

# Alterações séricas do cálcio, fósforo e proteína total em eqüinos durante provas de enduro de média duração

## Serum levels of calcium, phosphate and total protein changes during exercise in endurance horses

Marcelo Freitas Franco,\* Fábio Rielli Mazetto,\* Maria Adriana Machado Lobo e Silva,\*\*  
Fernanda Leme Silva Bastos Varzim,\*\*\* Regina Perez,\*\*\* Júlio César de Carvalho Balieiro,\*\* Flávio Massone\*\*

### Resumo

Este trabalho teve por objetivo avaliar possíveis alterações séricas do cálcio (Ca), fósforo (P) e proteínas totais (PT) em eqüinos Árabes e Anglo-Árabes, de ambos os sexos, clinicamente saudáveis, submetidos à prova de enduro de média duração. A prova constou de 160km, divididos em dois dias consecutivos. As amostras de sangue foram colhidas nos momentos da largada e da chegada nos dois dias da prova. Observaram-se elevações estatisticamente significativas ( $P < 0,01$ ) para P sérico no momento da chegada nos dois dias de prova. Os níveis séricos de Ca e PT mostraram-se inalterados em ambos os dias de prova.

*Palavras-chave:* cálcio, fósforo, proteínas totais, bioquímica clínica, eqüino, enduro.

### Abstract

This work had for objective to evaluate possible alterations of the serum calcium (Ca), phosphate (P) and total protein (TP) of ten Arab equines and Anglo-Arabs, males and females, healthy, submitted the test of enduro of medium duration. The test consisted of 160Km, divided in two serial days. The samples were picked in the moments of the start and of the arrival in the two days. It was observed significant elevations ( $P < 0,01$ ) for serum phosphate to the arrival in the two days of test. The levels of serum Ca and TP were shown statistical unaffected in both days of test.

*Keywords:* calcium, phosphorus, total proteins, clinical biochemistry, horse, endurance.

### Introdução

Várias são as modalidades de esportes hípicas praticados no Brasil. As provas de enduro, que submetem os eqüinos a exercícios de baixa, média ou alta intensidade, têm sido objeto de vários estudos para melhor conhecimento das possíveis alterações metabólicas que ocorrem nessas condições. Esse conhecimento é essencial para que sejam evitados possíveis excessos prejudiciais à integridade física do animal atleta.

Os exercícios, de forma geral, enfatizam rapidez ou capacidade de resistência a enduros, ou uma combinação dos dois. A capacidade atlética reflete a eficiência de um indivíduo para atender à desejada rapidez e/ou resistência requeridas através de combinado efeito de fatores genéticos e ambientais, tais como treinamento (Cardinet III, 1997).

O cálcio é um mineral que desempenha um papel central na manutenção da homeostase dos vertebrados, incluindo contração muscular, coagulação sangüínea, ativação enzimática, excitabilidade neural, secreção hormonal e adesividade celular, além de ser integrante essencial da estrutura óssea. O fosfato no organismo dos mamíferos está presente, predominantemente (90%), na forma de hidroxiapatita na matriz mineralizada do osso, com os restantes 10% permanecendo, predominantemente, dentro das células dos tecidos moles. O fosfato é o principal ânion intracelular, existindo tanto na forma orgânica (ex.: fosfolípidos, ácidos nucleicos, fosfoproteínas, ATP), como na forma inorgânica e desempenha papel fundamental em vários processos metabólicos, tais como o metabolismo energético derivado do oxigênio para os tecidos, contração muscular e integridade do esqueleto (Dennis, 1996; Rosol e Capen, 1997).

\* Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária "Octávio Bastos". Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, R. São José, 55, Bairro Santo André. CEP 13.870-000. São João da Boa Vista, SP. E-mail : lab1hovet@feob.br

\*\* Profs. do Curso de Medicina Veterinária "Octávio Bastos" – FIFEOP – São João da Boa Vista, SP – R. São José, 55, Bairro Santo André. CEP 13.870-000. São João da Boa Vista, SP. E-mail : psxerife@dglnet.com.br

\*\*\* Médicas-veterinárias do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do Curso de Medicina Veterinária "Octávio Bastos" – FIFEOP – São João da Boa Vista, SP. R. São José, 55, Bairro Santo André. CEP 13870-000. São João da Boa Vista, SP. E-mail : nanda70@uol.com.br

Estudos com eqüinos durante provas de enduro foram desenvolvidos por vários pesquisadores. Nesses estudos, os animais são submetidos a uma simulação do esforço realizado nas referidas provas, tendo as amostras sido colhidas durante o treinamento, em que o estresse emocional não é tão intenso.

Eqüinos adultos, sete fêmeas e 18 machos, da raça Árabe ou meio-sangue Árabe mostraram elevação na capacidade total de ligação de ferro, quando submetidos a provas de enduro, categoria regularidade, embora a homeostase do ferro não tenha sido influenciada substancialmente (Fernandes et al., 1999).

Oito eqüinos sem raça definida, previamente treinados, foram avaliados clínica e bioquimicamente após exercício realizado à velocidade de 170 m/min através de um percurso de 24 km, considerado de baixa intensidade. Mostraram mucosa oral e conjuntival discretamente hiperêmicas, o turgor cutâneo manteve-se inalterado, não ocorreu aumento de sensibilidade dos músculos lombares, da garupa e coxais e não se registraram alterações do andamento ao trote. As frequências cardíacas médias registradas antes e 30 minutos após o exercício foram 38 bpm e 50 bpm, respectivamente. As concentrações séricas de sódio e a proteinemia mantiveram-se inalteradas. A concentração sérica de potássio diminuiu ao final do período de repouso. A glicemia elevou-se ao término do exercício retornando aos valores basais após 30 minutos de repouso. As concentrações de amônia aumentaram significativamente após o exercício e mantiveram-se elevadas após 30 minutos de repouso (Lacerda Neto e Marques, 1999).

Lopez et al. (1995) encontraram aumento de cálcio ionizado no interior das fibras musculares esqueléticas de eqüinos com rabiomiólise induzida por exercícios. O tratamento com dantrolene, um agente que previne a liberação de cálcio ionizado do retículo sarcoplásmico, reduziu a concentração desse mineral e acelerou a recuperação dessa miopatia.

Este trabalho objetivou estudar alguns parâmetros bioquímicos, tais como as concentrações séricas de cálcio, fósforo e proteína total, em eqüinos durante a prova de enduro, em tempo real, colhendo-se amostra dos animais no momento da largada e no momento da chegada, já que esses minerais atuam no metabolismo muscular dos animais e as proteínas sangüíneas podem refletir seu grau de hidratação, principalmente durante exercícios, como as provas de enduro.

## Material e métodos

Foram colhidas amostras de sangue de dez eqüinos sadios, machos e fêmeas, da raça Árabe e Anglo-Árabe, com idade variando entre cinco e dez anos, submetidos a um esforço físico médio de 80km por dia, totalizando 160km em dois dias consecutivos.

As colheitas de amostras de sangue foram efetuadas através de punção da veia jugular, imediatamente antes da largada, e no momento da chegada nos dois dias de prova. Foram colhidas amostras sem anticoagulante para obtenção de alíquotas de soro sangüíneo que foram conservados refrigerados e, posteriormente, em *freezer* a uma temperatura de -20 a -24°C. As determinações do cálcio, fósforo e proteína total foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica da

Faculdade de Medicina Veterinária "Octávio Bastos", por espectrofotometria<sup>a</sup> utilizando-se *kits* comerciais.<sup>b</sup>

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando resultados significativos foram verificados, aplicou-se o Teste de Tukey (SAS, 1987).

## Resultados e discussão

Os resultados encontrados estão apresentados na Tabela 1, mostrando que os níveis séricos de cálcio e proteína total não sofreram alteração significativa no momento de chegada nos dois dias estudados, em comparação com a largada. No entanto, os valores médios para fósforo sérico mostraram aumento estatisticamente significante (P<0,01) no momento da chegada de ambos os dias da prova.

O estresse a que estes eqüinos estão submetidos é real. No entanto, poucos são os proprietários, treinadores ou tratadores que permitem este tipo de manuseio dos animais durante essas provas. Por isso, o número de amostras obtidas é relativamente pequeno, mas permite análise estatística que mostra a tendência de comportamento dessas variáveis, durante essa situação emocional e esforço físico combinados.

Sabe-se que o fósforo tem papel fundamental no metabolismo energético da célula. Assim, rápida translocação pode ocorrer entre o fosfato intracelular e o sérico, o que pode alterar bastante as concentrações do mesmo (Rosol e Capen, 1997).

A contração muscular resulta da transformação de energia química em energia mecânica. A energia para contração é derivada da hidrólise de trifosfato de adenosina (ATP) para difosfato de adenosina (ADP) e fosfato inorgânico. Essa hidrólise é catalisada pela trifosfatase de adenosina actinotativa presente na fração S1 da molécula de miosina (Cardinet III, 1997).

O ATP requerido para contração não está estocado em quantidades suficientes. Portanto, precisa ser rapidamente produzido através do metabolismo de gorduras, carboidratos e fosfato de creatina estocados para dar suporte aos requerimentos energéticos para a contração. Aerobicamente, o ATP é produzido na mitocôndria muscular por fosforilação oxidativa de ácidos graxos (mobilizados de triglicérides estocados no músculo e depósitos de gordura) e de glicose dos estoques de glicogênio hepático e muscular. A oxidação da glicose através da acetil-coenzima A também produz ATP pela fosforilação de ADP no sarcoplasma. Anaerobicamente, o ATP é produzido no sarcoplasma aquoso através da fosforilação de ADP por três formas: a) creatina quinase utilizando estoques de fosfato de creatina; b) adenilato quinase utilizando ADP produzido pela hidrólise de ATP e c) glicogenólise, utilizando glicose derivada de ambos os estoques de glicogênio hepático e muscular (Dennis, 1996).

O exercício é, provavelmente, o melhor exemplo de estímulo fisiológico ou estresse a que o animal poderia ser exposto. É

<sup>a</sup> Espectrofotômetro Labquest, Labtest Diagnóstica. Belo Horizonte, MG.

<sup>b</sup> Kits Labtest, Centerkit. Ribeirão Preto, SP.

um agente de estresse natural de alta intensidade (Luna, 2001). O exercício em cavalos produz aumento do metabolismo anaeróbico e da oxidação lipídica (Anderson, 1975), e em ambos os processos, o fósforo é essencial (Rosol e Capen, 1997).

Os efeitos do treinamento e da dieta, principalmente relacionada aos carboidratos, alteram a resposta endócrina no exercício. Assim, o treinamento reduz as alterações endócrinas e metabólicas associadas ao exercício moderado, mas, em geral, pode exacerbar a resposta hormonal durante exercício de alta intensidade (Viru, 1992; Viru et al., 1992; Luna, 2001).

Grande tem sido o interesse de pesquisadores no conhecimento da regulação hormonal desses minerais nos eqüinos, bem como de suas alterações em diversas situações fisiológicas, patológicas e sob estresse (Szency et al., 1994; Lopez et al., 1995; McConaghy et al., 1995; Moore et al., 1997; Estepa et al., 1998).

Neste trabalho, observamos que os níveis séricos de cálcio não mostraram diferença significativa entre os momentos da largada e da chegada, tanto no primeiro como no segundo dia de prova. O mesmo aconteceu com a proteína total sérica, mostrando que os animais não chegaram a ficar desidratados a ponto de mostrarem aumento desse parâmetro. O fósforo sérico, no entanto, mostrou-se significativamente aumentado nos momentos da chegada nos dois dias de prova. No segundo dia, o aumento na chegada foi mais intenso. Mas essa diferença entre os dias não foi estatisticamente significativa. Esses achados demonstram que o organismo disponibiliza fósforo para suprir as necessidades energéticas musculares de eqüinos durante exercícios.

## Agradecimentos

Ao Prof. João Junqueira Fleury, pelo incentivo e orientações, e ao Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária Octávio Bastos de São João da Boa Vista, SP.

## Referências

- ANDERSON, M. G. The effect of exercise on blood metabolite levels in the horse. *Equine Vet. J.*, v. 7, n. 1, p. 27-33, 1975.
- CARDINET III, G. H. Skeletal muscle function. In: KANEKO, J. J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 407-440.
- DENNIS, V. W. Phosphate metabolism: contribution of different cellular compartments. *Kidney Int.*, v. 49, n. 5, p. 938-942, 1996.
- ESTEPA, J. C.; AGUILERA-TEJERO, E.; MAYER-VALOR, R.; ALMADEN, Y.; FELSENFELD, A. J.; RODRIGUEZ, M. Measurement of parathyroid hormone in horses. *Equine Vet. J.* v. 30, n. 6, p. 476-481, 1998.
- FERNANDES, W.R.; SOUZA, M. C. C.; DEL FAVA, C.; MORI, E.; LISBOA, J. A. N.; RONCATI, N. V.; HAGIWARA, M. K. Influência do exercício físico sobre os níveis séricos de ferro e de capacidade total de ligação do ferro em eqüinos de enduro. *Veterinária Notícias*. v. 5, n. 2, p. 79-82, 1999.
- LACERDA NETO, J. C.; MARQUES, L. C. Utilização de parâmetros clínicos e bioquímicos na avaliação de eqüinos submetidos a exercícios de baixa intensidade e média duração. *Veterinária Notícias*. v. 5, n. 1, p. 77-82, 1999.

## Conclusão

Nas condições em que o trabalho foi realizado, podemos concluir que houve aumento dos níveis de fósforo sérico em eqüinos submetidos a médio esforço e que não houve alteração nos níveis de proteína total e cálcio séricos. Esse aumento de fósforo sérico pode ser explicado pelo aumento do metabolismo energético que necessita desse mineral em todas as vias conhecidas para fornecimento de energia durante esforço muscular.

**Tabela 1:** Médias  $\pm$  desvio-padrão dos níveis de cálcio, fósforo e de proteína total séricos observados em eqüinos da raça Árabe e Anglo-Árabe (n=10), submetidos a esforço físico médio de 80 km por dia, durante dois dias consecutivos, obtidos antes da largada e no momento da chegada

Parâmetros analisados	1º Dia		2º Dia	
	Largada	Chegada	Largada	Chegada
Cálcio (mg/dl)	9,84 $\pm$ 1,10	9,35 $\pm$ 1,07	9,54 $\pm$ 1,08	9,64 $\pm$ 1,09
Fósforo (mg/dl)	3,19 $\pm$ 0,62	5,33 $\pm$ 0,81*	4,33 $\pm$ 0,73	6,12 $\pm$ 0,86*
Proteína Total Sérica (g/dl)	6,69 $\pm$ 0,90	6,77 $\pm$ 0,91	6,48 $\pm$ 0,89	6,56 $\pm$ 0,92

\* Estatisticamente significativa (P < 0,01).

LOPEZ, J. R.; LINARES, N.; CORDOVEZ G.; TERZIC A. Elevated myoplasmic calcium in exercise-induced equine rhabdomyolysis. *Pflugers Arch.* v. 430, n. 2, p. 293-295, 1995.

LUNA, S. P. L. Hormônios utilizados na avaliação da performance em eqüinos. CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA ESPORTIVA EQUINA, 1., 8-11 de março de 2001, Botucatu. FMVZ – UNESP. *Anais...* 2001, p. 45-48.

MC CONAGHY, F. F.; HODGSON, D. R.; EVANS, D.L.; ROSE, R.J. Equine sweat composition: effects of adrenaline, exercise and training. *Equine Vet. J. Suppl.*, v. 20, p. 158-164, 1995.

MOORE, T.; WILCKE, J.; CHILCOAT, C.; EYRE, P.; CRISMAN, M. Functional characterization of equine neutrophils in response to calcium ionophore A23187 and phorbol myristate acetate ex vivo. *Vet. Immunol Immunopathol.*, v. 56, n. 3-4, p. 233-246, 1997.

ROSOL, T. J.; CAPEN, C. C. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral metabolism. In: KANEKO, J. J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997, p. 619-702.

SAS INSTITUTE, INC. *S.A.S. users guide statistic*. Version 6<sup>th</sup> ed. Caru, n.c., EUA, 1987.

SZENCY, O.; NEMETH, F.; STOLLAR, Z.; BRYDL, E. Effects of storage time and temperature on ionized calcium concentration in equine blood, plasma, and serum. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 204, n. 8, p. 1224-1226, 1994.

VIRU, A. Plasma hormones and physical exercise. *Int. J. Sports Med*, v. 13, n. 2, p. 201-209, 1992.

VIRU, A.; KARELSON, K.; SMIRNOVA, T. Stability and variability in hormonal responses to prolonged exercise. *Int. J. Sports Med*, v. 13, n. 3, p.230-235, 1992.