

WILSON PINHEIRO DE CARVALHO FILHO

**PROTEÍNAS DE FASE AGUDA E SUA RELAÇÃO COM BIOMARCADORES
DE ATIVIDADE MUSCULAR DE EQUINOS SUBMETIDOS A EVENTO DE
HIPISMO CLÁSSICO**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C331p
2017

Carvalho Filho, Wilson Pinheiro de, 1964-

Proteínas de fase aguda e sua relação com biomarcadores de atividade muscular de equinos submetidos a evento de hipismo clássico / Wilson Pinheiro de Carvalho Filho. – Viçosa, MG, 2017.

xi, 41f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Leandro Abreu da Fonseca.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.32-37.

1. Equino. 2. Exercício. 3. Inflamação. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. II. Título.

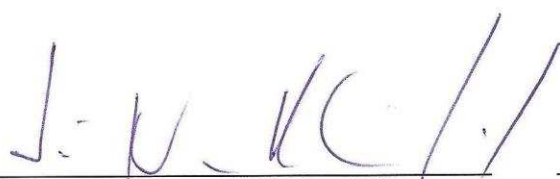
CDD 22 ed. 636.1

WILSON PINHEIRO DE CARVALHO FILHO

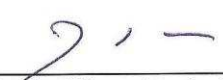
**PROTEÍNAS DE FASE AGUDA E SUA RELAÇÃO COM
BIOMARCADORES DE ATIVIDADE MUSCULAR DE EQUINOS
SUBMETIDOS A EVENTO DE HIPISMO CLÁSSICO**

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

APROVADA: 14 de julho de 2017.



José Dantas Ribeiro Filho



Paulo Ricardo de Oliveira Paes



Leandro Abreu da Fonseca
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

À minha família, em particular minha mãe e meus irmãos, pela inspiração, através da história de vida de cada um, em sempre acreditar e lutar em busca de novos horizontes.

Ao professor Leandro Abreu da Fonseca, orientador e amigo que sempre acreditou nas minhas ideias, melhorando-as e me incentivando em todas as etapas, por mais impossíveis que pareciam ser.

Aos Professores José Dantas Ribeiro Filho e Professor Paulo Ricardo de Oliveira, pelo aceite em contribuir com este projeto participando da banca de defesa.

Ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária e ao Departamento de Veterinária, por colaborar na aquisição de material de análises e contribuir para o meu crescimento acadêmico.

Aos proprietários dos animais, suas posses e treinadores em colaborarem com este projeto.

Ao Departamento de Bioquímica da UFV, na pessoa do Professor Leandro Licursi, pelas análises.

Aos amigos que colaboraram diretamente na coleta e processamento de material, Fabricia Girardi, Daniel Bressiane, Lucas Drumond Bento, Emy Hiura e Pollyanna Cordeiro Souto, dentre outros.

Aos professores aos quais tive contato durante este período, pelo conhecimento, incentivo e respeito.

Às fontes literárias utilizadas neste estudo, às quais se posicionaram como sólido alicerce para esta dissertação.

Agradeço a minha esposa Claudia Judice, pelo apoio incondicional nesta jornada de muitas ausências e queixas. Ao meu filho por transmitir inconscientemente a sinceridade e alegria que precisava para concluir esta etapa.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. Resposta de fase aguda.....	3
2.1.1. Amiloide Sérica A.....	5
2.1.2. Haptoglobina.....	6
2.2. Marcadores de Atividade Muscular.....	7
3. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	9
3.1. Objetivos.....	9
3.1.1. Objetivo geral.....	9
3.1.2. Objetivos específicos.....	9
3.2. Hipótese.....	10
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
4.1. Comissão de Ética.....	10
4.2. Local de Execução do Estudo.....	10
4.3. Os Animais.....	11
4.4. Delineamento Experimental.....	12
4.4.1. Coleta de Sangue.....	12
4.4.2. Análise Laboratorial.....	13
4.5. Análise Estatística.....	14
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
5.1. Bioquímica e atividade muscular.....	15
5.1.1. Glicose.....	15
5.1.2. Lactato.....	17
5.1.3. CK.....	18
5.1.4. AST.....	20
5.2. Proteínas Inflamatórias.....	22
5.2.1. Amiloide sérica “A” – SAA.....	22
5.2.2. Haptoglobina (Hp).....	28
5.3. Correlação entre variáveis.....	28

6. CONCLUSÕES.....	31
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
8. ANEXOS.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios e desvio padrão da concentração da glicose influenciados pela atividade do hipismo clássico.....	15
Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão da concentração da lactato influenciados pela atividade do hipismo clássico.....	17
Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão da concentração da CK influenciados pela atividade do hipismo clássico.....	19
Tabela 4 Valores médios e desvio padrão da concentração da AST influenciados pela atividade do hipismo clássico.....	20
Tabela 5 Valores médios e desvio padrão da concentração da SAA influenciados pela atividade do hipismo clássico.....	22
Tabela 6 Valores médios e desvio padrão da concentração da Hp influenciados pela atividade do hipismo clássico.....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reação de Fase Aguda.....	4
Figura 2. Jockey Clube do Espírito Santo.....	10
Figura 3. Determinação dos momentos de coleta.....	12
Figura 4. Monitor cardíaco utilizado no experimento.....	12
Figura 5. Análise da Amilóide Sérica A – SAA.....	13
Figura 6. Sistema vertical de eletroforese utilizado no experimento.....	13
Figura 7. Gráfico do comportamento do lactato.....	18
Figura 8. Gráfico do comportamento da CK.....	20
Figura 9. Gráfico de resultados da SAA de cada animal.....	25
Figura 10. Gráfico percentual da SAA entre os momentos e M0.....	26
Figura 11. Gráfico do comportamento da Haptoglobina.....	28
Figura 12. Gráfico do comportamento da SAA e CK.....	29
Figura 13. Gráfico Box Plot SAA e Hp.....	29
Figura 14. Gráfico de dispersão da SAA e Hp.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS

AST: Aspartato aminotransferase
Bpm: Batimentos por minuto
CD4+: Grupamento de diferenciação 4
CEUA: Comissão de Ética em Uso de Animais
CK: Creatina fosfoquinase
DMV: Departamento de medicina veterinária
ELISA: Ensaio de imunoabsorção enzimática
FC: Frequência cardíaca
FEI: Federação Equestre Internacional
°C: Graus Celsius
Hp: Haptoglobina
IL-1: Interleucina 1
IL-6: Interleucina 6
PCR: Proteína C Reativa
PFA: Proteínas de fase aguda
APR: Resposta de fase aguda
SAA: Amiloide sérica "A"
SDS-PAGE: Eletroforese em gel de poliacrilamina contendo dodecil sulfato de sódio
TNF- α : Fator de Necrose Tumoral alpha
UFV: Universidade Federal de Viçosa

RESUMO

CARVALHO FILHO, Wilson Pinheiro de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2017. **Proteínas de fase aguda e sua relação com biomarcadores de atividade muscular de equinos submetidos a evento de hipismo clássico.** Orientador: Leandro Abreu da Fonseca.

O objetivo deste estudo foi avaliar as proteínas de fase aguda amiloide sérica A e haptoglobina e estabelecer sua relação com biomarcadores de atividade muscular de equinos submetidos à atividade de hipismo clássico. Modalidade esportiva que envolve o maior número de equinos em todo o mundo. Como qualquer modalidade esportiva, no hipismo clássico há dois importantes desafios que são garantir a saúde do animal e aperfeiçoar o desempenho atlético. Para tal, foram avaliadas as variáveis glicose, lactato, amilóide sérica A (SAA), haptoglobina (Hp) e os biomarcadores de atividade muscular creatino quinase (CK) e aspartato amino transferase (AST), bem como a relação entre eles, em 10 equinos submetidos ao exercício de hipismo clássico em evento competitivo. As avaliações ocorreram antes do exercício (M0), imediatamente após (M1), 30 minutos (M2), 60 minutos (M3) e 24 horas após o término (M4). Foi empregado o pacote estatístico SAEG 9.1 (SAEG/UFV, 2007) para verificação do nível de significância entre os momentos para $P < 0,05$ e coeficiente de correlação de Pearson para checar a relação entre as proteínas de fase aguda e os biomarcadores de atividade muscular. Verificou-se diferença significativa na variável glicose entre M0 ($97,7 \pm 13,3 \text{ mg/dL}$) e M1 ($79,7 \pm 14,1 \text{ mg/dL}$), sem diferença entre os outros momentos M2 ($93,1 \pm 14,9 \text{ mg/dL}$), M3 ($90,8 \pm 8,4 \text{ mg/dL}$) e M4 ($91,7 \pm 10,6 \text{ mg/dL}$). O lactato diferenciou significativamente entre M1 ($15,28 \pm 6,1 \text{ mmol/L}$) e os demais M0 ($3,75 \pm 0,8 \text{ mmol/L}$), M2 ($6,5 \pm 3,9 \text{ mmol/L}$), M3 ($5,3 \pm 2,2 \text{ mmol/L}$) e M4 ($5,1 \pm 1,6 \text{ mmol/L}$). A CK apresentou diferença significativa entre M0 ($82,8 \pm 51,2 \text{ UI/L}$) e apenas M1 ($140,1 \pm 58,5 \text{ UI/L}$) e entre os momentos M4 ($74,4 \pm 43,1 \text{ UI/L}$) com M1, M2 ($135,0 \pm 85,5 \text{ UI/L}$) e M3 ($121,4 \pm 54,0 \text{ UI/L}$). A AST não apresentou diferença entre os momentos M0 ($206 \pm 39,0 \text{ UI/L}$), M1 ($207,4 \pm 28,9 \text{ UI/L}$), M2 ($209,4 \pm 25,7 \text{ UI/L}$), M3 ($210,4 \pm 25,4 \text{ UI/L}$) e M4 ($184,9 \pm 31,1 \text{ UI/L}$). Não foi verificada diferença na proteína SAA entre os momentos M0 ($74,2 \pm 78,1 \text{ ng/mL}$), M1, ($78,7 \pm 78,6 \text{ ng/mL}$), M2 ($64,2 \pm 76,0 \text{ ng/mL}$),

M3 ($84,5 \pm 74,9$ ng/mL) e M4 ($72,6 \pm 84,6$ ng/mL). A proteína Hp também não apresentou diferença significativa entre os momentos M0 ($34,0 \pm 78,1$ mg/dL), M1 ($56,1 \pm 19,9$ mg/dL), M2 ($48,4 \pm 21,4$ mg/dL), M3 ($47,4 \pm 22,1$ mg/dL) e M4 ($48,9 \pm 17,7$ mg/dL). Não foi verificada correlação entre proteínas de fase aguda e biomarcadores de atividade muscular ($-0,153$).

ABSTRACT

CARVALHO FILHO, Wilson Pinheiro de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2017. **Acute phase proteins and their relationship with biomarkers of equine muscular activity submitted to event jumping.** Advisor: Leandro Abreu da Fonseca.

The aim of this study was to evaluate the acute phase proteins serum amyloid A (SAA) and haptoglobin (Hp) to establish their relationship with biomarkers of muscle activity of horses submitted to event jumping activity. Sport that involves the largest number of horses in the world. Like any sport, in event jumping there are two important challenges that are to ensure the animal's health and to improve athletic performance. To do this, the variables glucose, lactate, SAA, Hp and the biomarkers of muscle activity creatine kinase (CK) and aspartate amino transferase (AST) were evaluated, as well as the relationship between them in 10 horses submitted to the event jumping exercise in a tournament. The evaluations occurred before exercise (M0), immediately after (M1), 30 minutes (M2), 60 minutes (M3) and 24 hours after the end (M4). The statistical package SAEG 9.1 (SAEG / UFV, 2007) was used to verify the level of significance between the moments for $P < 0.05$ and Pearson's correlation coefficient to verify the relationship between the acute phase proteins and the biomarkers of muscle activity. There was a significant difference in glucose between M0 ($97.7 \pm 13.3 \text{ mg/dL}$) and M1 ($79.7 \pm 14.1 \text{ mg/dL}$), with no difference between the other M2 moments ($93.1 \pm 14.9 \text{ mg/dL}$), M3 ($90.8 \pm 8.4 \text{ mg/dL}$) and M4 ($91.7 \pm 10.6 \text{ mg/dL}$). The lactate significantly differed between M1 ($15.28 \pm 6.1 \text{ mmol/L}$) and the others M0 ($3.75 \pm 0.8 \text{ mmol/L}$), M2 ($6.5 \pm 3.9 \text{ mmol/L}$), M3 ($3 \pm 2.2 \text{ mmol/L}$) and M4 ($5.1 \pm 1.6 \text{ mmol/L}$). The CK showed a significant difference between M0 ($82.8 \pm 51.2 \text{ UI/L}$) and M1 only ($140.1 \pm 58.5 \text{ UI/L}$) and between M4 moments ($74.4 \pm 43.1 \text{ UI/L}$) with M1, M2 ($135.0 \pm 85.5 \text{ IU/L}$) and M3 ($121.4 \pm 54.0 \text{ IU/L}$). The AST presented no difference between moments M0 ($206 \pm 39.0 \text{ UI/L}$), M1 ($207.4 \pm 28.9 \text{ UI/L}$), M2 ($209.4 \pm 25.7 \text{ UI/L}$), M3 (25.4 IU/L) and M4 ($184.9 \pm 31.1 \text{ IU/L}$). No differences were observed in the SAA protein between the moments M0 ($74.2 \pm 78.1 \text{ ng/mL}$), M1 ($78.7 \pm 78.6 \text{ ng/mL}$), M2 ($64.2 \pm 76.0 \text{ ng/mL}$) M3 ($84.5 \pm 74.9 \text{ ng/mL}$) and M4 ($72.6 \pm 84.6 \text{ ng/mL}$). The Hp protein also showed no significant difference between M0 ($34.0 \pm 78.1 \text{ mg/dL}$), M1 ($56.1 \pm$

19.9 mg/dL), M2 (48.4 ± 21.4 mg/dL) M3 (47.4 ± 22.1 mg/dL) and M4 (48.9 ± 17.7 mg/dL). There was no correlation between acute phase proteins and biomarkers of muscle activity (-0,153).

1. INTRODUÇÃO

As atividades esportivas equestres estão cada vez mais em evidência pelo mundo e o hipismo clássico é a modalidade que mais se destaca dentre os esportes com cavalos. Segundo o último relatório da Federação Equestre Internacional (2013), quase 65 mil animais estão cadastrados na entidade e mais de 50 por cento (37.094) pertencem à modalidade de hipismo. A Confederação Brasileira de Hipismo (2012) relata que no Brasil essa também é a modalidade mais praticada. No entanto, este tipo de exercício induz intensas mudanças estruturais e metabólicas e as adaptações, que dependem de estímulos adequados, devem ser monitoradas (FAZIO et al., 2014).

Por ser caracterizado como um esporte de alta intensidade, onde o animal pode ultrapassar os 200 batimentos cardíacos por minuto (bpm) e de grande impacto, considerando que pode saltar até 1,60 metros por 12 vezes em um percurso, com uma carga de peso corporal que ultrapassa os 400 quilos, a possibilidade de lesões é grande. É importante levantar dados de como o organismo do animal se comporta em situações como a descrita. Seja como estresse fisiológico induzido pelo esforço ou alguma possibilidade de lesão.

As respostas inflamatórias de fase aguda são uma reação imunológica básica a vários estímulos não específicos, incluindo exercício (VALLE et al., 2015). A compreensão de como se comportam as proteínas inflamatórias de fase aguda (PFA) e sua relação com o desempenho esportivo do equino é importante para saber seu papel no esforço físico e como podem participar na preservação da saúde do cavalo. É sabido que há inflamação desencadeada por micro lesões induzida pelo exercício (TURLO et al., 2015), mas não o comportamento das PFA nessas inflamações fisiológicas.

Enzimas como a creatino quinase (CK) e aspartato amino transferase (AST) são comumente utilizadas como biomarcadores da atividade muscular (FISHER et al., 2014). A quantidade de CK liberada do músculo depende, dentre outros fatores, da extensão e taxa de lesão muscular (BUZALA et al., 2015).

A glicose é armazenada no organismo animal sob a forma de glicogênio muscular e hepático, e este último é degradado em glicose ainda no fígado, sendo a glicose então transportada pelo sangue até as células musculares. O

glicogênio é uma fonte de energia limitante para a contração muscular (GLEESON, 2008; MACARDLE et al., 2014).

A concentração de glicose no sangue do cavalo durante o exercício está sujeita a alterações dependendo da intensidade e duração do esforço. A alta intensidade pode levar a uma depleção temporária da glicose, vez que a musculatura em ação sequestra importante quantidade da circulação. Após essa quebra inicial da homeostase, o exercício estimula a gliconeogênese, bem como a contração esplênica que recoloca uma importante quantidade na corrente sanguínea resultando em elevação da glicose circulante (MIRANDA, 2014; HINCHCLIFF et al., 2008).

A elevação na concentração de lactato a velocidades mais rápidas de exercício está associada a maiores níveis de adrenalina no sangue e ao maior recrutamento de fibras musculares de contração rápida para a produção de energia. Em repouso a concentração de lactato no sangue no equino é de aproximadamente 1-1,5 mmol / L e começa a se acumular quando a intensidade do esforço provoca elevação igual ou superior a 4 mmol/L. Mostrando este ser um parâmetro ótimo de determinação da intensidade do exercício bem como o condicionamento do animal (EVANS, 2016).

É importante conhecer até que ponto a alteração das PFA se relacionam com inflamações fisiológicas induzidas pelo exercício sinalizadas por biomarcadores de atividade muscular em cavalos de hipismo para diferenciar inflamação fisiológica da patológica, além de participar no processo de monitoramento do treinamento, garantindo assim a saúde e o melhor desempenho do animal.

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta das proteínas de fase aguda amilóide sérica A e haptoglobina induzidas pelo exercício e sua relação com biomarcadores de atividade muscular CK e AST de equinos submetidos à atividade de hipismo clássico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo a Confederação Brasileira de Hipismo (2012), a prova de hipismo clássico, ou salto como também é conhecida no Brasil, fundamenta-se em que o conjunto, entendendo-se cavalo e cavaleiro, atravesse um trajeto

contendo entre oito a 12 obstáculos variados e com diferentes níveis de dificuldade. A altura varia entre 0,80 metros e 1,60 metros nas competições de iniciantes à elite.

O exercício pode levar a respostas fisiológicas extremas que pode culminar em enfermidades específicas induzidas pelo esforço como rabdomiólise, hemorragia pulmonar em exercício em esteira de alta velocidade (ZOBBA et al. 2011). O exercício também pode provocar alterações de componentes bioquímicos plasmáticos que sugerem níveis da solicitação fisiológica (HASSAN et al., 2015).

2.1. Resposta de fase aguda

A resposta de fase aguda é um instrumento fisiopatológico de proteção agregado à inflamação que, ocorre tanto nas inflamações agudas quanto nas crônicas, apesar da terminologia. Tem como característica a variação de aumento ou diminuição da concentração sérica de algumas proteínas específicas em decurso de estímulo que provoque lesão em algum tecido (MACEDO et al., 2017).

A APR é uma resposta sistêmica não específica iniciada por várias citocinas como interleucina (IL -1 β , IL-6) e o fator de necrose tumoral - α (TNF α). A principal peculiaridade da APR é a síntese de proteínas de fase aguda positiva, pelo fígado, comprometidas com o restabelecimento da homeostase. Concomitantemente, a produção de outras proteínas chamadas de proteínas de fase aguda negativa, como por exemplo, a albumina e a transferrina é diminuída (DONDI et al., 2015).

O fígado desempenha um papel fundamental em imunidade inata e adaptativa e está fundamentalmente envolvido na resposta de fase aguda. Ele abriga o maior grupo de macrófagos teciduais, que, durante a resposta aguda, são uma fonte essencial de citocinas inflamatórias que regulam a produção de PFA pelos hepatócitos e estão envolvidos no desencadeamento da imunidade inata e conseqüentemente a adaptativa (EHLTING et al., 2016).

Qualquer dinâmica que tem relação com o desempenho desportivo seja treinamento, competição, exercícios diversos e outros, apresenta probabilidade de produzir mudança na homeostase originando uma resposta aguda ao estresse. Esta resposta induziria alterações fisiológicas diferentes que

demandariam a coordenação de vários sistemas, incluindo os sistemas respiratório, cardiovascular, muscular, tegumentar, renal e hepático e o trato gastrointestinal (BARTOLOMÉ, 2016).

A resposta de fase aguda apresenta grande complexidade que envolve reações de efeitos locais e sistêmicos. Parte desses efeitos há a expressão de determinadas proteínas plasmáticas, em especial as que têm sua síntese no fígado, conhecidas como proteínas de fase aguda (JAIN et al., 2011). Essas proteínas são produzidas, em sua maioria, pelos hepatócitos em função de estímulo desencadeado por mediadores inflamatórios, dentre eles a interleucina 1b, interleucina 6 e fator de necrose tumoral (LECLERE et al., 2015).

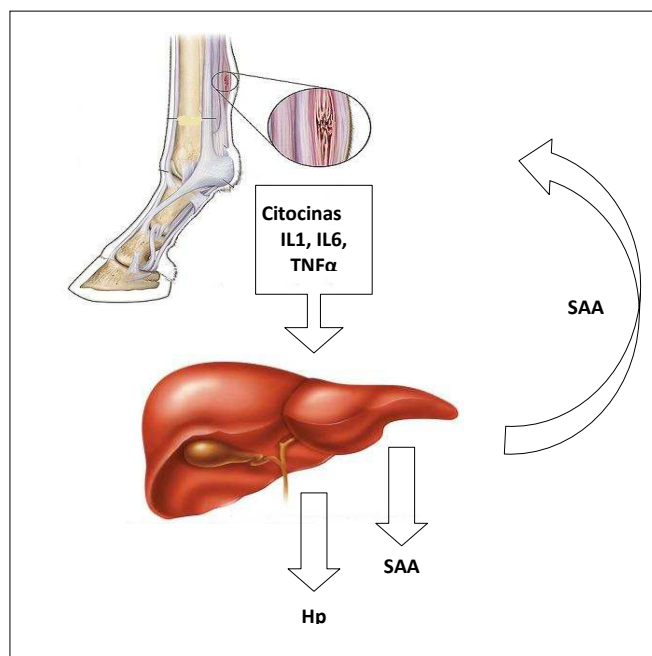


Figura1. Reação de fase aguda

A resposta de fase aguda (APR) é a resposta imediata do organismo a estímulos inflamatórios, como exercícios fatigantes e acarreta um desencadeamento complexo de mediadores, com o objetivo de conter ou diminuir a proporção dos danos nos tecidos e possibilitar a recuperação de processos pró-inflamatórios. O esforço ativa monócitos e macrófagos com subsequente regulação e expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6. Os autores também relatam que citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 se elevaram durante e após o exercício com a finalidade de controlar o

processo inflamatório e recompor a habitual função fisiológica do tecido acometido (KASPAR et al., 2016).

As PFA são proteínas sanguíneas que podem ser utilizadas com finalidade de avaliar a resposta sistêmica do sistema imune a quadros de infecção, inflamação ou trauma. Essas PFA são altamente sensíveis à inflamação, porém não são específicas (ECKERSALL E BELL, 2010).

As elevações dos níveis séricos das PFA demonstram uma peculiar reação de fase aguda e indicam a condição clínica do animal. A PCR, a Hp e a SAA são as proteínas de maior sensibilidade em seres humanos e animais. No entanto, a manifestação dessas proteínas varia nas diferentes espécies animais. Nos equinos a SAA é a de maior pronunciamento frente a uma reação de fase aguda, seguida da manifestação moderada da Hp e PCR. Sendo esta última a mais sensível em humanos e cães (CYWINSKA et al., 2012).

Estudo realizado por Gondin et al. (2013) com equinos de pólo encontrou aumento dos níveis das PFA após o exercício e os autores classificaram como sendo fisiológicas. A alteração no comportamento da Hp está vinculado a hemólise induzida pelo esforço e a da SAA a uma possível falta de condicionamento físico. A avaliação do pronunciamento das proteínas inflamatórias de fase aguda pode ser utilizada como instrumento para avaliar competições longas, (AMARAL et al., 2015).

2.1.1.Amilóide Sérica A

A proteína amiloide sérica A (SAA) foi identificada pela primeira vez devido à reação cruzada com anticorpo para a proteína AA amiloide isolada de depósitos de amiloide secundário. A SAA de equinos foi isolada pela primeira vez em 1985. É típica de reação de fase aguda em humanos, ovinos, bovinos, gatos, roedores e várias outras espécies, incluindo o equino (POLLOCK, 2016).

A SAA pertence à família das apolipoproteínas e são heterogêneas em todas as espécies, sendo produzidas no fígado. Essa proteína desempenha importante papel no organismo, principalmente durante a fase aguda da inflamação, onde faz o recrutamento de células imunes para os locais da lesão. (JAIN et al., 2011).

A amiloide sérica A é primariamente encontrada no soro sanguíneo, contudo já foi isolada no leite de vacas com mastite, no líquido sinovial de

cavalos com artrite e no líquido peritoneal de cavalos em enfermidade gastrointestinal (POLLOCK, 2016).

A SAA vem sendo utilizada em equinos com quadro de cólica com objetivo de associar condições inflamatórias e prognóstico logo que o animal é recebido no hospital (DONDI et al., 2015). A concentração sérica de SAA é utilizada como uma maneira auxiliar no diagnóstico, monitorar e prever o desenvolvimento de enfermidade em humanos e cães. Ela é sintetizada rapidamente em equinos em resposta ao aparecimento de distúrbios inflamatórios infecciosos e não infecciosos (POLLOCK, 2016).

A SAA tem grande aplicabilidade em cavalos pois tem característica de baixas concentrações ou indetectáveis em animais clinicamente normais. Por outro lado, pode responder vigorosamente, com aumento de 10 para 1000 vezes dentro de até 24 horas depois que ocorre dano no tecido, necrose celular, inflamação e/ou infecção. Apresenta meia vida biológica de aproximadamente 20 a 35 horas (WESTERMAN et al., 2016).

Turlo et al. (2015) desenvolveram estudo com cavalos de corrida que indicou que a SAA pode ser utilizada como indicador de injúrias e que são marcadores mais sensíveis que as células sanguíneas brancas totais. Relatam que após o dano tecidual a referida proteína pode se elevar de 10 a 1000 vezes em 24 a 48 horas.

2.1.2. Haptoglobina (Hp)

A Hp é uma glicoproteína formada por duas subunidades polipeptídicas (α e β) de 108.000 e 105.000 daltons de peso molecular. Sua produção é hepática e pode ser encontrado dentro da fração α 2-globulina (POLLOCK, 2016).

É uma proteína plasmática que se liga à hemoglobina livre liberada de eritrócitos com a finalidade de inibir a atividade oxidativa. O complexo haptoglobina-hemoglobina é usado para visualizar e monitorar anemia hemolítica intravascular (JAIN et al., 2011).

A Hp uma proteína de fase aguda moderada com elevação lenta, no entanto ela permanece com a concentração alta por mais tempo e é um marcador para quadros inflamatórios sistêmicos agudos e crônicos (BARRACHINA et al. (2016). Os autores citados realizaram um estudo e

constataram elevação dos níveis da Hp tanto no soro quanto no líquido sinovial em equino com artrite

Bullone et al. (2015), mensuraram a concentração de Hp e amiloide sérica A em cavalos hígidos e com enfermidade inflamatória das vias aéreas, e chegaram a conclusão de que ambas podem ser utilizadas como biomarcadores de diagnóstico quando associados a outros achados clínicos e laboratoriais.

2.2. Marcadores de atividade muscular

A concentração de lactato no sangue é amplamente utilizada com a finalidade de analisar o grau de aptidão física do equino e também monitorar programas de condicionamento físico. Esta análise reflete a intensidade do esforço ao qual o animal é submetido e é uma referência no trabalho anaeróbio, pois o lactato é um resíduo da via glicolítica, típica nestes casos de desempenho físico (FISHER et al., 2014). O exercício de alta intensidade eleva a produção do lactato e o rápido retorno ao nível de repouso é um indicativo de bom condicionamento físico (ZOBBA et al., 2011).

A principal fonte de energia para todos os tipos celulares de mamíferos é a glicose, que tem a responsabilidade de prover de ATP tanto em circunstância aeróbias como anaeróbias. A glicose é uma molécula polar, insolúvel na membrana plasmática, e o seu transporte é realizado através de difusão facilitada e dependente da presença de proteínas transportadoras na superfície de todas as células (McARDLE et al., 2014).

A intensidade, que pode ser verificada através da velocidade ou força e tempo do exercício são os fatores mais importantes para alteração na concentração de glicose. Ademais, os graus de concentração sanguínea da glicose podem passar por elevação nos variados tipos de exercício, sendo proporcional à intensidade do esforço físico. O aumento dos níveis da glicose após esforço indica ativação da glicogenólise em função da progressão da demanda energética tecidual (BRAZ et al., 2016).

A enzima creatina quinase (CK) é uma enzima presente principalmente nas mitocôndrias e no citoplasma do músculo esquelético, tecido cardíaco e cérebro de humanos e várias outras espécies animais. É encontrada na membrana mitocondrial interna das miofibrilas do músculo esquelético. A CK

está envolvida na transferência e armazenamento de energia celular através da transferência do fosfato de creatina para difosfato de adenosina (ADP) para então formar a adenosina trifosfato (ATP). Esta vinculada também com a transmissão de fosfato da mitocôndria para o citoplasma das células musculares (COPPER et al., 2017)

A CK tem sido observada como um importante indicador de dano muscular induzido pelo exercício. As mudanças de valores em diferentes constituintes sanguíneos após o esforço são evidentes, mas rapidamente desaparecem. A insistência da atividade pode levar a uma não recuperação da homeostase e ser um indicativo de excesso de treinamento. A análise da atividade da CK sanguínea pode ser benéfica para verificar as adaptações fisiológicas desejáveis e determinar as cargas de treinamento (BUZALA et al. (2015).

Enzimas como a CK e AST são comumente utilizadas como biomarcadores da atividade muscular e a quantidade dessas enzimas liberada do músculo dependem da localização na célula, tamanho da molécula e da lesão (BUZALA et al., 2015; FISHER et al., 2014; NOLETO et al., 2015). É importante a utilização da mensuração da atividade da CK e AST no diagnóstico de lesão muscular humanos, equinos bem como em cães galgo de corrida (LUCAS et al., 2014).

A CK é uma enzima que apresenta grande especificidade para lesões musculares, e pode ser encontrada principalmente no sarcoplasma, também no coração, nos rins, cérebro, diafragma, trato gastrintestinal, genital e urinário (PATELLI et al., 2016).

A aspartato amino transferase (AST) é uma enzima que tem a meia-vida de sete a oito dias, aproximadamente, e tem atividade nas fibras musculares e nos hepatócitos. A responsabilidade da AST é catalisar a transaminação de L-aspartato e alfa-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato. Esta enzima pode ser encontrada em grande maioria dos tecidos, mas principalmente nos músculos e no fígado (PATELLI et al., 2016).

O papel da enzima AST é a desaminação de aspartato para oxaloacetato, ao mesmo tempo em que a sua liberação mais lenta resulta em atividade de pico por volta de 24 horas após o estímulo de estressor (SOARES et al., 2013).

Embora a CK seja mais específica para a necrose muscular do que a AST, a determinação simultânea de AST e CK em equinos representa valioso potencial diagnóstico e auxílio no prognóstico, em razão das diferentes taxas de desaparecimento de suas atividades no soro ou no plasma (PATELLI et al., 2016).

3. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Por ser caracterizado como um esporte de alta intensidade, onde o animal pode ultrapassar os 200 batimentos cardíacos por minuto, e de grande impacto, considerando que o animal pode saltar até 1,60 metros por 12 vezes com carga de peso corporal que ultrapassa os 400 quilos a possibilidade de lesões é grande. É importante levantar dados de como o organismo do animal se comporta em situações como a descrita. Seja como estresse fisiológico induzido pelo esforço ou alguma possibilidade de lesão.

É importante estabelecer conhecimento de até que ponto a manifestação das PFA se relacionam com inflamações fisiológicas induzidas pelo exercício e sinalizadas por biomarcadores de atividade muscular em cavalos de hipismo. Isso para diferenciar inflamação fisiológica da patológica, para poder ser utilizado como forma de monitoramento do treinamento, garantindo assim a saúde e o melhor desempenho do animal.

3.1. Objetivos

3.1.1. Objetivo Geral

Avaliar o comportamento de proteína de fase aguda e sua relação com biomarcadores de atividade muscular de equinos submetidos à atividade de hipismo clássico.

3.1.2. Objetivos Específicos

Verificar o efeito do exercício de hipismo clássico na manifestação da amilóide sérica A (SAA), haptoglobina (Hp), creatino quinase (CK) e aspartato aminotransferase (AST).

Monitorar respostas fisiológicas cardíacas e metabólicas agudas através da frequência, lactacidemia e glicemia antes e após o esforço.

Estabelecer correlação entre as proteínas de fase aguda e os biomarcadores de atividade muscular.

3.2. Hipótese

Equinos submetidos à atividade de hipismo clássico apresentam elevação dos níveis de proteínas de fase aguda e estas tem próxima correlação com biomarcadores de lesão muscular.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Comissão de Ética

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 – CEUA/UFV e aprovado (CEUA/UFV 77/2015).

4.2. Local de Execução do Estudo

O experimento foi conduzido no Jockey Clube do Espírito Santo, em Vila Velha (Figura 2), Espírito Santo, durante competição da etapa do campeonato estadual de hipismo de 2016. A temperatura durante o experimento (período matutino de setembro) foi de 29,3°C e umidade relativa do ar de 62,7.



Figura. 2. Jockey Clube do Espírito Santo. Fonte: arquivo do autor

4.3. Os Animais

Foram utilizados 10 equinos de ambos os sexos, sendo três fêmeas e sete machos, mestiços Brasileiro de Hipismo, na faixa etária entre sete e quinze anos, com peso médio de 570 ± 95 quilos. Treinados na modalidade de hipismo clássico e em atividade regular. Os animais estavam alojados em baias individuais no Jockey Clube do Espírito Santo, em Vila Velha, Espírito Santo, sem aclimação artificial, sendo que cada animal recebia dieta diferenciada, estabelecida cada proprietário, contendo em vias gerais, feno e ração concentrada comercial, sal mineral e água *ad libitum*. Os animais foram submetidos ao exercício em condições de higiene, sob exames físico e clínico prévios, sem indicação de claudicação ou sinal aparente de outra enfermidade, sugerindo perfeito estado de saúde no momento da prova. Também foi feito hemograma e perfil bioquímico, analisando ALT, AST, fosfatase alcalina, GGT com metodologia cinética e uréia e creatinina com metodologia colorimétrica, com o objetivo de atestar a sanidade geral dos animais e proceder descarte de dados em caso de alterações. Não foi descartado nenhum animal.

4.4. Delineamento Experimental

Os dados foram coletados durante etapa do Campeonato Capixaba de Hipismo de 2016. O exercício consistiu em perfazer um percurso de aproximadamente 350 metros, em piso de areia e doze obstáculos verticais dispostos ao longo do trajeto, com altura de um metro, similar ao protocolo sugerido por Fazio et al. (2014), de acordo com modelo (Figura 3). Na baia, os animais foram selados e fizeram atividades de aquecimento particulares de cada um, com duração de 15 minutos. Os cavalos foram conduzidos todo o tempo por seu cavaleiro habitual. Após o período de aquecimento foi instalado o monitor de frequência cardíaca (Polar Equine RS800CX G3® - Figura 4) e iniciaram o exercício na pista, individualmente, objetivando obter o menor tempo com menor número de falhas, entende-se sem derrubar obstáculo. Foi conduzido no mês de setembro, no período matutino.

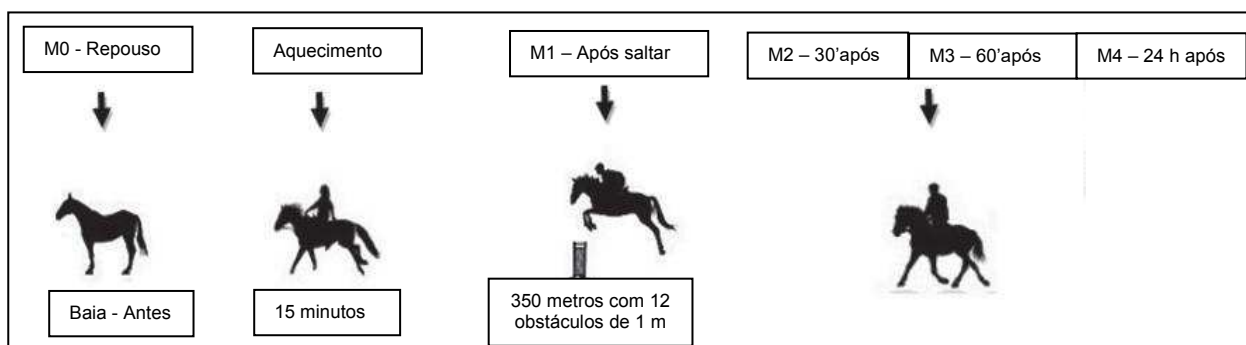


Figura. 3. Determinação dos momentos de coleta. *Adaptação do modelo de Fazio et al. (2014).*



Figura. 4. Monitor cardíaco utilizado no experimento

4.4.1. Coleta de Sangue

Todos os materiais utilizados eram estéreis. A coleta do sangue foi realizada por venopunção da jugular, com prévia antissepsia, executada através de seringas descartáveis de 20 mL, e o sangue foi fracionado em tubos de 4 ml de EDTA 10% e de bioquímica sem nenhum adicional ao frasco. As coletas foram centrifugadas próximas ao local a 3000 rotações por minuto, durante 10 minutos, em seguida congeladas a -20°C para posterior análise no laboratório. O sangue foi coletado em cinco momentos, a saber: M0 – animal na baia, imediatamente antes de ser preparado para o exercício; M1 – imediatamente após o término do trajeto; M2 – 30 minutos após o término; M3 – 60 minutos após o término e M4 – 24 horas após o fim da atividade.

4.4.2. Análises Laboratoriais

Foram utilizados kits comerciais, sendo a CK e AST pelo ensaio cinético enzimático; lactato por método enzimático e glicose pelo método colorimétrico. Os níveis da amiloide sérica “A” (SAA) foram analisados por meio de imunoenensaio enzimático (Nori® Equine SAA Elisa Kit - Figura 5) e de acordo com metodologia recomendada pelo fabricante. A haptoglobina foi analisada 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. Utilizou-se o sistema vertical de eletroforese (Figura 6). O processamento das amostras ocorreu no Departamento de Medicina Veterinária e de Bioquímica, da Universidade Federal de Viçosa.



Figura. 5. Análise da SAA (Nori® Equine SAA Elisa Kit). Laboratório na UFV



Figura. 6. Sistema vertical de eletroforese utilizado no experimento. Laboratório de Imunobiológicos UFV

4.5. Análise Estatística

Os resultados foram expressos em média+-desvio padrão. Utilizou-se o teste de Cochran e Bartlett para verificar a homogeneidade de variância dos dados. O efeito do exercício sobre variáveis fisiológicas foi avaliado pela ANOVA para medidas repetidas. Em seguida aplicou o teste de Tukey, com o objetivo de determinar diferenças significativas para cada tempo de amostragem, quando verificada a normalidade. Para análise de variância não paramétrica foi utilizado teste de Kruskal – Wallis. Para conhecer a correlação entre variáveis usou-se o coeficiente de correlação de Pearson. Um valor de $P < 0,05$ foi estabelecido como significativo (5% de probabilidade de erro). Empregou-se o pacote estatístico SAEG 9.1 (SAEG/UFV, 2007).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais apresentaram uma frequência cardíaca média antes da atividade (repouso) de $34,1 \pm 3,27$ bpm. A média durante a atividade foi de $161,9 \pm 20$ bpm e a da máxima de $190,5 \pm 16,81$ bpm, resultados similares aos encontrados por Fazio et al.(2014) em estudo sobre respostas fisiológicas induzidas pelo hipismo clássico. A resposta da literatura corresponde a 76,2% da FC máxima e a do presente estudo de 64,76 %, demonstrando se tratar de evento de intensidade submáxima a moderada (HINCHCLIFF et al., 2008).

O tempo médio de duração da prova foi 74 segundos, também próximos ao encontrado no estudo de hipismo clássico de Fazio et al. (2014).

Foram observadas alterações de ordem metabólicas provocadas pelo esforço, manifestadas com a diferença significativa da glicose entre o repouso e todos os outros momentos e do lactato no momento imediatamente após o exercício e os demais, típicas das atividades anaeróbias.

A atividade provocou alteração significativa no comportamento dos biomarcadores de atividade muscular CK, mas não na AST.

O exercício não induziu correlação estatística entre as proteínas de fase aguda e a CK. No entanto observou-se fraca correlação entre a SAA e a AST.

Estes fenômenos merecem ser melhor investigados, uma vez que a CK é reconhecida como um bom marcador de intensidade de esforço pela literatura.

Os valores estão expressos com média e desvio padrão e demonstrados nas tabelas que se seguem. Foram divididos com finalidade didática em dois segmentos, a saber: bioquímica e atividade muscular com as variáveis: glicose, lactato, CK e AST e proteínas inflamatórias: SAA e Hp.

5.1. Bioquímica e atividade muscular

Foi encontrada diferença significativa entre o repouso (M0) e imediatamente após o exercício (M1), sem diferença entre os demais momentos.

5.1.1. Glicose

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão das concentrações de glicose em mg/dL influenciados pela atividade do hipismo clássico.

Momentos	Média	Desvio Padrão	5%
M0	97,7	13,3	A
M1	79,7	14,1	B
M2	93,1	14,9	AB
M3	90,8	8,4	AB
M4	91,7	10,6	AB

Resultados em repouso (M0), imediatamente após o exercício (M1), 30 minutos após o esforço (M2), 60 minutos após (M3) e 24 horas após o exercício. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre momentos, para $P < 0,05$.

No repouso (M0) os animais apresentaram concentração média da glicose de $97,7 \pm 13,3$ mg/dL; no momento imediatamente após o exercício (M1) $79,7 \pm 14,1$ mg/dL, sendo este valor diferente estatisticamente do repouso mas sem diferença significativa com os demais; 30 minutos após o esforço (M2) foi encontrado $93,1 \pm 14,9$ mg/dL; uma hora depois do exercício (M3) $90,8 \pm 8,4$ mg/dL e 24 horas após a atividade foi encontrado $91,7 \pm 10,6$ mg/dL.

A mais sensível alteração nos valores da glicose se deu entre o momento M0 e o M1, caracterizando uma importante depleção da glicemia (Tabela 1). Comportamento bioquímico similar encontrado no estudo de Fazio et al. (2014), também em evento de hipismo, onde esclarece que o esforço induziu

glicogenólise muscular, o que provocou uma migração da glicose sanguínea para o interior da célula muscular.

Este fenômeno aconteceu porque o exercício faz com que o sistema nervoso aumenta a atividade dos transportadores de glicose e da insulina resultando em uma hipoglicemia temporária (ADAMU et al., 2013). Este comportamento da glicose é comum no início dos exercícios físicos, como uma maneira de preparar o organismo para uma possível sustentabilidade para as atividades mais prolongadas que possam vir, ou ainda uma característica da via metabólica anaeróbia (HINCHCLIFF et al. (2008).

Os demais momentos (M2, M3 e M4) não se diferenciaram com o momento do repouso nem com o logo após o esforço. A intensidade do exercício fez acontecer a diferença entre o repouso e logo após, mas os momentos de recuperação que são o M2, M3 e M4 não estiveram tão distante nem do do repouso nem da indução do esforço. À medida que o organismo percebe uma baixa de nível glicêmico, há uma liberação de glucagon, que por sua vez induz a glicogenólise hepática numa tentativa de restabelecer a homeostase sanguínea, elevando os níveis plasmáticos de glicose e este processo pode ser lento dependendo do condicionamento dos animais (MARLIN e NANKERVIS, 2004). O glucagon busca reestabelecer a homeostase da glicose ativando a enzima adenilciclase nas membranas dos hepatócitos, o que aumenta o teor de monofosfato cíclico de adenosina (AMP cíclico) nas células hepáticas. Esse AMP cíclico, então, ativa a enzima fosforilase, que promove a glicogenólise e liberando a glicose para o sangue (MCARDLE et al., 2014). Este fenômeno esclarece a tentativa de o organismo reestabelecer a glicemia aos níveis iniciais, mesmo que não tenha apresentada diferença significativa.

A recuperação do glicogênio muscular depende de cada animal, bem como da dieta individual. Em situações onde o animal ainda está em período de recuperação, o fomento pela reconstrução do glicogênio muscular, fazendo uma constante migração da glicose do sangue para a célula, pode levar dias (MARLIN e NANKERVIS, 2004). Isto pode ser uma explicação para que os níveis glicêmicos, mesmo após 24 horas ainda não sejam os iniciais (M0).

5.1.2. Lactato

O momento M1, logo após o exercício, foi o único a apresentar diferença significativa entre todos os demais (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão da concentração do lactato nos diferentes momentos (mmol/L) influenciados pela atividade do hipismo clássico.

Momentos	Média	Desvio Padrão	5%
M0	3,75	0,8	B
M1	15,28	6,1	A
M2	6,5	3,9	B
M3	5,3	2,2	B
M4	5,1	1,6	B

Resultados do lactato em mmol/L no repouso (M0), imediatamente após o exercício (M1), 30 minutos após o esforço (M2), 60 minutos após (M3) e 24 horas após o exercício. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre momentos, para $p < 0,05$.

No repouso (M0) os animais apresentaram concentração média de lactato de $3,75 \pm 0,8$ mmol/L; no momento imediatamente após o exercício (M1) $15,28 \pm 6,1$ mmol/L sendo este valor diferente estatisticamente dos demais; 30 minutos após o esforço (M2) foi encontrado $6,5 \pm 3,9$ mmol/L; uma hora depois do exercício (M3) $5,3 \pm 2,2$ mmol/L e 24 horas após a atividade foi encontrado $5,1 \pm 1,6$ mmol/L.

Esta hiperlactacidemia acontece paralela à depleção da glicose demonstrada anteriormente. O valor do lactato sanguíneo corresponde ao muscular e que este acontece como um produto final da glicólise anaeróbia que ocorre em tecidos hipóxicos. Neste caso a célula muscular em atividade intensa e de curta duração que caracteriza o esforço anaeróbio (ROBERTS et al., 2014).

Estudo conduzido por Fazio et al. (2014) com cavalos de hipismo clássico encontrou elevação significativa nos níveis de lactato. Ao repouso os autores encontraram uma média de $1,41 \pm 0,33$ mmol/L e após o exercício de $5,00 \pm 0,46$ mmol/L e os animais retornaram ao nível de repouso após 45 minutos.

Atividades de alta intensidade, se conduzidas por um período curto de tempo, requerem extrema demanda energética, por isso a ressíntese de ATP deve ocorrer em alta potência pelos sistemas (TRANQUILLE et al., 2016). Os autores complementam que o lactato sanguíneo segue para o fígado onde é

metabolizado e transformado em glicogênio, completando o denominado “Ciclo de Cori”. Este ciclo faz com que o lactato seja reaproveitado pelo organismo e, conseqüentemente, eliminado do sangue. O que pode ser percebido na ilustração gráfica da manifestação do lactato durante os momentos (figura 7).

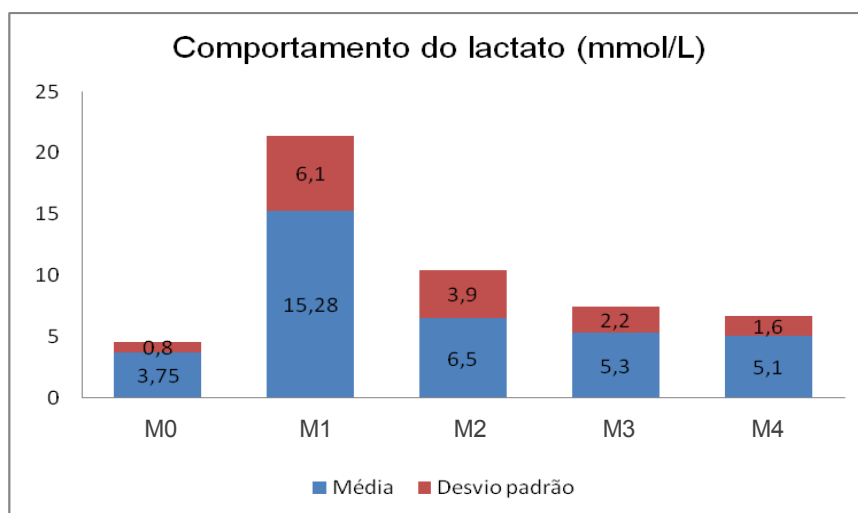


Figura 7- Gráfico do comportamento do lactato durante os momentos com diferença estatística entre o M1 e os demais

5.1.3. CK

Os valores do repouso (M0) apresentaram diferença significativa apenas com imediatamente após o esforço (M1). Os valores encontrados 24 horas após o exercício (M4) foram diferentes dos achados em M1, M2 e M3. A distribuição está demonstrada na Tabela 3.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão da concentração da CK nos diferentes momentos (UI/L) influenciados pela atividade do hipismo clássico.

Momentos	Média	Desvio Padrão	5%
M0	82,8	51,2	AC
M1	140,1	58,5	B
M2	135,0	85,5	AB
M3	121,4	54,0	AB
M4	74,4	43,1	C

Resultados da creatino fosfoquinase (CK) em UI/L no repouso (M0), imediatamente após o exercício (M1), 30 minutos após o esforço (M2), 60 minutos após (M3) e 24 horas após o exercício. Letras diferentes indicam diferença significativa entre momentos, para $p < 0,05$.

No repouso (M0) os animais apresentaram concentração média de CK de $82,8 \pm 51,2$ UI/L, sendo estatisticamente diferente apenas do M1; no momento imediatamente após o exercício (M1) $140,1 \pm 58,5$ UI/L; 30 minutos após o esforço (M2) foi encontrado $135,0 \pm 85,5$ UI/L; uma hora depois do exercício (M3) $121,4 \pm 54,0$ UI/L e 24 horas após a atividade foi encontrado $74,4 \pm 43,1$ UI/L, sendo que este momento apresentou diferença significativa entre os momentos M1, M2 e M3.

Octura et al. (2014) encontraram similar comportamento da CK em cavalos puro sangue inglês após exercício máximo de corrida, Significativo porém com o valor da média bem superior ($559,75 \pm 203,58$ UI/L) em contra ponto ao deste estudo ($140,1 \pm 58,5$ UI/L). Este efeito esperado pois a degradação rápida desse composto na reação de creatina quinase (CK), no início da geração de força muscular, ocorre porque a energia liberada pode ser utilizada para ressintetizar o ATP e dessa forma manter a relação ATP:ADP intracelular elevada. Esta atividade só é possível com a elevação da atividade enzimática da CK (MAUGHAN ET AL., 2000; GLEESON, 2008; MCARDLE, 2014).

Soares et al. (2013), em estudo que investigou desempenho com testes progressivos de altura para cavalos, identificaram o pico da CK acontecendo seis horas após o exercício.

A CK é um importante marcador para monitorar a carga global de treinamento, uma vez que a manifestação dessa enzima reflete a alta intensidade ao qual o músculo foi submetido e define quando o animal não mais está em atividade metabólica típica do esforço (FLECK et al., 2016). Os mesmos autores inferem que a manifestação elevada da CK pode indicar alguma enfermidade muscular ou indicar que o animal está em treinamento excessivo, que pode guiar para a síndrome da exaustão (burnout)¹.

Os níveis de CK embora demonstrem a atividade muscular intensa, pois a quebra da fosfocreativa e a geração de energia inicial após os 30 segundos depende da ação dessa enzima, ela pode ser inespecífica quando não se usa a análise muscular (EHRMAN et al. (2013).

¹ Síndrome de excesso de esforço crônico que leva ao desinteresse pela atividade e alterações neurológicas (FIORI et al., 2014)

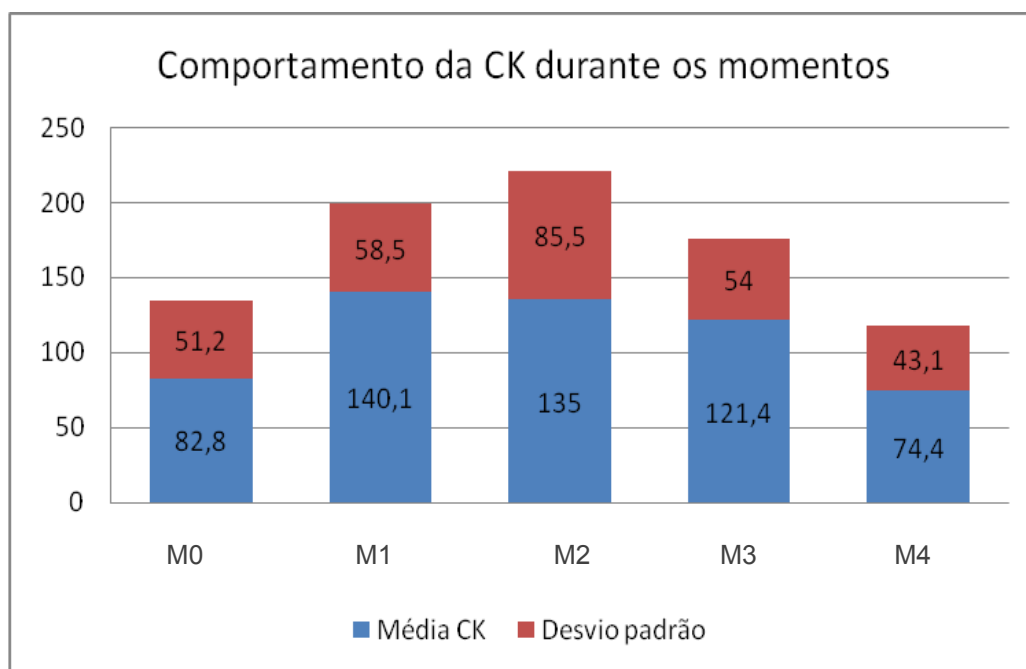


Figura 8 – Gráfico do comportamento da CK durante os momentos.

Pode-se perceber os valores da CK decaindo (figura 8) após o pico pós esforço. Este fenômeno sugere que o organismo está restabelecendo a homeostase, uma vez que não mais está sendo solicitada energia para trabalho intenso (OCTURA et al., 2014).

5.1.4. AST

Não foram observadas diferenças significativas entre os momentos (0,314 para $p < 0,05$ - tabela 4).

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão da concentração da AST (UI/L) influenciados pela atividade do hipismo clássico.

Momentos	Média	Desvio Padrão	5%
M0	206,9	39,0	A
M1	207,4	28,9	A
M2	209,2	25,7	A
M3	210,4	25,4	A
M4	184,9	31,1	A

Resultados da aspartato amino transferase (AST) em UI/L no repouso (M0), imediatamente após o exercício (M1), 30 minutos após o esforço (M2), 60 minutos após (M3) e 24 horas após o exercício. Letras diferentes indicam diferença significativa entre momentos, para $p < 0,05$.

No repouso (M0) os animais apresentaram concentração média Da AST de $206 \pm 39,0$ UI/L; no momento imediatamente após o exercício (M1) $207,4 \pm 28,9$ UI/L; 30 minutos após o esforço (M2) foi encontrado $209,4 \pm 25,7$ UI/L; uma hora depois do exercício (M3) $210,4 \pm 25,4$ UI/L e 24 horas após a atividade foi encontrado $184,9 \pm 31,1$ UI/L. Não foi apresentada diferença significativa entre os momentos.

Soares et al. (2013) também não encontraram diferença entre momentos ($0,452$ para $p < 0,05$). Os autores obtiveram pico da AST mais elevado (acima de 300 UI/L) que o valor encontrado em contra ponto a este trabalho ($203,8 \pm 30,7$). Octura et al. (2014) também não encontraram diferença significativa em cavalos puro sangue inglês após corrida rápida com pico de 269.25 ± 63.87 UI/L. Os autores afirmam que a AST não é específica do músculo mas muitas vezes está associada ao esforço que induz a um aumento da permeabilidade do sarcolema.

Patelli et al. (2016) encontraram diferença entre antes e após o exercício em cavalos quarto de milha em atividades esportivas de apartação e de três tambores, porém com valores médios muito elevados ($444, 7 \pm 119$ em repouso e $524,4 \pm 137,8$ após a atividade) se comparados com os demais da literatura e deste trabalho. Os autores levantam a perspectiva de que a elevação pode estar vinculada a pobre condicionamento físico dos animais. Afirmam ainda que a AST pode chegar a valor acima de 1000U I/L sem estar presente lesão muscular.

Kristensen et al. (2014) não encontram diferença na manifestação da AST em 58 cavalos de corrida entre o repouso e uma corrida de 1600 metros. Os autores acreditam que o esforço não foi suficiente para induzir permeabilidade suficiente para que a enzima se manifestasse.

Embora a AST seja uma enzima muito estudada, há muita contradição entre os estudos, alguns com diferença entre o esforço e outros não. Hyatt et al. (2017) fizeram um estudo com potros por 30 minutos em plataforma vibratória e este exercício induziu diferença significativa na AST ($294,5$ UI/L para o grupo controle e $303,13$ UI/L para o grupo exercitado).

Estudo realizado por Santos et al. (2015) com cavalos em prova de hipismo clássico também não revelaram variação significativa entre antes e após o exercício. Os autores atribuem o resultado ao bom condicionamento

físico dos animais. Relatam que as provas mais longas podem ter o efeito da desidratação que induziria uma elevação da enzima.

5.2. Proteínas inflamatórias

5.2.1. Amiloide sérica “A” – SAA

No presente estudo não foi verificada diferença significativa entre os momentos para a SAA (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios e desvio padrão da concentração da SAA (ng/mL) influenciados pela atividade do hipismo clássico.

Momentos	Média	Desvio Padrão	5%
M0	74.2	78.1	A
M1	78.7	78.6	A
M2	64.2	76.0	A
M3	84.5	74.9	A
M4	72.6	84.6	A

Resultados da amiloide sérica A (SAA) em ng/mL no repouso (M0), imediatamente após o exercício (M1), 30 minutos após o esforço (M2), 60 minutos após (M3) e 24 horas após o exercício. Letras diferentes indicam diferença significativa entre momentos, para $p < 0,05$.

No repouso (M0) os animais apresentaram concentração média da SAA de $74,2 \pm 78,1$ ng/mL; no momento imediatamente após o exercício (M1) $78,7 \pm 78,6$ ng/mL; 30 minutos após o esforço (M2) foi encontrado $64,2 \pm 76,0$ ng/mL; uma hora depois do exercício (M3) $84,5 \pm 74,9$ ng/mL e 24 horas após a atividade foi encontrado $72,6 \pm 84,6$ ng/mL. Não foi apresentada diferença significativa entre os momentos.

Os valores de normalidade da SAA em equinos ainda não estão estabelecidos, porém já foram analisados cavalos de enduro antes da corrida e que todos apresentaram valores acima de 1000 ng/mL (SIQUEIRA e FERNANDES, 2016; CYWINSKA et al., (2010). No entanto, os dois autores referenciaram o uso kit multi espécies e o presente estudo usou espécie específica para equinos (Nori® Equine SAA Elisa Kit).

Alguns animais do estudo apresentaram valores em todos os momentos muito próximos a zero, onde a máquina de análise interpretou com zero. Este fenômeno elevou o desvio padrão e pode ter contribuído para a irregularidade

dos dados. É sugerido não eliminar os dados para não caracterizar manipulação voluntária de resultados (KRISTENSEN et al., 2014). Os referidos autores realizaram estudo com cavalos de corrida em exercício máximo variando de 1600 a 2500 metros e também não encontraram variação na SAA. Os autores afirmam que os seus resultados não corroboram a hipótese de que o exercício provoca elevação nesta proteína de fase aguda.

No entanto, Turlo et al. 2016 fizeram um experimento com 25 cavalos puro sangue inglês em corrida máxima de 1200 e 1600 metros e encontraram diferença significativa entre o repouso e 24 horas após o esforço. Os autores referem que as alterações foram pequenas, mas significantes. Destacam que o pico da elevação da SAA no experimento (menos de 9 mg/L) foram bem abaixo de resultados obtidos em cavalos com inflamação aguda do trato respiratório ou gastrointestinal. Afirmam que a concentração da SAA em animais hígidos pode diferenciar baseado na população avaliada e dos métodos de análise. Outro fato importante relatado foi o de que, em experimento anterior, os animais de um grupo que estavam acometidos de estresse por transtornos ortopédicos tiveram a concentração mais elevadas pós-exercício do que os do grupo hígido. Sugerindo que a alteração poderia estar relacionada ao transtorno e não ao exercício.

Siqueira e Fernandes (2016) fizeram estudo analisando a manifestação da SAA em cavalos de enduro (80km, 120km e 160 km) e chegaram a conclusão de que a resposta aguda teve maior relevância no grupo de maior distância e não no de maior velocidade. Portanto, a duração prolongada do esforço parece ser o fator de maior responsabilidade na elevação da SAA em contrapartida com a intensidade.

A ausência de homogeneidade do grupo estudado pode ter fundamento da sugestão de Turlo et al. (2016), insinuando possíveis afecções, uma vez que alguns animais tiveram valor zero de manifestação da SAA e outros de 246 ng/mL (gráfico 3). O animal 1 e 10 sem nenhuma expressão da proteína, bem como o cavalo 6 com valores próximos a zero. Por outro lado, o animal 9 teve valor mais elevado (gráfico 3). Os animais pertencem a proprietários diferentes, bem como seus treinadores. Isso dificulta o controle do nível basal dos marcadores. Não é sabido o histórico de enfermidade prévia ou em tratamento ou afecção ortopédica em tratamento. Até mesmo porque, o meio do esporte

de competição ainda guarda o direito da manutenção de segredos que possam envolver algum questionamento ético.

Por outro lado a literatura se confronta, uma vez que Viner et al. (2017) relatam que estudo entre um grupo de animais saudáveis e outro com enfermidades respiratórias submetidos a exercício não apresentaram diferença significativa.

Turlo et al. (2016) realizaram um estudo sobre a manifestação da SAA em diferentes tipos de lesões e encontraram que trauma em tendão e músculo apresenta a maior elevação na concentração da proteína, em comparação com trauma articular, síndrome navicular e fratura óssea respectivamente. Outro estudo realizado por Turlo et al. (2015) sobre a dinâmica pós-exercício da SAA em cavalos lesionados e não lesionados e encontrou que a concentração nos animais lesionados eram bem mais elevadas, indicando que a SAA uma ferramenta importante no controle de animais de esporte saudáveis, uma vez que esta variação indicaria que o animal teria um quadro inflamatório agudo em curso.

Valle et al. (2015) conseguiram acompanhar um grupo de oito cavalos por duas semanas antes de uma competição de hipismo, para assegurar o controle sobre medicamentos e o tipo de alimentação e trabalho. Eles observaram elevação significativa no momento após a competição. No entanto a competição hípica teve a duração de dois dias e incluía provas adicionais como dressagem e cross country. O fato de a competição ter duração de dois dias e com provas mais prolongadas fortalece a idéia de Turlo et al. (2015) e de Siqueira e Fernandes (2016) de que a elevação da SAA acontece em resposta ao exercício prolongado.

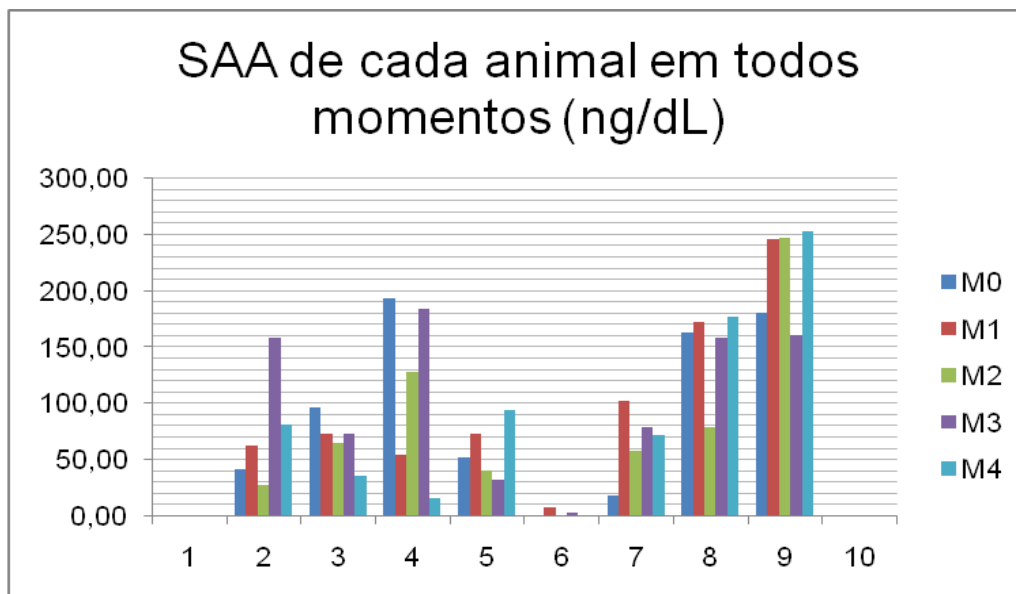


Figura 9- Gráfico do comportamento da SAA de cada animal nos diferentes momentos

A variação percentual da SAA dos momentos pós-exercício em comparação com o momento M0 (repouso) pode ser vista na figura 9. A variação heterogênea pode indicar diferentes níveis de progressão de algum processo inflamatório não diagnosticado ou não relatado pelos proprietários. Um estudo de Fazio et al. (2010) mostra que a manifestação inflamatória pode ser desencadeada por inúmeros fatores, mas destaca que a duração do esforço é parece ser mais importante do que a intensidade. Afirmam também que o treinamento prolongado pode também desencadear a resposta de fase aguda, uma vez que acompanharam treinamentos por até 60 dias, e foi a partir deste período que aconteceu a resposta inflamatória. Isto sugere que o repouso e o monitoramento são relevantes para salvaguardar a integridade do animal.

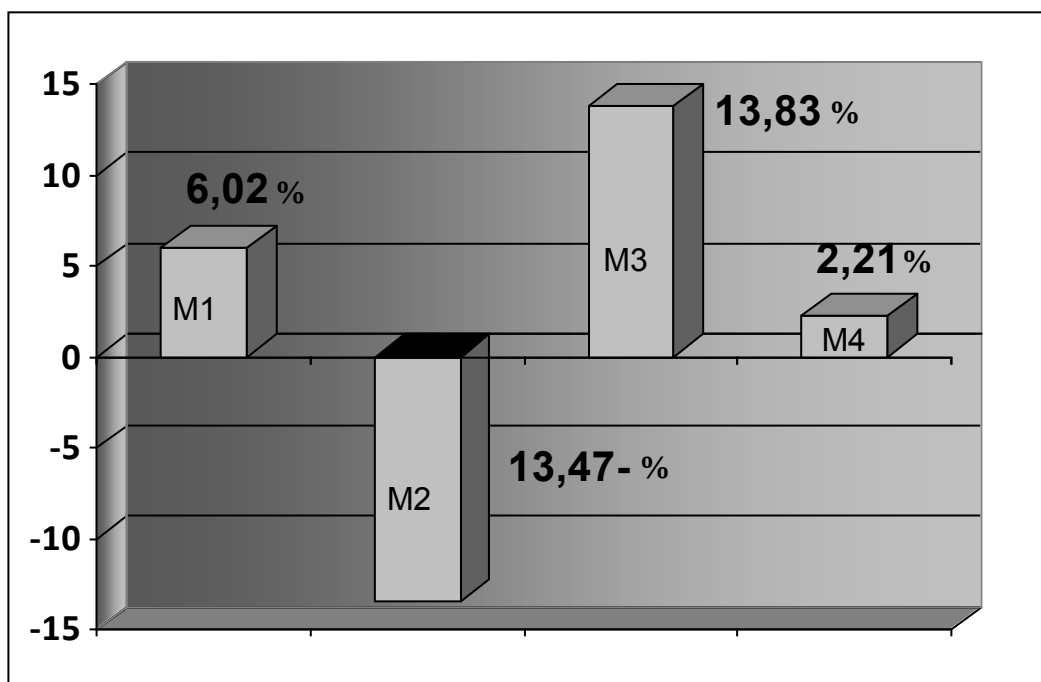


Figura 10- Gráfico da variação percentual da SAA de cada momento em relação ao momento zero (M0)

Nolen-Walston (2015) resume que a SAA se manifesta de forma diferente para cada tipo de estímulo inflamatório e que no exercício parece que sua elevação de concentração está vinculada a esforços de longa duração.

5.2.2. Haptoglobina (Hp)

No presente estudo não foi constatada diferença significativa na Hp entre os momentos (tabela 6).

Tabela 6. Valores médios e desvio padrão da concentração da Hp (mg/dL) influenciados pela atividade do hipismo clássico.

Momentos	Média	Desvio Padrão	5%
M0	34,0	12,1	A
M1	56,1	19,9	A
M2	48,4	21,4	A
M3	47,4	22,1	A
M4	48,9	17,7	A

Resultados da haptoglobina (Hp) em mg/dL no repouso (M0), imediatamente após o exercício (M1), 30 minutos após o esforço (M2), 60 minutos após (M3) e 24 horas após o exercício. Letras diferentes indicam diferença significativa entre momentos, para $p < 0,05$.

No repouso (M0) os animais apresentaram concentração média da Hp de $34,0 \pm 78,1$ mg/dL; no momento imediatamente após o exercício (M1) $56,1 \pm 19,9$

mg/dL; 30 minutos após o esforço (M2) foi encontrado $48,4 \pm 21,4$ mg/dL; uma hora depois do exercício (M3) $47,4 \pm 22,1$ mg/dL e 24 horas após a atividade foi encontrado $48,9 \pm 17,7$ mg/dL. Não foi apresentada diferença significativa entre os momentos.

Mesmo não apresentando diferença significativa, é interessante observar o comportamento da Hp com o pico logo após o exercício e declinando ao longo das coletas (gráfico 5). Valle et al. (2015) também não encontraram variação significativa em evento de hipismo entre o repouso e o fim do esforço. Os autores consideram controversas as publicações relativas à elevação da Hp e explicam que o declínio da proteína, em alguns casos, pode estar relacionada ao fato da ligação entre ela e a hemoglobina liberada na circulação após hemólise induzida pelo exercício.

Os resultados do presente estudos estão em concordância com os de Valle et al. (2015) e Cywinska et al. (2012). Estes autores não encontraram diferença nem em distâncias curtas e rápidas (alta intensidade) nem em longas distâncias.

Amaral et al. (2015) realizaram um estudo com cavalos em exercício de longa distância e constataram que animais com pobre desempenho apresentam maior elevação da Hp do que os de melhor desempenho, tendo ambos apresentado diferença significativa entre o repouso e após o esforço.

Todos os autores citados neste tópico foram unânimes em afirmar que há uma elevação relevante da Hp em situações pós cirúrgicas e menos acentuada em enfermidades inflamatórias. Westerman et al. (2015) comparou animais saudáveis com um grupo de animais que foram atendidos em hospital veterinário com complicações variadas, tendo observada grande elevação da Hp no grupo de animais internados.

Amaral et al. (2015) sugerem o uso da análise da Hp como ferramenta de avaliação em eventos de longa duração, uma vez que foi observada elevação desta proteína nos exercícios longos.

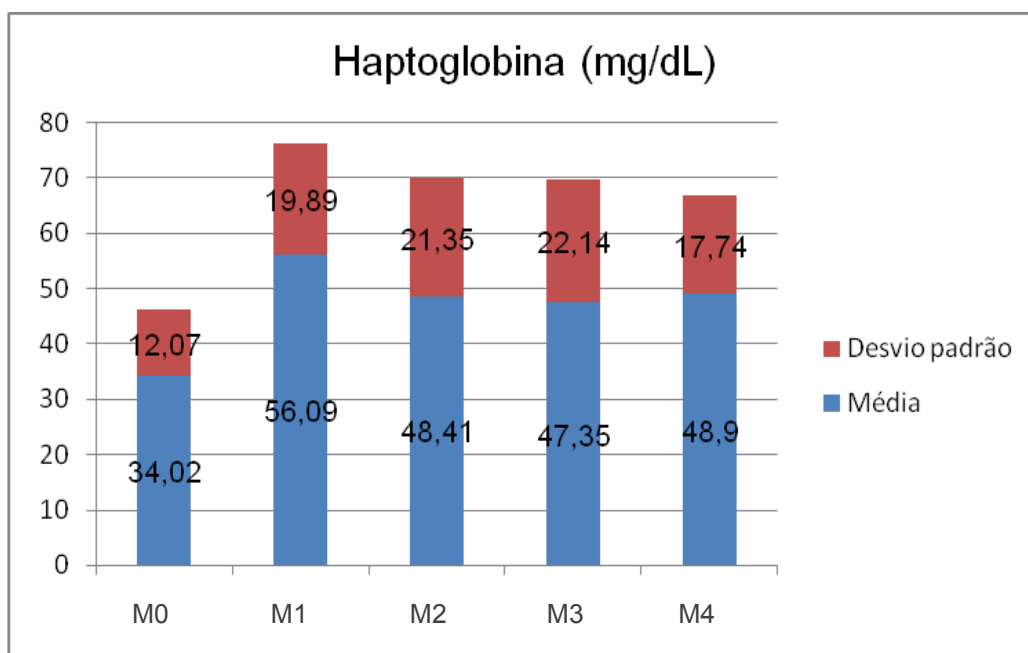


Figura 11 – Gráfico do comportamento da Hp durante os momentos

5.3. Correlação entre variáveis

Não foi observada correlação significativa entre a SAA e CK (gráfico 6 e 7); Hp e CK e entre SAA e Hp. A correlação de Pearson mostrou uma fraca correlação inversa, porém significativa entre a SAA e a AST (-0,386). Este resultado fraco, embora significativo, não parece ter relevância na literatura (WESTERMAN et al. (2015)).

Santos et al. (2015) relatam que a enzima pode ter elevação em até três dias após a atividade estressora. Os autores afirmam que o pouco tempo de atividade pode ser um fator de influência na não exibição de mudanças nos valores associado ao bom condicionamento físico dos animais. O que também pode ser estendido para o processo inflamatório.

Estudo realizado por Braz et al. (2016) também não encontrou correlação da AST com APR, mas encontraram correlação inversa com a CK. Relataram que o fenômeno acontece em função de a AST ter elevação mais tardia e a CK mais rápida. Com relação as APR, afirmaram que a AST pode ser mais órgão específica e as proteínas de fase aguda a resposta sistêmica.

Siqueira e Fernandes (2016) encontraram elevação tanto na CK quanto na SAA, mas não foi estabelecida correlação estatística entre as variáveis. Westerman et al. (2016) que avaliaram a concentração sérica da SAA e a Hp

como prognóstico indicador de cavalos com cólica encontraram elevação das duas PFA mas não estabeleceram correlação entre as proteínas.

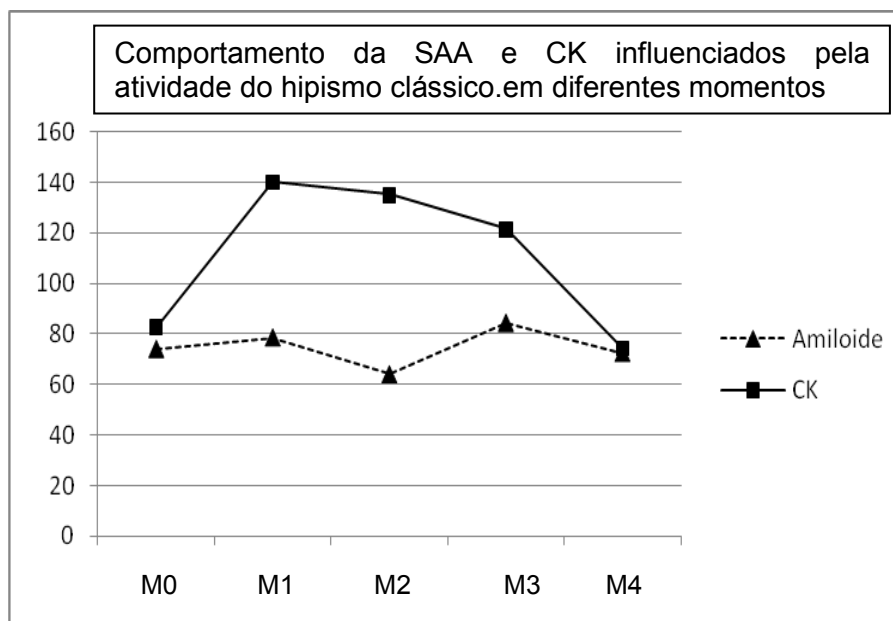


Figura 12- Gráfico mostrando o comportamento SAA e CK indicando uma maior estabilidade da amiloide em contrapartida ao pico pós esforço da CK, sem correlação estatística entre os momentos.

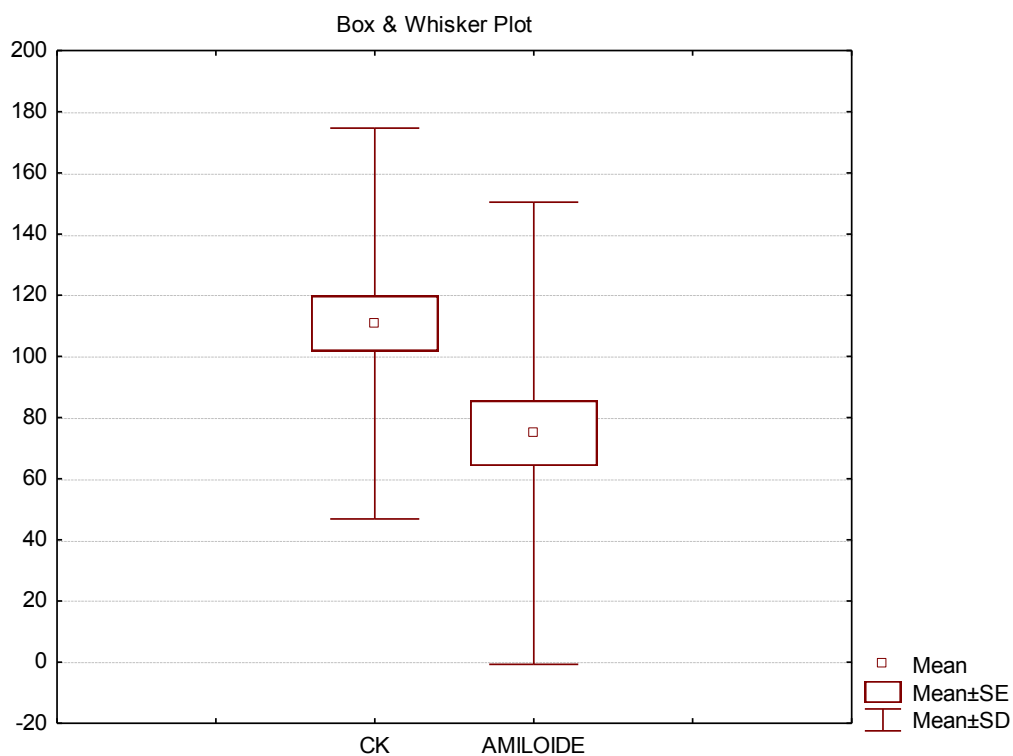


Figura 13 – Box Plot da SAA e CK sem correlação.

Embora seja percebida sobreposição dos desvios padrão entre as variáveis, isso não representa correlação entre elas.

Também não foi observada correlação entre as proteínas de fase aguda SAA e Hp (0,832). Embora não seja um demonstrativo de correlação, pode se perceber uma heterogeneidade entre os dados (figura 14).

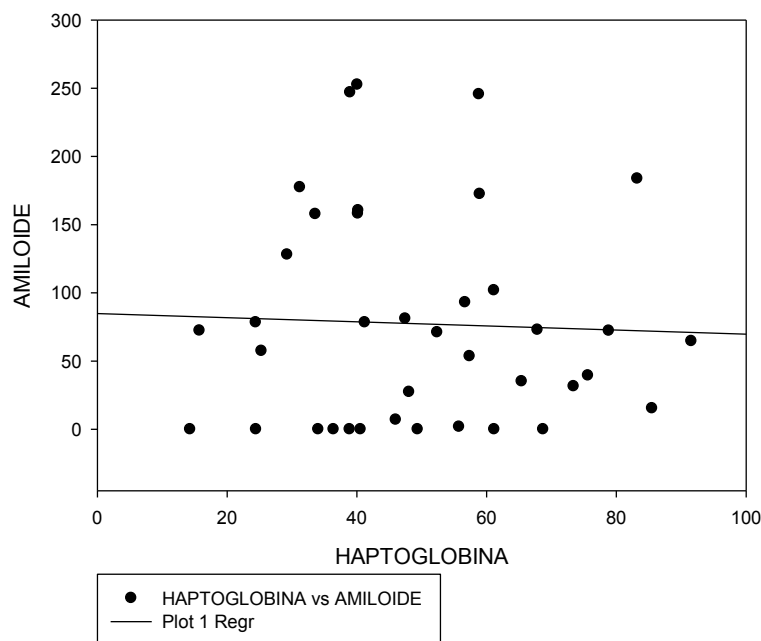


Figura 14 – Gráfico de dispersão da SAA e Hp

Não se conseguiu levantar dados de correlação entre as PFA e marcadores de atividade muscular na literatura.

Partindo da premissa de que obstáculos com altura de um metro são usados em competições para cavaleiros iniciantes, sugere-se que novos estudos sejam realizados com altura mais próxima às das competições profissionais para se conhecer o real impacto da modalidade na resposta de fase aguda.

É interessante que se faça um acompanhamento das sessões do treinamento, uma vez que a literatura vinculou a resposta de fase aguda a uma maior duração do exercício e que os treinos podem durar mais de uma hora.

6. Conclusões

Os resultados refutam a hipótese de que a atividade do hipismo clássico provoca reação de fase aguda e que as proteínas SAA e Hp se relacionam com a CK.

Pode-se inferir que a atividade de hipismo com obstáculos de um metro não provocaram reação de fase aguda por meio da SAA ou Hp ($p < 0,05$) no grupo de animais submetidos ao referido exercício.

Não houve correlação entre SAA e CK/AST (-0,153/-0,389).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, L.A.; PAZ, C.F.; CRESPO, E.P. e NOGUEIRA, C.E.W. 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.

ADAMU, L.; NORANIZA, M.A., RASEDEE, A. E BASHIR, A. Effect of age and performance on physical, hematological, and biochemical parameters in endurance horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.33, n.2, p.415-420, 2013.

BARRACHINA, L.; REMACHA, A.R.; SOLER, L.; GARCÍA, N.; ROMERO, A.; VÁZQUEZ, F.J.; VITORIA, A.; ÁLAVA, M.A.; LAMPRAVE, F. e RODELLAR, C. Acute phase protein Haptoglobin as inflammatory marker in sérum and synovial fluid in an equine model of arthritis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.182, p.74-78, 2016.

BARTOLOMÉ, E. e COCKRAM, M.S.. Potential effects of stress on the performance of sport horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, In: press, 2016.

BRAZ, P.H.; GHETTI, E.R.M.L.; SARTORETTO, M.C. e DEBOLETO, S.G.C. Avaliações séricas de glicose, lactato, creatina quinase e aspartato aminotransferase em equinos quarto de milha antes e depois de prova de corrida. *Acta Veterinária Brasília*, v.10, n.4, p.322-326, 2016

BULLONE, M.; LAGARDE, M.; VARGAS, A. e LAVOIE, J. P. Serum surfactant, protein D and haptoglobin as potential biomarkers for inflammatory airway disease in Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.29, n.6, p.1707-1711, 2015.

BUZALA, M. KRUMRYCH, W. e 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.

CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE HIPISMO, O hipismo no Brasil e a CBH, 2012. Disponível em: < <http://www.cbh.org.br/cbh/historico.html>>. Acesso em: 01 nov. 2015.

COOPER, C.B.; DOLEZAL, B.A.; NEUFELD, E.V.; SHIEH, P. JENNER, J.R. e RILEY, M. Exercise responses in patients with chronically high creatine kinase levels. *Muscle & Nerve*, v.55, n.3, 2017

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, 2012.

DONDI, F.; LUKACS, R.M.; GENTILINI, F.; RINNOVATI, R. SPADARI, A. e ROMAGNOLI, N. 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.

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

EHLTING, C.; SANWALD, J.; HAHNEL, M.J.; BÖHMER, O.; ALBRECHT, U.; DEENEN, R.; KÖHRER, K.; GAESTEL, M.; FEUER, R. e SAWODNY, O. The interplay of the mapkap 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, p.510, 2016.

EHRMAN, J.K.; GORDON, P.M.; VISICH, P.S. e KETHEYIAN, S.J. *Clinical exercise physiology*, 3ed, Champaign, USA: Human Kinetics, 2013, 776p

EVANS, D. The use of heart rate and lactate analysis to assess fitness. In: ANZCVS Equine chapter proceedings. Australia and New Zealand College of Veterinary Scientists: Queensland, Australia, 14-16, 2016

FAZIO, F.; ASSENZA, A.; TOSTO, F.; CASELLA, S.; PICCIONE, G. e CAOLA, G. Modifications of some acute phase proteins and White blood cell count in thoroughbreds during training. *Veterinary Record*, v.167, p.370-372, sep 2010.

FAZIO, F. CASELLA, S.; ASSENZA, A.; ARFUSO, F.; TOSTO, F. e PICCIONE, G. Blood biochemical changes in show jumpers during a simulated show jumping test. *Vet. Arhiv*, v.84, n.2, p.143-152, 2014.

FÉDÉRATION EQUESTRE INTERNATIONALE. *Annual Report 2013*, Lausanne, p.92, 2013.

FIORI, J.P.; BENJAMIN, H.J.; BRENNER, J.; GREGORY, A.; JAYANTHI, N. LANDRY, G. e LUKE, A. Overuse injuries and burnout in youth sports: a position statement from the American Medical Society of Sports Medicine. *Br J Sports Med*, v.48, n.4, p.287-288, 2014.

FISHER, A.L.; GREENE, H.M.; TALMADGE, R.J. e NOUT, Y.S. Effect of a lactate-guided conditioning program on fitness markers in the equine athlete. In: Southern California Conference for Undergraduate research (SCCUR), Pomona

CA, 2014. Anais. Pomona: California State Polytechnic University, Pomona, 2014.

FLECK, S.J.; KRAEMER, W.J. e DESCHENES, M.R. Fisiologia do exercício – teoria e prática. 2ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2016, 560p

GLEESON, M., Biochemistry of exercise. In: MAUGHAN, R.J. Nutrition in sport, Oxford, UK: Blackwell Science, 2008, cap. 2, p.18-32

GONDIN, M.R. FOZ, N.B.; PEREIRA, M.C.; FLAGLIARI, J.J.; OROZCO A.G.; D'ANGELIS, F.H.F.; QUEIROZ-NETO, A. e FERRAZ, G.C.. Acute phase responses of different positions of high-goal (elite) polo Ponies. Journal of Equine Veterinary Science, v.33, n.11, p.956-961, 2013.

HASSAN et al. Effect of race in the clinical, hematological and biochemical biomarkers in thoroughbred horses. Alexandria Journal of Veterinary Sciences, v.46, n.1, p.161-169, 2015.

HINCHCLIFF, K.; GEOR, R. e KANEPS, A. Equine exercise physiology: the science of exercise in the athletic horse, Philadelphia: Saunders, 2008, 476p

HYATT, C.S.; SIGLER, D. e VOLGELSANG, M. Muscle metabolic effects of whole-body vibration in yearling horses, Journal of Equine Veterinary Science, v.52, n.5, p.70, 2017.

JAIN, S.; GAUTAM, V. e NASEEM, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, v.3, n.1, p.118-127, 2011.

KASPAR, F.; JELINEK, H.F.; PERKINS, P.; AL-AUBAIDY, H.A.; DEJONG, B. e BUTKOWSKI, E. Acute phase inflammatory response to single bout HIIT and endurance training: a comparative study. In: Mediators of Inflammation, v.2016, p.1-7, 2016.

LECLERE, M.; LAVOIE-LAMOUREX e LAVOI, J.-P.. Acute phase protein in race horses with inflammatory airway disease. Journal of Veterinary Internal Medicine, v.29, n.3, p.940-945, 2015.

LUCAS, V.; BARRERA, R.; DUQUE, F.J.; RUIZ, P. e ZARAGOZA, C.. Effect of exercise on serum markers of muscle inflammation in Spanish greyhounds. American Journal of Veterinary Research, v.76, n.7, 2015.

MACARDLE, W.D.; KATCH, F.I. E KATCH, V.L. Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance, 8th, Baltimore: Wolters Kluwer, 2014, 1136p

MACEDO, A.T.M.; SOUTO, R.J.C.; MENDONÇA, C.L.M.; FLAGLIARI, P.C.; SOARES, P.C.S. e AFONSO, J.A.B. Proteinograma de ovelhas acometidas por

casos naturais de toxemia da prenhez. Vet. E Zootec., v.24, n.1, p.159-173, 2017.

MARLIN, D e NAKERVIS, K.J. Equine exercise physiology, Oxford, UK: Blackwell Science, 2004, 304p

MARTINS, L.P.; DI FILIPPO, P.A.; MEIRELES, M.A.D.; PEÇANHA, R.M.S.; MELLO, L.M.; RIBEIRO, L.M.F.; VIANA, I.S. Effect of marcha exercise on serum electrolytes and acid base balance in Mangalarga Marchador horses. Journal of Equine Veterinary Science, v.49, n12, p 108-112, 2016.

MAUGHAN, R.J.; GLEESON, M. e GREENHAFF, P.L. Bioquímica do exercício e treinamento, São Paulo: Manole, 2000, 240p

MIRANDA, A.C.T. Avaliação de parâmetros fisiológicos e do metabolismo mitocondrial muscular em equinos de concurso completo de equitação submetidos a exercício intenso. Fevereiro, 2014, 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciência), Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2014.

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

NOLETO, et al. Effect of a 130 km endurance ride on the serum biochemical profiles of Mangalarga Marchador horses. Journal of Equine Veterinary Science, In Press, Accepted Manuscript, 2015.

OCTURA, J.E.R.; LEE, K.J.; CHO, H.W.; VEGA, R.S.A.; CHOI, J.Y.; PARK, J.; SHIM, T. CHO, S.K. KIM, B.W. e CHO, B.W. Elevation of Blood creatine kinase and selected blood parameters after exercise in thoroughbred race horses. Journal of Research in Agriculture and Animal Science, v.2, n.5, p7-13, 2014.

PARPAGLIA, M.L.P.; ZOBBA, R. ARDU, M.; NICCOLINI, S.; CUBEDDU, F.; DIMAURO, C.; BONELLI, P. e DEDOLA, C. VISCO, S. Physical, hematological, and biochemical responses to acute intense exercise in polo horses. Journal of Equine Veterinary Science, v.31, n.9, p.542-548, 2011.

PATELLI, T.H.; SOUZA, F.A.A.; CARDOSO, M.J.L.; FAGNANI, R.; SILVA, A.R.; NASCIMENTO, A.F. Atividade sérica das enzimas creatina quinase e aspartato amino transferase em equinos submetidos a duas modalidades esportivas. Pubvet, v.10, n.8, p608-614, 2016.

POLLOCK, P. 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. November, 2016. 270f. Tese (Ph.D.

Veterinary Medicine), School of Veterinary Medicine, College of Medicine, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, Scotland. 2016

ROBERTS, C.; HARRIS, P.; MURRAY, R. The relationship between blood lactate, serum muscle enzymes, jumping performance and muscle soreness in show-jumping horses. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY, 9, 2014, Chester, UK, Scientific Abstracts of 9th International Conference on Equine Exercise Physiology, Chester, UK, Equine Veterinary Journal, 2014, 9p

SANTOS, V.P.S.; GONZALES, F.D.G.; CASTRO JR, F.C. e CORREIO, T.F.C. Hemato-biochemical response to exercise with ergometric treadmill, mount training and competition in jumping horses. Archives of Veterinary Science, v.20, supl.1, p.1-8, 2015

SIQUEIRA, R.F. e FERNANDES, W.R. Post-ride inflammatory markers in endurance horses. Ciência Rural, v.46,n.7, p.1256-1261, 2016.

SOARES, O.A.B.; D'ANGELIS, F.H.F.; FERINGER JUNIOR, W.H.; NARDI, K.B.; TRIGO, P.; ALMEIDA, F.Q.; MIRANDA, A.C.T.; QUEIROZ NETO, A. e FERRAZ, G.C. Serum activity of creatine kinase and aminotransferase aspartate of horses submitted to muscle biopsy and incremental jump test. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., v.14, n.2, p299-307, 2013.

TRANQUILLE, C.A.; NANKERVIS, K.J.; WALKER, V.A.; TACEY, J.B. E MURRAY, R.C. 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, march 2016.

TURLO, A., CYWINSKA, A.; CZOPOWICZ, M.; WITKWOSKI, L.; SZASKA, E.e WINNICAKA. Post-exercise dynamics of serum amyloid A blood concentration in thoroughbred horses classified as injured and non-injured after the race. Research in Veterinary Science, v.100, p.223-225, jun 2015.

_____ Racing induces changes in the blood concentration of serum amyloid A in thoroughbred racehorses. Journal of Equine Veterinary Science. V.36,n.2, p.15-18, 2016.

VALLE, E.; ZANATTA, R.; ODETTI, P.; TRAVERSO, N.; FURFARO,A.; BERGERO,D.;BADINO, P.; GIRARDI, C.; MINISCALCO, B. BERGAGNA, S.; TARANTOLA, M.; INTORRE, L. e ODORE, R.. Effects of competition on acute phase proteins and lymphocyte subpopulations – oxidative stress markers in eventing horses. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, v.99, n.5, p.856-863, 2015.

VINER, M.; MARZAN, M.; BEDENICE, D. MAPES, S. e PUSTERLA, N. Comparison of serum amyloid A in horses with infectious and non-infectious

respiratory diseases. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.49, n.2, p.11-13, 2017.

WESTERMAN, T.L.; FOSTER, C.M.; TORNQUIST, S.J. e POULSEN, K.P. Evaluation of serum amyloid A and Haptoglobin concentrations as prognostic indicators of horses with inflammatory disease examined at tertiary care hospital. *AJVR*, v.76, n.10, p.882-888, 2015.

_____. Evaluation of serum amyloid A and Haptoglobin concentrations as prognostic indicators of horses with colic. *JAVMA*, v.248, n.8, p.935-940, 2016.

ZOBBA, R. ARDU, M.; NICCOLINI, S.; CUBEDDU, F.; DIMAURO, C.; BONELLI, P.; DEDOLA, C. VISCO, S.; PARPAGLIA, M.L.P. Physical, hematological, and biochemical responses to acute intense exercise in polo horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.31, n.9, p.542-548, 2011.

ANEXOS

ANEXO 1. Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFV certifica que o processo nº 77/2015, intitulado "Avaliação de proteínas de fase aguda e sua relação com biomarcadores de atividade muscular de equinos submetidos à atividades de hipismo clássico", coordenado pelo professor Leandro Abreu da Fonseca do Departamento de Veterinária, está de acordo com a Legislação vigente (Lei Nº 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTI, a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTI, portanto sendo aprovado por esta Comissão em 04/03/2016, com validade de 12 meses.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 77/2015, named "Acute phase proteins evaluation and the relationship with muscular biomarkers in horses submitted to to show jump", is in agreement with the a actual Brazilian legislation (Lei Nº 11.794, 2008), Normative Resolutions edited by CONCEA/MCTI, the DBCA (Brazilian Practice Guideline for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes and Teaching) and the Guidelines of Practice the Euthanasia recommended by CONCEA/MCTI therefore being approved by the Committee on March 04, 2016 valid for 12 months.


Prof. Atima Clemente Alves Zuanon
Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV

ANEXO 2. – Resultados totais de glicose, lactato, CK, AST e SAA

ANIMAL	MOMENTO	GLICOSE	LACTATO	CK	AST	SAA
		mg/dL	mmol/L	UI/L	UI/L	ng/mL
1	M0	89	2,66	47	242	0,00
	M1	85	10,32	98	240	0,00
	M2	126	4,77	71	243	0,00
	M3	105	4,33	108	240	0,00
	M4	104	6,1	39	205	0,00
2	M0	110	3,77	189	199	41,51
	M1	85	19,31	243	155	61,87
	M2	105	6,99	226	190	27,39
	M3	80	5,33	235	192	157,80
	M4	86	7,4	180	188	81,11
3	M0	106	3,99	90	259	95,68
	M1	96	29,3	115	205	72,41
	M2	105	6,33	114	224	64,65
	M3	97	4,77	156	222	72,97
	M4	95	4	83	242	35,20
4	M0	92	2,44	91	197	193,11
	M1	87	12,77	234	208	53,58
	M2	75	2,78	86	185	128,05
	M3	87	4,44	78	202	183,80
	M4	86	4	69	135	15,43
5	M0	79	3,55	97	261	51,97
	M1	74	8,99	159	224	72,28
	M2	84	4,44	140	226	39,43
	M3	89	3,33	151	225	31,56
	M4	86	4,9	83	147	93,17

ANEXO 2. – Continuação - Resultados totais de glicose, lactato, CK, AST e SAA

ANIMAL	MOMENTO	GLICOSE	LACTATO	CK	AST	SAA
		mg/dL	mmol/L	UI/L	UI/L	ng/mL
6	M0	113	3,99	136	233	0,00
	M1	72	13,1	157	239	7,03
	M2	85	3,66	157	238	0,00
	M3	90	4,55	157	240	1,90
	M4	75	5,1	100,2	212	0,00
7	M0	118	5,2	83	162	17,46
	M1	74	8,99	130	240	101,89
	M2	90	3,77	332	233	57,51
	M3	93	4,22	116	235	78,46
	M4	90	8,1	65	187	71,10
8	M0	87	3,8	36	162	162,32
	M1	103	15,8	96	177	172,49
	M2	84	14,8	83	178	78,40
	M3	82	4,4	81	169	158,17
	M4	94	3,56	33	166	177,41
9	M0	85	3,8	32	169	180,30
	M1	60	16,8	94	188	245,60
	M2	92	12,2	84	185	246,93
	M3	102	10,8	76	183	160,48
	M4	113	3,3	38	183	252,61
10	M0	98	4,3	27	185	0,00
	M1	61	17,5	75	198	0,00
	M2	85	5,3	57	190	0,00
	M3	83	7,1	56	196	0,00
	M4	88	4,24	54	184	0,00

ANEXO 3 – Resultados da haptoglobina

ANIMAL	M0	M1	M2	M3	M4
1	35,29	81,17	61,17	14,29	24,46
2	22,33	34,12	48,04	33,61	47,46
3	30,02	15,74	91,55	67,85	65,41
4	13,74	57,37	29,26	83,22	85,51
5	46,61	78,84	75,62	73,41	56,68
6	23,65	45,99	34,04	55,75	49,38
7	53,89	61,14	25,29	24,41	52,38
8	34,51	58,95	41,23	40,17	31,22
9	37,8	58,81	38,97	40,21	40,06
10	42,38	68,72	38,89	40,57	36,41
MEDIA	34,02	56,09	48,41	47,35	48,90
DP	12,07	19,89	21,35	22,14	17,74