

ENZIMAS MUSCULARES E ELETRÓLITOS EM EQÜINOS SUBMETIDOS A ESFORÇO FÍSICO PROLONGADO, SUPLEMENTADOS COM ACETATO DE TOCOFEROL E SELÊNIO

Kamila Souza Corrêa¹
Cláudio Roberto Scabelo Mattoso¹
Carlos Frederico Gitsio Klier Teixeira da Silva¹
Marina Santo Lagos¹
Regina Kiomi Takahira²
Raimundo Souza Lopes²

RESUMO

Determinações bioquímicas são ferramentas importantes no acompanhamento de diversas funções orgânicas e de anormalidades que podem provocar o baixo desempenho do cavalo atleta, sendo realizadas por um baixo custo, fornecem um guia simples e eficiente na avaliação do estado de saúde e da capacidade de performance dos eqüinos. O acetato de tocoferol (vitamina E) e o selênio são essenciais para várias funções do organismo como: crescimento, reprodução, funcionamento do sistema imune e manutenção da integridade dos tecidos. A deficiência desses nutrientes pode resultar em alteração e degeneração dos tecidos. Este trabalho caracterizou os valores das enzimas musculares AST, LDH e CK e dos eletrólitos sódio, potássio, cálcio e cloretos em eqüinos clinicamente sadios, submetidos ao esforço físico prolongado, antes e após a suplementação com vitamina E e selênio. Foram utilizados 10 eqüinos clinicamente sadios, sem distinção de raça e sexo e dentro da faixa etária de 96 a 192 meses. Destes animais foi colhido sangue, antes e após a participação em uma cavalgada de 32 Km. Posteriormente, estes eqüinos foram submetidos a um tratamento em que foi realizada uma aplicação semanal, durante 4 semanas, de 10 ml do suplemento contendo vitamina E e selênio em cada um dos animais. Após uma semana da última aplicação, os eqüinos foram submetidos ao mesmo esforço físico, com novas determinações bioquímicas antes e após o exercício. Foi possível observar menor aumento nas médias de LDH, cálcio e cloretos. A suplementação com vitamina E e selênio, aparentemente não minimizou o efeito de lesão muscular causada pelo exercício físico intenso.

Palavras-chave: enzimas musculares; eletrólitos; desempenho de eqüinos; acetato de tocoferol; selênio.

ELECTROLYTES AND MUSCLE ENZYMES IN TOCOPHEROL ACETATE AND SELENIUM SUPPLEMENTED HORSES SUBMITTED TO PROLONGED EXERCISE

ABSTRACT

Biochemical profiles are important tools to evaluate many organic functions and abnormalities that can cause poor performance in the athletic horse. They are performed by a

¹ Médicos Veterinários da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu. Distrito de Rubião Júnior.

Bolsa: PIBIC

² Professores da Área de Laboratório Clínico Veterinário do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu. Distrito de Rubião Júnior, s/n. 198618-000. souzalopes@fmvz.unesp.br

low cost; provide a simple and efficient guide for the evaluation of the health state and performance of the horses. Vitamin E (tocopherol acetate) and selenium are essentials to many organic functions such as growing, reproduction, immune function and the tissue integrity maintenance. These nutrient's deficiencies can cause alterations and degeneration in tissues. This paper has detected the values of the muscle enzymes AST, LDH and CK and of the electrolytes sodium, potassium, calcium and chloride in healthy horses submitted to prolonged exercise, before and after the supplementation with vitamin E and selenium. Blood samples were collected from 10 healthy horses, male and female, between 96 and 192 months of age, before and after a 32 km ride. Then, all horses were treated weekly, during four weeks, with 10mL of a supplement containing vitamin E and selenium for each animal. One week after the last treatment, horses were submitted to the same exercise, with new biochemical measurements before and after exercise. It was possible to observe an improvement on the mean values of LDH, calcium and chloride and a worsening on the mean values of CK, AST, sodium and potassium. Vitamin E and selenium supplementation apparently did not minimize the muscle lesion effect caused by intense physical exercise.

Key words: muscle enzymes; eletrolytes; equine performance; tocopherol acetate; selenium.

ENZIMAS MUSCULARES Y ELECTROLITOS EN EQUINOS SOMETIDOS A ESFUERZO FÍSICO PROLONGADO, SUPLEMENTADOS CON ACETATO DE TOCOFEROL Y SELENIO

RESUMEN

Las determinaciones bioquímicas son herramientas importantes en el acompañamiento de diversas funciones orgánicas y de anormalidades que pueden provocar bajo desempeño del caballo atleta. Realizadas a un bajo costo, dichas determinaciones proporcionan una guía simple y eficiente de la evaluación del estado de salud y del desempeño de los equinos. El acetato de tocoferol (Vitamina E) y el selenio son esenciales en varias funciones del organismo como crecimiento, reproducción, funcionamiento del sistema inmune y manutención de la integridad de los tejidos. La deficiencia de estos nutrientes puede resultar en alteración y degeneración de los tejidos. Este trabajo caracterizó los valores de las enzimas musculares AST, LDH y CK y de los electrolitos de sodio, potasio, calcio y cloruros en equinos clínicamente sanos, sometidos a esfuerzo físico prolongado, antes y después de suplementación con vitamina E y selenio. Fueron utilizados 10 equinos clínicamente sanos sin distinción de raza y sexo con un margen de edad entre 96 y 192 meses. Fue colectada sangre de estos animales antes y después de la participación en una cabalgada de 32 km. Posteriormente, estos equinos fueron sometidos a un tratamiento en el que fue realizada en cada uno de los animales, una aplicación semanal, durante 4 semanas, de 10 mL de suplemento de vitamina E y selenio. Después de una semana de la última aplicación, los equinos fueron sometidos al mismo esfuerzo físico, con nuevas determinaciones bioquímicas antes y después del ejercicio. La suplementación con vitamina E y selenio, aparentemente no minimizó el efecto de la lesión muscular causada por el ejercicio físico intenso.

Palabras clave: enzimas musculares, electrolitos, desempeño de equinos, acetato de tocoferol, selenio.

INTRODUÇÃO

Desde a década de 60 as determinações do hemograma e dos exames bioquímicos tornaram-se fundamentais na avaliação do equino atleta. Inicialmente as investigações utilizavam somente o hemograma e mais recentemente técnicas de automação permitiram avaliar o resultado de uma vasta série de determinações hematológicas e bioquímicas de baixo custo total, que facilitaram o acesso a diversas funções orgânicas, transformando-se em ferramentas decisivas no acompanhamento do cavalo atleta. Normalmente, estes animais possuem aptidão física e são submetidos a programas nutricionais e de treinamentos que visam aprimorar o seu desempenho, entretanto, anormalidades como anemia, hipoproteïnemia e deficiências vitamínicas e/ou minerais podem influenciar na performance desses animais (1).

Performance, é reflexo da combinação dos fatores genéticos, de crescimento e nutricionais, juntamente com um programa de treinamento capaz de proporcionar o condicionamento físico. Um animal que tenha a seu favor o somatório de todas estas combinações não pode perder desempenho por fatores que por meio de exames laboratoriais podem facilmente ser detectados e solucionados (2).

O selênio é essencial para várias funções do organismo, tais como crescimento, reprodução, prevenção de doenças e manutenção da integridade dos tecidos. A função metabólica do selênio está intimamente ligada ao acetato de tocoferol (vitamina E). Ambos, selênio e vitamina E, atuam protegendo membranas biológicas contra a degeneração oxidativa, no funcionamento do sistema imune e na resistência às doenças (3).

A utilização rotineira de parâmetros hematológicos e bioquímicos durante o esforço físico pode proporcionar um mecanismo eficaz para a avaliação das possíveis anormalidades que possam provocar o baixo desempenho e as alterações na saúde dos equinos. Recomendam-se, portanto, colheitas regulares de amostras sanguíneas para a realização de exames laboratoriais em cavalos submetidos a treinamentos como auxílio ao diagnóstico de anormalidades. (4)

O principal significado das determinações bioquímicas sobre o desempenho do equino atleta está associado a enfermidades como diarreia, doença renal e perdas eletrolíticas pelo suor (1).

Níveis anormais de eletrólitos plasmáticos determinam baixo desempenho. A concentração de sódio plasmático está relacionada com o equilíbrio hídrico do organismo. O potássio está relacionado com as atividades neuromusculares. Durante o exercício físico, ocorrem perdas corporais de cloro devido à sudorese que levam a alterações primárias como sede e cansaço. As concentrações anormais de sódio plasmático refletem o excesso de água (hiponatremia) ou o déficit de água (hipernatremia), sendo importante assegurar o adequado fornecimento de sódio na dieta dos equinos atletas e consumo de sal ou de suplemento eletrolítico. (1)

O potássio está envolvido com importantes funções orgânicas, particularmente com a atividade neuromuscular, que é imprescindível no equino atleta. Como menos de 2% do potássio corporal encontra-se no líquido extracelular, os valores sanguíneos do potássio podem não refletir as alterações orgânicas, apesar disso, a hipocalemia ocorre com frequência nos equinos atletas quando submetidos à fadiga muscular (5)

As enzimas musculares mais comuns, aspartato amino transferase (AST), creatinaquinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) são usadas para detectar lesões musculares (6). O aumento das enzimas AST e CK está relacionado com a intensidade e continuidade do exercício (7). Em alguns casos, nos equinos enduristas, observaram-se valores superiores a 30.000 UI/L sem evidência clínica de distúrbio muscular (1). As diferenças nos níveis de CK e AST ocorrem por influência da evolução do treinamento

(distância e velocidade) e aptidão física, não pela dieta (8). O exercício prolongado de cavalos que participam de provas de enduro pode levar a um aumento do estresse oxidativo resultando em lesão e fadiga muscular e diminuição da performance física dos cavalos (9).

As determinações laboratoriais como hemograma, albumina sérica, glicose sangüínea, CK e AST podem ser utilizadas como indicadores da boa forma em eqüinos atletas (2).

Eqüinos que participam de competições de enduro são submetidos a diversas situações estressantes. Ocorrem significantes modificações antes, durante e depois da competição, principalmente na atividade das enzimas CK e AST que são utilizadas como indicadores de lesão muscular e nas concentrações plasmáticas de sódio, potássio, que oferecem informações sobre a homeostase dos eletrólitos e principais minerais (10).

As enzimas musculares desidrogenase láctica (LDH), aspartato amino transferase (AST) e creatinaquinase (CK) são usadas como índices de lesão muscular quando os eqüinos são submetidos ao exercício muscular intenso (6).

Determinações bioquímicas são, portanto, de vital importância na avaliação do eqüino atleta. A colheita das amostras de sangue é bastante simples e os exames laboratoriais economicamente viáveis. Esta pesquisa submeteu os eqüinos de idades variadas ao exercício programado, antes e após a suplementação com Vitamina E e selênio. A determinação das concentrações séricas de CK, AST, LDH, sódio, potássio, cálcio e cloretos, serviram para avaliação do efeito da vitamina E e selênio na melhora do desempenho dos eqüinos submetidos ao esforço físico, verificando o efeito da desidratação e a possível ocorrência das lesões musculares.

MATERIAIS E MÉTODOS

ANIMAIS

Foram utilizados dez (10) eqüinos, animais de serviço de propriedades rurais, clinicamente sadios e vermifugados, alimentados com ração de manutenção (Classic Horse 12/75, Fri Ribe) e feno, sem nenhum tipo de suplementação.

COLHEITA DE SANGUE

Foi puncionada a veia jugular para colheita de 10 ml de sangue, para a obtenção do soro, que foi dividido em alíquotas, armazenado em freezer a temperatura de -20°C e utilizado para a realização nas dosagens de CK, AST, LDH, sódio, potássio, cálcio e cloretos. Foi realizada a colheita de sangue com o animal em repouso, 10 minutos antes da atividade física; a outra colheita foi realizada 10 minutos após o exercício físico.

EXAMES LABORATORIAIS

As enzimas creatino quinase (CK), aspartato amino transferase (AST) e desidrogenase láctica (LDH) e os eletrólitos cálcio e cloreto foram determinados por espectrofotometria³ utilizando o método do Kit CELM[®].

Os eletrólitos sódio e potássio foram determinados pelo método da fotometria de chama⁴.

³ ATAGO CO, LTD T2-NE Clinical

⁴ CELM SC-280.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 10 eqüinos sem distinção de raça e sexo, clinicamente sadios, dentro da faixa etária de 96 a 192 meses, provenientes de propriedades que utilizavam estes animais na lida diária, com alimentação à base de ração de manutenção (Classic Horse 12/75, Fri Ribe) para eqüinos e feno. Destes animais, foi colhido sangue 10 minutos antes e 10 minutos após a participação em uma cavalgada de 32 km, a passo lento, com duração aproximada de oito horas, para a determinação dos valores bioquímicos (AST, LDH, CK, sódio, potássio, cálcio, cloreto). Posteriormente, foi utilizado um suplemento injetável composto por Selênio e Vitamina E, onde cada 100 mL do produto continha 0,25 g de selênio (sob a forma de selenito de sódio) e 6.800UI de acetato de tocoferol (vitamina E). O produto foi administrado nos eqüinos por via intravenosa (lenta). A dose foi de 1,0 ml para cada 45 kg de peso corporal e o tratamento foi repetido em intervalos de 7 dias durante 4 semanas. Após uma semana da última aplicação do medicamento, os mesmos eqüinos foram submetidos novamente ao mesmo esforço físico realizado anteriormente, com nova determinação laboratorial dos valores bioquímicos antes e após o exercício.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para cada grupo foi calculada a média (μ), o desvio-padrão (σ) e a variância (σ^2). A análise estatística dos dados objetivou comparar os momentos (pré e pós exercício) dentro de cada grupo pelo Teste t Pareado (11).

RESULTADOS

Com relação à enzima CK (tabela 1) observa-se um valor médio de 176,8 UI/L e 269,6 UI/L respectivamente antes e depois do exercício nos animais não suplementados com selênio e vitamina E. Após a suplementação as médias encontradas foram de 290,01 UI/L antes e de 366,65 UI/L após o exercício.

Observando-se os resultados obtidos para enzima AST (Tabela 1), os valores médios encontrados foram de 271 UI/L antes e 278,8 UI/L após o exercício. Após a suplementação, os valores encontrados foram de 260,42 UI/L e 280,64 UI/L, antes e depois do exercício, respectivamente.

Os valores médios da enzima LDH (Tabela 1) antes da suplementação foram de 325,15 UI/L antes e 665,58 UI/L após o exercício. Com a suplementação, os valores médios foram de 393,76 UI/L antes e 509,45 UI/L após o exercício.

As médias de sódio sérico (Tabela 2) antes do tratamento foram de 142,3 mEq/l antes e 149,3 mEq/l após o exercício. Com o tratamento, foram de 146,5 mEq/l antes e 154,3 mEq/l após o exercício.

A concentração média do potássio sérico (Tabela 2), sem tratamento, foi de 4,9 mEq/l antes e 3,6 mEq/l após o exercício. Com o tratamento, os valores foram 4,5 mEq/l antes e 3,2 mEq/l após o exercício.

Os valores médios de cálcio sérico (Tabela 2) sem suplementação, foi de 5,35mg/dl antes e 5,55mg/dl após o exercício. Com suplementação, obteve-se 7,76mg/dl antes e 7,02mg/dl após o exercício.

As médias encontradas para os valores médios do cloreto sérico (Tabela 2) sem a suplementação, foram de 97,45mEq/l antes do exercício e 102,7mEq/l após o mesmo. Com a suplementação, praticamente não houve alteração, sendo de 96,4mEq/l antes do exercício e 94,73mEq/l após o exercício.

Tabela 1: Valores médios das enzimas musculares CK, AST e LDH de equínos, antes e após exercício e com e sem suplementação com vitamina E e Selênio.

Enzima	Sem Vitamina E e Selênio		Com Vitamina E e Selênio	
	Antes do exercício	Depois do exercício	Antes do exercício	Depois do exercício
CK (U/l)				
μ	176,8 ^a	269,65 ^a	290,01 ^a	366,65 ^b
σ	45,72	49,91	71,47	147,39
σ^2	2.090,3	2.491,0	5.107,9	21.723,8
AST (U/l)				
μ	271 ^a	278,8 ^a	260,42 ^a	280,64 ^b
σ	22,48	17,78	14,18	11,78
σ^2	505,35	316,13	201,07	138,77
LDH (U/l)				
μ	325,15 ^a	665,58 ^b	393,76 ^a	509,45 ^a
σ	68,15	344,77	185,58	220,85
σ^2	4.643,9	118.866,5	34.441,1	48.774,8

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os momentos, dentro de cada tratamento. (μ) média, (σ) desvio-padrão e (σ^2) variância.

Tabela 2: Valores médios dos eletrólitos sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca) e cloreto (Cl) séricos de equínos, antes e após exercício e com e sem suplementação com vitamina E e Selênio.

Eletrólitos	Sem Vitamina E e Selênio		Com Vitamina E e Selênio	
	Antes do exercício	Depois do exercício	Antes do exercício	Depois do exercício
Na (mEq/l)				
μ	142,33 ^a	149,33 ^a	146,52 ^a	154,33 ^b
σ	8,97	8,37	3,90	3,06
σ^2	80,46	70,06	15,21	9,36
K (mEq/L)				
μ	4,92 ^b	3,67 ^a	4,55 ^b	3,23 ^a
σ	0,64	0,86	0,42	0,28
σ^2	0,41	0,74	0,18	0,08
Ca (mg/dl)				
μ	5,35 ^a	5,55 ^a	7,76 ^a	7,02 ^a
σ	0,73	1,09	1,07	1,36
σ^2	0,53	1,19	1,14	1,86
Cl (mEq/L)				
μ	97,45 ^a	102,7 ^a	96,4 ^a	94,73 ^a
σ	13,18	15,07	7,5	4,83
σ^2	173,82	227,02	56,21	23,36

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os momentos, dentro de cada tratamento. (μ) média, (σ) desvio-padrão e (σ^2) variância.

DISCUSSÃO

Corrêa KS. et al. Enzimas musculares e eletrólitos em equínos submetidos a esforço físico prolongado, suplementados com acetato de tocoferol e selênio. Vet e Zootec. 2010 mar.; 17(1):85-93.

Após a administração do suplemento esperava-se que ocorresse melhora no desempenho dos equinos, o que poderia ser evidenciado por menores alterações nos valores bioquímicos das enzimas musculares AST, LDH e CK e dos eletrólitos sódio, potássio, cálcio, cloretos.

Algumas das variáveis apresentaram um desvio padrão muito grande, possivelmente por se tratar de um grupo heterogêneo de equinos, entretanto, por meio da média dos valores bioquímicos e análise estatística das variáveis foi possível observar melhoras nas médias de LDH, cálcio e cloretos e pioras nas médias de CK, AST, sódio e potássio. Além disso, os proprietários notaram uma melhora no desempenho dos animais durante a segunda cavalgada de 32 Km, realizada após a suplementação com Vitamina E e Selênio.

A atividade das enzimas CK e AST aumentam durante o exercício físico sem a observação de sinais clínicos ou mudanças histológicas na estrutura da célula muscular. Fatores incluindo idade, treinamento físico e estação do ano podem contribuir para o aumento destas enzimas. Afirmaram ainda que a administração da vitamina E é um importante fator que contribui para o aumento das enzimas musculares durante o exercício (12).

Com relação à enzima CK após o tratamento, comparando-se os valores antes e após o exercício, a diferença encontrada foi significativa ($p < 0,05$), como a enzima CK é tida como um indicador específico de lesão muscular podemos inferir que os animais suplementados apresentaram níveis mais elevados de CK após o exercício. Santos & González (13), também observaram aumento da enzima CK após exercício físico intenso.

Já em relação à enzima AST, apesar da maior diferença nas médias pré e após exercício com o tratamento, esses valores não ultrapassaram os limites dos valores normais estabelecidos para equinos, o que significa que não ocorreu uma alteração capaz de causar prejuízos aos animais. Os valores obtidos antes do tratamento não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$), após o tratamento essa diferença entre os momentos pré e após exercício foi significativa ($p < 0,05$).

As diferenças nos níveis de CK e AST nos equinos atletas ocorrem por influência da evolução do treinamento, (distância e velocidade) e aptidão física, não pela dieta (8). No estudo de equinos que participaram de um enduro de 80 km não foram observadas elevações significativas das enzimas CK e AST (9).

A dosagem bioquímica da enzima LDH, apresentou menor aumento nos equinos com suplementação de vitamina E e selênio após o exercício. Na análise estatística, sem o tratamento, a diferença entre pré e após exercício foi significativa ($p < 0,05$). Já com o tratamento, quase não houve alteração nos parâmetros, ($p > 0,05$), que não representa uma diferença estatística. Esse menor aumento pode indicar que possivelmente a administração do suplemento vitamínico minimizou o efeito da lesão muscular promovida pelo esforço físico intenso.

O sódio apresentou-se normal antes do exercício, porém, após a cavalgada, os equinos apresentavam níveis séricos aumentados. Este quadro não foi alterado pelo tratamento. Analisando-se estatisticamente, observou-se que sem o tratamento a diferença entre as médias não foi significativa ($p > 0,05$). Com o tratamento, o ($p < 0,05$) indicou que houve diferença de valores pré e após exercício. Esse aumento após o exercício indica perda de água pela sudorese, acesso inadequado à água e alta temperatura ambiental, o que já era esperado devido ao esforço a que foram submetidos os animais e à elevada temperatura ambiental na época do experimento.

O valor médio da concentração do potássio sérico demonstrou uma diminuição após o exercício tanto nos equinos com suplementação como sem suplementação, a diferença entre os momentos pré e após exercício foi significativa ($p < 0,05$), o que pode significar que houve uma perda deste eletrólito devido ao exercício físico, pois, a hipocalemia ocorre com

freqüência nos eqüinos atletas quando submetidos à fadiga muscular (5). Estas perdas ocorrem devido à sudorese e ao aumento da excreção renal (14).

Quanto ao cálcio sérico os eqüinos já iniciaram o experimento com valores médios abaixo do intervalo considerado normal (1), porém, com a suplementação, ocorreu uma recuperação dos valores. Pela análise estatística, observou-se que não ocorreu diferença significativa ($p>0,05$) antes e após o tratamento. Com estes resultados verificamos que a atividade física não alterou significativamente os valores do cálcio sérico. Este eletrólito manteve-se em equilíbrio homeostático (10).

Durante todo o experimento, os eqüinos apresentaram valores normais de cloreto (1), mas também ocorreu uma diminuição na média do cloro após exercício nos animais que receberam a suplementação, o que pode indicar que a vitamina E e o selênio podem ter contribuído para diminuir a perda corporal de cloro e conseqüentemente atenuar o cansaço aparente dos eqüinos (1). Pela análise estatística não ocorreram diferenças significativas ($p>0,05$), antes e após o tratamento.

De acordo com um estudo realizado por Kinnunen et al. (9), não houve mudança na concentração de vitamina E plasmática após os eqüinos serem submetidos a um enduro de 80 Km. A não mudança no nível plasmático de vitamina E durante o exercício prolongado é uma informação consistente relatada em outros artigos.

Altas doses de vitamina E minimizam as lesões musculares e promovem menor estresse oxidativo e possuem um alto poder antioxidante em cavalos que participam de competições de enduro (12). Isto indica que os animais que forem suplementados terão melhor performance. No entanto, os autores advertem que mais estudos devem ser realizados para ter conhecimento sobre o limite superior de vitamina E a ser administrado para o eqüino atingir um ótimo nível de performance.

Os resultados encontrados no experimento indicam que a suplementação de eqüinos com vitamina E e selênio, aparentemente não minimizou o efeito de lesão muscular causada pelo exercício físico intenso, possivelmente devido a dosagem utilizada, pois somente altas doses de vitamina E minimizam os danos musculares promovidos pelo exercício físico (12). No entanto a suplementação pode ter contribuído para diminuir o cansaço aparente dos eqüinos, além da melhora observada pelos proprietários no desempenho físico dos animais.

CONCLUSÃO

Por esses poucos ganhos obtidos no desempenho dos eqüinos, considerou-se como parcialmente satisfatório o resultado encontrado pela suplementação com vitamina E e Selênio na dosagem utilizada.

REFERÊNCIAS

1. Hodgson DR, Rose RJ. Hematology and biochemistry. In: Hodgson DR, Rose RJ. Principles and practice of equine sports medicine. The athletic horse. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994. p. 63-77.
2. Mullen PA, Hopes R, Sewell J. The biochemistry, hematology, nutrition and racing performance of two-year-old Thoroughbreds throughout their training and racing season. Vet Rec. 1979; 3: 90-5.
3. Van Heugten E, Sweet LA, Stumpf TT, Risley CD, Schell TC. Effects of water supplementation with selenium and vitamin E on growth performance and blood selenium

- and serum vitamin E concentrations in weanling. *J Am Vet Med Assoc.* 1997; 211: 1039-42.
4. McDowell LR. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil. 3ª ed. Gainesville: University of Florida Press; 1999.
 5. Carlson GP. Fluid, eletrolyte, and acid-base balance. In: Kaneko J.J *Clinical biochemistry of domestic animals.* 4ª ed. California: Academic Press, 1989. p.543-75.
 6. Kaneko J.J. *Clinical biochemistry of domestic animals.* 5ª ed. California: Academic Press, 1997.
 7. Murakami M, Takagi S. Effects of continuous long distance running exercise on plasma enzyme levels in horses. *Exp Rep Equine Health Lab.* 1974; 11: 106-11.
 8. Falaschini A, Trombetta MF. Modifications induced by training and diet in some exercise-related blood parameters in young trotters. *J Equine Vet Sci.* 2001; 21: 601-4.
 9. Kinnunen S, Atalay M, Hyypä S, Lehmuskero A. Effects of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horse. *J Sports Sci Med.* 2005; 4: 415-21.
 10. Sloet Van Oldruitenborgh – Oosterbaan MM, Wensing TH, Barneveld A, Breukink HJ. Heart rate, blood biochemistry and performance of horses competing in a 100 km endurance ride. *Vet Rec.* 1991; 23. 175-9.
 11. Morrison D.F. *Multivariate statistical methods.* New York: Mcgraw Hill Book; 1967.
 12. Williams CA, Kronfeld DS, Hess TM, Waldron JE, Saker KE, Hoffman RM. et al. Vitamin E intake and oxidative stress in endurance horses. *Equine Nutr Phys Soc Proc.* 2003; 18: 134-5.
 13. Santos VP, González FHD. Efeito do protocolo de exercícios sobre variáveis hematológicas e bioquímicas em equinos de salto. *Acta Sci Vet.* 2006; 34: 234-44.
 14. Lacerda Neto JC, Marques LC. Utilização de parâmetros clínicos e bioquímicos na avaliação de equinos submetidos a exercícios de baixa intensidade e média duração. *Vet Not.* 1999; 5: 77-82.

Recebido em: 19/05/2008

Aceito em: 20/01/2010