

INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO SOBRE O HEMOGRAMA, ENZIMAS MARCADORAS DE LESÃO MUSCULAR E ÍNDICE DE PEROXIDAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS EM EQUINOS SUBMETIDOS À ATIVIDADE DE SALTO.

DIAS, Domingos Cachineiro Rodrigues¹; ROCHA, Juliana da Silva²; MELLO, Fabiano Marques³; EL-BACHÁ, Ramon dos Santos⁴; AYRES, Maria Consuêlo Caribé^{5(*)}.

¹Mestrando do Curso de Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos, EMV - UFBA, Salvador / Bahia. E-mail: domingosdiasvet@hotmail.com

²Bolsista do Programa de Iniciação Científica, EMV - UFBA, Salvador / Bahia.

³Médico Veterinário Autônomo, Salvador / Bahia.

⁴Professor do Instituto de Ciências da Saúde, UFBA, Salvador / Bahia.

⁵Professora da Escola de Medicina Veterinária, UFBA, Salvador / Bahia. E-mail: ayres@ufba.br. Av. Ademar de Barros, 500 / Ondina – Salvador, 40170-110, BA – Brasil.

INTRODUÇÃO

A causa mais comum de resultados negativos em competições eqüestres é a injúria músculo-esquelética, estando esse fato relacionado com a queda do desempenho muscular (KINNUNEN et al., 2005). Para o monitoramento da higidez do tecido muscular e o controle de tais lesões, utiliza-se a avaliação da atividade de enzimas como a Creatina Quinase (CK), Aspartato Aminotransferase (AST) e a Lactato Desidrogenase (LDH).

A produção de radicais livres tem sido incriminada como componente causador de diversas enfermidades dos eqüinos, principalmente dos cavalos atletas. A indução de lesões teciduais, pela oxidação dos componentes celulares contribui para acelerar o processo de fadiga e lesão da fibra muscular, levando à intolerância ao exercício e queda de desempenho atlético (MOFFARTS et al., 2004).

O objeto desta pesquisa foi estudar o efeito do exercício sobre o quadro hematológico, a atividade de enzimas marcadoras de lesão muscular CK, AST e a LDH, além de avaliar a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), como marcador bioquímico de estresse oxidativo, em membranas de eritrócitos de cavalos atletas mantidos em hípica da Região Metropolitana de Salvador - BA.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 20 eqüinos clinicamente sadios com idade compreendida entre oito e 12 anos, da raça Brasileira de Hipismo (BH), com peso médio de 450 kg, mantidos sob regimes de treinamento para provas de hipismo clássico, em clube eqüestre do Município de Salvador. Todos os animais foram

submetidos a manejos sanitário e nutricional semelhantes, além de 90 dias em regime de treinamento físico e técnico para provas de hipismo.

Após o período de padronização, os animais foram submetidos ao exercício padronizado constituído por uma prova de Hipismo Clássico na categoria de 1,00 metro de altura. Os grupos experimentais foram formados colhendo-se as amostras de sangue com os animais ainda em repouso (T_R), imediatamente após término do exercício (T_0), e seis (T_6), 12 (T_{12}) e 24 (T_{24}) horas após a realização da prova hípica para avaliação do hemograma (BIRGEL, 1982), proteínas plasmáticas totais, fibrinogênio sérico, a atividade de enzimas como marcadores bioquímicos de lesão muscular (AST, CK e LDH), além do índice de peroxidação de biomoléculas, através da produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (ESTERBAUER E CHEESEMAN, 1990). Dados comparados que apresentaram valores de $p < 0,05$ foram considerados significativamente diferentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão apresentados nas tabelas de 1 a 3.

Tabela 1. Características estatísticas do eritrograma, proteínas plasmáticas totais (PPT) e concentração sérica de fibrinogênio (Fb) de eqüinos submetidos à prova de Hipismo Clássico da raça Brasileiro de Hipismo, antes e nos diferentes tempos pós-exercício. Salvador, 2008.

Constituintes do Eritrograma	T_R	T_0	T_6	T_{12}	T_{24}
He ($\times 10^6/\mu L$)	7,36 \pm 1,09 7,52; 6,85; 8,00	9,65 ^a \pm 1,59 9,32; 8,84; 10,40	8,50 ^{ab} \pm 1,03 8,44; 7,57; 9,00	7,78 ^b \pm 0,77 7,90; 6,95; 8,28	7,37 ^b \pm 0,80 7,54; 6,83; 7,78
VG (%)	32,15 \pm 3,74 32,00; 29,00; 34,50	43,25 ^a \pm 3,94 43,50; 40,50; 46,00	34,00 ^{ab} \pm 2,22 34,0; 32,50; 35,0	33,50 ^b \pm 2,54 34,00; 32,00; 34,50	32,00 ^b \pm 3,17 32,0; 29,00; 34,00
Hb (g/dL)	11,90 \pm 1,99 11,50; 10,80; 13,10	16,08 ^a \pm 1,80 16,70; 14,70; 17,20	13,20 ^{ab} \pm 1,45 13,1; 12,30; 14,2	12,7 ^b \pm 1,17 12,60 ^a ; 11,90; 13,70	11,73 ^b \pm 1,84 11,8; 10,80; 12,40
VGM (fL)	44,33 \pm 6,76 44,70; 38,60; 48,90	45,65 \pm 7,01 44,60; 42,00; 49,10	40,34 ^{ab} \pm 4,08 39,7; 37,20; 43,9	43,43 \pm 5,25 44,30; 38,70; 46,80	43,75 \pm 5,47 44,9; 38,80; 47,50
HGM (pg)	16,33 \pm 2,90 16,20; 14,50; 17,50	16,94 \pm 2,51 16,80; 16,00; 18,50	15,63 \pm 1,87 15,1; 14,20; 17,4	16,44 \pm 1,90 1,70; 15,30; 17,50	16,05 \pm 2,09 16,4; 14,90; 17,30
CHGM (%)	36,94 \pm 3,97 36,6; 34,5; 39,9	37,21 \pm 2,87 36,8; 35,9; 39,3	38,74 \pm 2,39 39,0; 37,1; 40,2	37,99 \pm 2,65 38,9; 36,8; 39,9	36,81 \pm 3,39 36,4; 34,7; 39,1
Fb (mg/dL)	395,0 \pm 114,6 400; 300; 500	610,0 ^a \pm 188,9 550; 500; 750	305,0 ^a \pm 119,1 300 ^b ; 200; 350	324,0 ^a \pm 98,6 325 ^b ; 250; 390	365,0 \pm 93,3 400 ^b ; 300; 400

PPT (g/dL)	6,95 ± 0,33 7,00; 6,80; 7,20	7,27 ^a ± 0,25 7,30; 7,00; 7,50	7,17 ^{ab} ± 0,29 7,15; 7,00; 7,25	6,81 ^b ± 0,36 6,80; 6,60; 7,00	6,98 ^b ± 0,27 7,00; 6,90; 7,20
------------	---------------------------------	--	---	--	--

^a em linha p < 0,05 comparado com T_R. ^b em linha p < 0,05 comparado com T₀.

Tabela 2. Características estatísticas do leucograma de eqüinos da raça Brasileiro de Hipismo, antes e nos diferentes tempos pós-exercício de Hipismo Clássico, distribuídos segundo os valores absolutos (células x 10³/μL) e relativos (%). Salvador, 2008.

Constituintes do Leucograma	T _R	T ₀	T ₆	T ₁₂	T ₂₄
LT (x 10 ³ /μL)	7,16 ± 1,15 6,90; 6,45; 7,73	8,95 ^a ± 1,20 8,80; 8,15; 9,55	8,31 ^a ± 1,49 8,07 ^b ; 7,20; 9,25	7,75 ^a ± 1,18 7,45 ^b ; 6,93; 8,15	7,16 ± 0,84 6,95 ^b ; 6,70; 7,53
Seg	4,54 ± 0,95 4,36; 3,88; 5,13	5,77 ^a ± 1,00 5,69; 5,00; 6,21	5,09 ^a ± 0,91 4,83 ^b ; 4,42; 5,42	4,49 ± 0,60 4,29 ^b ; 4,13; 4,66	4,61 ± 0,71 4,57 ^b ; 4,10; 5,05
Linf	2,29 ± 0,54 2,28; 1,79; 2,75	2,85 ^a ± 0,65 2,66; 2,51; 2,97	2,90 ^a ± 0,78 2,89; 2,43; 3,50	2,92 ^a ± 0,61 2,75; 2,56; 3,24	2,23 ± 0,35 2,25 ^b ; 1,96; 2,54
Mon	0,17 ± 0,07 0,15; 0,12; 0,23	0,16 ± 0,11 0,15; 0,08; 0,24	0,17 ± 0,09 0,15; 0,09; 0,22	0,15 ± 0,07 0,14; 0,08; 0,20	0,15 ± 0,06 0,14; 0,12; 0,19
Eos	0,14 ± 0,09 0,13; 0,07; 0,17	0,13 ± 0,08 0,13; 0,08; 0,19	0,13 ± 0,09 0,11; 0,07; 0,18	0,15 ± 0,08 0,14; 0,08; 0,20	0,15 ± 0,06 0,13; 0,12; 0,22
Bas	0,003 ± 0,015 0,00; 0,00; 0,00	0,008 ± 0,026 0,00; 0,00; 0,00	0,003 ± 0,013 0,00; 0,00; 0,00	0,008 ± 0,027 0,00; 0,00; 0,00	0,008 ± 0,025 0,00; 0,00; 0,00
Seg(%)	63,25 ± 6,80 63,0; 56,0; 70,5	64,55 ± 6,24 67,50; 58,5; 68,0	61,55 ± 6,09 59,5; 56,0; 65,0	58,25 ^{ab} ± 3,79 58,5; 55,5; 60,5	64,20 ± 4,49 65,5; 60,5; 68,0
Linf	32,20 ± 7,18 33,0; 25,5; 39,5	32,00 ± 5,67 30,05; 28,0; 35,0	34,65 ± 6,07 36,5; 30,5; 40,0	37,55 ^{ab} ± 3,83 38,0; 35,5; 40,0	31,45 ± 5,11 31,50; 27,0; 36,0
Mon	2,40 ± 0,99 2,00; 2,00; 3,00	1,80 ± 1,23 2,00; 1,00; 3,00	2,05 ± 0,99 2,00; 1,00; 3,00	2,00 ± 0,97 2,00; 1,00; 2,50	2,15 ± 0,81 2,00; 2,00; 3,00
Eos	1,95 ± 1,05 2,00; 1,00; 2,50	1,50 ± 0,94 1,50; 1,00; 2,00	1,65 ± 1,08 1,50; 1,00; 2,00	2,00 ± 0,97 2,00; 1,00; 3,00	2,20 ± 0,83 2,00; 2,00; 3,00
Bas	0,05 ± 0,22 0,00; 0,00; 0,00	0,10 ± 0,30 0,00; 0,00; 0,00	0,05 ± 0,22 0,00; 0,00; 0,00	0,10 ± 0,30 0,00; 0,00; 0,00	0,10 ± 0,30 0,00; 0,00; 0,00

^a em linha p < 0,05 comparado com T_R. ^b em linha p < 0,05 comparado com T₀.

Tabela 3. Características estatísticas dos marcadores bioquímicos, enzimas Creatina Quinase (CK), Aspartato Aminotransferase (AST), Lactato Desidrogenase (LDH) e dos níveis de Substâncias Reativas do Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em membrana de hemácias, de eqüinos da raça Brasileiro de Hipismo, antes e nos diferentes tempos pós exercício de Hipismo Clássico. Salvador, 2008.

Parâmetros	T _R	T ₀	T ₆	T ₁₂	T ₂₄
------------	----------------	----------------	----------------	-----------------	-----------------

Bioquímicos					
CK (U/L)	28,5 ± 15,49 24,0; 12,5; 39,2	124,0 ^a ± 45,6 131,1; 86,1; 155,0	42,9 ^a ± 20,0 38,2 ^b ; 28,6; 53,4	26,2 ± 8,5 25,3 ^b ; 21,0; 32,4	27,8 ± 13,1 30,0 ^b ; 12,0; 35,7
AST (U/L)	43,1 ± 10,1 39,0; 35,0; 48,9	63,6 ± 14,3 62,7 ^a ; 48,7; 75,9	46,6 ± 11,6 43,7 ^b ; 37,8; 54,7	43,3 ± 6,5 42,6 ^b ; 38,5; 45,3	38,1 ± 7,0 37,3 ^b ; 33,8; 41,5
LDH (U/L)	228,2 ± 100,3 205,7; 173,9; 291,1	265,0 ± 93,9 279,1; 201,0; 305,5	238,7 ± 74,1 276,6; 191,8; 301,9	227,8 ± 66,8 232,8; 189,4; 274,4	228,7 ± 63,5 239,4; 191,4; 277,1
TBARS (nM/mg ptn)	148,0 ± 114,7 118,6; 73,7; 185,9	543,2 ^a ± 311,7 525,6; 285,3; 756,4	416,9 ± 391,6 189,1 ^{ab} ; 109,0; 756,4	216,9 ± 157,6 153,8 ^b ; 118,6; 272,4	129,1 ± 81,7 125,0 ^b ; 64,1; 176,3

^a em linha p < 0,05 comparado com T_R. ^b em linha p < 0,05 comparado com T₀.

Os resultados dos parâmetros do hemograma dos eqüinos, obtidos nesta pesquisa, estão em concordância com os valores reportados na literatura para a espécie em estudo (HODGSON e ROSE, 1994; KRAMER, 2000). A influência do exercício sobre a contagem do número de hemácias (He), do volume globular (VG) e da concentração da hemoglobina (Hb), foi observada pelos valores de médias maiores e estatisticamente significantes ($p < 0,05$), imediatamente após a realização da prova hípica, quando comparados ao período de repouso, e corroboram com os resultados reportados em pesquisas anteriores, em animais treinados para outras modalidades de exercício (GARCIA et al., 1999; SILVEIRA, 2005), bem como o restabelecimento dos valores basais, ocorridos em até 24 horas após a realização do exercício. A dinâmica desses parâmetros do eritrograma fora também constatada em animais de outras raças submetidos à prova de salto (ART et al., 1990; LEKEUX et al., 1991). Isto pode se explicar pelo armazenamento das hemácias no baço durante o repouso e o aumento de catecolaminas ativadas em função do exercício (GOMÉZ et al., 2004). Os valores para as proteínas plasmáticas totais (PPT) na fase de repouso estão dentro do intervalo considerado normal para a espécie (KRAMER, 2000), onde o exercício foi capaz de aumentar de forma significativa os valores desses parâmetros já observado anteriormente (Carlson, 1987), e isto reflete o influxo de proteínas e alteração na distribuição do volume plasmático, através da saída de líquidos para o espaço extravascular, como resposta ao exercício, colaborando assim para a hemoconcentração (ART et al., 1990; LEKEUX et al.; 1991). O fibrinogênio plasmático apresentou valores de média durante o repouso dentro do limite proposto por e Kramer (2000). O aumento significativo desse valor após o exercício, seguido de diminuição no momento T₆, com retorno aos valores basais no T₁₂, estão discordantes com os resultados obtidos em animais que realizaram exercícios em esteira ergométrica (SILVEIRA, 2005).

A cinética do número total de leucócitos, com aumento do valor da média, de forma estatisticamente significativa ($p < 0,05$) após o exercício, e retorno ao valor de repouso no T₆, foram semelhantes aos mencionados por outros autores (KRAMER, 2000; HODGSON e ROSE, 1994).

A contagem total do número de leucócitos pode aumentar de 10 a 30% após o exercício máximo de curta duração, determinando influxo leucocitário oriundo da reserva esplênica e durante o exercício físico extenuante (KORHONEN et

al., 2000). Além disto, a resposta dos leucócitos ao exercício está relacionada ao aumento de corticóides plasmáticos (JAIN, 1993) e à ação de catecolaminas (TOLEDO et al., 2001; SILVEIRA, 2005). Houve após 12 horas do momento do exercício um aumento da proporção de linfócitos e diminuição da proporção de neutrófilos. Esses resultados estão de acordo com o observado anteriormente (HODGSON e ROSE, 1994).

O valor da média na fase de repouso da atividade da enzima CK foi semelhante aos obtidos por outros autores para o cavalo atleta (HARRIS e MAYHEW, 1998).

O valor da média da atividade de AST, em repouso, foi semelhante ao reportado por Silva et al. (2007). Quanto à atividade da LDH os resultados desta pesquisa estão em concordância com Toledo et al. (2001), em cavalos atletas submetidos a exercício de alta intensidade. A dinâmica da atividade sérica de enzimas musculares (CK e AST), ocorrida no presente estudo, foi observada anteriormente e corrobora a boa condição atlética dos animais utilizados, levando-se em conta o teste de resposta ao exercício sub-máximo (Harris e Mayhew, 1998), apesar do nível de CK pós-exercício ter ultrapassado o dobro do valor basal. Observou-se ainda que os níveis de AST no T₂₄ foram significativamente menores ($p < 0,05$) do que os encontrados no T₆ e T₁₂.

Os valores de TBARS obtidos, durante o momento do repouso, foram compatíveis com os encontrados por McMeniman e Hintz (1992), que observaram que cavalos estão normalmente expostos a um grau de peroxidação lipídica devido aos níveis de TBARS no plasma e na musculatura, também está em concordância com o reportado por Chiaradia et al. (1998) e Silveira (2005), que encontraram concentrações de TBARS plasmática em eqüinos durante o repouso. O aumento de TBARS após o exercício está de acordo com o observado por Avellini et al. (1999) que obtiveram aumento significativo de MDA plasmático em cavalos atletas após o exercício, concluindo ser devido à produção de radicais livres oriundos da atividade física. Além disso, White et al. (2001) demonstraram aumento significativo de TBARS no plasma após o exercício, e atribuiu que o aumento de MDA, na forma de TBARS pode ser em decorrência de lesões oxidativas pela produção de radicais livres oriundas do exercício. O aumento da TBARS foi observado no soro de cavalos atletas ao realizar exercício progressivo em esteira de alta velocidade (SILVEIRA, 2005; MACHADO, 2006).

CONCLUSÃO

O exercício a que os animais foram submetidos determinou a ocorrência de alterações dos constituintes do hemograma e da atividade das enzimas indicativa de lesão muscular (CK e AST), produzindo também um quadro de estresse oxidativo nas membranas eritrocitárias, traduzido pelo aumento dos níveis de TBARS. Esses resultados permitem concluir que o exercício de saltos produz ao longo dos anos alterações metabólicas clinicamente significativas, principalmente quando existe repetição das sessões de treinamento na rotina desses animais.

Além disto, os TBARS podem ser utilizadas como marcadores de estresse oxidativo em cavalos atletas. Os testes hematológicos, assim como as atividades das enzimas ligadas ao tecido muscular, se mostraram ferramentas

fundamentais no monitoramento dos efeitos causados pelo exercício, em cavalos de salto.

REFERÊNCIAS

ART, T.; AMORY, H.; DESMECHT, D.; LEKEUX, P. Effect of show jumping on heart rate, blood lactate and other plasma biochemical values. **Equine Veterinary Journal Supplement**, v. 9, p. 78 – 82, 1990.

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**, v. 123, p. 147 – 154, 1999.

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

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**, n. 31; v.2; p. 212 – 228, 1999.

GÓMEZ, C.; PETRÓN, P.; ANDAUR, M.; PÉREZ, R.; MATAMOROS, R. Medición post-ejercicio de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas em eqüinos de salto holsteiner. **Revista Científica**, v.14, n.3, p.244-253, 2004.

KINNUNEN, S.; HYYPPÄ, S.; LAPPALAINEN, J.; OKSALA, N.; VENOJÄRVI, M.; NAKAO, C.; HÄNNINEN, O.; SEN, C. K.; ATALAY M. Exercise-induced oxidative stress and muscle stress protein responses in trotters. **European Journal of Applied Physiology**, v. 93, n. 4, p. 496 – 501, 2005.

LEKEUX, P.; ART, T.; LINDEN, A.; DESMECHT, D.; AMORY, H. Heart rate, hematological and serum biochemical responses to show jumping. **Equine Exercise Physiology**, v. 3, p. 385-390, 1991.

McMENIMAN, N.P.; HINTZ, H.F. Effect of vitamin E status on lipid peroxidation in exercised horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 24, n. 6, p. 482 - 484, 1992.

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**, v. 1, n. 3, p. 211 – 220, 2004.

SILVA, I.A.C.; DIAS R.V.C.; SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em eqüinos de diferentes categorias de atividade. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.250-252, 2007.