

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA E E SELÊNIO SOBRE O QUADRO HEMATOLÓGICO, ENZIMAS MARCADORAS DE LESÃO MUSCULAR E ÍNDICE DE PEROXIDAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS EM EQUINOS SUBMETIDOS À ATIVIDADE DE SALTO

DOMINGOS CACHINEIRO RODRIGUES DIAS¹, JULIANA DA SILVA ROCHA², ALBERTO LOPES GUSMÃO³, RAMON DOS SANTOS EL-BACHÁ⁴ E MARIA CONSUELO CARIBÉ AYRES⁵

1. Mestrando do Curso de Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos, EMV, UFBA, Salvador, Bahia.

E-mail: domingosdiasvet@hotmail.com

2. Bolsista do Programa de Iniciação Científica, EMV, UFBA

3. Professor doutor da Escola de Medicina Veterinária, UFBA

4. Professor doutor do Instituto de Ciências da Saúde, UFBA

5. Professora doutora da Escola de Medicina Veterinária, UFBA.

RESUMO

As alterações dos constituintes sanguíneos e o estresse oxidativo são mecanismos fisiopatológicos incriminados no aparecimento de lesões relacionadas ao exercício. Avaliou-se a influência da suplementação oral à base de α -tocoferol (vitamina E) e selênio sobre o quadro hematológico, bem como a atividade sérica de enzimas marcadoras de lesão muscular e o nível de substâncias derivadas da ação dos radicais livres sobre biomoléculas presentes na membrana de eritrócitos (TBARS) de equinos normalmente treinados e submetidos à prova de hipismo clássico. Para isso, distribuíram-se vinte cavalos em dois grupos, sendo um suplementado com produto à base de vitamina E (2500 mg/dia) e selênio (3 mg/dia) por 45 dias (GT) e outro mantido como controle (GC). Colheram-se amostras de sangue antes (T_R) e após (T_0) a realização do exercício e seis (T_6), doze (T_{12}) e 24 horas (T_{24}) após o término da atividade de esforço. Foram avaliados os

constituintes do hemograma, a atividade sérica das enzimas CK, AST e LDH e a concentração TBARS na membrana de eritrócitos. A suplementação utilizada apresentou efeito sobre alguns parâmetros do hemograma, uma vez que no GT houve retorno aos níveis basais de número de hemácias e leucócitos, caracterizado por neutrofilia, em até seis horas. No GC, tais valores retornaram aos níveis de repouso entre 12 e 24 horas. Para a AST, o GT retornou ao valor do repouso seis horas após a realização do exercício. No entanto, não houve efeito sobre as enzimas CK e LDH, nem para o TBARS. Apesar de terem sido observadas diferenças na dinâmica de alguns parâmetros hematológicos entre os grupos, não foi possível determinar atividade antioxidante no GT no delineamento experimental utilizado, o que demonstra a necessidade de mais estudos para o entendimento do estresse oxidativo em cavalos atletas e a suplementação com antioxidantes na dieta desses animais.

PALAVRAS-CHAVES: Cavalo atleta, estresse oxidativo, fisiologia do exercício, vitamina E.

ABSTRACT

EFFECT OF A VITAMIN E AND SELENIUM ORAL SUPPLEMENTATION ON HEMATOLOGICAL PARAMETERS, MUSCULAR INJURIES MARKERS ENZYMES AND PEROXIDATION INDICES OF BIOMOLECULES IN SHOW JUMPING HORSES

Among the main physiopathological mechanisms in the appearance of injuries related to the physical exercise,

the involvement of free radicals is very important, mainly oxygen reactive species. They can lead to hematological

and biochemical alterations related to injuries mediated by the physical effort. For the prevention and treatment of such conditions, the use of antioxidant supplementation, like α -tocopherol (vitamin E) and selenium has been considered for training animals and competitions of high impact. The aim of this research was to evaluate the influence of vitamin E and selenium oral supplementation on hematological parameters, the seric activity of muscular enzymes and the level of substances derived from oxidative stress on erythrocyte membranes of horses normally trained and submitted to a show jumping test. For this purpose, 20 horses with these characteristics were divided in two groups. One of them (GT) received oral supplementation of vitamin E (2500 mg/day) and selenium (3 mg/day) for 45 days and another one was kept as control (GC). Both groups were submitted

to a standardized test of show jumping and samples of blood were collected in rest, immediately after, and 6, 12 and 24 hours after the end of the activity. The constituents of the hemogram, the seric activity of enzymes CK, AST, and LDH, and the level of an oxidative stress marker (TBARS) in erythrocyte membranes were evaluated. The number of erythrocytes and leukocytes returned to basal levels in GT after 6 hours. In GC, such values returned to rest levels between 12 and 24 hours. Despite the observed differences in some hematological parameters dynamics between the two groups, it was not possible to determine antioxidant activity in GT. These observations demonstrate the need for more studies to understanding oxidative stress effects on athletic horses and the use of antioxidants for these animal's diets.

KEY WORDS: Exercise, horse, oxidative stress, selenium, vitamin E.

INTRODUÇÃO

O exercício físico é responsável por induzir vários processos biológicos que causam efeitos benéficos ao organismo. Todavia, quando ultrapassados os limites fisiológicos, torna-se prejudicial ao organismo. A produção de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (EROs) relacionada ao exercício é uma das consequências desse processo (JI, 1999), como demonstrado por SJÖDIN et al. (1990).

Dentre os seus efeitos deletérios potenciais das Eros, destacam-se as lesões teciduais pela oxidação dos componentes celulares, tais como as membranas lipídicas, entre outras. Dessa forma, o estresse oxidativo induzido pelo exercício contribui para acelerar o processo de fadiga e lesão da fibra muscular, levando à intolerância ao exercício e à queda de desempenho atlético (MOFFARTS et al., 2004).

Uma das principais estratégias sugeridas para a prevenção do surgimento de estresse oxidativo oriundo do exercício é a suplementação dietética com substâncias antioxidantes, com o objetivo de neutralizar a produção de EROs e, assim, o desenvolvimento de lesões oxidativas (URSO & CLARKSON, 2003). A vitamina E é o principal antioxidante biológico associado ao estresse oxidativo causado pelo exercício. Além disso, o selênio também tem sido utilizado como suplemento, por fazer parte do sistema da glu-

tationa, um importante mecanismo antioxidante enzimático (WILLIAMS & CARLUCCI, 2006).

O estresse oxidativo oriundo do exercício determina alterações hematológicas. Foi demonstrado aumento da atividade peroxidativa dos leucócitos após sessão de exercícios (KORHONEN et al., 2000), como também alterações mecânicas nos eritrócitos oriundas de lesões das membranas determinadas pela ação de radicais livres. A diminuição da fluidez eritrocitária (BASKURT & MEISELMAN, 1999; PORTIER et al., 2006; MOFFARTS et al., 2007) afeta a microcirculação da musculatura, causando lesão tecidual e consequentemente aumento da atividade das enzimas ligadas à lesão muscular (SENTÜRK et al., 2005).

Um dos modelos utilizados para estudo do efeito da suplementação antioxidante na alimentação de atletas é mediante a avaliação de sua influência sobre os constituintes sanguíneos e a atividade de enzimas musculares e de marcadores de estresse oxidativo, com pesquisas realizadas em atletas humanos (VÁZQUEZ et al., 2006), bem como em cavalos de esporte, em teste de campo (WILLIAMS et al., 2004a) e em condições experimentais (SILVEIRA, 2005).

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da suplementação oral de vitamina E e selênio como suplemento alimentar. Para tanto, avaliaram-se o quadro hematológico, a atividade de marcadores bioquímicos séricos de lesão muscular (aspartato aminotransferase – AST;

creatinaquinase – CK e lactato desidrogenase – LDH) e a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), como marcadores bioquímicos de estresse oxidativo, em membranas de eritrócitos de cavalos atletas, mantidos na Região Metropolitana de Salvador, BA. Submeteram-se os animais à prova de hipismo clássico, na modalidade de salto, sob condições naturais de competição.

MATERIAL E MÉTODOS

Empregaram-se vinte equinos da raça Brasileira de Hipismo (BH), de um clube equestre do Município de Salvador, mantidos em treinamento para provas de hipismo clássico, com idade compreendida entre oito e doze anos e com peso médio de 450 kg. Exames físicos e hematológicos foram realizados previamente, para certificação do bom estado clínico dos animais. Durante os períodos de padronização, submeteram-se os cavalos a quatro sessões de treinamentos semanais constituídos de quinze a vinte minutos de aquecimento, seguidos de quarenta a cinquenta minutos de trabalho divididos entre trote e galope, além de duas sessões semanais de saltos na pista desenhada para o experimento e uma folga semanal.

Após o período de noventa dias de padronização do manejo, os vinte animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos (grupo-controle – GC; grupo-teste – GT), constituídos cada um desses por dez animais. Para o GT, foram adicionadas à dieta vinte gramas por dia de um produto à base de vitamina E e selênio (E-S-E Super, Vetnil, Louveira, SP) por um período de quarenta e cinco dias, o que representou um total de 2.500 mg de Vitamina E e 3 mg de selênio, seguindo-se as orientações do fabricante e observando-se no cocho a total ingestão do produto pelos animais. Manteve-se a rotina de treinamentos durante o período de suplementação.

Após o período de suplementação, os animais foram submetidos à prova de hipismo clássico na categoria de 1,00 metro de altura. Padronizaram-se o tempo de aquecimento, o número de obstáculos bem como o grau de dificuldade, sendo vinte e cinco minutos de exercício, dez minutos a passo, dez a trote, cinco minutos a galope com

um total de seis saltos de preparação. A prova foi constituída de dupla passagem por uma pista de nove obstáculos, perfazendo um total de dezoito saltos com duração de cerca de três minutos.

Por meio da venipunção jugular externa, colheram-se duas amostras de 05 mL sangue de cada animal, em tubos a vácuo contendo sal trissódico do ácido etilenodiamino-tetracético (EDTA k_3) a 10%, com os animais ainda em repouso (T_R), imediatamente após término do exercício (T_0), e seis (T_6), doze (T_{12}) e 24 (T_{24}) horas após a realização da prova. Uma foi destinada às análises dos constituintes do hemograma e outra para a obtenção de hemolizado para a determinação das TBARS. Para avaliação das atividades das enzimas moduladoras de lesão muscular – CK, AST e LDH – e concentração de proteínas totais e de vitamina E, 10 mL de sangue foram colhidos nos mesmos momentos descritos, em tubos sem EDTA, e em seguida mantidos em repouso à temperatura ambiente, para a retração do coágulo e obtenção do soro, sendo congelado a -40°C até o momento da realização das provas laboratoriais. Realizou-se a determinação das enzimas por método espectrofotométrico, mediante a utilização de *kits* comerciais de análises bioquímicas.

Todos as amostras foram acondicionadas sob refrigeração e imediatamente remetidas ao Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais Domésticos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia (EMEV – UFBA), onde foram processadas. Procedeu-se à análise dos parâmetros hematológicos mediante métodos manuais convencionais de contagem por microscopia em Câmara de Neubauer e à análise da hemoglobina por espectrofotometria. As análises das características morfotintoriais e a contagem diferencial de leucócitos foram realizadas em esfregaço sanguíneo por microscopia.

Efetuiu-se a avaliação do índice de peroxidação de biomoléculas, principalmente lipídios, pelo teor de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBA), denominadas TBARS, em membranas de eritrócitos, descrito por ESTERBAUER & CHEESEMAN (1990). As concentrações de TBARS foram expressos em nM/mg de proteína (MIURA et al., 1998).

Determinou-se a concentração de vitamina E em amostras de soro, as quais foram congeladas e remetidas para o Laboratório de Nutrição da Faculdade de Medicina da Universidade Paulista de Ribeirão Preto, SP. Para tanto, utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), em fluoroscopia, de acordo com a metodologia descrita por ARNAUD et al. (1991).

A análise estatística foi composta pelos testes t pareado para as variáveis paramétricas, ou o teste de Wilcoxon para as variáveis não paramétricas, pela análise de variância (ANOVA) unilateral para medidas repetidas, para o primeiro teste, ou pelo teste de ANOVA não paramétrico de Kruskal-Wallis, para o segundo teste. Em seguida, aplicou-se o método de Student-Newman-Keuls. Compararam-se os dados do GC e do GT, nos diferentes momentos, pelo teste t ou pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. Verificou-se a existência de correlação entre os diferentes parâmetros por meio do teste de Pearson ou de Spearman. Dados que na comparação apresentaram valores de $p < 0,05$ foram considerados como sendo significativamente diferentes. Desenvolveram-se as análises estatísticas pelo programa SigmaStat 3.0 (LARSON, 1982).

RESULTADOS

A suplementação oferecida aos animais foi capaz de determinar um aumento significativo dos níveis séricos de vitamina E, ao se comparar os

valores de médias obtidos antes e após a introdução do suplemento vitamínico na dieta no GT ($11,13 \pm 2,00$ e $14,72 \pm 2,24$ $\mu\text{mol/L}$) (Tabela 1).

TABELA 1. Concentração sérica de vitamina E ($\mu\text{mol/L}$) de equinos da raça Brasileiro de Hipismo, no grupo-teste (GT) e grupo-controle (GC), antes e após o período de suplementação. Resultados expressos pela média \pm desvio-padrão para todos os grupos (Salvador, 2008)

	GC	GT
Antes da suplementação	$11,56^a \pm 2,57$	$11,13^a \pm 2,00$
Após a suplementação	$11,98^a \pm 3,09$	$14,72^b \pm 2,24$

Para letras diferentes em linha, $p < 0,05$. Para letras diferentes em coluna, $p < 0,05$.

As Tabelas 2 e 3 mostram os resultados do eritrograma, proteínas plasmáticas totais PPT e fibrinogênio. O número de hemácias, o volume globular e a concentração de hemoglobina foram maiores e estatisticamente significativos ($p < 0,05$) imediatamente após o exercício (T_0) nos dois grupos, refletindo também sobre os valores dos índices hematimétricos volume globular médio (VGM) e hemoglobina globular média (HGM).

Nas Tabelas 4 e 5, apresentam-se os resultados do leucograma, demonstrando que o exercício causou efeito sobre o número de leucócitos totais no GC, uma vez que houve aumento significativo no T_R ($8,89 \pm 1,61 \times 10^3/\mu\text{L}$) em relação ao T_0 ($11,38 \pm 1,33 \times 10^3/\mu\text{L}$). No GT, houve um aumento de pequena magnitude, que não foi estatisticamente significativo.

TABELA 2. Número de hemácias (He) ($\times 10^6/\mu\text{L}$), volume globular (VG) (%) e concentração hemoglobina (g/dL) obtidos de equinos submetidos à prova de hipismo clássico da raça Brasileiro de Hipismo, no grupo-teste (GT) e grupo-controle (GC), antes e nos diferentes tempos pós-exercício. Resultados expressos pela média \pm desvio-padrão para todos os grupos (Salvador, 2008)

	Grupo	He ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	VG (%)	Hb (g/dL)
T_R	GC	$7,62^a \pm 1,31$	$31,30^a \pm 2,26$	$11,50^a \pm 0,94$
	GT	$7,62^a \pm 1,03$	$30,50^a \pm 2,80$	$11,60^a \pm 1,00$
T_0	GC	$10,48^b \pm 1,90$	$40,00^b \pm 4,02$	$14,10^b \pm 0,85$
	GT	$11,68^b \pm 1,06$	$38,60^b \pm 5,45$	$15,20^b \pm 1,50$
T_6	GC	$8,21^c \pm 0,92$	$34,20^c \pm 2,34$	$13,25^b \pm 1,04$
	GT	$7,87^a \pm 0,95$	$33,80^c \pm 1,68$	$12,60^a \pm 1,00$
T_{12}	GC	$8,62^{c,A} \pm 1,16$	$34,90^c \pm 3,63$	$13,18^b \pm 1,48$
	GT	$7,56^{a,B} \pm 0,87$	$33,30^c \pm 1,40$	$12,63^c \pm 0,75$
T_{24}	GC	$7,55^a \pm 1,23$	$31,50^a \pm 2,41$	$11,53^a \pm 0,58$
	GT	$7,47^a \pm 0,92$	$30,60^a \pm 2,90$	$11,65^a \pm 0,90$

Para letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$, comparando valores de um mesmo grupo em diferentes momentos. Para letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$ comparando GT com GC dentro de um mesmo momento.

O número absoluto de neutrófilos obtidos no GC aumentou significativamente ($p < 0,05$) imediatamente após o exercício (T_0), retornando aos valores de repouso no T_6 . No GT, esse aumento ao longo do tempo foi de baixa magnitude e, portanto, sem diferenças estatisticamente significativas.

A Tabela 6 traz os resultados das análises bioquímicas (CK, AST e LDH) e TBARS no GC e no GT, evidenciando-se a influência do exercício sobre as atividades das enzimas marcadoras de

lesão músculo-esquelética (CK, AST e LDH), bem como sobre o índice de peroxidação de biomoléculas, avaliado pelo teor de substâncias reativas do TBARS em membranas das hemácias, sendo estes estatisticamente significantes ($p < 0,05$). Os valores de médias obtidos para todos esses parâmetros avaliados após a realização do exercício (T_0) foram significativamente maiores do que os da fase de repouso (T_R) em ambos os grupos, com exceção da LDH.

TABELA 3. Proteínas plasmáticas totais (PPT) (g/dL), fibrinogênio (mg/dL), volume globular médio (VGM) (fL), hemoglobina globular média (HGM) (pg) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM) (%) obtidos de equinos submetidos à prova de hipismo clássico da raça Brasileiro de Hipismo, no grupo-teste (GT) e grupo-controle (GC), antes e nos diferentes tempos pós-exercício. Resultados expressos pela média \pm desvio-padrão para todos os grupos (Salvador, 2008)

	Grupo	VGM (fL)	HGM (pg)	CHGM (%)	PPT (g/dL)	Fb (mg/dL)
T_R	GC	41,75 ^a \pm 4,70	15,35 ^a \pm 2,02	36,77 ^a \pm 2,62	7,00 ^{a,A} \pm 0,23	250,0 ^a \pm 97,18
	GT	40,40 ^a \pm 4,77	15,37 ^a \pm 1,80	38,15 ^a \pm 3,15	7,33 ^{a,B} \pm 0,22	310,0 ^a \pm 145,0
T_0	GC	39,21 ^a \pm 8,05	13,75 ^a \pm 2,22	35,60 ^{a,A} \pm 4,68	7,40 ^b \pm 0,34	350,0 ^a \pm 84,98
	GT	33,20 ^b \pm 4,89	13,07 ^b \pm 1,48	39,9 ^{a,B} \pm 5,60	7,63 ^b \pm 0,30	400,0 ^a \pm 163,3
T_6	GC	42,00 ^a \pm 4,65	16,35 ^a \pm 2,38	38,80 ^a \pm 2,43	7,44 ^b \pm 0,25	340,0 ^a \pm 142,9
	GT	43,42 ^a \pm 5,30	16,26 ^a \pm 2,85	37,25 ^a \pm 2,75	7,55 ^b \pm 0,25	330,0 ^a \pm 141,8
T_{12}	GC	40,85 ^a \pm 4,95	15,40 ^a \pm 1,50	38,00 ^a \pm 4,37	7,19 ^{b,A} \pm 0,31	300,0 ^a \pm 81,65
	GT	44,45 ^c \pm 4,24	16,90 ^a \pm 2,20	37,95 ^a \pm 1,83	7,50 ^{a,B} \pm 0,31	350,0 ^a \pm 85,00
T_{24}	GC	42,41 ^a \pm 5,70	15,57 ^a \pm 2,50	36,85 ^a \pm 4,20	7,08 ^a \pm 0,26	250,0 ^a \pm 70,71
	GT	41,30 ^a \pm 4,75	15,70 ^b \pm 1,56	38,10 ^a \pm 3,11	7,32 ^a \pm 0,26	310,0 ^a \pm 87,55

Para letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$, comparando valores de um mesmo grupo em diversos momentos. Para letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$ comparando GT com GC dentro de um mesmo momento.

TABELA 4. Leucograma de equinos da raça Brasileiro de Hipismo, no grupo-teste (GT) e grupo-controle (GC), antes e nos diferentes tempos pós-exercício de hipismo clássico, distribuídos segundo os valores absolutos (células $\times 10^3/\mu\text{L}$). Resultados expressos pela média \pm desvio-padrão para todos os grupos (Salvador, 2008)

	Grupo	LT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Seg ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Linf ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Mon ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Eos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Bas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)
T_R	GC	8,89 ^a \pm 1,61	5,62 ^a \pm 1,4	2,85 ^a \pm 0,85	0,14 ^a \pm 0,06	0,23 ^a \pm 0,11	0,04 ^a \pm 0,06
	GT	9,61 ^a \pm 1,24	6,30 ^a \pm 0,8	3,05 ^a \pm 0,86	0,15 ^a \pm 0,05	0,18 ^a \pm 0,13	0,01 ^a \pm 0,03
T_0	GC	11,38 ^b \pm 1,33	7,06 ^b \pm 1,1	3,90 ^b \pm 0,63	0,20 ^a \pm 0,08	0,20 ^a \pm 0,12	0,01 ^a \pm 0,04
	GT	10,93 ^a \pm 2,85	6,70 ^a \pm 1,4	3,80 ^b \pm 1,46	0,14 ^a \pm 0,11	0,22 ^a \pm 0,20	0,05 ^a \pm 0,09
T_6	GC	9,57 ^a \pm 0,80	6,10 ^a \pm 0,8	3,04 ^a \pm 0,57	0,19 ^a \pm 0,08	0,20 ^a \pm 0,14	0,02 ^a \pm 0,04
	GT	9,77 ^a \pm 2,17	6,17 ^a \pm 1,5	3,16 ^a \pm 1,03	0,16 ^a \pm 0,09	0,20 ^a \pm 0,13	0,05 ^a \pm 0,06
T_{12}	GC	10,13 ^a \pm 1,23	6,15 ^a \pm 0,8	3,52 ^b \pm 0,94	0,21 ^a \pm 0,11	0,21 ^a \pm 0,13	0,02 ^a \pm 0,04
	GT	9,94 ^a \pm 2,12	5,83 ^a \pm 1,1	3,56 ^a \pm 0,84	0,20 ^a \pm 0,09	0,26 ^a \pm 0,20	0,01 ^a \pm 0,04
T_{24}	GC	8,95 ^a \pm 1,57	5,67 ^a \pm 1,2	2,82 ^a \pm 0,70	0,16 ^a \pm 0,07	0,22 ^a \pm 0,10	0,05 ^a \pm 0,07
	GT	9,55 ^a \pm 1,10	6,26 ^a \pm 0,6	2,95 ^a \pm 0,73	0,15 ^a \pm 0,09	0,22 ^a \pm 0,13	0,01 ^a \pm 0,03

Para letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$, comparando valores de um mesmo grupo em diversos momentos. Para letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$ comparando GT com GC dentro de um mesmo momento.

A atividade da CK não apresentou diferenças ($p > 0,05$) entre os grupos como também na avaliação do efeito do tempo dentro de cada grupo ao se avaliar a influência da suplementação da dieta de vitamina E e selênio. No entanto, na avaliação da AST, o valor das médias entre os grupos, seis horas após a realização do exercício, foi estatisticamente diferente ($p < 0,05$), em que o GC ainda apresentava a influência do exercício, enquanto o GT já havia retornado ao valor basal, caracterizando, assim, o efeito da suplementação na dieta dos animais.

Na avaliação do TBARS, apesar das diferenças entre os grupos após o exercício, em que o GC obteve valores numericamente menores na maior parte dos tempos testados, elas não foram estatisticamente significativas. Observa-se também que o retorno aos valores basais para ambos os grupos ocorreram 24 horas após a realização do exercício, demonstrando que a suplementação adicionada à dieta dos animais não apresentou influências que possam ser detectadas pelo TBARS.

TABELA 5. Leucograma de equinos da raça Brasileiro de Hipismo, no grupo-teste (GT) e grupo-controle (GC), antes e nos diferentes tempos pós-exercício de hipismo clássico, distribuídos segundo os valores relativos (%). Resultados expressos pela média \pm desvio-padrão (Salvador, 2008)

	Grupo	Seg (%)	Linf (%)	Mon (%)	Eos (%)	Bas (%)
T _R	GC	62,80 ^a \pm 9,10	32,30 ^a \pm 8,28	1,70 ^a \pm 0,82	2,60 ^a \pm 1,20	0,60 ^a \pm 0,84
	GT	65,70 ^a \pm 5,70	31,30 ^a \pm 5,40	1,50 ^a \pm 0,52	2,00 ^a \pm 1,33	0,10 ^a \pm 0,31
T ₀	GC	61,90 ^a \pm 5,20	34,40 ^a \pm 4,70	1,80 ^a \pm 0,63	1,70 ^a \pm 1,05	0,20 ^a \pm 0,42
	GT	62,00 ^a \pm 6,60	34,00 ^a \pm 6,34	1,30 ^a \pm 0,82	2,10 ^a \pm 2,07	0,50 ^a \pm 0,97
T ₆	GC	63,70 ^a \pm 6,55	32,00 ^a \pm 5,95	2,00 ^a \pm 0,80	2,10 ^a \pm 1,37	0,30 ^a \pm 0,48
	GT	63,20 ^a \pm 7,17	32,20 ^a \pm 6,80	1,60 ^a \pm 0,84	2,20 ^a \pm 1,55	0,70 ^a \pm 0,82
T ₁₂	GC	61,00 ^a \pm 7,70	34,50 ^a \pm 6,95	2,10 ^a \pm 1,00	2,10 ^a \pm 1,20	0,30 ^a \pm 0,48
	GT	58,90 ^b \pm 2,95	35,70 ^a \pm 3,26	2,00 ^a \pm 0,81	2,60 ^a \pm 1,65	0,10 ^a \pm 0,31
T ₂₄	GC	63,20 ^a \pm 6,45	31,80 ^a \pm 5,85	1,90 ^a \pm 0,87	2,50 ^a \pm 1,27	0,60 ^a \pm 0,84
	GT	65,70 ^a \pm 4,95	30,60 ^a \pm 4,75	1,60 ^a \pm 0,96	2,20 ^a \pm 1,23	0,10 ^a \pm 0,31

Para letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$, comparando valores de um mesmo grupo em diversos momentos. Para letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$ comparando GT com GC dentro de um mesmo momento.

TABELA 6. Dados sobre a atividade das enzimas creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) em UI/L e dos níveis de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) em membrana de hemácias, expressos em nM/mg de proteína, de equinos da raça Brasileiro de Hipismo, no grupo-teste (GT) e grupo-controle (GC), antes e nos diferentes tempos pós-exercício de hipismo clássico. Os resultados estão expressos pela média \pm desvio-padrão para todos os grupos (Salvador, 2008)

	Grupo	CK (UI/L)	AST (UI/L)	LDH (UI/L)	TBARS (nM/mg de ptn)
T _R	GC	29,21 ^a \pm 15,50	35,66 ^a \pm 6,38	234,69 ^a \pm 87,48	117,30 ^a \pm 66,27
	GT	28,84 ^a \pm 21,82	40,73 ^a \pm 5,97	241,36 ^a \pm 51,00	83,97 ^a \pm 29,21
T ₀	GC	126,96 ^b \pm 42,22	45,93 ^b \pm 3,14	265,53 ^a \pm 49,96	197,43 ^b \pm 81,12
	GT	98,31 ^b \pm 36,57	46,07 ^b \pm 6,76	261,88 ^a \pm 84,25	154,4 ^b \pm 47,34
T ₆	GC	112,63 ^b \pm 48,77	47,52 ^{b,A} \pm 4,53	293,39 ^a \pm 87,95	119,23 ^a \pm 49,11
	GT	92,12 ^b \pm 31,71	41,60 ^{a,B} \pm 4,53	266,84 ^a \pm 63,76	129,5 ^b \pm 46,50
T ₁₂	GC	34,60 ^a \pm 19,62	39,25 ^a \pm 3,45	205,79 ^a \pm 51,32	139,10 ^a \pm 54,89
	GT	46,01 ^a \pm 26,50	37,50 ^a \pm 5,23	234,21 ^a \pm 43,67	123,10 ^b \pm 38,19
T ₂₄	GC	27,78 ^a \pm 19,09	34,74 ^a \pm 6,91	229,13 ^a \pm 59,68	108,97 ^a \pm 34,32
	GT	24,94 ^a \pm 17,39	38,85 ^a \pm 6,77	215,65 ^a \pm 57,17	83,97 ^a \pm 14,31

Para letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$, comparando valores de um mesmo grupo em diversos momentos. Para letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$ comparando GT com GC dentro de um mesmo momento.

DISCUSSÃO

A concentração de vitamina E observada nos animais deste experimento, tanto do GT como do GC, antes da suplementação, foi numericamente maior do que os resultados reportados em outras pesquisas, em equinos hígidos, sem a adição de suplemento à dieta (AVELLINI et al, 1999; MOFFARTS et al., 2005; SILVEIRA, 2005; MACHADO, 2006).

Trata-se de fato que pode ser justificado pelo tipo de dieta, rotineiramente utilizado em animais que praticam o hipismo e se encontram em período de treinamento, a qual é rica em nutrientes e tendo a vitamina E em sua composição (SICILIANO, 2004). A técnica utilizada neste experimento para dosar esta substância, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), foi a mesma empregada nos estudos citados anteriormente.

Além disso, o aumento da concentração sérica de α -tocoferol após a suplementação significou que houve absorção desse nutriente pelo organismo. Esse resultado está de acordo com os reportados por SICILIANO et al. (1997), quando observaram aumento dessa substância no plasma de cavalos suplementados, em comparação ao grupo de animais não suplementados. Porém, de acordo com PETERSSON et al. (1991), os níveis plasmáticos dessa substância não refletem seus teores na musculatura.

A influência do exercício sobre o eritrograma, caracterizado pelo aumento significativo do número total de hemácias e da concentração de hemoglobina, tanto no GT como no GC, foi observada em outros experimentos (GARCIA et al., 1999; DOMINGUES JR., 2004; SILVEIRA, 2005; MACHADO, 2006). Os valores das médias para o número de hemácias no T_{12} entre os dois grupos demonstraram que o GT obteve menor valor ($7,56 \pm 0,87 \times 10^6/\mu\text{L}$) que o GC ($8,62 \pm 1,16 \times 10^6/\mu\text{L}$), sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), demonstrando o efeito da suplementação com vitamina E nesse grupo. Além disso, avaliando-se o efeito do tempo em cada grupo no GT, foi notada uma diminuição gradativa do número de hemácias e o retorno ao valor basal seis horas após o exercício (T_6). Já no GC,

esse retorno ocorreu somente 24 horas após (T_{24}), fato semelhante também observado na dinâmica da concentração de hemoglobina. Nos esfregaços sanguíneos confeccionados, não foram encontradas alterações morfológicas das hemácias.

A análise do efeito do tempo após o exercício em cada grupo, em que no GT houve retorno mais precoce aos valores basais (T_6) do que no GC (T_{24}), além da diferença verificada entre os grupos no T_{12} , quanto ao número de hemácias, a concentração de hemoglobina, bem como as PPT, caracterizou a influência da suplementação sobre a dinâmica eritrocitária.

Na análise dos resultados das proteínas plasmáticas totais (PPT), observa-se a influência do exercício nos dois grupos, caracterizada pelas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nos valores de médias obtidos antes (T_R) e após (T_0) o exercício. Com relação ao efeito do tempo em cada grupo, o GT retornou ao valor basal doze horas após a realização do exercício (T_{12}), enquanto que no GC este retorno só ocorreu 24 horas (T_{24}) após a realização do exercício, indicando a influência da suplementação com o α -tocoferol e selênio na dieta. Com relação ao fibrinogênio, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, assim como em relação ao tempo dentro de cada grupo avaliado.

A dinâmica desses parâmetros não foi observada em estudo que utilizou cavalos da raça Árabe, suplementados com vitamina E, submetidos a exercícios em esteira progressiva (MACHADO, 2006). Entretanto, em atletas humanos, o grupo de indivíduos não suplementados, um dos efeitos imediatos que o exercício físico produziu, incluíram: aumento da contagem de eritrócitos; alterações na viscosidade sanguínea, na composição plasmática e nas propriedades mecânicas dos eritrócitos; uma hemodinâmica deletéria para a perfusão sanguínea e compatível com desenvolvimento de estresse oxidativo. Entretanto, no grupo de indivíduos suplementados com antioxidantes, essas alterações não foram observadas (SENTÜRK et al., 2005).

O eritrócito equino, quando comparado ao eritrócito humano, é mais sensível à injúria oxidativa, e essa característica pode ter importância na perfusão sanguínea tecidual e na adaptação cardio-

vascular de cavalos. Dessa forma, o aumento do número de eritrócitos, ainda que moderado, tem relevância nas alterações fisiológicas e fisiopatológicas associadas ao estresse oxidativo (BASKURT & MEISELMAN, 1999). Segundo MOFFARTS et al. (2007), as ERO alteram as propriedades estruturais das membranas celulares de eritrócitos, levando, assim, a uma redução da “capacidade deslizante” das hemácias de cavalos.

As alterações da dinâmica do número de hemácias e da concentração de hemoglobina influíram sobre os índices hematimétricos, quando no GT houve diminuição significativa do VGM e HGM logo após o exercício, e diferenças significativas entre os valores de concentração de hemoglobina globular média (CHGM) entre o GT e GC no mesmo momento em que os animais suplementados apresentaram maiores valores para esse índice. Valor mais alto de VGM e valor mais baixo de CHGM no GC podem ser explicados pela dinâmica de maior taxa de remoção e reposição de eritrócitos. Isso porque as células mais jovens são maiores e possuem menor concentração de hemoglobina, já que a vitamina E pode apresentar efeito protetor sobre a estabilidade das membranas, levando, assim, à manutenção de hemácias maduras, portanto, menores quanto ao diâmetro e com maior CHGM no GT (MACHADO, 2006). Entretanto, de acordo com BALARIN et al. (2006), o VGM é um método limitado para a avaliação morfológica das hemácias em equinos, dada a sua subjetividade.

O aumento das PPT logo após o exercício relaciona-se com a hemoconcentração, devido à diminuição do volume plasmático (JAIN, 1986), além de o exercício ser o responsável pelo trânsito de líquidos do espaço extracelular para o intracelular (HODGSON & ROSE, 1994).

Em relação ao leucograma, no presente estudo houve aumento significativo do número total de leucócitos, acompanhado do aumento do número absoluto de neutrófilos segmentados no GC, logo após o término do exercício, com retorno aos valores de repouso no momento T₆. Entretanto, essa dinâmica não foi observada no GT, mesmo havendo aumento nos valores numéricos da contagem total dessa célula. Trata-se de cinética que

está de acordo com os resultados reportados em outros experimentos (SNOW, 1983; KORHONEN et al., 2000) e se contrapõem aos experimentos realizados em cavalos da raça Árabe, submetidos ao exercício progressivo em esteira (MACHADO, 2006), quando animais suplementados e não suplementados atingiram os valores basais após 24 horas, além de não haver diferenças também entre os valores de média desses parâmetros hematológicos. Já é conhecido que o estresse oxidativo, oriundo do exercício, pode estar ligado às alterações hematológicas pelo aumento da atividade peroxidativa dos neutrófilos (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). Além disso, o exercício induz aumentos transitórios das catecolaminas plasmáticas e do cortisol, que levam à mobilização dos linfócitos do baço e também estimulam a demarginação dos neutrófilos (SENTÜRK et al., 2005).

Diante dos resultados obtidos para a dinâmica leucocitária no GT e as considerações supracitadas, possivelmente a suplementação antioxidante oferecida aos animais do GT foi capaz de prevenir alguns mecanismos de resposta propostos para ativação leucocitária oriunda do exercício. A vitamina E é uma molécula com propriedades estabilizantes de membranas celulares e tem função mediadora da resposta imune e inflamatória (CHEW, 1996; HINTZ, 2000).

O α -tocoferol leva à diminuição da produção de prostaglandinas, podendo atuar como mensageiro intracelular e como um transdutor capaz de informar à célula de sua situação oxidativa (FERNÁNDEZ et al., 2002). Ainda assim, essa análise deve ser interpretada com cautela, uma vez, que neste experimento, as diferenças estatisticamente significativas foram observadas apenas com relação ao efeito do tempo dentro do GC.

O exercício determinou aumento de atividade sérica de CK e da AST em ambos os grupos, possivelmente pelo mecanismo de aumento da permeabilidade das paredes celulares em função do exercício (SICILIANO et al., 1997). A CK é a enzima mais sensível para indicação de lesão muscular aguda (KANEKO et al., 1997). Aumento fisiológico da atividade da CK, possivelmente, ocorre em razão da hipóxia, além de outros fatores (HARRIS & MAYHEW, 1998).

A resposta de atividade sérica de CK foi anteriormente observada em cavalos de salto (LEKEUX et al., 1991); no entanto, a suplementação com vitamina E e selênio não produziu efeito sobre a atividade dessa enzima. Resultado semelhante foi obtido em outros experimentos utilizando equinos de outras atividades esportivas (SICILIANO et al., 1997; CHIARADIA et al., 1998; KINNUNEN et al., 2005), assim como em experimento que utilizou como antioxidante o ascorbato (WHITE et al., 2001), além de pesquisas realizadas no Brasil, em cavalos da raça Árabe, submetidos a exercício em esteira progressiva (MACHADO, 2006).

Na avaliação da AST, o valor das médias entre os grupos, seis horas após a realização do exercício, foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), em que o GC ainda apresentava a influência do exercício, enquanto o GT já havia retornado ao valor basal, caracterizando, assim, o efeito da suplementação na dieta dos animais. Essa afirmação precisa ser interpretada com cautela, uma vez que a AST não é uma enzima marcadora específica da musculatura esquelética.

Não foi possível observar influência do exercício sobre a atividade sérica da LDH em nenhum dos grupos estudados.

O aumento da concentração de TBARS após o exercício em ambos os grupos foi anteriormente observado em equinos submetidos a exercício em diferentes modalidades de esforço (AVELLINI et al., 1999; WHITE et al., 2001; SILVEIRA, 2005; MACHADO, 2006; MUÑOZ-ESCASSI et al., 2006). Entretanto, a suplementação com a vitamina E não apresentou influências que possam ser atribuídas à sua ação antioxidativa, durante o período de avaliação deste experimento. O exercício é capaz de gerar radicais livres e peroxidação lipídica, bem como depende da intensidade da atividade de modo que a eliminação dos produtos da peroxidação lipídica é um processo lento (CHIARADIA et al., 1998).

Os resultados obtidos nesta pesquisa foram semelhantes aos de outras que não encontraram efeitos da suplementação de vitamina E sobre a concentração de TBARS em cavalos submetidos a diferentes tipos de exercício (McMENIMAN

& HINTZ, 1992; CHIARADIA et al., 1998; HARGREAVES et al., 2002; MARLIN et al., 2002; BERGERO et al., 2004; WILLIAMS et al., 2004a).

No entanto, outras pesquisas conseguiram demonstrar efeito antioxidante da suplementação com vitamina E caracterizada por níveis significativamente menores de TBARS e MDA (AVELLINI et al., 1999; MOFFARTS et al., 2005; MACHADO, 2006), e além de outros marcadores de estresse oxidativo (WILLIAMS et al., 2004b). Em outros experimentos, a utilização de outros antioxidantes preveniu o estabelecimento do estresse oxidativo (MILLS et al., 1997; WHITE et al., 2001; TROMBETTA & FALASCHINI, 2003).

MARLIN et al. (2002) observaram aumento significativo da concentração de TBARS no plasma logo após, e até dezesseis horas da realização do exercício. Os níveis de vitamina E se mostraram inalterados, enquanto a atividade de CK e AST aumentou após o exercício. Apesar disso, para esses autores, tais achados não foram suficientes para demonstrar o estresse oxidativo, uma vez que os antioxidantes e os marcadores bioquímicos de estresse oxidativo da circulação podem não refletir o estado muscular, que é o local de maior produção de EROs durante o exercício.

WILLIAMS & CARLUCCI (2006) não observaram efeito de suplementação com vitamina E sobre marcadores de estresse oxidativo em cavalos submetidos a exercícios intensos e afirmaram que a suplementação de vitamina E acima dos níveis recomendados não parece ser benéfica para o controle do estresse oxidativo e do balanço oxidativo, em cavalos submetidos a exercícios intensos.

CONCLUSÕES

Os parâmetros hematológicos, os marcadores bioquímicos de lesão muscular, assim como os níveis de TBARS na membrana de hemácias se mostraram ferramentas úteis na avaliação do efeito do exercício sobre a homeostase de cavalos de hipismo, submetidos ao exercício de salto. Os dados de dinâmica eritrocitária, leucocitária e de PPT se mostraram mais sensíveis para demonstração da influência da suplementação antioxidante sobre a

resposta ao exercício do que os marcadores de lesão muscular e de estresse oxidativo utilizados.

Apesar de terem sido observadas diferenças na dinâmica de alguns parâmetros hematológicos entre os grupos, não foi possível determinar atividade antioxidante no GT no delineamento experimental utilizado, o que demonstra a necessidade de mais estudos para o entendimento do estresse oxidativo em cavalos atletas e a suplementação com antioxidantes na dieta desses animais.

REFERÊNCIAS

- ARNAUD, J.; FORTIS, I.; BLACHIER, D.; FAVIER, D. Simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and β -carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, Amsterdam, v. 572, p. 103-116, 1991.
- AVELLINI, L.; CHIARADIA, E.; GAITI, A. Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology**, Vancouver, v. 123, n. 2, p. 147-154, 1999.
- BALARIN, M. R. S.; LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; LAPOSY, C. B.; FONTEQUE, J. H. Valores da amplitude de distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW) em equinos Puro Sangue Inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 637-641, 2006.
- BASKURT, O. K.; MEISELMAN, H. J. Susceptibility of equine erythrocytes to oxidant-induced rheologic alterations. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 60, n. 10, p. 1301-1306, 1999.
- BERGERO, D.; MIRAGLIA, N.; SCHIAVONE, A.; POLIDORI, M.; PROLA, L. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids and Vitamin E on serum oxidative status in horses performing very light exercise. **Italian Journal of Animal Science**, Reggio Emilia, v. 3, p. 141-145, 2004.
- CHEW, B. P. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 59, p. 103-114, 1996.
- CHIARADIA E.; AVELLINI L.; RUECAF.; SPATERNA A.; PORCIELLO F.; ANTONIONI M.T.; GAITI A. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology**, Vancouver, v. 119, n. 4, p. 833-836, 1998.
- DOMINGUES JR., M.; TOLEDO, P. S.; MANGONE, M.; MICHIMA, L. E. S.; FERNANDES, W. R. Avaliação das alterações hematológicas em cavalos da raça PSI submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 24, p. 41-44, 2004.
- ESTEBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products. Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, New York, v. 186, n. 42, p. 407-421, 1990.
- FERNANDEZ, C. F.; FEBLES, C. S.; BERNABEU, A. S.; TRIANA, B. E. G. Funciones de la vitamina E: actualización. **Revista Cubana de Estomatología**, Ciudad de La Habana, v. 40, n. 1, p. 28-32, 2002.
- GARCIA, M.; GUZMAN, R.; CABEZAS, I.; MERINO, V.; PALMA, C.; PEREZ, R. Evaluación del entrenamiento tradicional del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguíneas. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, n. 31; v. 2, p. 212-228, 1999.
- HARGREAVES, B. J.; KRONFELD, D. S.; WALDRON, J. N.; LOPES, M. A.; GAY, L. S.; SAKER, K. E.; COOPER, W. L.; SKLAN, D. J.; HARRIS, P. A. Antioxidant status of horses during two 80-km endurance races. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 132, n. 6, p. 1781S-1783S, 2002.
- HARRIS, P. A.; MAYHEW, I. G. Musculoskeletal disease. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M. (Eds.). **Equine internal medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p. 371-426.
- HINTZ, H. F. Equine nutrition update. In: 46TH AAEP ANNUAL CONVENTION, 46., San Antonio. **Proceedings**... San Antonio, 2000, p. 62-79. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2000/contents.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2009.
- HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Hematology and biochemistry. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. (Eds.). **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. p. 63-78.
- JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1986. 1221 p.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993. 417 p.
- JI, L. L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. **Experimental Biology and Medicine**, Maywood, v. 222, p. 283-292, 1999.

- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.
- KINNUNEN, S.; ATALAY, M.; HYYPÄ, S.; LEHMUSKERO, A.; HÄNNINEN, O.; OKSALA, N. Effects of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horse. **Journal of Sports Science and Medicine**, Bursa, v. 4, n. 4, p. 415-421, 2005.
- KORHONEN, P. A. S.; LILIUS E. M.; HYYPPÄ, S.; RÄSÄNEN L. A.; PÖSÖ, A. R. Production of reactive oxygen species in neutrophils after repeated bouts of exercise in Standardbred trotters. **Journal of Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 47, n. 9, p. 565-573, 2000.
- LARSON, H. J. **Introduction to probability theory and statistical inference**. 3 ed. United States of America: Wiley, 1982. 656 p.
- LEKEUX, P.; ART, T.; LINDEN, A.; DESMECHT, D.; AMORY, H. Heart rate, hematological and serum biochemical responses to show jumping. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY, 3., 1991, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala, 1991. p. 385-390.
- MACHADO, L. P. **Eritrograma, glutationa reduzida e superóxido dismutase eritrocitários e meta-hemoglobina em eqüinos da raça Árabe submetidos a exercícios em esteira: efeito da suplementação com vitamina E (dL-alfatocoferol)**. 2006. 98 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.
- MARLIN, D. J.; FENN, K.; SMITH, N.; DEATON, C. D.; ROBERTS, C. A.; HARRIS, P. A.; DUNSTER, C.; KELLY, F. J. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 132, p. 1622S-1627S, 2002.
- McMENIMAN, N. P.; HINTZ, H. F. Effect of vitamin E status on lipid peroxidation in exercised horses. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 24, n. 6, p. 482-484, 1992.
- MILLS, P. C.; SMITH, N. C.; HARRIS, R. C.; HARRIS, P. Effect of allopurinol on the formation of reactive oxygen species during intense exercise in the horse. **Research in Veterinary Science**, London, v. 62, n. 1, p. 11-16, 1997.
- MIURA, T.; MURAOKA, S.; OGISO, T. Antioxidant activity of adrenergic agents derived from catechol. **Biochemical Pharmacology**, Kansas City, v. 55, n. 12, p. 2001-2006, 1998.
- MOFFARTS, B.; KIRSCHVINK, N.; ART, T.; PINCEMAIL, J.; MICHAUX, C.; CAYEUX, K.; DEFRAIGNE, J.; LEKEUX, P. Impact of training and exercise intensity on blood antioxidant markers in healthy standardbred horses. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, Cambridge, v. 1, n. 3, p. 211-220, 2004.
- MOFFARTS, B.; KIRSCHVINK, N.; ART, T.; PINCEMAIL, J.; LEKEUX, P. Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidants status in trained thoroughbred horses. **The Veterinary Journal**, London, v. 169, n. 1, p. 65-74, 2005.
- MOFFARTS, B.; PORTIER, K.; KIRSCHVINK, N.; COUDERT, J.; FELLMANN, N.; VAN ERCK, E.; LETELLIER, C.; MOTTA, C.; PINCEMAIL, J.; ART, T.; LEKEUX, P. Effects of exercise and oral antioxidant supplementation enriched in (n-3) fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membrane fluidity in horses. **The Veterinary Journal**, London, v. 174, n. 1, p. 113-121, 2007.
- MUÑOZ-ESCASSI, B.; MARAÑÓN, G.; MANLEY, W.; SÁNCHEZ DE LA MUELA, M.; RIBER, C.; CASTEJON, F.; LEÓN, R.; GARCIA, C.; VARA, E. Exercise-induced changes on lipid peroxides and antioxidant enzyme level changes in plasma of show jumping and dressage horses. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY, 7., 2006, Fontainebleau. **Proceedings...** Fontainebleau, 2006. p. 146.
- PETERSSON, K. H.; HINTZ, H. F.; SCHRYVER, H. F.; COMBS, G. F. The effect of vitamin E on membrane integrity during submaximal exercise. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY, 3., 1991, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala, 1991. p. 315-322.
- PORTIER, K.; MOFFARTS, B.; FELLMAN, N.; KIRSCHVINK, N.; MOTTA, C.; LETELLIER, W. C.; RUELLAND, A.; VAN ERCK, E.; LEKEUX, P.; COUDER, J. The effects of dietary N-3 and antioxidant supplementation on erythrocyte membrane fatty acid composition and fluidity in exercising horses. **Equine Veterinary Journal Supplement**, London, v. 36, p. 279-284, 2006.
- SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 303-313, 2004.
- SENTÜRK, U. K.; YALEIN, O.; GÜNDÜZ, F.; KURU, O.; MEISELMAN, H. J.; BASKURT, O. K. Effect of antioxidant vitamin treatment on the time course of hematological and hemorheological alterations after an exhausting exercise episode in human subjects. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 98, p. 1272-1279, 2005.

- SICILIANO, P. D.; PARKER, A. L.; LAWRENCE, L. M. Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1553-1560, 1997.
- SICILIANO, P. D. Vitamin E and immune function in horses. In: MID-ATLANTIC NUTRITION CONFERENCE, 2., 2004, Maryland. **Proceedings...** Maryland, 2004. p. 206-210.
- SILVA, I. A. C.; DIAS R. V. C.; SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em equinos de diferentes categorias de atividade. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 1, p. 250-252, 2007.
- SILVEIRA, V. F. **Malondialdeído, vitamina E, cortisol, hemograma e enzimas musculares em equinos da raça Árabe submetidos ao exercício em esteira de alta velocidade**. 2005. 92 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.
- SJÖDIN, B.; WESTING, Y. H.; APPLE, F. S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. **Sports Medicine**, Auckland, v. 10, n. 4, p. 236-254, 1990.
- SNOW, D. H. Physiological factors affecting resting haematology. In: SNOW, D. H.; PERSSON, S. G. B.; ROSE, R. J. (Eds.). **Equine exercise physiology**. Cambridge: Granta Editions, 1983. p. 318-323.
- TROMBETTA, M. F.; FALASCHINI, A. Influence of L-carnitine on fitness and oxidative stress parameters in trotter horses subjected to Laval's test. **Italian Journal of Animal Science**, Reggio Emilia, v. 2, p. 231-236, 2003.
- URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, Bethesda, v. 189, n. 1, p. 41-54, 2003.
- VÁZQUEZ, M. R.; EL-BACHÁ, R. S.; ORDÁS, C. A.; RIBEIRO, E. B.; VICENTE, J. G. V.; RODRIGUES, L. E. A. Dieta afro-bahiana, estrés oxidativo y ejercicio físico. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 6, p. 673-683, 2006.
- WHITE, A.; ESTRADA, M.; WALKER, K.; WISNIA, P.; FILGUEIRA, G.; VALDÉS, F.; ARANEDA, O.; BEHN, C.; MARTÍNEZ R. Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horses. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular e Integrative Physiology**, Vancouver, v. 128, n. 1, p. 99-104, 2001.
- WILLIAMS, C. A., KRONFELD D. S., HESS T. M., SAKER K. E., HARRIS P. A. Lipoic acid and vitamin E supplementation to horses diminishes endurance exercise induced oxidative stress, muscle enzyme leakage, and apoptosis. In: LINDNER, A. (Ed.). **The elite race and endurance horse**. Oslo: CESMAS, 2004b. p. 105-119.
- WILLIAMS, C. A.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. M.; SAKER, J. N.; WALDRON, J. N.; CRANDELL, K. M.; HOFFMAN, R. M.; HARRIS, P. A. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 588-594, 2004a.
- WILLIAMS, C. A.; CARLUCCI, S. A. Oral vitamin E supplementation on oxidative stress and antioxidant status in intensely exercised horses. **Equine Veterinary Journal Supplement**, London, v. 36, p. 617-621, 2006.

Protocolado em: 15 set. 2008. Aceito em: 1.º jul. 2009.