes não se fundamentam na estatística. Carvalho Filho et al. (2019) apontaram incremento da GPA em 125% logo após o exercício, embora não tenha havido sinais de inflamação, foi atribuída à afinidade por metabólitos endógenos, como liberação de catecolaminas, como consequência para prevenir danos oxidativos aos tecidos. A GPA está associada à inflamação crônica, em vez de aguda e seu incremento acontece de forma lenta e prolongada em comparação com outras PFA (WALSH, 2021)., entretanto diferem de outros estudos que indicaram incremento desta PFA nos animais com a

enfermidade e com elevação superior nos animais que vieram a óbito após cirurgia (FAGLIARI et al., 2008; DI FILIPPO; NOGUEIRA; SANTANA, 2011). Os autores relatam que a GPA tem função de se ligar a fármacos e metabólitos, como histamina, serotonina, esteroides e catecolaminas, além de colaborar na retirada de lipopolissacarídeos da circulação sanguínea.

4.3.2. Conclusão

As viagens não foram suficientes para provocar resposta de fase aguda refletida nas alterações das PFA's.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O transporte dos animais estudados provocou alterações fisiológicas importantes, percebidas nas manifestações das diversas variáveis investigadas. Algumas sem relação entre as distâncias percorridas, porém manifestadas de forma peculiar em momentos após o específico percurso.

Os resultados demonstram relevante manifestação leucocitária, sugerindo cuidados que possam minimizar a excitação e preservação do bem estar animal.

Viagens mais longas propiciam com maior intensidade o desequilíbrio redox e consequente estresse oxidativo.

Os trajetos não induziram variação nas concentrações das proteínas de fase aguda.

O estudo apresentou ponto fraco no aspecto de não controlar os animais nos piquetes, deixando assim possibilidade de intercorrências que possam influenciar os resultados, embora seja uma investigação mais apropriada para animais de vida livre.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- ABCAM. **Haptoglobin horse ELISA kit**. Boston, MA: ABCAM, 2019. 24 p.
Disponível em: <https://www.abcam.com/horse-haptoglobin-elisa-kit-ab190528.html>.
Acesso em: 19 jan. 2022.
- ALDRED, A. R.; SCHREIBER, G. The negative acute phase proteins. In: MACKIEWICZ, A.; KUSHNER, I.; BAUMANN, H. **Acute phase protein- molecular biology, biochemistry, and clinical applications**. Boca Raton: CRC Press, 1993. p. 21-37.
- ALFARO, G. F. **Preconditioning for long-duration transportation stress on beef cattle with rumen-protected methionine supplementation: a nutrigenetics study**. 2019. 89 f. Dissertation (Master) – Faculty of Auburn University, Alabama, 2019.
- ALLOCATI, N. Glutathione transferases: substrates, inhibitors and prodrugs in cancer and neurodegenerative diseases. **Oncogenesis**, v. 7, n. 8, p. 1-15, 2018.
- ALONSO, J. M. et al. Inflammatory response of healthy horses subjected to small colon enterotomy and treated or not with heparin. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 90, p. 1-8, 2020.
- AMARAL, L. A. et al. Reação de fase aguda e sua relação com o desempenho de cavalos em competição de longa distância. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 2, p. 365-371, 2015.
- ANDRIICHUK, A.; TKACHENKO, H.; TKACHOVA, I. Oxidative stress biomarkers and erythrocytes hemolysis in well-trained equine athletes before and after exercise. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 36, p. 32-43, 2016.
- ANKUR, P. Y. et al. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers in horses. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science**, v. 7, n. 6, p. 627-632, 2018.
- ANZILIERO, D. et al. Determinação dos níveis séricos de proteína C-reativa (CRP) em cães com alterações dos parâmetros hematológicos. **Ciênc. Anim. Bras.**, v. 14, n. 2, p. 265-272, 2013.
- ARFUSO, F. et al. Training intensity induces an acute phase response in clinically healthy horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 88, 2020.
- ASSENZA, A. et al. Serum iron, ferritin and haptoglobin concentration variations during repeated show jumping competition in horse. **Acta Veterinária Brno**, v. 85, p. 343-347, 2016.

AVELAR, T. M. T. et al. Oxidative stress in the pathophysiology of metabolic syndrome: which mechanisms are involved? **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 51, n. 4, p. 231-239, 2015.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: avaliação de marcadores. **Brazilian Society for Food and Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 111-128, 2008.

BARBOSA, M. C. C. et al. Associação entre ácido úrico e variáveis de risco cardiovascular em uma população não hospitalar. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 96, n. 3, p. 212–218, 2011.

BARDELL, D. A.; ARCHER, D.C.; MILNER, P. I. Measures of redox balance in horse undergoing corrective surgery involving strangulating lesions of the small intestine. **Equine Veterinary Journal**, v. 47, S. 48, p. 6, 2015.

BARRACHINHA, L. et al. Acute phase protein Haptoglobin as inflammatory marker in serum and synovial fluid in an equine model of arthritis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 182, p. 74-78, 2016.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BARRELET, A.; RICKETTS, S. Haematology and blood biochemistry in the horse: a guide to interpretation. **In Practice**, v. 24, n.6, p. 318-327, 2002.

BARROS, C. J. G. **Piroplasmose equina: diagnóstico molecular e avaliação de alterações hematológicas e de biomarcadores inflamatórios em cavalos com doença clínica e subclínica**. 2018. 88 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2018.

BARROSO, R. M. V. **Determinação das principais proteínas de fase aguda e do índice prognóstico inflamatório nutricional (IPIN) em cachorro-do-mato (Cerdosyon thous – Linnaeus, 1766)**. 2016. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

BARTOLOMÉ, E.; COCKRAM, M. S. Potential effects of stress on the performance of sport horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 40, p. 84-93, 2016.

BASIT, A. et al. Effect of equine piroplasmosis on hematological and oxidative stress biomarkers in relation to different seasons in district Sargodha, Pakistan. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 40, n. 1, p. 43-48, 2020.

BASTOS, R. N. et al. Avaliação das concentrações de fibrinogênio plasmático em equinos da raça Mangalarga Marchador: efeito do exercício, do gênero e da idade. **Revista de Saúde**, v. 7, n. 2, p. 12-15, 2016.

BAYEVA, T. I.; ZHEGUNOV, G.F. Influence of physical and emotional activity on the metabolic profile of blood serum of race horses. **Bulletin of Dnipropetrovsk University - Biology and Ecology**, v. 24, n. 2, p. 484-488, 2016.

BAZANOW, B. A. et al. Basic studies on the oxidative stress markers in two types of horse breed: semi-isolated population of Huculs Is different from commercially used Arabian Horses. **BioMed Research International**, 7542384, p. 1-10, 2020.

BENNETT-WIMBUSH, K. et al. Effect of overcheck use on stress parameters and welfare implications in driving horses. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 23, n. 1, p. 83-94, 2019.

BHATT, N. et al. A detailed review of transportation stress in livestock and its management techniques. **International Journal of Livestock Research**, v. 11, n. 1, p. 29-41, 2021.

BOTTEGARO, B. et al. Effect of prolonged submaximal exercise on serum oxidative stress biomarkers (d-ROMs, MDA, BAP) and oxidative stress index in endurance horses. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2018.

BREITENBACH, M.; ECKL, P. Introduction to oxidative stress in biomedical and biological research. **Biomolecules**, v. 5, p. 1169-1177, 2015.

BUITRAGO, J. L. et al. Ceruloplasmin, serotransferrin and albumin presented different abundance in mares uterine fluid five days after insemination. **Theriogenology**, v. 148, p. 194-200, 2020.

BUZALA, M.; KRUMRYCH, W.; JANICKI, B. Usefulness of creatine kinase activity determination for assessing the effects of physical effort in horses. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 35, n. 3, p. 267-273, 2015.

CAMPOS, M. T. G.; LEME, F. O. Estresse oxidativo: fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial. **Pubvet**, v. 12, n. 10, p. 1-8, 2017.

CARVALHO FILHO, W. P. et al. Serum amyloid A and muscle activity biomarkers in horses submitted to equestrian show jumping. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 668-671, 2019.

CASELLA, S. et al. Influence of transportation on serum concentrations of acute phase proteins in horse. **Research in Veterinary Science**, v. 9, p. 914-917, 2012.

CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 416-423, 2002.

CHRISTENSEN, M. et al. Evaluation of an automated assay based on monoclonal anti-human serum amyloid A (SAA) antibodies for measurement of canine, feline, and equine SAA. **Veterinary Journal**, v. 194, n. 3, p. 332-337, 2012.

CLEMETSON, K. J.; CLEMETSON, J. M. Platelet receptors. In: MICHELSON, A.D. **Platelet**. 3 ed. Massachusetts: Academic Press, 2013.

COETZEE, G. A. et al. Serum amyloid A-containing human high-density lipoprotein 3. Density, size, and apolipoprotein composition. **Journal of Biological Chemistry**, v. 261, p. 9644-9651, 1986.

COLOMBO, G. et al. A step-by-step protocol for assaying protein carbonylation in biological samples. **Journal of Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Scie**, v. 1019, p. 178-190, 2016.

CONNYSSON, M.; MUHONEN, S.; JANSSON, A. Road transport and diet affect metabolic response to exercise in horses. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 4869-4879, 2017.

CONSTANTINI, D. et al. Physiological cost of infection: herpesvirus replication is linked to blood oxidative stress in equids. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1047, p. 1-10, 2018.

CONTIN, C. M. **Eletroforese das proteínas séricas e urinárias de cães com erliquiose na fase aguda**. 2015. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2015.

COPPER, M. A. et al. Modulation of diet-induced mechanical allodynia by metabolic parameters and inflammation. **Journal of the Peripheral Nervous Systems**, v. 22, n. 1, p. 39-46, 2017.

CORNELL UNIVERSITY. **Modified reference intervals for ALT and AST**. Animal Health Diagnostic Center, 2018. Disponível em: <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/news/modified-reference-intervals-alt-and-ast>. Acesso em: 22 mai. 2021.

CRAY, C. et al. Acute phase response in animals: a review. **Comparative Medicine**, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009.

CROWLEY, J. et al. Systemic and respiratory oxidative stress in the pathogenesis and diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonia. **Equine Veterinary Journal**, v. 6, Suppl. 45, p. 20-25, 2013.

CYWINSKA, A. et al. Acute phase protein concentrations after limited distance and long distance endurance rides in horses. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 3, p. 1402-1406, 2012.

DI FILIPPO, P. A.; NOGUEIRA, A. F. S.; SANTANA, A. E. Determinação sérica de haptoglobina, ceruloplasmina, α_1 - glicoproteína ácida, transferrina e α_1 -antitripsina, em equinos com cólica. **Ciência Rural**, v. 41, n. 12, p. 210-2113, 2011.

DI FILIPPO, P. et al. Comparative study between plasma fibrinogen concentrations determined by schalm and clauss techniques in colic and healthy horses. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1231-1236, 2009.

DONDI, F. et al. Serum amyloid A, haptoglobin, and ferritin in horses with colic: Association with common clinicopathological variables and short-term outcome. **The Veterinary Journal**, v. 205, n. 1, p. 50-55, 2015.

DUNKEL, B. et al. Influence of endocrine disease on l-lactate concentrations in blood of ponies. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, p. 1582-1588, 2021.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: _____. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **Veterinary Journal**, v. 185, n. 1, p. 23-27, 2010.

EHLTING, C. et al. The interplay of the mapk kinases 2 and 3 coordinates LPS induced inflammation and acute phase reaction by controlling a large subset of expressed genes. **Journal of Hepatology**, v. 64, n. 2, p. 510, 2016.

EL-DEEB, W. M.; EL-BAHR, S. M. Investigation of selected biochemical indicators of equine rhabdomyolysis in Arabian horses: pro inflammatory cytokines and oxidative stress markers. **Veterinary Research Communications**, v. 34, p. 677-680, 2010.

EL-DEEB, W. M. et al. Acute phase proteins, interleukin-6, tumor necrosis factor, nitric oxide and oxidative stress markers in horses with cutaneous habronemiasis under field condition. **Veterinary Parasitology**, v. 255, p. 1-25, 2018.

FAGLIARI, J. J. et al. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda em equinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 2, p. 322-328, 2008.

FAZIO, F. et al. Evaluation of secondary stress biomarkers during road transport in rabbit. **Livestock Science**, v. 173, p. 106-110, 2015.

FAZIO, F. et al. Relationship of some oxidative stress biomarkers in jumper horses after regular training program. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 47, p. 20-24, 2016.

FERLAZZO, A.; FAZIO, E.; MEDICA, P. Behavioral features and effects of transport procedures on endocrine variables of horses. **Journal of Veterinary Behavior**, v. 39, p. 21-31, 2020.

FERNANDEZ, N. J.; ROY, M. F. Do plasma protein: fibrinogen ratios in horses provide additional information compared with fibrinogen concentration alone? **Canadian Veterinary Journal**, v. 60, p. 625-629, 2019.

FIGUEIREDO, M. et al. Exercise physiology as an essential tool in the evaluation of equine athletes. **Review Pubvet- Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n. 6, p. 1-10, 2021.

FISHER, A. L. **Effect of a lactate-guided conditioning program on fitness markers in the equine athlete**. 2014. Project (Undergraduate in Biological Science) - California State Polytechnic University, Pomona, 2014.

FONSECA, L. A. et al. Influence of selenium and vitamin E supplementation on energy metabolism in horses used in policing activity. **Comparative Clinical Pathology**, v. 25, n. 2, p. 351-355, 2015.

FOURNIER, T. et al. Alpha-1-acid glycoprotein 1. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1482, p. 157-171, 2000.

GAREY, S. M. et al. The effect of loose group versus individual stall transport on glucocorticosteroids and dehydroepiandrosterone in yearling horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 30, n. 12, p. 696-700, 2010.

GIRARDI, F. M. et al. Influence of obesity on serum concentrations of acute-phase proteins in horses. **J. Equine Vet. Sci.**, v. 83, 102810, 2019.

GOMME, P. T.; McCANN, K. B.; BERTOLINI, J. Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions. **Drug Discov. Today**, v. 10, n. 4, p. 267-273, 2005.

HOOIJBERG, E. H. et al. Diagnostic and predictive capability of routine laboratory tests for the diagnosis and staging of equine inflammatory disease. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 28, n. 5, p. 1587-1593, 2014.

HURCOMBE, S. D. A. Clinical pathology of the racehorse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 36, n. 1, p. 135-145, 2020.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defense antioxidants-superoxide dismutase (SOD) catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defense grid. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, p. 287-293, 2018.

ISMAIL, A. et al. Characterization of dog glutathione transferase P1-1 an enzyme relevant to veterinary medicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 8, p. 1-12, 2021.

JACKSON, M. J.; STRETTON, C.; McARDLE, A. Hydrogen peroxide as a signal for skeletal muscle adaptations to exercise: what do concentrations tell us about potential mechanisms? **Redox Biology**, v. 35, p. 1-5, 2020.

JACOBSEN, S.; ANDERSEN, P. H. The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as marker of inflammation in horses. **Equine Veterinary Education**, v.19, n. 1, p. 38-46, 2007.

JAIN, S. et al. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, n. 1, p. 118-127, 2011.

Jl, S. N. et al. Behavioral and physiological stress responses to transportations in a group of przewalski's horses (*Equus ferus przewalskii*). **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 23, n. 4, p. 1077-184, 2013.

KAMBAYASHI, Y. et al. Comparison of oxidative stress under different propofol administration protocols in Thoroughbred racehorses by bOS and bAP assessment. **Journal of Equine Science**, v. 29, n. 3, p. 75-78, 2018.

KANEKO, J. et al. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008.

KAUR, P.; QURESHI, I.; KHADKE, P. Analysis of C-reactive protein form different species using computational analysis and molecular dynamics. **International Journal of Scientific Research**, v. 9, n. 1, p. 32-34, 2020.

KEDZIERSKI, W.; BELKOT, Z. Does road transportation influence plasma leptin concentrations in horses? Preliminary study. **Ann. Anim. Sci.**, v. 18, n. 1, p. 185-193, 2018.

KIRSCHVINK, N.; LEKEUX, P. Oxidative stress in equine medicine – current knowledge. **Pferdeheikunde**, v.18, p. 569-573, 2002.

KIRSCHVINK, N.; MOFFARTS, B.; LEKEUX, P. The oxidant/antioxidante equilibrium in horses. **The Veterinary Journal**, v. 177, p. 178-191, 2008.

KOSINSKA, M. K. et al. A comparative study on the lipidome of normal knee synovial fluid from humans and horses. **Plos One**, v. 16, n. 4, p. 1-14, 2021.

KRASTEVA, A.; KISSELOVA, A. Salivary acute phase proteins as biomarkers in oral and systemic disease. In: VEAS, F. **Acute phase proteins as early non-specific biomarkers of human and veterinary diseases**. Croatia: InTech, 2011. p. 69-88.

KUSANO, K. et al. Reference range of blood biomarkers for oxidative stress in Thoroughbred racehorses (2–5 years old). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, n. 3, p. 125-29, 2016.

LACERDA, Y. G. et al. Physical preparation and antioxidant supplementation for endurance racehorses. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 19, n. 1, p. 23-31, 2018.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.

LAMA, G. G. M. et al. Horse welfare at slaughter: A novel approach to analyze bruised carcasses based on severity, damage patterns and their association with pre-slaughter risk factors. **Meat Science**, v.172, p. 1-10, 2021.

LASKOSKI, L. M. et al. Oxidative stress in hoof laminar tissue of horses with lethal gastrointestinal diseases. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.1 71, p. 66-72, 2016.

LECLERE, M. et al. Acute phase protein in race horses with inflammatory airway disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 3, p. 940-945, 2015.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 18.ed. New York: Worth Publishers, 2000.

LEVY, A. P. et al. Haptoglobin: basic and clinical aspect. **Antioxidant & Redox Signaling**, v. 12, n. 2, p. 293-304, 2010.

LIGUORI, I. et al. Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical Intervention in Aging**, v. 13, p. 757-772, 2018.

LIMA, E.S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p. 293-301, 2001.

LONG, A.; NOLEN-WALSTON, R. Equine inflammatory markers I the twenty-first century: a focus on serum amyloid A. **Vet. Clin. Equine – The Clinics**, v. 36, n. 1, p. 147-160, 2020.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions**, v. 224, p. 164-175, 2014.

LYKESFELD, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. **The Veterinary Journal**, v. 173, p. 502-511, 2007.

MACEDO, A. T. M. et al. Proteinograma de ovelhas acometidas por 35 casos naturais de toxemia da prenhez. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 1, p. 159-173, 2017.

MACKIEWICZ, A.; KUSHNER, I.; BAUMANN, H. **Acute phase proteins: molecular biology, biochemistry, and clinical applications**. Boca Raton: CRC Press, 1993.

MACNICOL, J. L.; LININGER, M. I.; PEARSON, W. A time-course of inflammatory and oxidative markers following high-intensity exercise in horses: a pilot study. **Journal of Applied Physiology**, v. 124, p. 860-865, 2018.

MAMI, S. et al. Evaluation of biological indicators of fatigue and muscle damage in Arabian horses after race. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 78, p. 74-78, 2019.

MANCINI-FILHO, G. Avaliação da atividade antioxidante in vitro de compostos fenólicos de alimentos. **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 28, p. 91-107, 2004.

MARYCZ, K. et al. Evaluation of oxidative stress and mitophagy during adipogenic differentiation of adipose-derived stem cells isolated from equine metabolic syndrome (EMS) horses. **Stem Cells International**, v. 12, n. 28, p. 1-18, 2018.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

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.

MAUGAH, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P. I. **Bioquímica do exercício e treinamento**. Barueri: Manole, 2000.

MAZKO, M. et al. The physical activity-dependent hematological and biochemical changes in school horses in comparison to blood profiles in endurance and race horses. **Animals**, v. 11, n. 4, p. 11-28, 2021.

MAZZAFERRO, E. M.; EDWARDS, T. Update on albumin therapy in critical illness. **Vet. Clin. Small Anim.**, v. 50, p. 1289-1305, 2020.

McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

McGOVERN, K. Acute phase proteins and their clinical use in the adult horse. **UK-Vet Equine**, v. 2, n. 2, p. 42-48, 2018.

McGOWAN, C. M.; HODGSON, D. R. Hematology and biochemistry. In: HODGSON, D. R.; McGOWAN, C. M.; McKEEVER, K. H. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. 2.ed. St Louis, MI: Saunders, 2014.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771-776, 2010.

MINAMIJIMA, Y. et al. Comparison of proteomes in sera between healthy Thoroughbreds and Thoroughbreds with respiratory disease associated with transport using mass spectrometry-based proteomics. **J. Equine Sci.**, v. 32, n. 1, p. 11-15, 2021.

MOLINARI, L. et al. Evaluation of oxidative stress parameters in healthy saddle horses in relation to housing conditions, presence of stereotypies, age, sex and breed. **Process**, v. 8, n. 12, p. 1-11, 2020.

NAHUM, M. S. et al. The role of the acute-phase proteins in the development and progression of liver diseases. 107-126. In: VEAS, F. **Acute phase proteins as early non-specific biomarkers of human and veterinary diseases**. Croatia: In Tech, 2011.

NAZARENO, A. C. et al. Ambiência no transporte de equinos e os efeitos nas respostas ao estresse. **J. Anim. Behav. Biometeorol.**, v. 3, n. 3, p. 73-80, 2015.

NIEDZWIEDZ, A.; KUBIAK, K.; NICPON, J. Plasma total antioxidante status in horses after 8 hours of road transportation. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 55, n.1, p. 55-58, 2013.

NIEDZWIEDZ, A. et al. Influence of 8-hour road transportation on selected physiological parameters in horses. **Bull Vet Inst Pulawy**, v. 56, p. 193-197, 2012.

NJOKU, C. J. et al. reduced levels of nitric oxide metabolites in cerebrospinal fluid are associated with equine protozoal myeloencephalitis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 9, n. 3, p. 605-610, 2002.

NOCERA, I. et al. Evaluation of protein carbonyl content in healthy and sick hospitalized horses. **Front Vet Sci.**, v. 7, p. 1-6, 2020.

NOGUEIRA, B. C. F. et al. Oxidative and local histopathological response on skin wound of horses due to *Amblyomma sculptum* tick parasitism. **Research in Veterinary Science**, v. 136, p. 550-560, 2021.

NOLEN-WALSTON, R. How to interpret serum amyloid A concentrations. **AAEP Proceedings**, v. 61, p. 130-137, 2015.

NOLETO, P. et al. Effect of a 130 km endurance ride on the serum biochemical profiles of Mangalarga Marchador horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 39, n. 4, p. 7-11, 2016.

NUNES, F. L. et al. Atividade sérica de enzimas musculares AST, LDH e CK em equinos submetidos a diferentes tipos de esforço físico na região de Imperatriz-MA. **Pubvet**, v. 9, n. 12, p. 511-520, 2015.

O'CONNOR, B. H. **Color Atlas and instruction manual of peripheral blood cell morphology**. Pennsylvania: Williams & Wilkins, 1984.

OLIVEIRA, M. S. **Caracterização parcial das reações de foto-oxidação e eletro-oxidação do dipiridamol e das subunidades de hemoglobina extracelular**. 2008. 112 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

OLIVEIRA, J. M.; OLIVEIRA, L. L. **Capacidade antioxidante e estresse oxidativo: técnicas**. Viçosa: UFV, 2017. (Apostila Curso de Biologia Geral).

OLIVEIRA, M. C.; SCHOFFEN, J. P. Oxidative stress action in cellular aging. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 53, n. 6, p. 1333-134, 2010.

OMIDI, A. et al. Acute phase proteins, oxidative stress, and antioxidant defense in crib biting horses. **Journal of Veterinary Behavior**, v. 20, p. 31-36, 2017.

ONMAZ, A. C. et al. Oxidative stress in horses after a 12-hours transport period. **Revue MédVét**, v. 162, n. 4, p. 213-217, 2011.

OROZCO, C. A. G. et al. Efeito do exercício sobre variáveis hematológicas de equinos antes e após participação em prova de enduro de 40 km. **ARS Veterinaria**, v. 22, n. 33, p. 179-183, 2006.

OVERMANN, J. Blood proteins and acute phase proteins. In: PUSTERLA, N. H. J. (Eds.). **Interpretation of equine laboratory diagnostics**. Hoboken, NJ: Wiley and Sons, 2018.

PADALINO, B. Effect of transport and exercise on behavior of sport horses. 22-44p. In: PAZ-SILVA, A.; VAZQUEZ, M. S. A.; FERNÁNDEZ, R. S. A. **Horses: animal science, issues and professions**. Nova Science: New York, 2014.

PADALINO, B. Effect of the different transport phases on equine health status, behavior, and welfare: a review. **Journal of Veterinary Behavior**, v. 10, n. 3, p. 272-282, 2015.

PADALINO, B. **Transportation of horses and the implications for health and welfare**. 2017. 305 f. Thesis (Doctor of Veterinary) – University of Sidney, Sidney, 2017.

PADALINO, B.; RAIDAL, S. L. Effects of transportation conditions on behavioral and physiological responses of horses. **Animals**, v. 10, p. 1-18, 2020.

PADALINO, B.; DAVIS, G. L.; RAIDAL, S. L. Effect of transportation on gastric pH and gastric ulceration in mares. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, p. 922-932, 2020.

PADALINO, B. et al. Health problems and risk factors associated with long haul transport of horses in Australia, **Animals**, v. 5, 1296-1310, 2015.

PADALINO, B. et al. Immunological, clinical, haematological and oxidative responses to long distance transportation in horses. **Research in Veterinary Science**, v. 115, p. 78-87, 2017.

PADALINO, B. et al. Behavior during transportation predicts stress response and lower airway contamination in horses. **Plos One**, v. 13, n. 3, p. 1-20, 2018.

PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2010.

PATELLI, T. H. et al. Atividade sérica das enzimas creatina quinase e aspartato amino transferase em equinos submetidos a duas modalidades esportivas. **Pubvet**, v. 10, n. 8, p. 608-614, 2016.

PAZZOLA, M. et al. Responses of haematological parameter, beta-endorphin, cortisol, reactive oxygen metabolites, and biological antioxidant potential in horses participating in a traditional tournament. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 4, p. 1573-1580, 2015.

PERLMUTTER, D.H. α 1-antitrypsin: structure, function, physiology. In: MACKIEWICZ, A.; KUSHNER, I.; BAUMANN, H. **Acute phase protein- molecular biology, biochemistry, and clinical applications**. Boca Raton: CRC Press, 1993.

PERRY, E. et al. Effect of road transport on the equine cecal microbiota. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 68, p. 12-20, 2018.

PIHL, T. H. et al. Acute phase proteins in blood and peritoneal fluid as prognostic markers in horses with colic. In: INTERNATIONAL EQUINE COLIC RESEARCH SYMPOSIUM, 12, 2017, Lexington, KY. **Equine Veterinary Education**, v. 29, n. 8s, p. 34-35, 2017. (Abstract 79).

POLLOCK, P. J. **Studies exploring the potential use of Serum Amyloid A (SAA) and other equine acute phase proteins for the diagnosis, monitoring and prognostication of disease in horses**. 2017. 270 f. Thesis (Ph.D. Veterinary Medicine) – University of Glasgow, Scotland, 2017.

POLYCARP, T. N.; OBUKOWHO, E. B.; YOSOFF, S. M. Changes in haematological parameters and oxidative stress response of goats subjected to road transport stress in a hot humid tropical environment. **Comparative Clinical Pathology**, v. 25, p. 285-293, 2016.

POURMOHAMMAD, R. et al. Evaluation of cardiac troponin I, atrial natriuretic peptide and some oxidative / antioxidative biomarkers in the serum and hemolysate of trained Arabian horses after exercise. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 21, n. 3, p. 211-215, 2020.

QUEIROZ, L. L. et al. Proteínas de fase aguda (PFA) em cães. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 23, p. 1085-1096, 2016.

RAMOS, J. S. et al. Determinação da concentração sérica de proteína de fase aguda em equinos por técnicas espectrofotométricas. **Pubvet**, v.12, n.1, p. 1-7, 2018.

RILEY, C. B. et al. Effects of vehicle type, driver experience and transport management during loading and in-transit on the welfare of road transported horses in New Zealand. **New Zealand Journal of Animal Science and Production**, v. 78, p. 92-95, 2018.

RIZZO, M. et al. Acupuncture needle stimulation on some physiological parameters after road transport and physical exercise in horse. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 48, p. 23-30, 2017.

ROBERTS, R. C. Rat α_2 -macroglobulin and related α -macroglobulins in the acute phase response, chap 12, 223-238. In: MACKIEWICZ, A.; KUSHNER, I.; BAUMANN, H. **Acute phase protein- molecular biology, biochemistry, and clinical applications**. Boca Raton: CRC Press, 1993.

RUBIO, C. P. et al. Biomarkers of oxidative stress in saliva of sheep: analytical performance and changes after an experimentally induced stress. **Research in Veterinary Science**, v.123, p. 71-76, 2019.

RUGGERONE, B. **Oxidative antioxidative compounds as potentials diagnostic and prognostic markers in animals with sirs**. 2018. 80 f. Thesis (PhD in Veterinary and Animal Science) – Università Degli Studi di Milano, Italia, 2018.

SAFI, S. Acute phase proteins: analysis, clinical applications and potentials. In: KHATAMI, M. **Inflammatory diseases: immunopathology, clinical and pharmacological bases**. Iran: Intechopen, 2012.

SALEEN, H. D.; AL-SAMARAIF, R. Plasma superoxide dismutase, malondialdehyde and lymphocyte DNA damage in horses with *Theileria equi* detected by qPCR. **Online Journal of Veterinary Research**, v. 22, n. 6, p. 457-466, 2018.

SALGADO, F. J. et al. Acute phase proteins as biomarkers of disease: from bench to clinical practice. In: VEAS, F. **Acute phase proteins as early non-specific biomarkers of human and veterinary diseases**. Croatia: In Tech, 2011.

SCOPPETTA, F. et al. Plasma protein changes in horse after prolonged physical exercise: a proteomic study. **J. Proteomics**, v. 75, p. 4494-504, 2012.

SELLECK, M. J.; SENTHIL, M.; WALL, N. R. Making Meaningful clinical use of biomarkers. **Biomarkers Insights**, v. 12, p. 1-7, 2017.

SEMBRATOWICZ, I. et al. Effect of dietary flaxseed oil supplementation on the redox status, haematological and biochemical parameters of horse's blood. **Animals**, v. 10, p. 1-12, 2020.

SEREZHENKOV, V. A. et al. Reduced nitric oxide bioavailability in horses with colic: evaluation by ESR spectroscopy. **Biophysics**, v. 65, p. 869-875, 2020.

SHAWAF, T.; EL-DEEB, W. M.; ELGIOUSHY, M. The contribution of specific and non-specific biomarkers in diagnosis of equine gastric ulcer syndrome (EGUS) under field condition. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 84, p. 102-126, 2019.

SHONO, S. et al. The oxidative stress markers of horses—the comparison with other animals and the influence of exercise and disease. **Animals**, v. 10, n. 4, 617, 2020.

SIQUEIRA, R. F.; FERNANDES, W. R. Resposta hematológica de cavalos de enduro que correram diferentes distâncias no período pós-prova. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 3, p. 543-550, 2017.

SOARES, O. A. B. et al. Atividade sérica das enzimas creatina quinase e aspartato aminotransferase de equinos submetidos à biópsia muscular e teste incremental de salto. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v. 14, n. 2, p. 299-307, 2013.

SOFFER, C. Oxidative stress. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 23, p. 135-157, 2007.

SOUTO, P. C. et al., Acute-phase proteins of healthy horses and horses naturally affected by colic syndrome. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 80, p. 1-4, 2019.

SPEIRS, V.C. **Clinical examination of horses**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997, 358p.

SVETE, A. N. et al. Effects of vitamin E and coenzyme Q₁₀ supplementation on oxidative stress parameters in untrained leisure horses subjected to acute moderate exercise. **Antioxidants**, v. 10, n. 6, 2021.

SZEMPLINSKI, K. L. et al. Transporting and exercising unconditioned horses: effect on microflora populations. **Journal of Equine Veterinary Medicine**, v. 90, p. 1-7, 2020.

TERHAAR, H. M.; ALLBAUGH, R. A.; MOCHEL, J. P. Serum albumin and total protein concentration in the tear film of horses with healthy or diseased eyes. **Veterinary Ophthalmology**, v. 24, p. 20-27, 2021.

THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos cavalos**. Botucatu: J. M. Varela, 1984.

THOMPSON, A. R. et al. Evaluation of transport duration on immune response and blood parameters in sedentary horses. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 1, p. 31-45, 2018.

THRALL, M. A. et al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**, 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 1590 p.

TORODOVA, I. et al. Reference values of oxidative stress parameters (MDA, SOD, CAT) in dogs and cats. **Comparative Clinical Pathology**, v. 13, n. 4, p. 190-194, 2005.

TRANQUILLE, C. A. et al. Current knowledge of equine water treadmill exercise: what can we learn from human and canine studies? **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 50, p. 76-83, 2016.

TRIPATHI, A. K.; PANDY, R. P.; SAGAR, R. Evaluation of clinical, hemato-biochemical and oxidative stress parameters in equine colic. **Intas Polivet**, v. 19, n. 3, p. 214-216, 2018.

TSUZUKI, N.; KANBAYASHI, Y.; KUSANO, K. Markers for oxidative stress in the synovial fluid of Thoroughbred horses with carpal boné fracture. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 30, n. 1, p. 13-16, 2019.

TSUZUKI, N. et al. Oxidative stress in Thoroughbred horses after castration surgery under inhalation anesthesia. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, n. 2, p. 77-79, 2016.

TURLO, A. et al. The effect of different types of musculoskeletal injuries on blood concentration of serum amyloid A in Thoroughbred racehorses. **Plos One**, v. 10, n. 10, e0140673, 2015.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. **LSR - Laboratório de sinalização Redox**. Disponível em: <http://www.icb.usp.br/~llopes/apresentacao.html>. Acesso em: 15 mar. 2020.

- VALBERG, S. J. Skeletal muscle function. In: KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. Cambridge: Academic Press, 2008.
- VALLE, E. et al. Effect of competition on acute phase proteins and lymphocyte subpopulations – oxidative stress markers in exerting horses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, p. 1-8, 2015.
- VAN DER BIE, G. **Immunology**: Self and non-self from a phenomenological point of view. Driebergen/Netherlands: Louisbolk, 2006.
- VELÁZQUEZ-CANTÓN, E. et al. Effect of selenium and vitamin E supplementation on lactate, cortisol and malondialdehyde in horses undergoing moderate exercise in a polluted environment. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 69, p. 136-144, 2018.
- VIVEK, P. et al. Effect of different load on physiological, haematological, biochemical, cytokines indices of Zanskar ponies at high altitude. **Bio Rxiv**, v. 11, p. 1-11, 2018.
- VUILLEUMIER, N. et al. Pro-inflammatory role of apolipoprotein A-1 in high-density lipoprotein? **Swiss Medical Weekly**, v. 143, p. 1-12, 2013.
- WALSH, K. A. Proteins, 95-102. In: WALTON, R.M. et al. **Equine hematology, cytology, and clinical chemistry**. 2.ed. New Jersey: Wiley, 2021.
- WANG, J. et al. An enhanced expression of hypothalamic neural nitric oxide synthase in a rat model of simulated transport stress. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 323, p. 1-10, 2019.
- WARAN, N.; LEADON, D.; FRIEND, T. The Effects of transportation on the welfare of horses. In: WARAN, N. (eds). **The welfare of horses**: animal welfare. Dordrecht: Springer, 2007.
- WEISS, D. J.; WARDROP, K. J.; SCHALM, S. **Veterinary hematology**. 6.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.
- WERSALL, A.; GOLEBIEWSKA, E. M.; POOLE, A.W. Platelet secretion. In: GRESELE, P.; KLEIMAN, N.; LOPES, J. **Platelets in thrombotic and non-thrombotic disorders**. Berlin-Germany: Springer, 2017.
- WESSELY-SZPONDER, J. et al. Transport induced inflammatory response in horses. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 18, n. 2, p. 407-413, 2015.
- WESTERMAN, T. L. et al. Evaluation of serum amyloid A and Haptoglobin concentrations as prognostic indicators of horses with inflammatory disease examined at tertiary care hospital. **American Journal of Veterinary Research**, v. 76, n. 10, p. 882-888, 2015.

WESTERMAN, T. L. et al. Evaluation of serum amyloid A and haptoglobin concentrations as prognostic indicators for horses with colic. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 248, n. 8, p. 935-940, 2016.

WILLIAMS, C. A. et al. Comparison of oxidative stress and antioxidant status in endurance horses in three 80-km races. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v. 2, n. 3, p. 153-157, 2005.

WITKOWSKA-PILASZEWICZ, O. et al. Stress response after race and endurance training sessions and competitions in Arabian horses. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 188, p. 1-5, 2021.

ZAK, A. et al. Effect of equine metabolic syndrome on inflammation and acute-phase markers in horses. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 72, p. 1-8, 2020.

ZHAO, F. et al. Effect of long-distance transportation on blood constituents and composition of the nasal microbiota in heathy donkeys. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 338, p. 1-10, 2020.

APÊNDICE A – Registro do projeto de pesquisa na UFV

09/10/2020

SisPPG - Sistema de Pesquisa e Pós-Graduação

DADOS DO PROJETO: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DISTÂNCIAS NO TRANSPORTE DE EQUINOS SOBRE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA, ESTRESSE E COMPONENTES HEMATOLÓGICOS

Número do Projeto:	198706
Número de Registro:	50559273667
Data de Registro:	22/11/2019
Revisão:	Não
Modalidade do Projeto:	Projeto Autônomo
Projeto envolve Organismo Geneticamente Modificado?	Não
Projeto envolve Pesquisa com Seres Humanos?	Não
Projeto envolve Pesquisa com Animais?	Sim → Protocolo de registro do projeto na CEUA: 46/2019
Projeto Relacionado a Treinamento?	Sim
Modalidade do Projeto Relacionado a Treinamento:	Doutorado
Título do Projeto:	Influência de diferentes distâncias no transporte de equinos sobre proteínas de fase aguda, estresse e componentes hematológicos
Palavras Chaves:	Transporte; proteínas de fase aguda; equinos; estresse oxidativo
Grupo de Pesquisa do CNPq Certificado pela UFV:	dgp.cnpq.br/dgp/espelhogrupo/8686985985484260
Área de Conhecimento (CNPq):	Ciências Agrárias - Medicina Veterinária - Patologia Clínica Animal
Linha de Pesquisa:	Métodos Clínicos, Cirúrgicos e Anestésicos Aplicados aos Animais
Resumo dos Objetivos:	A proposta deste estudo é verificar o comportamento de proteínas de fase aguda, biomarcadores de atividade muscular e estresse e estresse oxidativo induzido pelo transporte em distâncias de 50 quilômetros e 300 quilômetros. O transporte de equinos é uma atividade muito comum e inevitável sendo praticada por variados motivos como compra e venda, reprodução, eventos esportivos etc. A mudança do ambiente associada a possíveis desconfortos estimulados pela busca por espaço, quando animais transportados soltos; desgaste energético para manutenção do equilíbrio em diferentes estradas com mudanças de direção; alteração da temperatura ambiente; tipo de piso e laterais do caminhão de transporte; forma de embarcar e desembarcar os animais pode desencadear alteração no status de estresse do animal, possível resposta inflamatória de fase aguda e no estresse oxidativo. Serão analisados os componentes envolvidos em algum resultado inflamatório com a investigação das proteínas de fase aguda amiloide sérica A -SAA, haptoglobina - Hp, fibrinogênio; na atividade muscular através de biomarcadores como o lactato, creatina fosfoquinase - CK; no estresse, o cortisol e no estresse oxidativo verificando o óxido nítrico -ON, superóxido dismutase -SOD, catalase -Cat, glutadiona -GSH e o ácido úrico -AU. Para acompanhar a recuperação dos animais após as duas jornadas serão feitas coletas para análises por sete dias, em nove momentos: T0 - antes da viagem; T1 - imediatamente após o término do trajeto; T2 - seis horas após; T3 - 24 horas após o término; T4 - 48 horas após o término da viagem; T5 - 72 horas; T6 - 96 horas; T7- 120 horas e T8- 144 horas após o término de cada viagem. O intervalo entre as viagens será de 15 dias após a última coleta

09/10/2020

SisPPG - Sistema de Pesquisa e Pós-Graduação

da primeira jornada. Os resultados poderão servir como orientação do tempo ótimo de recuperação dos animais após uma viagem e assim garantir a saúde e o bem estar. Será empregado o pacote estatístico SAEG 9.1 (SAEG/UFV, 2007) para verificação do nível de significância entre os momentos para $P < 0,05$. Os resultados serão publicados e orientações programadas em associações e eventos que envolvam o transporte de equinos.

Local de Execução do Projeto: DVT
 Data de Início: 14/11/2019
 Término Previsto: 15/11/2021
 Departamento: DVT

Projeto Vinculado (Participação em Convênio)

Convênio Não

Fontes de Financiamento

Bolsas: Instituição: CAPES
 Valor - R\$: 105600.00
 Financiamento: --
 Valor Total: R\$ 105.600,00

Equipe do Projeto

Participação	Categoria	Nome	Titulação	Departamento
Líder	Pesquisador	LEANDRO ABREU DA FONSECA	Doutor	DVT
Executor	Estudante	Wilson Pinheiro de Carvalho Filho	Mestre	
Membro	Estudante	Fabricia Modolo Girardi	Mestre	
Membro	Estudante	Andrés Mauricio Ortega Orozco	Mestre	
Membro	Estudante	Thais de Oliveira	Especialização	
Membro	Estudante	Lorraine Rossi Signorelli Machado Dornelas	Mestre	
Membro	Estudante	Pollyanna Cordeiro Souto	Mestre	
Membro	Estudante	Ana Karina Argumedo Jimenez	Graduado	

APÊNDICE B – Resultados 50 km

ANIMAL	TEMPOS	NO	FRAP	SOD	MAD	PROT	VG
		µM	µM	U/mL	nmol/mg proteína	g/dL	%
1	T0	10.79	0.46	29.49	0.45	8.2	30
	T1	16.26	0.44	19.82	0.55	8.2	28
	T2	9.57	0.36	37.56	0.32	8.6	25
	T3	13.44	0.43	26.18	0.35	8.2	34
	T4	10.30	0.49	33.83	0.38	8.2	30
	T5	10.43	0.46	35.05	0.23	8.3	29
	T6	9.54	0.43	35.80	0.23	8.2	28
	T7	10.37	0.48	30.74	0.25	8.2	27
T8	19.34	0.42	16.22	1.50	8.2	26	
2	T0	11.19	0.36	1.72	0.45	7.3	35
	T1	9.25	0.34	36.63	0.22	7.2	32
	T2	14.15	0.47	25.78	0.16	7.6	22
	T3	12.80	0.42	36.33	0.36	7.5	36
	T4	10.79	0.50	36.56	0.31	7.3	37
	T5	13.14	0.55	31.34	0.33	7.1	31
	T6	10.92	0.45	40.66	0.73	7.1	33
	T7	18.60	0.43	19.87	0.31	7.0	31
T8	14.47	0.38	20.99	1.27	7.1	31	
4	T0	7.05	0.29	28.62	0.38	7.5	34
	T1	9.76	0.27	45.22	0.53	7.9	34
	T2	14.13	0.44	25.25	0.45	7.9	34
	T3	12.50	0.44	37.35	0.31	7.9	34
	T4	12.07	0.46	40.01	0.33	7.2	34
	T5	11.03	0.55	40.59	0.21	7.5	34
	T6	9.93	0.49	38.42	0.66	7.2	34
	T7	13.00	0.55	31.82	1.90	7.2	33
T8	10.54	0.41	20.73	1.24	7.1	32	
5	T0	14.13	0.34	19.82	0.30	7.5	32
	T1	10.59	0.30	29.88	0.30	7.2	34
	T2	10.82	0.27	37.74	0.80	7.3	35
	T3	19.78	0.48	32.08	0.19	7.6	35
	T4	9.67	0.51	37.08	0.23	7.0	34
	T5	12.02	0.44	34.01	0.43	7.2	31
	T6	15.79	0.46	28.01	0.34	7.2	34
	T7	12.82	0.52	34.23	1.68	7.1	34
T8	19.29	0.39	12.96	1.37	7.0	35	
6	T0	8.63	0.45	36.63	0.37	7.6	36
	T1	6.87	0.39	21.83	0.45	7.3	34
	T2	7.53	0.31	39.86	0.57	7.8	28
	T3	9.08	0.53	44.12	0.21	7.8	34
	T4	9.98	0.51	34.45	0.35	7.4	33
	T5	7.95	0.46	35.15	0.27	7.8	33
	T6	6.89	0.47	34.89	0.39	7.8	31
	T7	6.94	0.42	40.47	1.75	7.7	33
T8	10.84	0.37	19.49	1.52	7.6	33	

ANIMAL	TEMPOS	Amostra (n°)	NO	FRAP	SOD	MAD	PROT	VG
7	T0	145	8.14	0.41	45.22	0.33	8.0	36
	T1	146	12.51	0.34	30.82	0.63	8.0	32
	T2	147	8.59	0.36	36.90	0.34	7.9	34
	T3	148	8.86	0.48	40.24	0.27	7.5	32
	T4	149	11.74	0.43	29.67	0.42	7.8	34
	T5	150	8.37	0.49	37.39	0.27	7.6	35
	T6	151	9.15	0.53	35.08	0.31	7.5	30
	T7	152	6.18	0.44	44.38	1.91	7.6	35
	T8	153	8.44	0.38	24.32	1.55	7.6	35
9	T0	154	11.41	0.29	29.88	0.22	8.3	37
	T1	155	12.34	0.38	29.99	0.30	8.3	35
	T2	156	13.76	0.41	35.83	0.31	8.6	44
	T3	157	11.33	0.40	38.13	0.34	8.5	47
	T4	158	17.16	0.39	27.08	0.65	8.0	38
	T5	159	9.07	0.50	39.33	0.23	8.5	32
	T6	160	12.65	0.48	32.48	0.50	8.2	35
	T7	161	12.33	0.42	30.09	1.40	8.0	40
	T8	162	19.04	0.38	14.25	1.06	8.0	39
11	T0	163	14.69	0.55	21.83	0.65	8.1	37
	T1	164	12.36	0.30	22.22	0.39	8.0	36
	T2	165	12.48	0.35	33.34	0.28	8.6	42
	T3	166	14.20	0.47	31.77	0.28	8.3	40
	T4	167	17.50	0.47	30.04	0.85	8.0	37
	T5	168	16.01	0.49	34.10	0.21	8.0	34
	T6	169	15.79	0.53	22.51	0.37	8.0	35
	T7	170	14.61	0.55	26.34	1.73	8.0	38
	T8	171	18.77	0.45	14.77	1.30	7.9	35
12	T0	172			29.49		7.2	38
	T1	173	19.15	0.55	23.46	0.27	7.0	35
	T2	174	10.69	0.47	33.49	0.59	7.3	24
	T3	175	13.36	0.58	27.26	0.36	7.5	40
	T4	176	15.52	0.48	24.97	0.51	7.3	37
	T5	177	13.17	0.46	30.76	0.32	7.0	35
	T6	178	10.70	0.50	35.67	0.48	7.0	34
	T7	179	10.60	0.50	35.27	1.81	7.1	38
	T8	180	15.89	0.52	33.37	1.41	7.1	38
13	T0	181	14.12	0.45	28.93	0.37	8.0	41
	T1	182	8.76	0.37	35.21	0.78	8.0	40
	T2	183	9.13	0.46	36.09	0.37	8.2	28
	T3	184	15.33	0.51	34.99	0.33	7.7	36
	T4	185	23.19	0.40	19.84	0.51	7.4	37
	T5	186	14.98	0.50	35.53	0.21	7.6	36
	T6	187	16.42	0.47	29.96	0.38	7.8	35
	T7	188	12.34	0.55	32.25	1.58	7.7	35
	T8	189	18.06	0.43	27.33	1.51	7.6	39
14	T0	190	17.82	0.47	28.62	0.46	7.7	43
	T1	191	14.98	0.50	19.06	0.36	7.2	42
	T2	192	12.46	0.58	29.39	0.21	8.0	36
	T3	193			36.29		8.0	45
	T4	194	15.39	0.56	31.51	0.61	7.7	42
	T5	195	9.37	0.54	25.32	0.27	8.0	44
	T6	196	12.14	0.48	30.71	0.30	8.0	44
	T7	197	12.94	0.59	27.19	1.50	7.8	45
	T8	198	22.11	0.49	17.86	1.50	7.8	43

ANIMAL	LEUCO	SEGME	LINFÓC	MONÓC	EUSINÓ	BASOF
	(x10 ³ /mL)	µL	µL	µL	µL	µL
1	10,800	6912	3348	324	216	0
	17,050	11935	4603	0	510	0
	17,800	13706	3560	534	0	0
	14,200	8094	5822	284	0	0
	13,400	8978	3752	134	536	0
	11,100	6549	3996	444	0	111
	16,500	9075	6765	330	330	0
	17,050	10571	6138	341	0	0
	15,450	8343	6489	433	154	0
2	9,250	5920	2405	370	370	92
	12,100	8107	3267	363	363	0
	15,850	11095	4121	634	0	0
	15,950	7975	7178	638	159	0
	10,800	7452	3024	324	0	0
	13,050	7830	4698	391	130	0
	8,400	5040	3108	84	168	0
	8,700	5916	2349	87	0	0
	12,350	8151	3582	370	246	0
4	9,000	5670	2520	450	360	0
	17,450	10819	5409	349	870	0
	12,150	8262	3402	243	121	121
	12,050	4579	6266	482	600	120
	15,050	6923	6622	602	750	0
	14,200	5112	7384	142	1278	284
	7,150	4290	2431	71	284	71
	10,350	5589	3726	207	824	0
	12,700	6858	5080	254	508	0
5	12,850	7324	4754	385	256	128
	14,500	11890	2320	145	145	0
	10,950	7117	3175	438	109	109
	13,000	4160	7930	390	390	0
	12,300	6519	4797	738	246	0
	13,750	6325	7287	275	0	0
	13,250	7817	4637	265	528	0
	15,750	7087	7087	472	785	314
	14,950	8820	5531	447	149	0
6	9,600	4608	3552	288	960	192
	11,200	6272	3808	224	784	112
	13,950	8649	4185	139	834	139
	13,000	5720	5980	520	650	130
	14,550	8875	4365	145	725	435
	11,250	6862	3600	336	336	0
	18,050	8483	6498	1260	1800	0
	16,950	8983	5254	1356	1183	169
	15,550	6842	7619	465	775	0

ANIMAL	LEUCO	SEGME	LINFÓC	MONÓC	EUSINÓ	BASOF
	(x10 ³ /mL)	µL	µL	µL	µL	µL
7	12,400	7068	3968	248	992	124
	11,500	7245	3910	0	345	0
	13,200	8976	3564	132	528	0
	13,500	7695	4725	270	540	270
	12,200	6710	4148	732	610	0
	11,250	5850	4612	336	448	0
	10,150	6090	3552	202	101	202
	11,700	8775	2340	117	351	117
9	15,150	8938	4848	302	906	151
	10,850	8029	2061	216	540	0
	9,500	7600	1632	95	190	0
	14,150	11744	1981	141	282	0
	12,550	8910	2886	125	500	125
	13,350	9478	3070	133	532	133
	13,250	8612	3842	396	396	0
	11,900	7140	3689	357	714	0
11	15,150	10302	4394	151	302	0
	10,750	6665	3977	107	0	0
	14,650	9083	5127	146	146	146
	15,450	11124	3708	462	154	0
	14,200	6674	6390	568	426	142
	18,400	9752	7360	184	184	184
	14,550	6402	7711	0	435	0
	13,300	6550	5187	532	665	266
12	14,550	9021	5092	290	145	0
	11,000	4950	5170	550	220	110
	11,100	6438	4218	333	111	0
	13,150	6575	6049	393	131	0
	14,050	8289	4777	140	700	140
	12,750	5100	6885	508	254	0
	12,850	7453	4240	128	768	256
	14,050	5760	7868	0	420	0
13	13,400	8040	4422	402	536	0
	15,400	7854	6160	616	616	154
	10,900	6649	3706	218	218	109
	11,800	6844	4248	118	472	118
	17,700	12390	4425	177	531	177
	10,300	6592	3502	206	0	0
	10,150	4973	4567	404	101	0
	15,400	9086	5544	462	308	0
14	14,300	9009	5005	143	143	0
	14,500	8555	5220	290	435	0
	10,950	6022	4708	109	0	109
	8,350	4759	3176	250	83	0
	11,400	5700	5130	228	342	0
	14,150	9197	4245	282	423	0
	17,750	11005	6212	177	177	177
	15,150	5454	8787	755	151	0
13,700	5480	6987	411	822	0	
13,350	5740	6675	665	133	133	
12,500	5250	6000	875	250	125	
13,600	5712	7072	408	272	136	
11,300	5650	4859	452	113	113	

ANIMAL	PLAQUET	LAC	GLI	AST	CK
	(x10 ³ /mL)	mmol/L	mg/dL	U/L	U/L
1	120	1.00	81.0	160.4	83.1
	120	1.75	62.9	128.1	61.8
	190	2.10	83.8	208.1	88.7
	120	1.63	29.6	145.6	91.2
	120	1.50	100.5	172.7	105.6
	160	1.54	83.0	101.5	58.1
	160	1.70	70.7	99.7	68.7
	180	1.81	87.6	35.7	14.4
	200	1.02	69.8	182.4	123.7
2	200	1.34	91.0	98.5	55.6
	200	4.30	97.5	218.6	216.1
	100	2.21	89.4	110.5	101.9
	120	1.44	88.8	187.8	132.4
	160	1.49	86.3	213.0	103.1
	200	1.29	106.1	243.0	123.1
	160	1.38	81.7	207.8	61.2
	180	1.01	103.4	116.5	103.0
4	100	1.26	122.3	168.3	88.7
	128	1.41	119.6	161.4	94.9
	128	1.90	114.3	245.3	521.5
	205	2.84	100.5	171.4	130.5
	260	1.55	105.3	125.5	148.0
	240	1.42	92.1	226.7	158.7
	140	1.32	84.2	210.7	135.5
	200	1.50	83.9	170.3	96.2
5	200	1.71	85.6	185.1	74.3
	220	1.73	85.0	130.3	39.4
	156	1.52	118.2	114.0	155.2
	156	3.20	85.4	164.3	66.2
	188	2.03	97.3	181.0	118.1
	320	1.43	87.0	208.1	285.4
	400	1.48	102.6	180.5	171.1
	160	1.63	107.8	109.2	98.7
	160	1.78	74.3	198.7	149.9
6	180	1.23	88.0	230.6	136.2
	190	1.76	80.0	98.0	36.9
	260	1.71	74.7	175.0	89.9
	260	2.19	61.9	126.5	70.6
	180	1.84	75.0	127.7	311.1
	352	1.65	62.2	136.5	85.6
	240	1.92	84.0	130.3	63.7
	200	1.84	71.1	208.9	198.6
	220	1.70	78.5	166.5	139.9
6	120	1.48	89.8	113.3	72.5
	200	1.65	81.2	166.8	134.9

ANIMAL	PLAQUET	LAC	GLI	AST	CK
7	232	1.55	77.8	205.6	79.3
	232	1.83	83.2	134.9	65.6
	160	2.45	90.8	129.3	58.1
	160	1.89	76.1	112.7	66.2
	200	1.55	87.1	109.9	60.0
	200	1.69	81.8	126.7	199.9
	160	1.58	92.7	132.8	76.8
	160	1.76	78.6	142.5	76.8
	200	1.63	73.0	161.9	121.2
9	160	1.54	89.7	146.4	77.5
	160	1.80	83.7	96.1	57.5
	80	1.95	84.8	147.9	84.3
	120	1.49	88.2	180.1	79.3
	320	1.64	101.0	145.7	73.1
	160	1.53	77.9	145.4	61.2
	100	1.57	75.7	76.0	38.9
	170	1.62	67.3	106.8	144.1
	140	1.52	71.4	106.4	70.4
11	220	1.25	75.8	140.4	93.1
	220	1.64	72.3	136.6	280.9
	160	1.62	78.4	125.6	93.9
	200	1.58	78.4	103.2	56.7
	120	1.49	75.0	124.8	63.1
	240	1.50	73.4	128.2	55.9
	180	1.46	67.4	112.8	91.5
	200	1.41	71.6	103.0	116.6
	200	1.32	73.8	126.6	98.0
12	126	1.38	68.8	123.6	165.1
	126	1.60	76.4	116.8	127.9
	120	1.38	73.8	128.6	71.2
	120	2.30	78.0	120.0	127.9
	180	1.75	79.6	126.2	82.6
	160	1.45	46.6	93.0	51.0
	240	1.91	75.9	118.0	83.4
	130	1.98	84.0	83.6	92.3
	160	1.48	72.1	115.2	72.1
13	168	1.26	67.4	118.0	72.1
	168	1.76	74.5	125.6	72.1
	176	1.82	67.6	90.8	60.7
	240	1.65	80.6	89.6	91.5
	240	1.22	60.3	116.8	62.3
	128	1.36	73.7	93.8	197.5
	160	1.54	80.1	55.6	136.0
	130	1.60	67.9	57.2	21.9
	160	1.37	80.0	53.2	13.0
14	160	1.46	85.9	134.6	56.7
	160	1.80	72.6	132.0	72.9
	160	1.53	66.2	130.6	68.0
	220	1.45	74.3	114.2	72.1
	200	1.34	67.2	92.0	55.1
	180	1.41	65.3	111.6	100.4
	120	1.25	58.8	116.4	67.2
	200	1.53	73.5	83.8	157.0
	160	1.40	67.0	122.4	100.4

ANIMAL	ALF 2	CP	TRF	ALB
	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
1	99.4	80.13	667.65	2600.0
	244.6	83.25	219.89	3300.0
	125.0	134.24	1161.31	2900.0
	320.0	142.73	917.15	3300.0
	111.7	87.52	630.68	2300.0
	125.0	130.16	617.18	2400.0
	101.8	65.36	694.55	2700.0
	76.9	57.78	876.03	2600.0
	95.0	61.71	433.79	3900.0
2	116.1	71.52	424.99	3100.0
	238.9	115.47	825.14	3500.0
	229.3	166.11	707.05	3500.0
	278.2	165.82	1,082.9	2700.0
	48.3	56.71	412.12	3200.0
	223.1	148.72	839.05	2800.0
	335.4	161.68	826.86	2700.0
	226.3	125.91	620.34	2900.0
	248.7	147.05	935.06	3500.0
4	116.4	190.88	979.32	3800.0
	192.6	162.35	1080.11	2900.0
	121.4	152.61	810.65	3300.0
	338.2	127.88	1510.74	3100.0
	165.9	159.88	1366.03	2600.0
	128.6	100.39	644.00	2700.0
	206.7	89.80	1275.50	3000.0
	115.6	48.11	1230.57	2700.0
	147.5	51.90	1002.33	3900.0
5	62.6	202.66	909.53	5900.0
	197.7	159.36	779.49	5200.0
	165.5	91.61	920.29	5700.0
	187.6	117.73	1104.38	3800.0
	120.5	55.30	683.69	3400.0
	179.0	121.51	1105.17	2800.0
	116.1	71.52	424.99	3100.0
	216.6	126.61	1063.82	2400.0
	126.6	65.95	631.25	2900.0
6	155.2	105.85	779.62	3300.0
	126.4	42.26	847.34	3300.0
	67.6	23.94	718.21	3300.0
	180.3	67.10	1,243.1	3400.0
	103.7	29.84	717.65	3400.0
	94.7	24.30	875.60	3300.0
	100.4	38.52	827.71	3300.0
	140.0	52.77	878.42	3400.0
	211.2	104.90	914.25	3200.0

ANIMAL	ALF 2	CP	TRF	ALB
7	86.6	82.53	778.47	2400.0
	45.8	40.12	642.29	2400.0
	39.2	55.88	748.47	2300.0
	30.1	63.28	656.89	2500.0
	30.6	38.94	553.82	2500.0
	93.7	65.77	429.17	2300.0
	241.4	102.98	800.46	2300.0
	195.7	120.90	940.80	2300.0
	69.2	64.27	629.67	2400.0
9	84.8	56.20	736.21	2800.0
	77.8	66.49	419.69	2600.0
	27.2	41.40	249.38	2900.0
	34.6	68.76	582.61	2800.0
	114.7	77.81	490.82	2600.0
	116.6	73.24	519.39	2700.0
	204.6	110.43	693.08	2800.0
	165.7	122.72	680.38	2700.0
	142.0	66.06	431.22	2700.0
11	92.7	31.80	331.34	2500.0
	218.2	55.26	930.16	1900.0
	181.4	113.76	777.88	2500.0
	111.0	103.27	564.74	2800.0
	182.3	92.91	941.48	2700.0
	153.1	72.13	859.62	2600.0
	104.0	98.43	909.87	2600.0
	116.8	63.73	594.76	2700.0
	83.8	42.67	506.88	2600.0
12	116.5	35.96	459.93	2900.0
	104.8	59.62	939.37	2800.0
	105.1	38.48	573.52	3000.0
	191.3	83.15	956.72	2900.0
	197.4	70.34	658.07	2900.0
	206.3	80.12	878.77	2800.0
	209.7	80.86	656.07	2900.0
	165.3	113.87	1,580.0	3100.0
	167.7	61.04	929.41	3000.0
13	136.2	41.52	424.99	3100.0
	189.3	53.87	870.59	3100.0
	181.8	47.76	1,062.6	3900.0
	72.0	60.37	381.27	2800.0
	88.7	38.81	582.50	2800.0
	152.2	34.07	721.83	2700.0
	91.6	66.57	619.11	2900.0
	99.8	96.37	633.81	2800.0
	76.9	61.84	435.79	2800.0
14	70.7	17.20	635.23	2900.0
	86.8	44.48	622.67	2900.0
	125.2	39.98	935.08	2900.0
	76.2	29.33	584.92	3100.0
	72.4	28.93	460.07	2421.4
	70.4	15.41	769.39	2900.0
	126.4	34.28	749.28	3100.0
	66.0	54.81	215.83	3100.0
	181.8	79.80	746.01	2514.3

ANIMAL	ALF 1	HP	GPA	APO A1
	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
1	282.51	318.52	102.38	585.9
	549.46	219.89	211.76	525.1
	469.08	394.32	137.86	970.8
	315.54	559.79	152.39	611.4
	289.43	338.30	73.95	628.7
	409.41	288.59	189.00	709.5
	310.64	258.02	143.63	800.4
	505.24	458.56	147.48	880.3
	228.01	255.51	125.56	734.0
2	772.04	139.56	163.46	1037.2
	466.29	302.47	93.69	986.2
	443.79	300.24	137.66	927.4
	413.56	466.81	69.68	935.3
	198.94	225.64	75.36	703.8
	457.16	342.89	143.29	544.0
	570.77	321.28	116.40	918.1
	387.25	282.33	139.29	619.6
	551.83	357.51	87.74	888.7
4	387.42	214.52	100.96	838.2
	340.10	365.16	205.45	1165.1
	184.91	269.72	162.28	756.6
	409.96	538.32	290.22	966.3
	340.05	618.12	397.79	510.2
	189.95	351.13	151.26	244.7
	317.10	620.12	112.11	729.5
	200.00	572.74	194.49	674.7
	110.53	510.09	165.65	567.1
5	183.67	438.89	191.67	667.1
	158.92	520.22	149.69	698.9
	418.55	666.99	250.71	517.3
	251.19	573.71	238.97	670.4
	281.02	478.50	147.68	602.9
	317.60	270.91	203.03	1391.4
	150.30	139.56	137.23	806.3
	326.11	194.96	196.57	1403.2
	130.57	185.78	127.76	858.0
6	341.28	214.53	156.19	935.3
	380.71	220.50	139.47	334.4
	320.31	150.77	110.00	692.7
	394.74	225.91	138.91	878.1
	260.54	125.40	94.57	791.5
	254.32	243.25	146.61	587.6
	246.69	404.76	72.21	535.4
	338.23	204.30	149.16	782.9
	272.19	282.79	213.46	703.0

ANIMAL	ALF 1	HP	GPA	APO A1
7	236.14	204.78	138.96	771.9
	94.17	157.08	63.80	547.8
	110.12	98.90	69.90	514.5
	165.07	220.77	112.81	1286.3
	219.08	331.55	140.39	1444.6
	222.26	183.84	196.68	542.0
	630.53	350.74	197.04	847.2
	233.43	327.98	138.70	765.9
	402.00	145.74	115.82	122.6
9	438.60	69.34	34.00	269.1
	398.89	84.02	59.54	405.3
	80.84	139.82	49.70	240.9
	198.01	378.68	83.96	345.0
	216.24	237.80	57.27	338.0
	151.22	123.61	170.03	820.8
	306.90	208.36	139.83	1525.9
	375.61	110.52	70.92	696.6
	186.56	127.69	78.85	790.6
11	76.82	241.95	98.98	354.1
	243.03	272.52	121.76	719.8
	1,183.8	384.77	131.08	488.2
	163.08	252.67	210.28	735.5
	278.72	303.98	192.93	904.7
	335.15	176.57	38.04	1083.2
	451.20	161.04	29.23	991.4
	206.74	157.85	101.66	561.2
	325.27	175.81	63.20	563.5
12	206.43	119.00	49.63	429.2
	287.24	173.11	67.73	702.8
	287.96	137.23	66.83	502.8
	212.56	211.62	104.51	667.5
	271.80	164.32	88.07	760.0
	481.75	210.88	100.26	659.3
	341.90	217.65	101.83	539.8
	229.34	212.89	118.78	667.2
	350.45	207.81	90.96	644.9
13	272.04	139.56	163.46	1037.2
	412.09	296.46	276.72	1069.4
	827.62	304.80	168.81	1297.0
	228.43	147.64	93.24	543.9
	228.13	361.47	140.21	519.1
	372.27	174.25	139.36	676.0
	173.14	105.26	143.14	607.6
	237.86	258.78	95.29	708.0
	164.13	390.91	132.54	709.9
14	313.42	143.40	79.78	742.4
	501.07	145.56	103.35	778.5
	360.09	263.59	124.22	813.2
	250.37	179.26	71.27	602.8
	204.43	76.25	77.38	493.0
	353.14	120.51	92.28	861.2
	143.49	86.44	67.85	807.1
	563.31	213.47	148.68	844.0
	590.67	170.04	104.03	881.6

APÊNDICE C – Resultados 300 km

ANIMAL	TEMPOS	NO	FRAP	SOD	MAD	PROTEIN	VG
		µM	µM	U/mL	nmol/mg proteína	g/dL	%
1	T0	10.85	0.40	35.05	0.79	8.1	35
	T1	3.67	0.36	0.20	0.72	8.1	30
	T2	10.33	0.39	1.78	0.63	8.2	29
	T3	15.67	0.35	2.18	0.49	8.2	35
	T4	15.00	0.45	1.88	0.72	8.1	29
	T5	3.67	0.38	3.96	0.51	8.3	32
	T6	10.33	0.42	5.05	0.77	8	29
	T7	18.33	0.45	2.67	0.54	8.1	29
	T8	9.00	0.40	3.76	0.87	8	31
2	T0	5.61	0.39	2.87	0.67	7.2	34
	T1	1.67	0.31	4.06	0.95	7.6	31
	T2	3.00	0.36	5.64	1.12	7.3	34
	T3	6.33	0.42	3.66	0.71	7.5	37
	T4	5.67	0.44	3.37	0.81	7.6	35
	T5	8.33	0.35	3.66	6.81	7.7	33
	T6	4.33	0.25	3.96	1.16	7.6	32
	T7	14.33	0.40	4.65	0.86	7.5	30
	T8	13.67	0.37	4.46	0.71	7.8	32
4	T0	4.69	0.44	21.64	0.57	7.1	34
	T1	3.00	0.34	6.24	0.80	7.3	31
	T2	4.33	0.40	6.24	1.20	7.1	30
	T3	6.33	0.41	2.97	0.86	7.6	32
	T4	13.67	0.50	4.55	0.87	7.4	34
	T5	27.00	0.36	4.65	0.93	7.4	34
	T6	6.33	0.35	3.66	1.33	7	30
	T7	3.67	0.35	25.54	1.17	7.2	33
	T8	4.33	0.33	7.23	1.28	7	32
5	T0	16.03	0.40	25.67	0.48	7.5	35
	T1	1.67	0.31	9.01	1.20	7.4	36
	T2	3.67	0.28	5.45	6.20	7.2	32
	T3	21.00	0.44	3.96	0.94	7.6	38
	T4	6.33	0.38	5.74	0.82	7.6	35
	T5	1.67	0.30	6.04	0.71	7.4	35
	T6	1.00	0.41	7.62	1.06	7.2	30
	T7	16.33	0.34	6.83	0.92	7.4	34
	T8	13.67	0.33	7.03	1.12	7.2	32
6	T0	7.72	0.39	32.63	0.45	7.2	35
	T1	1.00	0.32	6.93	0.94	7.3	35
	T2	3.67	0.41	8.12	0.69	7.3	31
	T3	7.67	0.42	2.18	1.09	7.5	36
	T4	2.33	0.41	7.03	0.69	7.4	37
	T5	4.33	0.36	7.13	0.77	7.5	36
	T6	1.00	0.40	6.44	0.84	7.2	36
	T7	2.33	0.26	9.90	0.92	7.2	35
	T8	1.67	0.41	9.90	1.02	7.2	35

ANIMAL	TEMPOS	NO	FRAP	SOD	MAD	PROTEIN	VG
7	T0	9.64	0.38	43.09	0.40	7.6	33
	T1	3.67	0.47	18.81	1.27	7.9	32
	T2	4.33	0.48	6.04	1.23	7.5	34
	T3	9.67	0.47	6.83	1.32	8	39
	T4	81.00	0.88	7.13	1.09	8	37
	T5	13.00	0.36	9.41	1.02	7.8	35
	T6	3.00	0.42	8.02	0.65	7.3	34
	T7	7.00	0.37	8.32	0.86	7.4	34
9	T8	6.33	0.39	9.01	0.94	7.5	35
	T0	13.47	0.30	19.01	0.83	8	36
	T1	6.33	0.42	4.85	0.76	8.2	37
	T2	3.67	0.37	6.44	1.08	8	37
	T3	8.33	0.49	6.63	1.07	8.3	46
	T4	79.00	0.75	12.18	0.93	8	44
	T5	3.00	0.39	8.32	1.48	8.2	40
	T6	6.33	0.44	8.12	0.95	8	36
11	T7	16.33	0.39	7.23	1.04	8.2	37
	T8	7.00	0.46	5.64	1.52	8.1	35
	T0	15.89	0.33	15.42	0.76	7.6	36
	T1	3.67	0.35	7.13	1.71	7.6	34
	T2	5.67	0.38	6.93	1.50	8	36
	T3	12.33	0.42	7.33	1.25	8	44
	T4	17.00	0.39	7.13	1.36	7.8	40
	T5	9.00	0.56	7.23	1.22	7.9	41
12	T6	14.33	0.39	7.23	1.50	7.5	40
	T7	15.67	0.44	7.62	0.92	7.6	40
	T8	14.33	0.38	3.86	1.24	7.4	35
	T0	11.00	0.42	25.49	0.35	6.9	34
	T1	11.00	0.56	7.13	1.22	7	33
	T2	6.33	0.53	9.11	1.77	7	35
	T3	3.00	0.38	6.14	1.82	7.2	36
	T4	9.67	0.47	5.84	1.72	7	35
13	T5	1.67	0.49	4.95	1.46	7	34
	T6	65.67	0.46	4.46	1.15	6.8	34
	T7	10.33	0.38	0.89	1.94	6.8	33
	T8	8.33	0.40	6.24	1.67	6.8	34
	T0	15.27	0.45	26.92	0.40	7.8	40
	T1	23.00	0.45	8.51	1.62	7.5	38
	T2	4.33	0.48	6.44	1.34	7.3	39
	T3	26.33	0.53	4.46	1.57	7.1	37
14	T4	20.33	0.54	6.93	1.32	7.5	41
	T5	14.33	0.49	4.46	1.04	7.3	38
	T6	6.33	0.43	2.48	1.23	7.4	40
	T7	22.67	0.41	3.47	1.97	7.5	40
	T8	25.17		3.96	1.86	7.4	37
	T0	19.17	0.48	28.02	0.32	7.8	45
	T1	9.34	0.50	1.57	1.88	7.2	40
	T2	7.67	0.44		1.87	7.5	44
14	T3	26.83	0.58	3.77	1.62	7.9	46
	T4	8.52	0.68	4.61	1.46	7.7	46
	T5	14.33	0.62	0.84	1.39	7.5	48
	T6	7.67	0.62	0.10	1.06	7.5	44
	T7	17.67	0.64	0.84	1.15	7.6	45
	T8	36.83	0.58	0.10	0.43	7.3	46

ANIMAL	LEUCOC	SEG	LINF	MON	EOS
1	11,550	5891	5082	115	460
	14,650	10987	3516	146	0
	16,550	12743	3310	495	0
	14,700	8967	4557	882	294
	12,950	8288	4144	387	129
	15,950	9091	6061	477	318
	11,100	6216	4107	111	555
	15,400	9240	5390	154	462
	11,000	7700	2860	220	110
2	17,050	4371	6308	0	170
	18,500	16280	2220	0	0
	16,250	11537	4387	162	162
	12,150	7897	3280	121	847
	15,800	9954	4582	158	790
	16,450	9047	5757	1148	158
	13,150	9103	4602	0	262
	14,450	9392	4190	288	864
	13,100	8515	3668	524	262
4	11,700	6084	5031	234	351
	12,200	7808	3660	244	488
	13,150	8679	4076	131	262
	12,100	6776	4356	242	726
	10,050	5829	3618	200	300
	10,000	4800	4200	500	500
	11,350	6102	4426	226	565
	6,850	3973	2534	136	339
	10,650	6070	4260	0	318
5	13,300	7714	5054	266	266
	18,400	12512	5152	0	736
	11,750	7990	3642	0	0
	13,900	7228	6116	278	0
	18,350	9909	7890	183	366
	14,900	7599	6705	298	149
	15,900	7950	6678	477	636
	13,850	8587	4847	0	414
	12,500	6000	6000	125	375
6	11,400	5472	4674	342	798
	12,350	9880	1729	0	738
	13,000	8450	3770	130	520
	15,650	7981	5790	936	936
	10,450	5434	3657	624	624
	11,700	4680	5265	351	1287
	12,200	6466	4758	244	732
	15,200	8360	5928	152	608
	15,900	7632	6519	159	14.31

ANIMAL	LEUCOC	SEG	LINF	MON	EOS
7	11,500	7015	3795	230	460
	19,700	13790	4531	197	1182
	19,800	14256	5148	198	198
	18,450	9963	4988	1104	920
	16,800	10584	4368	672	840
	14,750	9735	4130	0	735
	11,200	6048	4144	112	784
	15,050	8879	4665	300	105
9	11,800	6490	4248	118	944
	12,050	7350	4338	0	360
	15,350	11819	3223	120	120
	15,900	12720	2703	477	0
	18,150	11253	5263	724	905
	16,250	11862	3737	324	324
	18,650	12495	4289	558	930
	14,650	9376	4102	292	876
11	11,550	6352	3811	230	1035
	12,000	6120	4200	240	1320
	9,650	7044	2605	0	0
	15,350	11052	3991	306	0
	13,850	9833	3878	0	138
	12,200	6344	5490	122	244
	10,650	6283	3514	318	488
	13,150	7758	4471	524	262
12	11,700	6084	5265	117	234
	8,550	4617	3249	425	255
	8,500	5695	2465	340	0
	6,400	3200	3008	192	0
	18,650	11190	6527	0	744
	16,450	10692	4441	492	328
	13,450	5380	4801	0	268
	10,050	5929	3417	400	300
13	11,650	5825	4543	348	696
	10,550	5591	4114	315	420
	9,200	5336	3036	276	276
	12,100	6171	5082	605	242
	9,000	4590	4320	0	90
	10,350	7659	2380	0	309
	15,700	11618	3925	157	0
	15,000	8850	4950	450	450
14	13,850	8033	5354	276	0
	13,400	7102	5494	134	536
	12,950	6604	5439	387	516
	9,600	5280	3840	192	192
	9,350	5329	3646	279	93
	8,500	4420	3825	85	170
	10,300	5871	3605	515	206
	11,250	6637	4387	112	112
14	19,900	9154	4353	199	796
	12,950	5698	6345	516	129
	13,500	5400	7425	270	405
	11,900	5712	5236	595	119
	13,300	6118	6650	266	266
	14,250	6555	6840	284	426

ANIMAL	BASO	PLAQT	CK	AST	GLI	LACTATO
	uL		U/L	U/L	mg/dL	mmo/L
1	0	144	124.35	143.6	72.7	0.99
	0	208	148.7	141.8	113.6	1.13
	0	200	89.57	161.1	83.5	1.71
	0	100	140.87	170.5	50.9	1.16
	0	205	165.22	201	75.6	1.61
	0	140	197.91	232.1	42.1	0.75
	111	122	192.17	244.9	45.8	0.72
	154	180	152.17	232.5	74.1	0.71
	110	160	110.43	144.9	71	0.86
2	0	142	163.48	165.3	75.3	1.36
	0	188	189.57	19.8	113.6	2.84
	0	140	85.22	156	91.3	2.18
	0	110	133.04	170.3	72.9	1.34
	316	132	81.74	137.8	61.6	1.6
	328	120	77.39	122.6	81.1	0.92
	0	120	94.78	131.9	79.4	0.82
	0	156	94.78	141.1	78.6	0.72
	131	120	112.17	128.1	69	0.91
4	0	240	106.09	165.9	89.1	1.49
	0	168	146.96	226.8	139.1	1.67
	0	160	74.78	211.7	111.9	1.29
	0	160	126.09	280.09	77.1	1.19
	100	200	73.4	135.9	73.8	1.51
	0	148	111.3	169.9	68.5	0.64
	0	126	128.7	170.5	74.8	0.69
	0	160	120.87	179.3	74.1	0.75
	0	140	157.39	286	78	0.59
5	0	138	134.78	155.3	75.2	1.56
	0	300	173.04	220.9	93.9	1.06
	117	140	179.13	297.8	90.8	1.13
	278	100	157.39	240.5	82.6	1.04
	0	140	68.7	203.7	68.4	1.2
	149	156	113.91	274.7	75.1	0.63
	159	100	87.83	198.9	56.1	0.6
	0	80	92.17	276.6	65.3	0.49
	125	80	144.35	210.4	64.7	0.46
6	114	240	190.43	193.2	65.2	1.68
	123	188	156.52	268.8	103.7	1.7
	130	140	99.13	269	75.5	1.59
	0	156	83.48	259.4	64.4	1.17
	104	140	144.35	248.6	63.9	1.42
	117	148	166.09	220.9	52.4	0.88
	0	112	156.52	259.4	60.4	0.97
	152	140	107.83	198.2	62.10	0.71
	159	112	136.52	329.9	50.8	0.86

ANIMAL	BASO	PLAQT	CK	AST	GLI	LACTATO
7	0	220	147.83	159.4	67	1.27
	0	189	314.78	214.4	122.9	1.81
	0	140	118.26	190.3	89	1.53
	368	140	192.17	225.5	76.1	1.05
	336	140	84.35	251.4	71.9	1.39
	147	160	120.88	263.6	56.3	1.09
	112	120	103.48	190.3	65.1	0.71
	150	140	131.3	333.5	59.4	0.94
9	0	140	135.65	197.4	50.3	0.63
	0	208	125.22	151.6	64.7	0.97
	0	216	168.7	164.9	98.1	1.43
	0	140	115.65	159.4	74.8	1.68
	0	100	141.74	164.9	68.1	1.31
	0	100	97.39	157.5	56.3	1.44
	372	132	150.43	200.8	58.5	0.76
	0	120	92.17	190.7	54	0.95
11	115	136	109.57	227.4	74.9	0.76
	120	150	125.22	168.8	61.4	0.57
	0	176	166.96	184.8	83	1.26
	0	212	173.91	217.8	126.8	1.33
	0	160	98.26	192.6	98.7	1.46
	0	200	156.58	223.7	74.9	1.08
	122	160	99.13	154.8	70.3	1.66
	162	210	130.43	155.8	84.8	0.94
12	0	150	95.65	160.2	86.4	0.83
	0	196	123.48	253.1	83.9	1.32
	0	140	150.43	282.9	85.9	0.85
	0	178	205.65	166.2	83.5	1.13
	186	306	294.74	353.6	131.6	1.24
	328	100	173.91	324	74.8	0.99
	0	128	152.17	176	86.3	1.15
	0	160	83.48	165.1	79.9	1.25
13	232	100	138.26	219.9	65.1	0.78
	105	120	135.65	233.4	81.5	0.59
	276	120	139.13	233.7	82.9	0.91
	0	280	16.96	380.3	73	0.77
	0	200	226.96	179.9	87.6	1.27
	0	208	201.74	234.4	96.1	1.73
	0	120	213.04	235.6	89.8	2.92
	300	90	184.35	311.2	67.3	1.68
14	0	180	144.35	274.1	72.5	1.58
	134	100	140	255.4	76.9	1.03
	0	105	146.09	283.5	72.4	1.39
	96	128	120	232	86.3	1.32
	0	150	276.52	302.4	79.3	1.32
	0	168	195.65	146.9	83.3	1.31
	85	244	126.09	170.7	108.3	1.77
	0	100	242.61	242.8	96.5	1.23
14	224	120	213.04	268.4	96.1	1.53
	238	280	181.74	226	65	1.45
	0	120	271.3	284.1	87.1	1.53
	119	140	226.96	265.9	95.5	1.34
	0	132	138.26	231.4	85.8	1.30
	142	140	238.26	278	77.1	1.45

ANIMAL	ALF 2	CP	TRF	ALB	ALF 1
	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
1	123.01	70.46	242.9	2200	267.71
	61.09	40.32	652	2,400	273.27
	207.08	161.07	368.17	2,200	265.71
	237.12	188.53	230	2,100	199.45
	81.98	76.62	239.69	2,400	144.98
	90.22	101.72	227.62	2,800	145.87
	180.99	105.57	284.63	2,300	185.28
	190.25	98.92	272.83	2,500	237.85
	79.65	77.34	179.07	2,400	77.89
2	164.1	133.72	266.2	2,200	162.95
	108.72	98.61	664.77	2,500	208.7
	195.46	91.03	426.29	2,400	250.2
	254.5	125.75	320.11	2,300	578.62
	124.73	64.32	289.32	2,300	241.12
	188.99	78.18	467.46	2,200	231.12
	170.64	84.46	376.72	2,300	301.93
	154.46	127.84	333.1	2,500	354.34
	231.63	118.18	450.18	2,800	878.27
4	262.93	132.07	455.18	2,400	706
	165.72	95.35	356.84	2,500	280.45
	185.53	117.69	473.82	2,200	606.91
	209.47	138.56	578.73	2,200	337.2
	271.06	151.25	510.53	2,700	407.59
	224.34	113.51	379.93	2,500	375.34
	288.94	167.82	456.57	2,700	390.91
	156.48	107.23	356.14	2,900	423.79
	199.19	159.94	466.12	2,100	542.66
5	112.77	81.78	358.45	2,500	156.5
	55.28	70.84	757.55	2,700	174.06
	49.65	44.23	546.55	2,500	136.16
	167.55	114.13	508.77	2,600	426.65
	92.21	77.41	481.68	2,600	85.17
	130.92	134.97	523.72	2,600	127.23
	180.86	147.05	761.6	2,600	256.83
	259.08	112.18	612.57	2,800	403.8
	376.71	191.33	602.88	2,900	470.83
6	124.26	63.57	543.78	3,200	250.87
	206.94	113.81	802.89	2,900	317.68
	288.51	279.03	978.18	3,600	269.65
	435.89	219.16	1,098.8	3,400	414.63
	401.49	157.98	995.72	2,600	287.76
	160.36	161.48	694.32	2,700	340.66
	181.82	114.09	676.33	3,200	277.27
	99.44	90.02	584.21	2,300	267.65
	180.28	105.41	479.33	3,000	111.55

ANIMAL	ALF 2	CP	TRF	ALB	ALF 1
7	128.88	82.29	626.96	2,400	335.07
	203.26	108.56	825.98	2,600	265.18
	273.55	158.16	751.8	2,300	193.24
	202.94	131.51	735.82	2,200	206.77
	176.57	132.09	638.01	2,100	151.05
	192.3	154.19	758.34	2,200	206.57
	133.23	96.31	399.49	2,500	250.09
	135.7	95.21	619.89	2,800	229.92
9	191.92	138.56	519.27	2,200	266.61
	69.23	85.29	418.17	2,400	290.51
	130.52	123.83	626.79	2,700	115.31
	108.67	69.93	502.93	2,900	95.13
	151.5	105.87	543.8	2,700	234
	105.34	104.59	561.8	2,300	119.88
	57.7	61.51	250.29	2,600	31.65
	187.25	125.76	503.59	2,400	168.7
11	51.97	70.54	605.13	2,300	374.83
	145.95	162.57	727.42	2,400	178.67
	285.57	127.87	1,006.9	2,500	272.47
	294.17	131.37	614.47	3,100	314.14
	304.44	157.52	710.16	2,700	412.26
	224.29	134.27	658.05	2,300	194.69
	189.23	102.67	553.5	2,300	284.06
	176.86	135.36	789.74	3,200	235.65
12	177.64	129.85	625.44	2,300	232.26
	335.73	193.65	1,224.2	2,600	248.55
	194.64	131.25	750.28	3,000	187.04
	327.88	178.69	941.14	3,200	281.98
	236.77	118.08	814.12	2,800	197.82
	266.82	133.77	1,017.7	3,000	268.22
	321.42	134	945.21	2,600	364.14
	173.44	137.77	566.69	2,200	150.76
13	73.55	49.73	458.29	2,800	200.75
	173.9	73.16	442.39	3,600	135.68
	153.17	80.13	579.14	2,700	251.37
	222.01	147.57	919.16	2,600	177.99
	114.04	143.15	649.2	2,700	223.33
	173.81	102.2	671.13	2,600	174.84
	168.9	167.44	714.33	2,600	429.34
	77.53	127.55	364.48	3,000	142.22
14	88.68	38.81	582.5	2,800	228.13
	152.22	34.07	721.83	2,700	372.27
	91.62	66.57	619.11	2,900	173.14
	99.76	96.37	633.81	2,800	237.86
	76.87	61.84	435.79	2,800	164.13
	381.96	157.53	399.57	2,900	218.6
	149.59	112.47	844.99	2800	425.84
	239.58	81.86	731.69	2600	260.76
14	303.82	125.77	841.25	3200	239.78
	295.45	174.77	773.73	2800	215.5
	130.31	91.68	583.05	2800	123.4
	376.01	141.96	946.17	2900	411.33
	281.27	127.79	821.75	2500	337.31
	207.61	118.18	730.28	2700	260.34

ANIMAL	HP	GPA	APO A1
	mg/dL	mg/dL	mg/dL
1	83.92	145.4	268.34
	206.84	146.96	473.3
	332.27	142.9	346.73
	355.25	138.27	346.18
	268.53	74.33	169.85
	280.02	118.08	181.41
	252.19	152.07	392.06
	122.38	82.49	225.33
	214.37	52.39	68.31
2	307.92	113.64	219.98
	234.39	168.86	223.02
	222.48	120.48	527.49
	248.07	75.49	638.55
	167.55	41.62	333.71
	76.23	13.63	240.58
	130.61	40.75	177.48
	182.74	58.04	239.98
	176.21	57.99	440.99
4	229.44	67.58	504.6
	173.32	64.27	369.58
	305.5	84.34	303.34
	334.73	110.16	318.29
	259.93	96.08	276.39
	236.54	94.13	366.63
	248.27	85.73	400.28
	222.45	133.11	364.13
	451.7	140.86	407.66
5	143.89	88.41	516.51
	160.37	62.55	428.17
	146.24	67.22	380.99
	280.23	91.02	585.87
	209.09	43.46	430.09
	250.24	97.83	511.67
	271.47	93.38	741.8
	250.09	73.69	674.54
	235.76	79.67	821.08
6	121.25	34.17	244.79
	254.02	67.47	384.54
	300.6	174.67	618.59
	395.89	206.92	518
	342.28	178.07	474.25
	288.38	67.17	490.59
	160.09	61.35	405.45
	233.28	51.59	650.72
	152.28	58.42	383.23

ANIMAL	HP	GPA	APO A1
7	221.05	47.47	301.87
	300.46	63.49	218.09
	272.01	73.22	267.49
	230.81	89.38	237.13
	323.56	58.8	133.63
	307.78	77.58	138.71
	326.67	115.74	324.43
	296.04	96.56	125.52
	451.54	146.95	759.16
9	146.55	187.79	472
	156.89	60.65	209.32
	101.35	32.07	241.11
	217.65	57.66	198.31
	168.71	68.16	166.55
	161.87	45.24	47.87
	336.75	83.26	562.98
	189.66	44.48	349.49
11	418.63	251.2	699.3
	285.49	203.12	684.41
	862.71	29.62	552.97
	306.96	173.9	534.85
	175.42	92.05	108.36
	196.52	172.96	347
	123.42	39.84	302.9
	151.91	49.1	363.46
12	182.67	63.08	417.17
	215.37	41.1	315.24
	274.09	50.98	679.92
	159.3	177.07	587.16
	236.03	118.15	653.25
	233.43	94.5	794.19
	123.33	106.68	365.44
	104.25	61.67	214
13	88.71	33.12	221.02
	129.81	35.28	289.69
	162	17.88	272.08
	104.56	24.42	205.76
	167.18	84.12	290.45
	231.99	68.8	448.51
	140.18	51.15	287.57
	361.47	140.21	519.14
14	174.25	139.36	675.98
	105.26	143.14	607.61
	258.78	95.29	707.96
	390.91	132.54	709.92
	153.27	140.37	569.96
	444.55	139.83	952.84
	287.7	68.89	868.98
	480.55	294.16	821.03
14	377.37	130.59	753.33
	276.86	108.26	615.12
	482.27	138.38	903.22
	442.98	131.33	889.03
	452.92	169.19	952.44