

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA**  
**Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação**

**SUPLEMENTAÇÃO DE CROMO OU L-CARNITINA PARA**  
**POTRAS MANGALARGA MARCHADOR SUBMETIDAS A**  
**UM PROGRAMA DE CONDICIONAMENTO**

**MAYARA GONÇALVES FONSECA**

**Belo Horizonte**  
**Escola de Veterinária - UFMG**  
**2014**

Mayara Gonçalves Fonseca

**SUPLEMENTAÇÃO DE CROMO OU L-CARNITINA PARA  
POTRAS MANGALARGA MARCHADOR SUBMETIDAS A UM  
PROGRAMA DE CONDICIONAMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para Obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Prof. Orientador: Dra. Adalgiza Souza  
Carneiro de Rezende

**Belo Horizonte**  
**Escola de Veterinária – UFMG**

**2014**

F676s Fonseca, Mayara Gonçalves, 1989-  
Suplementação de cromo ou L-Carnitina para potras Mangalarga Marchador submetidas a um programa de condicionamento / Mayara Gonçalves Fonseca. – 2014.

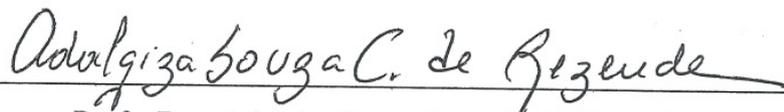
96 p. : il.

Orientadora: Adalgiza Souza Carneiro de Rezende  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.  
Inclui bibliografia

1. Mangalarga (Cavalo) – Exercícios – Aspectos fisiológicos – Teses. 2. Cromo na nutrição animal – Teses. 3. Teste ergométrico – Teses. 4. Nutrição animal – Teses.  
I. Rezende, Adalgiza Souza Carneiro de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.108 5

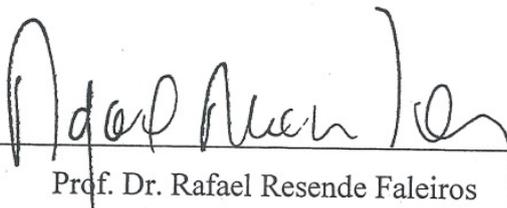
Dissertação defendida e aprovada em 24/03/2014 pela Comissão Examinadora composta pelos seguintes membros:



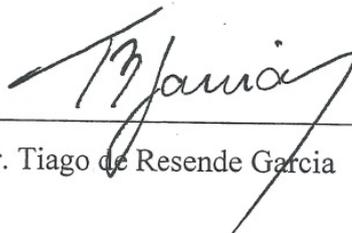
Profa. Dra. Adalgiza Souza Carneiro de Rezende (Orientadora)



Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz



Prof. Dr. Rafael Resende Faleiros



Dr. Tiago de Resende Garcia

## AGRADECIMENTOS

À minha família que me ensinou a importância da dedicação e da responsabilidade, que compreendeu meus momentos de ausência ou de mau humor, que vestiu a camisa desde sempre acreditando e apostando nas minhas conquistas profissionais. Vocês são incríveis, amo vocês! Um agradecimento especial ao Quarteto Fantástico que me deu muitas forças e alegrias durante essa etapa.

À minha orientadora, professora Dra. Adalgiza S. C. de Rezende por dedicar-se com amor aos cavalos e à pesquisa; pela confiança, oportunidades, ensinamentos e incentivos destinados a mim durante esses cinco anos! Muito obrigada por tudo!

Aos professores Dr. Guilherme de Camargo Ferraz e Dr. Antonio de Queiroz Neto por cederem gentilmente toda a infraestrutura do LAFEQ e nos orientarem incansavelmente durante toda a etapa experimental.

Ao professor Dr. Jose Luis Lopes Rivero e a todos do Laboratório de Biopatologia Muscular do Departamento de Anatomia, na Universidade de Córdoba, Espanha pela parceria e orientação na avaliação morfométrica das fibras musculares.

À Lilian Jordão, por dividir comigo o fardo do experimento e ter sido uma parceira durante todo esse período.

Ao Dêco pela paciência, carinho e dedicação durante a participação diária no manejo dos animais e pela presença essencial nos dias de testes.

À Equipe Peso Pesado, que com grande dedicação, respeito, carinho e bom humor desempenhou brilhantemente todas as etapas árduas do experimento. Vocês se tornaram pessoas muito queridas e serei eternamente grata a todos vocês!!

À Maria Luiza Almeida, por ter estruturado e organizado eficientemente os detalhes do experimento e por ter sido uma grande amiga nos momentos mais difíceis.

À Flora D'Angelis, agradeço a dedicação com que executou as etapas de coleta e processamento das biópsias musculares e toda a atenção e paciência em me auxiliar e fornecer dados para a elaboração da dissertação.

Ao Juliano Santiago, pela amizade, paciência e carinho durante esses anos; por me ensinar tanto e me ajudar incansavelmente na estatística!

Ao professor Rafael R. Faleiros por aceitar participar da banca de defesa e, juntamente com o professor Geraldo Eleno S. Alves, me receberem muito bem como “agregada” e me proporcionarem grandes oportunidades participando das edições do SIMCAV.

Ao Dr. Tiago de Resende Garcia pela amizade, ensinamentos, presença e incentivo durante todos esses anos e, principalmente, por me auxiliar e me apoiar nas decisões mais importantes da minha vida profissional.

Às minhas grandes amigas “Bests da Vet”, com quem dividi minhas ansiedades, sonhos e pesadelos. O carinho de vocês ajudou a deixar esta etapa mais leve.

Às 15 potras por terem colaborado (ou não) durante todas as etapas do experimento e por terem me ensinado que a paciência, persistência e coerência são essenciais na relação homem-cavalo.

Aos professores e funcionários da Escola de Veterinária da UFMG por terem sido grandes colaboradores ao meu crescimento por todos esses anos. Tenho muito orgulho de fazer parte dessa Escola!

Aos companheiros de equipe do “Grupo de Pesquisa em Produção de Equinos da UFMG”, agradeço todos esses anos de muito trabalho, amizade, alegria, aprendizado e crescimento. Agradeço especialmente à Jessica Lage a parceria e amizade de todos esses anos e principalmente o apoio e paciência dos últimos meses.

Ao Haras da Esperança e ao Haras Grande Sertão por cederem gentilmente suas potras para a realização do experimento e contribuírem para o crescimento do conhecimento científico relacionado à raça Mangalarga Marchador.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto e consentimento de bolsas.

A CAPES, Fapemig e Fapesp pelas bolsas de pesquisa e material permanente.

À Tortuga Companhia Zootécnica Agrária pelo fornecimento dos suplementos e pelo patrocínio de grande parte das análises do experimento.

À Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Mangalarga Marchador pelo recurso destinado à hospedagem e alimentação dos pesquisadores.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização desse trabalho...

Muito obrigada!

*"Aquele que tem fé também tem humildade.*

*Ele possui um reservatório interno de coragem,*

*esperança, confiança, tranquilidade.*

*Uma confiança segura em que tudo vai dar certo,*

*embora pra o mundo possa parecer que tudo vai dar errado."*

**Autor Desconhecido**

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	20
2.1. A Raça Mangalarga Marchador, Concursos e Testes de Marcha .....	20
2.2. Suplementação nutricional de cromo.....	23
2.3. Suplementação nutricional de L-carnitina .....	26
2.4. Adaptações musculares ao exercício e ao treinamento.....	29
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	34
3.1. Data, local e etapas experimentais .....	34
3.2. Caracterização dos animais, instalações e dieta.....	34
3.3. Período de adaptação .....	36
3.4. Teste de esforço incremental em esteira ergométrica .....	37
3.5. Programa de condicionamento físico.....	39
3.6. Teste de marcha em esteira ergométrica.....	40
3.7. Análises Laboratoriais dos Testes de Marcha.....	41
3.8. Biópsias musculares.....	41
3.9. Análise histoquímica das fibras musculares .....	42
3.10. Análise imuno-histoquímica das fibras musculares .....	43
3.11. Histoquímica para potencial oxidativo-glicolítico das miofibras.....	44
3.12. Análise morfométrica das fibras musculares.....	46
3.13. Delineamento experimental e Análises estatísticas .....	47
3.13.1. Testes de Marcha em esteira ergométrica.....	47
3.13.2. Fibras musculares .....	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	49
4.1. Testes de Marcha em esteira ergométrica.....	49
4.1.1. Frequência cardíaca .....	49

4.1.2.	Lactato .....	54
4.1.3.	Glicose .....	60
4.1.4.	Triglicérides .....	65
4.2.	Morfometria das fibras musculares.....	69
4.2.1.	Proporção do número de fibras musculares.....	69
4.2.2.	Área média de secção transversal .....	74
4.2.3.	Área total relativa .....	79
5.	CONCLUSÕES .....	82
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	83

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Médias da frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) mensuradas em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) e coeficiente de variação (CV).....	50
<b>Tabela 2.</b> Valores médios de frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) registrados antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensurados em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de condicionamento, Teste 2: 21 dias de condicionamento e Teste 3: 42 dias de condicionamento), coeficientes de variação (CV) e (n=13).....	51
<b>Tabela 3.</b> Valores médios de frequência cardíaca em batimentos por minutos (bpm) mensurados em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) ao final do exercício (Final) e aos 5, 30 e 60 minutos de recuperação do Teste 1 (7 dias de condicionamento) e do Teste 3 (42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação.....	54
<b>Tabela 4.</b> Médias da lactatemia (mmol/L) mensuradas em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) e coeficiente de variação (CV) .....	56
<b>Tabela 5.</b> Valores médios de lactatemia (mmol/L) obtidos antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensurados em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de condicionamento, Teste 2: 21 dias de condicionamento e Teste 3: 42 dias de condicionamento), coeficientes de variação (CV) e (n=13).....	57
<b>Tabela 6.</b> Valores médios de lactatemia (mmol/L) mensurados em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) ao final do exercício (Final) e aos 5, 30 e 60 minutos de recuperação do Teste 1 (7 dias de condicionamento) e do Teste 3 (42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação (CV).....	59

## LISTA DE TABELAS (Cont.)

- Tabela 7.** Médias da glicemia (mmol/L) mensuradas em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) e coeficiente de variação (CV)..... 61
- Tabela 8.** Valores médios de glicemia (mmol/L) obtidos antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensurados em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de condicionamento, Teste 2: 21 dias de condicionamento e Teste 3: 42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação (CV) e (n=13)..... 62
- Tabela 9.** Valores médios de glicemia (mmol/L) mensurados em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) ao final do exercício (Final) e aos 5, 30 e 60 minutos de recuperação do Teste 1 (7 dias de condicionamento) e do Teste 3 (42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação (CV)..... 65
- Tabela 10.** Médias da concentração sanguínea de triglicérides (mg/dL) mensuradas em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) e coeficiente de variação (CV)..... 66
- Tabela 11.** Valores médios da concentração sanguínea de triglicérides (mg/dL) obtidos antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensurados em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de condicionamento, Teste 2: 21 dias de condicionamento e Teste 3: 42 dias de condicionamento), coeficientes de variação (CV) e (n=13)..... 67
- Tabela 12.** Valores médios da concentração sanguínea de triglicérides (mg/dL) mensurados em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) ao final do exercício (Final) e aos 5, 30 e 60 minutos de recuperação do Teste 1 (7 dias de condicionamento) e do Teste 3 (42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação (CV)..... 69

---

## LISTA DE TABELAS (Cont.)

---

<b>Tabela 13.</b> Proporção do número de fibras musculares (%N) dos tipos I, IIA e IIX de potras da raça Mangalarga Marchador no início (7 dias de treinamento) e no final de 42 dias de condicionamento aeróbio, suplementadas com L-Carnitina ou Cromo ou sem suplementação (Controle).....	72
<b>Tabela 14.</b> Área média de secção transversal (AMST) em $\mu\text{m}^2$ de fibras musculares dos tipos I, IIA e IIX de potras da raça Mangalarga Marchador no início e ao final de 42 dias de condicionamento aeróbio, suplementadas com L-Carnitina ou Cromo ou sem suplementação (Controle).....	78
<b>Tabela 15.</b> Área total relativa (%ATR) de fibras musculares dos tipos I, IIA e IIX de potras da raça Mangalarga Marchador no início e ao final de 42 dias de condicionamento aeróbio, suplementadas com L-Carnitina ou Cromo ou sem suplementação (Controle).....	81

---

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Quadro 1.</b> Classificação e propriedades dos diferentes tipos de fibras musculares dos equinos segundo Rivero e Boffi (2006).....	30
<b>Quadro 2.</b> Escore de condição corporal de equinos proposto por Carrol & Huntington (1988).....	36
<b>Quadro 3.</b> Atividade da enzima mATPase histoquimicamente marcada, técnica histoquímica de nicotinamida adenina dinucleotídeo tetrazólio redutase (NADH-TR) e imunorreatividade da cadeia pesada de miosina para o músculo <i>Gluteus medius</i> de equinos da raça Mangalarga Marchador.....	45
<b>Quadro 4.</b> Adaptações musculares ocasionadas por diferentes programas de condicionamento físico de equinos (Adaptado de Rivero, 2007) .....	73
<b>Figura 1.</b> Determinação do limiar de lactato (LL) de potra da raça Mangalarga Marchador submetida ao Teste de esforço incremental em esteira ergométrica antes do período de condicionamento físico.....	39
<b>Figura 2.</b> Cortes seriados de fragmento do músculo <i>Gluteus medius</i> de potras da raça Mangalarga Marchador. A) Coloração da atividade da miosina ATPase. Fibra tipo I: azul escuro, tipo IIA: azul claro e tipo IIX: azul intermediário. B) imunohistoquímica para miosina de contração lenta. Fibras tipo I: dourado e tipo II: ausência de coloração. C) histoquímica para análise de NADH. Fibra tipo I: escura, fibra tipo IIA: intermediária e fibra tipo IIX: clara.....	45
<b>Figura 3.</b> Delimitação individual, numeração de células e classificação do subtipo das fibras musculares do <i>Gluteus medius</i> de potras da raça Mangalarga Marchador utilizando o programa Scion Image. Fibras musculares numeradas de 1 a 22 correspondem ao tipo IIA, de 23 a 38 correspondem ao tipo I e de 39 a 63 são do tipo IIX.....	46
<b>Figura 4.</b> Médias de frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensuradas em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de treinamento, Teste 2: 21 dias de treinamento e Teste 3: 42 dias de treinamento), respectivas curvas de regressões polinomiais quadráticas, suas equações e coeficientes de determinação....	51

---

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES (Cont.)

---

- Figura 5.** Médias das concentrações sanguíneas de lactato (mmol/L) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) obtidas em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de treinamento, Teste 2: 21 dias de treinamento e Teste 3: 42 dias de treinamento)..... 57
- Figura 6.** Médias das concentrações sanguíneas de glicose (mmol/L) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) obtidas em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de treinamento, Teste 2: 21 dias de treinamento e Teste 3: 42 dias de treinamento), curva de regressão polinomial quadrática do Teste 1, curva de regressão linear do Teste 3, suas respectivas equações e coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) corrigidos..... 64
- Figura 7.** Médias das concentrações séricas de triglicérides (mg/dL) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) obtidas em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de treinamento, Teste 2: 21 dias de treinamento e Teste 3: 42 dias de treinamento), curvas de regressões com suas respectivas equações e coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) corrigidos ..... 67
-

## LISTA DE ABREVIATURAS

%	porcentagem
%ATR	área total relativa
%N	proporção do número de fibras musculares
<	menor que
=	igual a
>	maior que
°C	grau Celsius
µm	micrômetro
µm <sup>2</sup>	micrômetro quadrado
µmol/L	micromol por litro
ABCCMM	Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Mangalarga Marchador
AcetilCoA	acetil coenzima A
AMST	área média de secção transversal
ATP	trifosfato de adenosina
ATPase	adenosina-trifosfatase
BH	Brasileiro de Hipismo
bpm	batimentos por minuto
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	centímetro
cm <sup>2</sup>	centímetro quadrado
CoA	coenzima A
Cr	cromo
DAB	diaminobenzidina
DMM	diâmetro menor médio
EM	efeito marginal
FC	frequência cardíaca
FCAV	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
g	grama
IgG	Imunoglobulina G
kg	quilograma
km/h	quilômetro por hora
LAFEQ	Laboratório de Farmacologia e Fisiologia do Exercício Equino

## LISTA DE ABREVIATURAS (Cont.)

LC	L-carnitina
LL	limiar de lactato
M	molar
m/s	metro por segundo
m <sup>2</sup>	metro quadrado
mg	miligrama
mg/dL	miligrama por decilitro
min	minuto
MJ	megajoule
mL	mililitro
MM	Mangalarga Marchador
mm	milímetro
mM	milimolar
mmol/L	milimol por litro
MyHC	cadeia pesada de miosina
PAP	peroxidase antiperoxidase
PC	peso corpóreo
pH	potencial hidrogeniônico
PSA	Puro Sangue Árabe
R <sup>2</sup>	coeficiente de determinação simples
rpm	rotações por minuto
SAEG	Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas
SP	São Paulo
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UNESP	Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
URA	umidade relativa do ar
VLa <sub>4</sub>	velocidade em que a concentração sanguínea de lactato é 4 mmol/L
Δ	variação

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivos avaliar o efeito da suplementação de cromo quelatado (Cr) ou de L-carnitina (LC) na aptidão física e na morfometria das fibras musculares de potras da raça Mangalarga Marchador. Treze potras foram distribuídas em três grupos: Cr (n=4; 10 mg/dia de cromo quelatado); LC (n=4; 10 g/dia de L-carnitina) e Controle (n=5; sem suplemento). Os animais foram exercitados em esteira ergométrica e caminhador automático em dias alternados, de terça a domingo, durante 42 dias. Nos dias 7 (Teste 1), 21 (Teste 2) e 42 (Teste 3) foram realizados testes de marcha em esteira ergométrica com 5 min de aquecimento (1,7 m/s) seguidos por 30 min de marcha (3,5 m/s e 3% de inclinação). Avaliou-se a frequência cardíaca (FC), a lactatemia (Lac), a glicemia (Gli) e a concentração sérica de triglicérides (Trigl) antes do exercício, a cada 5 minutos durante os três Testes de marcha e durante a recuperação dos Testes 1 e 3. Foram realizadas biópsias musculares do *Gluteus medius* na primeira e na sexta semanas de treinamento. As amostras foram submetidas à coloração histoquímica de mATPase e foram determinados a proporção do tipo de fibras por campo analisado (%N), o valor médio da área de secção transversal (AMST) e a área total relativa (%ATR) ocupada por cada tipo de fibra muscular. Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da suplementação de Cr ou de LC na FC, Lac, Gli ou Trigl durante os testes de marcha nem na etapa de recuperação. Com 21 dias de condicionamento (Teste 2), já houve redução ( $P<0,05$ ) da FC e da Lac mensuradas durante os Testes de marcha, mas não houve efeito do condicionamento ( $P>0,05$ ) nas fases de recuperação. Gli e Trigl não sofreram efeito do condicionamento ( $P>0,05$ ). Não foram observadas alterações ( $P>0,05$ ) na (%N) das fibras do tipo I, IIA e IIX. Após o condicionamento, o Cr e a LC aumentaram ( $P<0,05$ ) a AMST das fibras tipo I, enquanto a LC também provocou aumento ( $P<0,05$ ) da AMST das fibras do tipo IIA e o Cr provocou diminuição ( $P<0,05$ ) da AMST das fibras do tipo IIA. Houve aumento ( $P<0,05$ ) da %ATR das fibras do tipo I após o período de condicionamento. O condicionamento aeróbio combinado à suplementação de Cr ou de LC resulta em alterações morfométricas das fibras musculares aumentando suas propriedades metabólicas oxidativas, mas não altera o desempenho de potras da raça MM submetidas a testes de marcha em esteira ergométrica.

**Palavras chave:** aptidão física, biópsia muscular, equino, ergogênicos, nutrição

## ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the effect of dietary supplementation of chelated chromium (Cr) or L-carnitine (LC) on fitness and on morphometry of muscle fibers of Mangalarga Marchador fillies. Thirteen fillies were divided into three groups: Cr (n=4, 10 mg/day of chelated chromium); LC (n=4; 10 g/day of L-carnitine) and control (n=5; without supplementation). The animals were exercised on a treadmill and automatic walker on alternate days, from Tuesday to Sunday, during 42 days. In day 7 (Test 1) , 21 (Test 2) and 42 (Test 3) marcha tests were performed on a treadmill with 5 min warming (1.7 m/s) followed by 30 minutes of marcha gait (3.5 m/s and 3 % slope). We evaluated the heart rate (HR), blood lactate (Lac), blood glucose (Glu) and serum triglycerides (Trigl) before exercise, every 5 minutes during the three marcha tests and during the recovery of tests 1 and 3. *Gluteus medius* muscle biopsies were performed in the first and sixth weeks of conditioning program. The samples were subjected to histochemical mATPase staining and were determined the proportion of the type fibers per field examined (% N), the average of the cross-sectional area (ACSA) and the relative total area (RTA%) occupied by each type muscle fiber. There was no effect ( $P>0.05$ ) of Cr or LC supplementation at HR, Lac, Glu or Trigl during the tests or in the recovery stage. 21 days of conditioning program (Test 2) have decreased ( $P<0.05$ ) the HR and Lac measured during the marcha tests, but there was no effect of conditioning ( $P>0.05$ ) in the recovery stage. Glu and Trigl was not affected by conditioning program ( $P>0.05$ ). There was no changes ( $P>0.05$ ) in (% N) of fibers of type I, IIA and IIX . After conditioning, the Cr and LC increased ( $P<0.05$ ) the ACSA of type I fibers, while the LC also caused an increase ( $P<0.05$ ) in ACSA of type IIA fibers and Cr caused a reduction ( $P<0.05$ ) in ACSA of type IIA fibers. There was an increase ( $P<0.05$ ) in the RTA% of type I fibers after the conditioning period. The aerobic conditioning combined with Cr or LC supplementation results in morphological changes of muscle fibers by increasing their oxidative metabolic properties, but does not change the performance of the MM fillies subjected to marcha tests on a treadmill.

**Keywords:** ergogenics, equine, fitness, muscle biopsy, nutrition

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o quarto maior rebanho de equinos do mundo, com mais de 5,3 milhões de cabeças (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2012). A raça Mangalarga Marchador possui origem brasileira, tem mais de 200 anos de seleção e é a raça de equinos mais numerosa e importante do país. Em 2013, foram realizados 349 eventos nos diversos Estados do País com o julgamento de 23.875 animais. Em Janeiro de 2014, contabilizou-se 8.239 associados e 624.337 animais inscritos (Comunicação pessoal<sup>1</sup>). Esses números comprovam a grandeza da raça Mangalarga Marchador, que gera cerca de 43.000 empregos diretos e mobiliza 200.000 pessoas indiretamente (Santiago, 2013).

A principal característica da raça Mangalarga Marchador é seu andamento natural: a marcha. Nesse andamento, a dinâmica de movimentação a quatro tempos não permite a perda de contato com o solo. Já no trote, principal andamento natural da maioria das raças equinas, há momento de suspensão dos quatro membros entre a troca de apoio dos bípedes diagonais. A principal modalidade de competição da raça são os Concursos de Marcha, nos quais o animal percorre uma pista oval por 20 a 70 minutos na marcha, sem descanso e em velocidade constante média de 12 km/h (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALO MANGALARGA MARCHADOR, 2009). Essas características tornam os equinos da raça Mangalarga Marchador atletas singulares que devem ser visualizados de maneira particular, uma vez que seu andamento difere significativamente da movimentação das raças de trote e as demais modalidades equestres não possuem condições semelhantes às de um Concurso de Marcha.

Devido à importância nacional da raça Mangalarga Marchador, surge a necessidade de elaboração de estratégias nutricionais, de manejo e de treinamento, cientificamente comprovadas, capazes de melhorar o desempenho atlético desses animais nas provas de marcha. Dentre as estratégias nutricionais, as substâncias dietéticas ergogênicas são aquelas que melhoram o desempenho durante o exercício ao promover o aumento de velocidade, força ou resistência (Harris e Harris, 2005). O cromo e a L-carnitina são substâncias com potencial ergogênico para equinos atletas, pois podem atuar no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, o que pode aumentar a disponibilidade de energia para o exercício e postergar o início da fadiga. Apesar da suplementação de cromo para éguas da raça Mangalarga

---

<sup>1</sup> Comunicação pessoal da Associação Brasileira dos Criadores do Cavallo Mangalarga Marchador, Belo Horizonte (MG) em 21 de fevereiro de 2014.

Marchador ter resultado em menores valores de frequência cardíaca após a realização de testes de marcha a campo (Prates *et al.*, 2009; Jordão *et al.*, 2010), ainda há necessidade de confirmação dos efeitos dessa substância durante o exercício utilizando condições controladas de testes em esteira ergométrica. Por outro lado, ainda não há relatos na literatura dos benefícios da suplementação de L-carnitina para equinos atletas da raça Mangalarga Marchador.

A realização de biópsias musculares em equinos fornece informações sobre a composição estrutural e as características bioquímicas das fibras musculares. Essas informações podem ser utilizadas para acompanhar as alterações ocasionadas pelo desenvolvimento, nutrição, administração de nutracêuticos ou fármacos, para prescrever e monitorar programas de treinamento e também para realizar diagnóstico e prognóstico de doenças neuromusculares. Há relatos de utilização dessa técnica para descrever a composição muscular das raças nacionais Mangalarga Paulista (Roncati *et al.*, 2004) e Brasileiro de Hipismo (D'Angelis *et al.*, 2006), mas ainda não há descrição do uso dessa técnica em equinos da raça Mangalarga Marchador.

A realização do presente estudo foi motivada pela necessidade de comprovação dos benefícios da suplementação do cromo, pela carência de dados sobre a atuação da suplementação de L-carnitina e pela inexistência de descrição da técnica de biópsia muscular em equinos da raça Mangalarga Marchador. Dessa forma, esse estudo teve como objetivos avaliar o efeito da suplementação nutricional de cromo quelatado ou L-carnitina na aptidão física e na morfometria das fibras musculares de potras da raça Mangalarga Marchador durante o período de condicionamento físico aeróbio.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. A Raça Mangalarga Marchador, Concursos e Testes de Marcha**

A raça de equinos Mangalarga Marchador é responsável pelo maior e mais representativo rebanho equino do Brasil e o estado de Minas Gerais é o que apresenta o maior número de animais e criadores (Lima *et al.*, 2006). É uma raça brasileira de equinos de sela

com aproximadamente 200 anos de seleção. Originou-se na região Sul do estado de Minas Gerais por meio do cruzamento de animais Puro Sangue Lusitanos com éguas nativas da região (Casiuch, 1997). A Associação Brasileira dos Criadores do Cavallo Mangalarga Marchador (ABCCMM) foi fundada em 1949 e, atualmente, é a maior associação de raça equina da América Latina, detentora do maior número de associados e de animais inscritos (Lima *et al.*, 2006).

No ano de 2013, foram realizados 349 eventos oficializados pela ABCCMM nos diversos Estados do País, com o julgamento de 23.875 animais. Em Janeiro de 2014, contabilizou-se 8.239 associados, 54 núcleos de criadores no país e quatro núcleos no exterior (Argentina, Estados Unidos, Alemanha e Itália). Foram registrados 26.908 nascimentos e, atualmente, são 624.337 animais inscritos entre registro definitivo e provisório. De 2009 a 2013 foram comercializados 27.675 animais em 615 leilões chancelados pela ABCCMM (Comunicação pessoal<sup>2</sup>).

Essa raça destaca-se por sua beleza, docilidade, qualidades zootécnicas e versatilidade. Os animais da raça Mangalarga Marchador atendem ao tipo “sela internacional” e possuem porte médio, estrutura forte e bem proporcionada, expressão vigorosa e sadia, temperamento dócil e ativo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALLO MANGALARGA MARCHADOR, 2007). Seus exemplares conquistaram admiradores em todo país e no exterior, alcançando expressiva expansão nacional e internacional (Cabral *et al.*, 2004). Atualmente, animais dessa raça têm sido exportados para países como Bélgica, Holanda, Portugal, Israel, Canadá, Uruguai, Peru, Estados Unidos da América, Alemanha, Congo, Argentina, França, Áustria e Itália (Comunicação pessoal<sup>2</sup>).

A característica mais importante dos equinos da raça Mangalarga Marchador é seu andamento singular: a marcha, a qual é conceituada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALLO MANGALARGA MARCHADOR (2007) como um andamento marchado, natural, simétrico, de quatro tempos, com apoio alternado dos bípedes laterais e diagonais, intercalados por momentos de tríplice apoio. Esse andamento é de origem genética e resulta da coordenação neuromotora dos movimentos e também de medidas morfométricas adequadas ao desempenho dessa função (Pinto *et al.*, 2005).

A sequência de apoios característica da marcha ocorre em consequência da dissociação do avanço do bípede diagonal, permitindo que o animal permaneça constantemente em contato com o solo durante a locomoção. Essa dinâmica de movimentação

---

<sup>2</sup> Comunicação pessoal da Associação Brasileira dos Criadores do Cavallo Mangalarga Marchador, Belo Horizonte (MG) em 21 de fevereiro de 2014.

favorece a manutenção da estabilidade de seu tronco, o que proporciona maior comodidade ao cavaleiro (Rezende, 2006). Como consequência da comodidade, resistência e rusticidade, equinos da raça Mangalarga Marchador são frequentemente utilizados em diversas competições como provas de marcha, enduros, cavalgadas, provas funcionais e de maneabilidade.

O Concurso de Marcha é a principal prova da raça Mangalarga Marchador e, nessa prova, os animais desenvolvem um percurso em pista oval na marcha em velocidade constante e sem descanso. De acordo com a ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALO MANGALARGA MARCHADOR (2009), as provas de marcha oficiais da raça devem ser realizadas na velocidade média de 12 km/h (3,33 m/s) e ter duração máxima de 70 minutos, preservando-se o tempo mínimo de 20 minutos. Durante a prova, árbitros credenciados pela ABCCMM avaliam seis quesitos: gesto de marcha, comodidade, estilo, adestramento, rendimento e regularidade, e então classificam os animais de forma comparativa.

Prates *et al.* (2009) realizaram simulação do Concurso de Marcha e caracterizaram-no como exercício de intensidade submáxima ao considerar a frequência cardíaca dos animais, a qual não ultrapassou 187 batimentos por minuto (bpm) durante a prova. Wanderley *et al.* (2010) constataram que os animais da raça MM desempenharam típico esforço de baixa intensidade e média duração durante o Concurso de Marcha ao considerarem as baixas concentrações de lactato sanguíneo obtidas ao final do exercício (2,64 mmol/L). Apesar do desconhecimento da composição da fibra muscular de equinos da raça MM, Jordão *et al.* (2010) registraram concentração de lactato de 2,09 mmol/L após 50 minutos de simulação de Concurso de Marcha, o que pode indicar boa capacidade oxidativa das fibras musculares de equinos dessa raça. Segundo os autores, a baixa concentração de lactato pôde ser justificada pela intensidade do exercício, considerado submáximo, e, portanto, com predomínio da via oxidativa de produção de energia.

Um dos quesitos de avaliação da qualidade da marcha é a capacidade do animal em manter a regularidade durante toda a prova, locomovendo-se com passadas amplas, aliadas a fortes movimentos de impulsão, mantendo o tronco semirrígido, com movimento apenas da cintura pélvica e dos membros (Nascimento, 1999). Portanto, Concursos de Marcha exigem resistência e condicionamento físico adequados dos animais, o que pode ser adquirido com programas de treinamento e nutrição específicos para esta modalidade equestre.

Estudos com animais da raça Mangalarga Marchador têm utilizado simulações de Concurso de Marcha para avaliar o condicionamento físico dos animais. Esses testes de

marcha geralmente são realizados a campo, em pista oval e podem ter duração fixa de, por exemplo, 30 minutos (Wanderley *et al.*, 2010), 50 minutos (Prates *et al.*, 2009; Jordão *et al.*, 2010), ou ter duração limite determinada por respostas cardiovasculares e metabólicas como 150 bpm de frequência cardíaca e 4 mmol/L de lactatemia no trabalho de Abrantes *et al.* (2012) e de 200 bpm e 4 mmol/L no trabalho de Marelli e Freire (2013).

Ainda não há relatos de simulações de testes de marcha realizados em esteira ergométrica. Entretanto, Garcia *et al.* (2010) monitoraram a frequência cardíaca (FC) de éguas da raça Mangalarga Marchador durante sessões de treinamento em esteira ergométrica. Após o período de aquecimento, os animais executaram 30 minutos de marcha em velocidade que variou de 3,6 a 4,4 m/s entre os animais e correspondeu a 80% do “limiar anaeróbio”. A média de FC aos 10, 20 e 30 minutos de marcha foram, respectivamente, 165; 161 e 159 bpm e não diferiram entre si ( $P>0,05$ ), mas reduziram para 148; 145 e 142 bpm após 42 dias de treinamento ( $P<0,05$ ).

## 2.2. Suplementação nutricional de cromo

O cromo (Cr) é um micromineral envolvido no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas por potencializar a atividade de insulina (Mertz, 1993; Lukaski, 1999). Um dos benefícios propostos do modo de ação do Cr consiste na amplificação do mecanismo de sinalização da insulina por meio da ligação de quatro íons de Cr à cromodulina e posterior ligação dessa molécula ao receptor de insulina (Vincent, 2000). Também possui efeito no crescimento, resposta imune e interação com ácidos nucleicos (McDowell, 2003). Apesar dos potenciais benefícios da suplementação nutricional de cromo para equinos, até o presente momento não existem evidências da essencialidade deste micromineral e tampouco foi estabelecida a exigência nutricional de Cr para essa espécie (NUTRIENT..., 2007).

O Cr é apresentado em vários estados de oxidação e ocorre nas valências de -2 a +6, mas a forma trivalente é a mais estável e de maior predominância nos sistemas biológicos (McDowell, 2003). A biodisponibilidade desse micromineral geralmente é baixa, apresentando valores de 0,5% a 3% (Offenbacher *et al.*, 1986) e a taxa de absorção do Cr inorgânico parece ser inversamente proporcional à sua quantidade na dieta (Pechova e Pavlata, 2007). Entretanto, na forma de compostos orgânicos, como picolinato de cromo,

nicotinato de cromo, cromo-aminoácido, cromo-levedura e cromo quelatado, o cromo possui maior absorção. Segundo Anderson e Kozlovsky (1985), formas naturais, como cromo-levedura, podem atingir taxa de absorção de 10 a 25%.

Pesquisas sobre os benefícios da suplementação de Cr para equinos têm produzido resultados contrastantes. Potros de sobreano suplementados com tripicolinato de cromo apresentaram maior taxa de metabolização de glicose em resposta aos testes de tolerância à glicose e de sensibilidade à insulina. Também apresentaram menor concentração plasmática desse açúcar ao longo do dia, embora a suplementação de Cr não tenha atuado no crescimento ou no desenvolvimento dos animais (Ott e Kivipelto, 1999). Entretanto, a suplementação diária de 5 mg de tripicolinato de cromo para éguas sedentárias não provocou benefício em resposta aos testes de tolerância à glicose e sensibilidade à insulina. Além disso, não houve alteração das concentrações sanguíneas de glicose, insulina, ácidos graxos não esterificados e cortisol (Gentry *et al.*, 1999).

A estimulação do sistema imune pela suplementação de Cr foi manifestada como maior produção de imunoglobulinas, menores concentrações sanguíneas de cortisol e redução da morbidade de bezerros de corte (Chang e Mowat, 1992; Moonsie-Shageer e Mowat, 1993; Mowat *et al.*, 1993) e vacas leiteiras (Burron *et al.*, 1993). A suplementação diária de 5 mg de tripicolinato de cromo para éguas sedentárias resultou em maior proliferação de linfócitos ( $P < 0,09$ ) em resposta ao teste de *Pokeweed mitogen*, o qual avalia a resposta imunológica celular diante de um antígeno novo ao organismo equino. Porém, nenhuma resposta foi detectada ( $P > 0,10$ ) quando os linfócitos foram incubados com o vírus da influenza, o qual é um antígeno comum à espécie equina (Gentry *et al.*, 1999). Os autores sugeriram que a inconsistência da atuação da suplementação do cromo na resposta imune deveu-se à condição não estressante em que os animais encontravam-se, uma vez que trataram-se de éguas adultas sedentárias híbridas que receberam dieta de manutenção (Gentry *et al.*, 1999).

Tem sido sugerido que a suplementação de cromo reduz as concentrações sanguíneas de insulina e aumenta a metabolização da glicose em humanos diabéticos do Tipo 2 e em obesos, mas não tem benefícios no metabolismo da glicose em indivíduos saudáveis (Lukaski, 1999; Cefalu *et al.*, 2002). Estes resultados poderiam explicar a ausência de benefícios encontradas em trabalhos realizados com equinos saudáveis, entretanto, em estudo que avaliou a suplementação de 5 mg diárias de cromo durante 16 semanas para equinos obesos e com laminite, a concentração sanguínea de insulina em repouso e a sensibilidade à insulina dos animais suplementados foram semelhantes ao grupo controle (Chameroy *et al.*, 2011).

Estudos com humanos executando exercícios intensos mostraram que a excreção urinária de Cr aumentou e, por isso, o exercício regular pode esgotar os estoques de Cr (Anderson *et al.*, 1988; Volpe *et al.*, 2001). Além da compensação das perdas de Cr, a suplementação desse micromineral para atletas também tem como objetivo aumentar a massa muscular ao incrementar a captação de aminoácidos pelas células que os incorporam à proteína muscular. Isto ocorre pela via de potencialização dos efeitos da insulina (Volpe *et al.*, 2001).

Pagan *et al.* (1995) suplementaram equinos em exercício com levedura enriquecida com Cr na dose de 5 mg diárias durante 14 dias e encontraram concentrações sanguíneas menores de cortisol ( $P < 0,05$ ) e glicose ( $P < 0,05$ ) e maior de triglicérides ( $P < 0,05$ ) em resposta ao exercício de animais suplementados. Por outro lado, não houve efeito nas respostas de insulina ( $P < 0,10$ ), lactato ( $P = 0,08$ ), frequência cardíaca ou glicerol. Situações de estresse, doença (Mertz, 1993) e exercícios intensos (Anderson *et al.*, 1988; Volpe *et al.*, 2001) aumentam a excreção urinária de Cr e, segundo Pagan (1995), o estado do animal de deficiência ou não de Cr é um fator determinante para qualquer resposta à suplementação. Dessa forma, Pagan *et al.* (1995) sugeriram que o efeito da suplementação em algumas variáveis de seu experimento está relacionado ao fato de que os animais foram submetidos a um programa de condicionamento físico por muito tempo antes do período experimental, o que pode ter contribuído para o aumento da excreção urinária de Cr e sua consequente deficiência. Já no trabalho de Vervuet *et al.* (2006), realizado com suplementação diária de 4,15 ou 8,3 mg de Cr durante 21 dias para equinos em exercício, não houve nenhum benefício da suplementação tanto no metabolismo de glicose ou de insulina quanto nas variáveis de aptidão física avaliadas em repouso e em exercício. Nesse caso, a intensidade e a duração do período de condicionamento do experimento de Vervuet *et al.* (2006) pode não ter sido suficiente para provocar deficiência de Cr e, conseqüentemente, não houve resposta à suplementação desse mineral.

Em trabalhos realizados com equinos da raça Mangalarga Marchador em treinamento a campo para provas de marcha, a suplementação diária de 5 ou 10 mg de Cr quelatado por 24 dias apresentou efeito positivo na frequência cardíaca ( $P < 0,05$ ) obtida logo após o final de 50 minutos de testes de marcha (Prates *et al.*, 2009). A suplementação diária de 10 mg por 29 dias diminuiu a frequência cardíaca logo após o final de 50 minutos de teste de marcha e também proporcionou menor frequência cardíaca durante a recuperação após o exercício (Jordão *et al.*, 2010). Por outro lado, Rezende *et al.* (2014) avaliaram a bioquímica sérica e a leucometria dos animais utilizados por Prates *et al.* (2009) e não encontraram efeito da

suplementação de Cr nas concentrações plasmáticas de glicose e lactato, nas concentrações séricas de triglicérides, insulina e cortisol e na contagem de leucócitos totais. Esses resultados sugerem que a suplementação de Cr tem benefícios apenas no sistema cardiovascular (Prates *et al.*, 2009; Jordão *et al.*, 2010), mas não atua nas demais variáveis metabólicas (Prates *et al.*, 2009) de equinos em exercícios de intensidade submáxima como as provas de marcha.

### 2.3. Suplementação nutricional de L-carnitina

L-carnitina (LC) é uma amina quaternária hidrossolúvel que está naturalmente presente nos micro-organismos, plantas e animais. Nos animais, as maiores concentrações de carnitina são encontradas na musculatura cardíaca e esquelética (Bremer, 1983). É componente das enzimas carnitina-acil-transferase I, carnitina-acil-transferase II, as quais estão envolvidas no transporte de ácidos graxos de cadeia longa através da membrana mitocondrial (Nelson e Cox, 2011) e sugere-se que atua como reguladora da taxa de utilização de gordura durante o exercício. Também participa no tamponamento da concentração mitocondrial de acetilCoA (Alkonyi *et al.*, 1975; Louise Foster e Harris, 1987) e, por isso, pode estar envolvida na regulação da atividade da piruvato desidrogenase (Constantin-Teodosiu *et al.*, 1991). A síntese endógena de LC nos equinos é realizada principalmente no fígado utilizando metionina, lisina, vitaminas C, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub> e B<sub>9</sub> e o Fe<sup>2+</sup> (Zeiner e Harmeyer, 1999; Harmeyer, 2002).

Em animais jovens, inclusive em potros, a capacidade de biossíntese de LC é limitada e a principal fonte exógena dessa substância é o leite (Zeyner e Harmeyer, 1999). Éguas lactantes receberam suplementação de 20 g diárias de LC durante as duas semanas anteriores ao parto até o terceiro mês de lactação. Tanto nas éguas quanto em seus respectivos potros, houve redução da carnitina plasmática nos primeiros dias após o parto e essa situação foi revertida no grupo suplementado, mas o grupo controle permaneceu com a concentração plasmática reduzida durante os três meses de avaliação. A concentração de carnitina no leite diminuiu continuamente durante o período de monitoramento em ambos os grupos e não houve relação com a sua concentração no plasma. Houve tendência da concentração de LC no leite de éguas suplementadas ser maior que no grupo controle, embora não tenha sido significativo (Benamou e Harris, 1993). Sugeriu-se, então, que a suplementação de LC para

essas categorias pode promover benefícios ao crescimento e desenvolvimento de potros lactentes. Entretanto, até o momento não há relato de pesquisas com esse objetivo.

A absorção intestinal de LC pelo homem é baixa (Brass, 2000) e somente em ratos foi demonstrada sua incorporação nos tecidos (Negrao *et al.*, 1987). Em cavalos adultos da raça Puro Sangue Inglês, o fornecimento de 10 a 60 g diárias de LC por via oral durante 50 dias resultou em duplicação da concentração plasmática, embora a absorção total tenha sido baixa e os estoques musculares de carnitina total não tenham sofrido alterações (Louise Foster *et al.*, 1988). No trabalho de Niemeyer *et al.* (2005), após cinco semanas de suplementação diária de 10 g de LC, as concentrações de carnitina total e carnitina livre aumentaram ( $P < 0,05$ ) de  $< 20 \mu\text{mol/L}$  para  $> 45 \mu\text{mol/L}$  e de  $< 14 \mu\text{mol/L}$  para  $> 32 \mu\text{mol/L}$ , respectivamente. Entretanto, o grupo controle manteve as concentrações iniciais durante todo o período. Chrobok (2000) testou a mesma dose de suplementação de LC, e relatou que a concentração de carnitina no sangue aumentou 2,5 vezes (de 25 para  $60 \mu\text{mol/l}$ ) após quatro dias do início da suplementação e manteve-se elevada durante os quatro meses de fornecimento. Já a carnitina total muscular (M. *Gluteus medius*) aumentou cerca de 50% (de 3.180 para  $4.630 \text{ mmol/Kg MS}$ ) após quatro semanas de suplementação concomitante a exercício de treinamento e manteve-se estável durante três meses de suplementação sem exercício.

A variabilidade de carnitina total no tecido muscular e sua relação com o exercício e idade foram investigadas em equinos da raça Puro Sangue Inglês por Louise Foster e Harris (1992). Não foi observada perda detectável de carnitina total no músculo *Gluteus medius* associada a exercício intenso ( $P < 0,05$ ), mas houve tendência de maiores teores de carnitina total associados ao aumento da idade e do grau de treinamento. Entretanto, grande parte do aumento da carnitina nesses casos parece ter sido consequência das mudanças subjacentes na densidade mitocondrial, como foi indicado pelo aumento dos níveis de atividade da enzima citrato sintase.

A suplementação de LC tem sido investigada como possível promotora de benefícios aos obesos ao atuar na perda de peso e no aumento da sensibilidade à insulina. Em pôneis saudáveis, a suplementação diária de 4 g de LC por sete dias reduziu as concentrações glicêmicas e insulinêmicas pós-prandiais, o que indicou um aumento da tolerância à glicose. Por outro lado, animais suplementados apresentaram maior concentração de leptina pós-prandial. O aumento da leptina não foi precedido de aumento da concentração de insulina, o que sugere que outros fatores além da insulina podem interferir nas concentrações de leptina e a atuação da LC nesse sentido deve ser mais bem investigada (Van Weyenberg *et al.*, 2009). Em contraste, avaliou-se o efeito da suplementação de LC com dose diária de  $2,6 \text{ g/100 kg}$

PV durante 14 semanas para pôneis obesos, com resistência à insulina e submetidos a um programa de redução de peso que incluiu 45 minutos de exercícios diários de baixa intensidade por seis dias semanais. A dieta composta por 7 MJ/100 kg PC de energia proporcionou redução do peso corporal e aumentou a sensibilidade à insulina dos animais. Entretanto, a LC não teve benefício sobre essas variáveis e também não melhorou o metabolismo de gorduras e carboidratos (Schmengler *et al.*, 2013).

Em humanos, a suplementação de LC tem sido relacionada à melhora do desempenho atlético de humanos saudáveis por atuar no aumento da oxidação lipídica pelos músculos, melhorar a homeostase da glicose, melhorar a produção de acilcarnitina, modificar as respostas ao treinamento e aumentar a resistência à fadiga muscular (Brass, 2000).

Para equinos trotadores de 18 meses submetidos a treinamento pré-qualificatório, a suplementação diária de nove ou 12 g de LC não proporcionou efeitos benéficos na evolução do treinamento. Entretanto, comparando-se individualmente cada animal em relação à distância percorrida e o tempo, os equinos que receberam a dose mais alta de LC tiveram menores concentrações de lactato na recuperação e demoraram menor tempo para alcançarem os valores basais apenas nas fases finais da etapa de treinamento, quando os exercícios foram mais intensos. Os autores sugeriram, então, que a LC teve efeito favorável nos animais apenas após maior intensidade de condicionamento físico ser alcançada e durante exercícios mais intensos e mais prolongados (Falaschini e Trombetta, 2001).

A suplementação oral de 10 g de LC para equinos da raça *Standardbred* durante cinco semanas de treinamento proporcionou aumento da porcentagem de fibras musculares do tipo IIA ( $\Delta 35\%$ ,  $P < 0,05$ ), atrofia das fibras tipo I ( $\Delta 24\%$ ,  $P < 0,01$ ), aumento da relação capilar por fibra ( $\Delta 40\%$ ,  $P < 0,01$ ), aumento da densidade capilar ( $\Delta 35\%$ ,  $P < 0,01$ ) e aumento do estoque de glicogênio intracelular ( $\Delta 11\%$ ,  $P < 0,05$ ). Os autores concluíram que a suplementação contínua de LC combinada com exercícios de baixa e alta intensidades por cinco semanas teve efeito nas propriedades contráteis, morfológicas e metabólicas do músculo esquelético de equinos, mas somente a suplementação não teve benefício, uma vez que todas essas alterações foram revertidas após 5 semanas de suplementação sem exercício (Rivero *et al.*, 2002). Por outro lado, as alterações musculares provocadas pela suplementação de LC não foram capazes de melhorar o desempenho dos animais quando Niemeyer *et al.* (2005) avaliaram a frequência cardíaca e lactato sanguíneo durante o exercício submáximo e na recuperação dos mesmos equinos jovens da raça *Standardbred* utilizados no experimento de Rivero *et al.* (2002), o que sugere que a produção endógena de LC supriu as exigências durante e após o exercício.

Em trabalho semelhante, a suplementação diária de 10 g de LC combinada a treinamento físico durante cinco semanas para trotadores de 2 anos de idade proporcionou, durante o exercício, menor frequência cardíaca e redução de 22% da concentração de lactato. Além disso, houve redução das concentrações de glicose plasmática e ácidos graxos livres durante o exercício, o que foi justificado pelo autor como resultado do aumento das taxas de disponibilidade de glicose e de captação de ácidos graxos livres do plasma, ambas provavelmente indiretamente mediadas pela LC (Chrobok, 2000). Já em trabalho realizado por Iben *et al.* (1999), a suplementação de 5 g diárias de LC para equinos em treinamento para Concurso Completo de Equitação não alterou as concentrações de lactato, a frequência cardíaca e o tempo de execução do teste padronizado, apesar de ter ocorrido aumento tanto da carnitina livre quanto dos ésteres de carnitina plasmáticos.

## **2.4. Adaptações musculares ao exercício e ao treinamento**

A musculatura esquelética dos equinos é altamente desenvolvida e adaptada para potencializar a capacidade atlética do animal. Ao contrário da maioria dos mamíferos, em que 30 a 40% do peso corporal correspondem ao tecido muscular, em cavalos adultos essa porcentagem pode ultrapassar os 50% (Gunn, 1987). A habilidade do tecido muscular em executar com eficiência diferentes tipos de exercício depende da regulação nervosa e da combinação das características dos distintos tipos de fibras musculares, os quais possuem diferenças em propriedades morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (Rivero e Boffi, 2006).

Segundo Quiroz-Rothe e Rivero (2001), uma das formas de diferenciar os distintos tipos de fibras musculares é por meio da análise da composição das isoformas da cadeia pesada de miosina (MyHC). De acordo com Rivero *et al.* (1999), três isoformas de MyHC foram caracterizadas no músculo esquelético de equinos adultos em nível proteico: tipo I, IIA e IIX. A distribuição dessas isoformas definem os três tipos de fibras musculares simples que apresentam somente uma isoforma (tipo I, IIA e IIX) e dois tipos de fibras híbridas que apresentam duas isoformas (I+IIA e IIAX). Os estudos de Rivero *et al.* (1999) comprovaram que a isoforma IIB não é expressa em tecido muscular equino. Entretanto, antes dessa descoberta, utilizou-se a nomenclatura de fibras musculares tipo IIB para, na verdade, referir-se às fibras tipo IIX.

Rivero e Boffi (2006) descreveram que as fibras musculares tipo I possuem contração lenta, diâmetro reduzido, grande número de capilares, alta capacidade oxidativa e grande quantidade de conteúdo lipídico. No entanto, possuem baixa capacidade glicolítica e pouco glicogênio armazenado. Essas propriedades tornam as fibras tipo I altamente eficientes e econômicas na geração de movimentos lentos e repetitivos, assim como são responsáveis por manter a força isométrica por tempo prolongado, mas não possuem potência significativa. Já as fibras tipo IIX possuem velocidade de contração máxima 12 vezes maior que as de tipo I e três vezes maior que a das fibras tipo IIA. As fibras tipo IIX são adaptadas para gerar alta potência por curto tempo e têm como características alta capacidade glicolítica, grande diâmetro transversal, pouca capacidade oxidativa e pouca capilarização. As fibras tipo IIA são intermediárias, pois possuem considerável número de capilares e de mitocôndrias que permitem realizarem tanto metabolismo oxidativo quanto metabolismo glicolítico. Dessa forma, as fibras tipo IIA possuem velocidade de contração quatro vezes maior que as fibras tipo I e são capazes de gerar alta potência e mantê-la por maior tempo que as fibras tipo IIX (Quadro 1).

Quadro 1. Classificação e propriedades dos diferentes tipos de fibras musculares dos equinos segundo Rivero e Boffi (2006)

<b>Tipo</b>	<b>Contração</b>	<b>Diâmetro</b>	<b>Metabolismo</b>	<b>Função</b>	<b>Capilarização</b>	<b>Armazenamento</b>
<b>I</b>	Lenta	Pequeno	Oxidativo	Força isométrica Alta resistência	Alta	Lipídios
<b>IIA</b>	Rápida (4x tipo I)	Médio	Oxidativo e Glicolítico	Alta potência Médio tempo	Intermediária	Glicogênio e lipídios
<b>IIX</b>	Rápida (12x tipo I)	Grande	Glicolítico	Alta potência Curto tempo	Baixa	Glicogênio

Ainda de acordo com Rivero e Boffi (2006), o músculo esquelético equino tem considerável potencial para adaptar-se ao treinamento. O exercício induz alterações na regulação e transcrição de genes específicos que provocam modificações na quantidade de proteínas de uma determinada isoforma de MyHC nas fibras musculares. Dependendo da natureza do estímulo, ou seja, do tipo, frequência, intensidade e duração do exercício, a resposta adaptativa do tecido muscular pode resultar em hipertrofia, remodelação sem

hipertrofia ou resposta mista. A hipertrofia consiste em aumento do tamanho das fibras sem alteração das propriedades fisiológicas e bioquímicas. Já a remodelação sem hipertrofia ocorre quando as fibras musculares não aumentam de diâmetro, mas sofrem alterações estruturais e fisiológicas que geralmente são acompanhadas de alteração na capilarização. Esses autores enfatizaram que uma resposta mista é quando ocorre uma combinação de alterações hipertrófica e de remodelação.

A composição dos tipos e o tamanho das fibras musculares foram comparados entre equinos bem sucedidos e mal sucedidos em corridas de enduro equestre por Rivero *et al.* (1993). Os autores relataram que houve diferença entre os grupos de equinos em ambas as propriedades musculares avaliadas. Os equinos de excelente desempenho na atividade de enduro apresentaram maior porcentagem e maior tamanho das fibras tipo I e tipo IIA e menor porcentagem das fibras tipo IIB (IIX) incluindo os tipos IIB oxidativo (IIAX) e IIB não oxidativo (IIX). Esses resultados demonstraram que os cavalos de enduro com melhores resultados de desempenho atlético possuem grande capacidade aeróbia e, proporcionalmente, menor capacidade anaeróbia no músculo *Gluteus medius* em relação aos cavalos com baixo desempenho.

Grupos musculares diferentes respondem de maneira distinta à execução de um mesmo exercício. Gottlieb *et al.* (1989) demonstraram que rápidas alterações musculares são induzidas no músculo *Gluteus medius* quando equinos são treinados tracionando carga de leve resistência em velocidade submáxima de trote. Equinos trotadores da raça *Standardbred* foram treinados em esteira ergométrica com exercícios intervalados de tração de carga (34 quilograma-força de carga na velocidade de 7 m/s) três vezes semanais por 12 semanas, e foram realizadas biópsias musculares do *Gluteus medius*, *Longissimus* e *Brachiocephalicus* antes e após treinamento. No músculo *Gluteus medius*, ocorreu aumento da porcentagem e da área das fibras do tipo IIA e redução da porcentagem das fibras tipo IIB (IIX) nas primeiras duas semanas de treinamento, mas não ocorreram mais alterações até a última avaliação (12 semanas). No músculo *Brachiocephalicus*, houve aumento da porcentagem de fibras tipo I, mas no músculo *Longissimus* ocorreu aumento de área das fibras tipo IIB (IIX). Em relação à atividade enzimática, houve aumento da atividade da citrate sintase somente no músculo *Gluteus medius* e não ocorreram alterações da atividade das enzimas 3-hidroxi-acil-CoA desidrogenase e lactato desidrogenase nos músculos avaliados durante todo o período de treinamento (Gottlieb *et al.*, 1989).

A distribuição dos tipos de fibras musculares difere entre as raças equinas. Segundo Snow e Guy (1980), equinos da raça Quarto de Milha, os quais participam de corridas a curtas

distâncias (400 m), apresentaram 90 a 95% de fibras tipo II, já os animais da raça Puro Sangue Inglês, os quais participam de corridas de 1.000 a 3.000 m, apresentaram 85 a 90% de fibras tipo II. Essén-Gustavsson *et al.* (1980) e Essén-Gustavsson e Lindholm (1985) relataram que os equinos da raça *Standardbred*, os quais percorrem distâncias de 1.600 a 2.600 ao passo ou ao trote em altas velocidades, apresentaram 75 a 85% de fibras tipo II em sua composição muscular. Já Rivero *et al.* (1990) e Rivero *et al.* (1993) descreveram que raças de equinos selecionadas para resistência, como a Andaluz e a Árabe, apresentaram 70% de fibras tipo II na composição muscular. D'Angelis *et al.* (2006) pesquisaram a composição das fibras musculares do *Gluteus medius* de cavalos da raça Brasileiro de Hipismo e relataram maior frequência de fibras tipo IIX, seguidas das fibras tipo IIA e, por último, as fibras tipo I. Os autores sugeririam que o predomínio do metabolismo glicolítico com alta capacidade anaeróbia indicada pela composição muscular desses animais parece ser decorrente da grande influência genética da raça Puro Sangue Inglês na formação da raça Brasileiro de Hipismo. De acordo com De Castro *et al.* (2004), a distribuição média das fibras musculares do *Gluteus medius* de equinos da raça Crioulo foi de 54,37% de fibras tipo IIB (IIX), 31,63% de fibras tipo IIA, 13,83% de fibras tipo I, e 0,17% de fibras tipo C (I + IIA).

Snow e Guy (1980) compararam a composição muscular de diferentes raças de equinos e relataram que os equinos da raça Quarto de Milha possuem maior proporção de fibras musculares do tipo II do que os animais da raça Puro Sangue Árabe (PSA), o que condiz com a seleção para exercícios de velocidade da raça Quarto de Milha e exercícios de resistência executados pelos equinos PSA. De acordo com Rivero *et al.* (1989) e Rivero *et al.* (1991) a proporção média das fibras do tipo II (glicolíticas e de contração rápida) é menor nos cavalos das raças American Trotter, Árabe e Andaluz comparado aos animais da raça Puro Sangue Inglês. Em cavalos especializados em enduro equestre, Rivero *et al.* (1991), demonstraram uma composição de aproximadamente 30% de fibras tipo I, e 40 a 50% de fibras tipo IIA. Há tendência de maior proporção de fibras tipo IIA e IIX nas raças selecionadas para alta velocidade em curto tempo, entretanto, ocorre maior proporção de fibras tipo IIA e I nas raças que desempenham exercícios de resistência.

Além da diferença na composição das fibras musculares, a resposta muscular ao treinamento não é idêntica em cavalos adultos de diferentes raças. Rivero *et al.* (1995) averiguaram o efeito de três meses de treinamento de resistência na morfologia muscular de três diferentes raças de equinos: Andaluz, Árabe e Anglo-Árabe. Amostras superficiais (20 mm) e profundas (60 mm) de biópsias musculares do *Gluteus medius* foram coletadas antes, após o treinamento e depois de três meses de inatividade. Após o treinamento, observaram

aumento ( $P < 0,05$ ) de porcentagem das fibras tipo I da região profunda do músculo dos equinos Andaluzes e aumento das fibras tipo IIB oxidativas (IIAX) na região superficial do músculo dos Anglo-Árabes. Ainda após o treinamento, houve aumento (entre  $P < 0,05$  e  $P < 0,01$ ) da área de secção transversal das fibras tipo I e IIA na musculatura dos equinos Árabes e Andaluzes, mas não nos Anglo-Árabes. Todas as alterações nos tamanhos das fibras desapareceram após o período de inatividade de três meses.

O treinamento de resistência induziu aumento na expressão de MyHC I e MyHC IIA e diminuição na expressão de MyHC IIX dos equinos (Rivero *et al.*, 1997; 2000). Exercícios de longa distância e duração em baixa intensidade resultaram em aumento na concentração das fibras lentas oxidativas do tipo I e das fibras rápidas oxidativas e glicolíticas do tipo IIA, já as fibras rápidas glicolíticas do tipo IIX diminuíram (Rivero *et al.*, 1993; 2000). Em cavalos especializados em enduro equestre, seis meses de treinamento foram suficientes para alterar significativamente a proporção de fibras tipo IIA em relação às fibras tipo IIX (Rivero *et al.*, 1991). Já Gottlieb e Vedi (1988) relataram que o treinamento intenso de cavalos adultos de corrida durante duas semanas alterou a proporção das fibras musculares e a área de secção transversal das fibras. A proporção de fibras tipo IIA aumentou e a de fibras tipo IIX diminuiu, entretanto, as fibras tipo I permanecem inalteradas após o treinamento de duas semanas. Já Rivero *et al.* (1995) verificaram que três meses de treinamento de resistência resultou em aumento da área de secção transversal das fibras tipo I e IIA na musculatura dos equinos.

Rivero *et al.* (2007) pesquisaram os efeitos da intensidade e duração do exercício nas respostas musculares ao treinamento de cavalos de corrida da raça Puro Sangue Inglês. Seis equinos jovens de 2 a 3 anos pré-treinados por 2 meses, foram submetidos a seis diferentes programas de treinamento combinando-se duas intensidades (velocidade em que o lactato sanguíneo foi 2,5 mmol/L e 4 mmol/L) com três diferentes durações (5, 15 e 25 minutos) em esquema de quadrado latino 6 X 6 com 10 dias de intervalo entre os programas. Tanto a intensidade quanto a duração do exercício foram fatores críticos na determinação da natureza e intensidade das respostas adaptativas ao treinamento de curto prazo (três semanas). As conversões do tipo de fibra muscular e de composição de MyHC, assim como a resposta hipertrófica das miofibrilas induzidas pelo treinamento foram mais dependentes da intensidade do que da duração do exercício. Por outro lado, a duração teve maior influência que a intensidade do exercício na magnitude das respostas musculares de aumento da capacidade oxidativa e da capilarização.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

Os procedimentos experimentais realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – UFMG) de acordo com os protocolos nº 13/2013 e nº 237/2012.

#### **3.1. Data, local e etapas experimentais**

O presente estudo foi conduzido em três etapas. A etapa I consistiu em período de adaptação dos animais à dieta, manejo e instalações; a etapa II consistiu em execução dos testes de desempenho, suplementação e treinamento dos animais; e na etapa III foram realizadas as análises laboratoriais.

As etapas I e II e parte da etapa III foram conduzida no período de 25 de junho a 31 de outubro de 2013 no Laboratório de Farmacologia e Fisiologia do Exercício Equino (LAFEQ), localizado no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) do Campus de Jaboticabal/ SP.

A avaliação morfométrica das fibras musculares foi conduzida no período de 30 de setembro a 21 de dezembro de 2013 no Laboratório de Biopatologia Muscular do Departamento de Anatomia, na Universidade de Córdoba, Espanha.

#### **3.2. Caracterização dos animais, instalações e dieta**

Foram utilizados treze equinos da raça Mangalarga Marchador, fêmeas, entre 2,5 e 3 anos de idade, com peso corporal inicial de  $330 \pm 30$  Kg e estreados em programas de condicionamento físico.

Os animais foram alojados em um piquete de 7.200 m<sup>2</sup> formado por capim *Panicum maximum* cv. Massai localizado no setor de Equinocultura da FCAV – Unesp Jaboticabal. Foram utilizadas as unidades de serviço do mesmo setor para fornecimento de alimento

concentrado aos animais de forma individualizada. Diariamente, os animais foram conduzidos pelo cabresto, ao passo, do setor de Equideocultura até o LAFEQ para a realização dos exercícios diários de condicionamento físico. No mesmo local, permaneceram em piquete de 6.000 m<sup>2</sup> anexo ao galpão da esteira ergométrica e receberam feno de Tifton 85 (*Cynodon spp.*) *ad libitum* durante o período de espera para realização dos exercícios.

A formulação da dieta foi baseada nas exigências para equinos em crescimento segundo o NUTRIENT... (2007) com consumo diário de 2,5% do peso corpóreo (PC) na base da matéria seca. A dieta foi composta por pastejo de *Panicum maximum* cv. Massai, feno de Tifton 85 (*Cynodon spp.*), concentrado<sup>3</sup> produzido exclusivamente para os animais do experimento na Fábrica de Rações da FCAV - Unesp Jaboticabal, 40 mL de óleo de soja, sal mineral<sup>4</sup> e água, sendo os dois últimos fornecidos *ad libitum*. O concentrado e o óleo de soja foram fracionados em dois fornecimentos diários, sendo o primeiro fornecimento as 6h00 e o segundo as 18h00.

A proporção entre concentrado e volumoso variou de 40:60 a 60:40, dependendo da condição corporal dos animais avaliada semanalmente por escore de 0 a 5 segundo Carrol e Huntington (1988) e pesagem em balança para grandes animais<sup>5</sup>. Forneceu-se 60% de concentrado para animais com escore menor que três, 50% de concentrado foram fornecidos para animais com escore entre três e quarto e 40% de concentrado foram fornecidos aos animais com escore maior ou igual a quatro. A descrição das características referentes a cada escore estão descritas no Quadro 2.

Os trezes animais foram distribuídos em três grupos de suplementação nutricional: o primeiro grupo foi composto por quatro animais que receberam 10 g/dia de L-Carnitina, o segundo grupo foi composto por quatro animais que receberam 10 mg/dia de Cromo quelatado e o terceiro grupo foi composto por 5 animais que não receberam aditivos nutricionais (grupo controle). A suplementação de L-carnitina foi realizada por meio da adição do suplemento em pó diluído em água junto a uma pequena porção do concentrado fornecido pela manhã. As cápsulas de cromo quelatado foram primeiramente adicionadas a uma pequena porção do concentrado pela manhã e o restante do concentrado foi fornecido logo após a ingestão voluntária da cápsula.

---

<sup>3</sup> 68% de Milho, 12% de Farelo de Soja; 15% de Farelo de Trigo; 3% de Calcário Calcítico; 1% de Fosfato Bicálcico e 1% de Sal Mineral Coequi Plus

<sup>4</sup> Coequi Plus - Tortuga Companhia Zootécnica Agrária

<sup>5</sup> MGR-3000 Junior – Toledo do Brasil Indústria de Balanças LTDA, São Paulo, Brazil

Quadro 2. Escore de condição corporal de equinos proposto por Carrol &amp; Huntington (1988)

<b>Escore</b>	<b>Pescoço</b>	<b>Dorso e costela</b>	<b>Garupa</b>
0 Muito magro	Muito fino; Bambo na base	Pele apertada sobre as costelas; Processos espinhosos facilmente visíveis e palpáveis.	Pelve angular; Pele presa sobre a garupa; Profunda cavidade na inserção da cauda e ao lado da garupa.
1 Magro	Fino; Bambo na base.	Costelas facilmente visíveis; Processos espinhosos bem visíveis; Pele apertada ao lado do dorso-lombo.	Nádegas atrofiadas, mas com pele flexível; Pelve bem definida; Pequena depressão na inserção da cauda.
2 Moderado	Fino, mas firme.	Costelas visíveis; Processos espinhosos palpáveis; Dorso-lombo bem coberto.	Garupa bem definida, com alguma cobertura de gordura e plana na inserção do lombo. Pequena depressão na inserção da cauda.
3 Bom	Borda superior reta sem nenhum acúmulo de gordura. Firme.	Costelas bem cobertas, mas facilmente palpáveis; Nenhum sulco sobre o dorso-lombo; Processos espinhosos cobertos, mas podem ser palpados.	Garupa coberta por gordura e arredondada; Pélvis facilmente palpável.
4 Gordo	Pescoço levemente rodado.	Costelas bem cobertas, mas palpáveis somente por forte pressão; Leve sulco sobre dorso-lombo.	Acúmulo de gordura na inserção da cauda; Pélvis coberta e não palpável.
5 Muito gordo	Pescoço rodado.	Costelas cobertas e não palpáveis nem por forte pressão; Sulco profundo sobre o dorso-lombo.	Acúmulo de gordura na inserção da cauda; Pélvis coberta e não palpável; Pele distendida.

Fonte: Adaptado de Carrol e Huntington (1988)

### 3.3. Período de adaptação

A adaptação dos animais ao manejo, dieta e instalações ocorreu entre 26 de junho e 29 de julho de 2013, totalizando 34 dias.

Os primeiros dez dias do período de adaptação foram destinados ao fornecimento progressivo de concentrado comercial, além de rasqueamento e cabrestamento individualizados, uma vez que os animais não haviam sido submetidos ao processo de doma. Alguns animais estavam muito ariscos e precisaram de maior tempo de manipulação para aprender a responder aos comandos de cabresto e se locomoverem junto ao condutor de maneira adequada. Também foram realizadas sessões de “doma racional” em um redondel.

Do 11º ao 13º dia, os animais foram adaptados ao caminhador automático para equinos executando 10 minutos de exercícios diários na velocidade de 2 m/s. As potras de

temperamento mais calmo foram utilizadas como “professoras” e posicionadas à frente no caminhador automático circular para que as demais potras ariscas pudessem enxergar a trajetória e o comportamento das “professoras” e se acalmarem.

Do 14º ao 34º dia foi realizada a adaptação dos animais à esteira ergométrica, à cilha de segurança e ao frequencímetro cardíaco. Esse período iniciou-se com a entrada dos animais no galpão da esteira ergométrica sem funcionamento e continuou-se com práticas em dias alternados, executando-se os andamentos passo, marcha e galope de forma gradual e progressiva. Essas práticas duraram 3 minutos diários para cada animal e um novo andamento foi adicionado a cada sessão quando ocorreu êxito na sessão anterior. Durante esse estágio, o manejo de arraçoamento, rasqueamento e cabrestamento também foi realizado. O período de adaptação iniciou-se com 15 potras, porém uma delas foi eliminada do experimento por não conseguir realizar o galope na esteira ergométrica e a segunda foi eliminada por relutar em entrar na esteira e acionar o cinto de segurança em todas as sessões ao parar de acompanhar a velocidade. Dessa forma, apenas 13 animais completaram o período de adaptação e foram então submetidas ao restante da etapa experimental.

Os animais também foram submetidos a procedimentos de preparação pré-experimental durante o estágio de adaptação, tais como vermifugação no 7º dia<sup>6</sup>, avaliação odontológica no 17º dia e casqueamento no 20º dia.

### **3.4. Teste de esforço incremental em esteira ergométrica**

Ao final do período de adaptação, cada animal foi submetido a um teste de esforço incremental em esteira ergométrica a fim de estabelecer o limiar de lactato (LL) individual. O LL foi utilizado para determinar a velocidade do exercício em esteira ergométrica durante o período de condicionamento.

O protocolo do teste foi adaptado de Rezende *et al.*, (2012) e de Garcia *et al.* (2013) e consistiu em uma fase inicial de aquecimento de 10 minutos, sendo 5 minutos na velocidade de 1,7 m/s e 5 minutos na velocidade de 3,5 m/s, sem inclinação da esteira. Após o aquecimento, a esteira foi elevada à inclinação de 3% na velocidade de 4 m/s e iniciou-se a fase de velocidade progressiva em que a velocidade foi aumentada em 1 m/s a cada três

---

<sup>6</sup> 1,2% de ivermectina e 15% de praziquantel, Equimax® - Virbac Saúde Animal

minutos. O teste foi mantido até que os animais chegaram à fadiga, a qual foi identificada pela incapacidade do equino de acompanhar a velocidade da esteira mesmo sob estímulos para continuar (Rose e Hodgson, 1994). O desaquecimento teve duração de 10 minutos, sendo 5 minutos na marcha e 5 minutos no passo, mantendo as mesmas velocidades do aquecimento e sem inclinação da esteira.

Por meio de sistema cateter<sup>7</sup> e tubo extensor<sup>8</sup> inserido na veia jugular externa, coletou-se 20 mL de sangue do animal antes do exercício e nos 30 segundos finais de cada etapa. As amostras sanguíneas foram imediatamente transferidas para tubos de coleta com fluoreto de sódio para análise de lactato. Durante todo o teste, a frequência cardíaca foi monitorada utilizando-se frequencímetro cardíaco<sup>9</sup> adaptado para uso em equinos.

Foi realizada determinação da lactatemia utilizando lactímetro de bancada<sup>10</sup> em no máximo 6 horas após a coleta das amostras. Os dados de concentração de lactato do sangue total de cada velocidade da etapa progressiva foram utilizados para compor gráficos utilizando o programa *Microsoft Office Excel 2010*. Três avaliadores, sem se comunicarem, estabeleceram o limiar de lactato de cada animal (Figura 1), caracterizado pelo ponto de deflexão da curva do gráfico (Ferraz *et al.*, 2008). O LL utilizado para elaboração do protocolo de condicionamento físico consistiu na média dos valores informados pelos três avaliadores.

---

<sup>7</sup> BD Insyte™ 14 G

<sup>8</sup> Tubo extensor adulto 60 cm c/ Luer Lock – Embramed®

<sup>9</sup> Polar® RS400

<sup>10</sup> YSI 2300-Lactate Analyzer, YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, USA

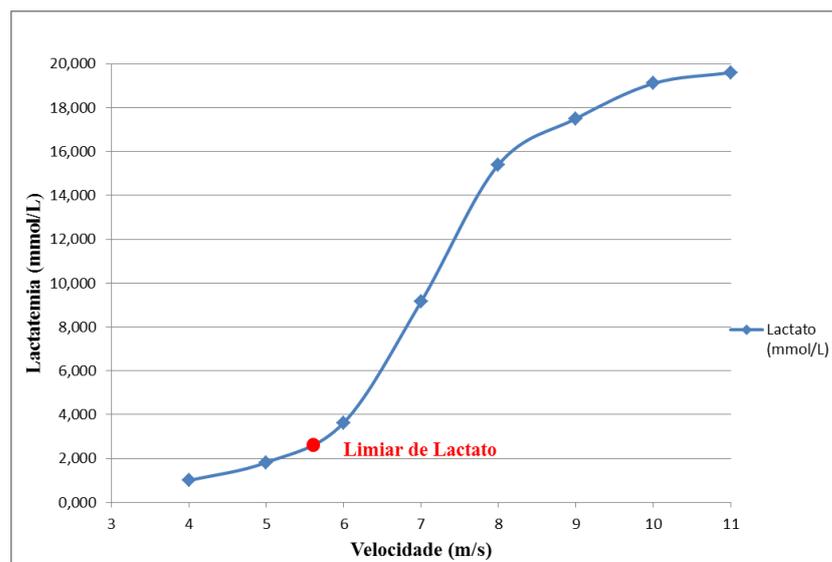


Figura 1. Determinação do limiar de lactato (LL) de potra da raça Mangalarga Marchador submetida ao Teste de esforço incremental em esteira ergométrica antes do período de condicionamento físico

### 3.5. Programa de condicionamento físico

O condicionamento físico foi realizado durante seis semanas, seis dias por semana com descanso às segundas-feiras, utilizando esteira ergométrica<sup>11</sup> e caminhador automático para equinos<sup>12</sup> em dias alternados.

O exercício em esteira ergométrica consistiu em 5 minutos de aquecimento ao passo (1,7 m/s) e sem inclinação da esteira, seguido por 30 minutos de exercício com 3% de inclinação da esteira em velocidade de 70% do LL nas primeiras duas semanas e 75 % do LL na terceira e na quarta semana. A recuperação foi realizada em 5 minutos ao passo (1,7 m/s) sem inclinação da esteira.

Ao final da quarta semana, os animais apresentaram alterações comportamentais e relutância em entrar no galpão da esteira. Dessa forma, para o treinamento da quinta e da sexta semana, optou-se por redução do tempo do exercício na esteira ergométrica e sua dinamização por meio de alternância de velocidades. Também foram oferecidas aproximadamente 150 gramas de concentrado ao final do exercício como reforço positivo. O

<sup>11</sup> Galloper Sahinco LTDA, Palmital, São Paulo, Brazil

<sup>12</sup> Sahinco LTDA, Palmital, São Paulo, Brazil

novo protocolo consistiu em 5 minutos de aquecimento ao passo (1,7 m/s) e sem inclinação da esteira, seguido por etapa de exercício intervalado com 3% de inclinação com duração de 20 minutos, dos quais 4 minutos foram realizados em velocidade de 70% do LL, 4 minutos em velocidade de 75 % do LL, 4 minutos em 80% LL, 4 minutos em 75% do LL e 4 minutos em 70% do LL. A recuperação foi realizada em 5 minutos ao passo (1,7 m/s) sem inclinação.

O treino em caminhador automático para equinos foi realizado em dias alternados ao exercício na esteira ergométrica e consistiu em 60 minutos de passo na velocidade de 2 m/s, invertendo o sentido de rotação a cada 10 minutos.

### **3.6. Teste de marcha em esteira ergométrica**

Ao final da primeira, da terceira e da sexta semana de treinamento, foram realizados testes de marcha em esteira ergométrica. O primeiro e o último teste consistiram em 5 minutos de aquecimento ao passo a 1,7 m/s sem inclinação da esteira, seguidos por 30 minutos de marcha a 3,5 m/s com 3% de inclinação, finalizando com 5 minutos de recuperação ao passo a 1,7 m/s sem inclinação, totalizando 40 minutos de teste. No segundo teste realizado ao final da terceira semana de treinamento, optou-se por executar a etapa de marcha durante 70 minutos a 3,5 m/s e 3% de inclinação para simular a duração máxima de um Concurso de Marcha de acordo com as normas da ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALO MANGALARGA MARCHADOR (2009). Com os períodos de aquecimento, marcha e recuperação, o Teste 2 teve duração total de 80 minutos.

Amostras sanguíneas foram obtidas por meio de sistema cateter e tubo extensor inserido na veia jugular externa e coletadas nos momentos: antes do exercício; final do aquecimento; a cada 5 minutos do período de marcha; final do exercício; 5 min, 30 min e 1h após o fim do exercício. O sangue foi armazenado em tubos de coleta com fluoreto de sódio para determinação de glicose e lactato e em tubos sem anticoagulante para obtenção de soro para posterior análise de triglicérides. Durante todo o teste, a frequência cardíaca foi monitorada utilizando-se frequencímetro cardíaco adaptado para uso em equinos.

### 3.7. Análises Laboratoriais dos Testes de Marcha

Nos testes de marcha em esteira ergométrica, a determinação das concentrações sanguíneas de lactato e glicose (mmol/L) foi realizada em até 6 horas após a coleta das amostras utilizando lactímetro de bancada.

As amostras sanguíneas em tubos sem anticoagulantes foram centrifugadas por 10 minutos a 4.000 rpm para obtenção do soro, o qual foi armazenado em tubos tipo *ependorf* e congelado a - 20° C.

Foi realizada análise de concentração de triglicérides (mg/dL) nas amostras de soro por sistema enzimático de reação de tempo final<sup>13</sup> utilizando-se aparelho analisador semiautomático de bioquímica<sup>14</sup>.

### 3.8. Biópsias musculares

Foram realizadas duas biópsias musculares do *Gluteus medius* de cada animal, uma ao final da primeira semana e outra ao final da sexta semana de treinamento. Todas as biópsias foram executadas por apenas uma pessoa, a qual possui experiência na realização da técnica. A metodologia de coleta foi adaptada de Lindholm e Piehl (1974) e realizada da seguinte forma: traçou-se uma linha imaginária desde a tuberosidade coxal do ílio até a base da cauda do animal e localizou-se o ponto de realização da biópsia a um terço dessa linha, aproximadamente a 15 cm da tuberosidade coxal do ílio. Neste ponto, foi tricotomizada uma área de 25 cm<sup>2</sup> e posteriormente realizou-se antissepsia do local com iodopovidine degermante<sup>15</sup> e uma gaze embebida em álcool iodado. Aplicou-se 2 mL de lidocaína a 2% sem vasoconstritor via subcutânea para anestesia local. Após sete minutos, foi realizada incisão da pele, tecido subcutâneo e fáscia glútea com uma lâmina de bisturi nº 22. Inseriu-se a agulha tipo Bergström com 6 mm de diâmetro externo no local da incisão e, após aprofundar 60 mm da agulha no músculo, colheu-se fragmento muscular (Lindholm e Piehl, 1974). O

---

<sup>13</sup> Triglicérides Liquiform – Labtest Diagnóstica S.A. Lote: 3002. Validade: 31/07/2014

<sup>14</sup> Labquest Bio 2000, nº 4048, Bio Plus®

<sup>15</sup> Asteriodine, ASTER, São Paulo, Brazil

fragmento foi imerso em hexano<sup>16</sup> resfriado em nitrogênio líquido por 60 segundos, posteriormente transferido para tubo criogênico de 1,5 mL com rosca e congelado em nitrogênio líquido a -196 °C. Posteriormente, as amostras foram retiradas do nitrogênio líquido e estocadas em freezer a -80 °C até serem analisadas no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da FCAV, UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

### 3.9. Análise histoquímica das fibras musculares

A análise histoquímica foi utilizada para identificação ou distinção das fibras oxidativas, oxidativas-glicolíticas e glicolíticas. A técnica histoquímica foi realizada segundo D'Angelis *et al.* (2005) e consistiu em uma adaptação do método de coloração metacromática da atividade da ATPase em miofibras, descrito por Olgivie e Feeback (1990), na qual utilizou-se alguns passos de Guth e Samaha (1970) e Ennion *et al.* (1995), como segue: três secções semi-seriadas transversais, de 12 µm de espessura, das amostras do músculo *Gluteus medius* das fibras musculares foram realizadas em criostato<sup>17</sup> à -25 °C. Após o seccionamento, os cortes foram mantidos à temperatura ambiente, durante 30 a 40 minutos, para secagem e aderência à lâmina histológica. Posteriormente, eles foram fixados por 6 minutos à temperatura ambiente (18 a 20 °C e umidade relativa do ar (URA) menor que 55%) em formalina tamponada 5% pH<sup>18</sup> 7,2 contendo 0,17 M de cloreto de sódio, 336 mM de sacarose e 0,13M de cacodilato de sódio (Guth e Samaha, 1970). Após lavagens sucessivas, em tampão TRIS-Base 21 mM pH 7,8 contendo 3,4 mM de cloreto de cálcio (ajuste de pH realizado com ácido clorídrico 5N (Guth e Samaha, 1970), os cortes foram pré-incubados em meio ácido (pH 4,45 a 4,55) contendo 52 mM de acetato de sódio e 17,7 mM de cloreto de cálcio, por cinco a seis minutos à temperatura entre 18 a 20°C e URA menor que 55%. O pH foi ajustado com ácido acético glacial. Os cortes foram lavados, utilizando-se o mesmo tampão e procedimento acima descrito, e incubados segundo procedimento descrito por Ennion *et al.* (1995), em meio alcalino (pH 10,50 a 10,55), contendo 40 mM de glicina, 20 mM de cloreto de cálcio e 2,5 mM de ATP<sup>19</sup> a 37° C por 25 minutos. Após esses procedimentos, os cortes foram lavados rapidamente com água destilada e incubados em

<sup>16</sup> Hexano P.A. Synth, Diadema, Brazil

<sup>17</sup> Mícron gmbH – H1599 OM, 69190, Walldorf, Alemanha

<sup>18</sup> PH-Metro Analion PM 608 Ind. e Com. Ltda., Ribeirão Preto, SP.

<sup>19</sup> Sigma® Aldrich, Química do Brasil Ltda, São Paulo, SP.

solução aquosa de cloreto de cálcio 1% por três minutos, lavados rapidamente em água destilada, corados com azul de toluidina 1% por aproximadamente 4 segundos, desidratados rapidamente em série de concentrações crescentes de etanol, diafanizados em xilol e montados em *Entellan*<sup>®</sup> (Olgivie e Feeback, 1990).

### 3.10. Análise imuno-histoquímica das fibras musculares

Para comprovar os dados histoquímicos, foi realizada a análise imuno-histoquímica das fibras do músculo *Gluteus medius* de 6 animais segundo metodologia descrita por D'Angelis (2004). Para este método, duas secções seriadas transversais de 12 µm de espessura foram obtidas das mesmas amostras utilizadas para as análises histoquímicas e, simultaneamente, à confecção dos cortes para as mesmas, utilizando-se criostato a -20 °C. Os cortes foram submetidos ao método imuno-histoquímico indireto (peroxidase anti-peroxidase: PAP) para marcação de fibras contendo miosina de contração lenta. Após secagem por 30 minutos à temperatura ambiente, os cortes foram fixados em formalina 3,5% por 30 minutos à temperatura ambiente. Decorrido este período, eles foram lavados em tampão fosfato 0,1M pH 7,2 (duas vezes por dois minutos cada). Em seguida, foi realizado o bloqueio de peroxidases endógenas com 3 % de peróxido de hidrogênio em metanol, por 5 minutos. Após lavagem com tampão fosfato, os cortes foram incubados com soro inespecífico de coelho (1:50 em tampão fosfato) por 30 minutos a 4 °C, em câmara úmida, para redução do *background*. Depois de retirado o soro, os cortes foram incubados com anticorpo primário monoclonal *anti-slow myosin*<sup>20</sup> (1:4000 em tampão fosfato) por 2 horas e 30 minutos a 4 °C, em câmara úmida. Os cortes foram lavados novamente com tampão fosfato (duas séries de quatro minutos, sob leve agitação), incubados com anticorpo secundário conjugado com peroxidase de cabra anti-IgG de camundongo<sup>21</sup> (1:100 em tampão fosfato) por 1 hora e 30 minutos a 4 °C, em câmara úmida. Após nova lavagem com tampão fosfato (duas series de quatro minutos), os complexos antígeno-anticorpo foram revelados por incubação com diaminobenzidina (DAB - 0,2 mg/1,5 mL de tampão fosfato 0,1 M pH 7,2) contendo 2 a 3 gotas de peróxido de hidrogênio, à temperatura ambiente. A intensidade de coloração foi controlada visualmente ou sob microscópio. A reação de revelação foi bloqueada com a

---

<sup>20</sup> Clone NOQ7.5.4D, Sigma® Aldrich, Química do Brasil Ltda, São Paulo, SP.

<sup>21</sup> Sigma® Aldrich, Química do Brasil Ltda, São Paulo, SP.

lavagem dos cortes com o tampão fosfato. Após contrastação com hematoxilina férrica, os cortes foram desidratados, diafanizados e montados com entelan. As fibras de contração lenta (tipo I) e contração rápida (tipo II) foram identificadas pela coloração dourada do precipitado de DAB formado no complexo antígeno-anticorpo, na primeira, e ausência de coloração, na última.

### **3.11. Histoquímica para potencial oxidativo-glicolítico das miofibras**

Para comprovação dos dados histoquímicos da mATPase, além da imuno-histoquímica, utilizou-se a histoquímica para avaliação do potencial oxidativo das fibras musculares esqueléticas. Por intermédio da técnica de nicotinamida adenina dinucleotídeo tetrazólio redutase (NADH -TR) descrita por Novikoff *et al.* (1961), foi possível avaliar os três tipos de miofibras utilizando como marcador do padrão oxidativo, a enzima NADH. A técnica consiste em incubar a amostra muscular em solução que contém a enzima NADH e o marcador NBT (Nitro Blue tetrazolium) para formar o complexo NADH-TR. As lâminas contendo os cortes musculares foram mantidas à temperatura ambiente (18 a 20 °C) durante 40 minutos, para secagem e aderência dos mesmos a lâmina histológica. Os cortes foram incubados durante 40 minutos em estufa a 37 °C em solução contendo 8 mg de NADH, 10 mg de NBT e 10 mL de tampão tris 0,2 M e pH 7,4. Em seguida, os cortes contidos na lâmina foram lavados em água destilada e posteriormente, fixados em formol 5% tamponado (pH 7,0) durante cinco minutos. Finalmente, foram submetidos ao processo de lavagem em água destilada e montados com xarope de Apathy.

Após a comprovação da histoquímica mATPase pelo método de imuno-histoquímica e pelo método histoquímico para potencial oxidativo-glicolítico, as fibras musculares foram identificadas apenas utilizando a coloração histoquímica da mATPase da seguinte maneira: tipo I (oxidativas, azul escuro), tipo IIA (oxidativa-glicolítica, azul claro) e tipo IIX (glicolítica, azul intermediário), conforme ilustrado no Quadro 3 e na Figura 2.

Quadro 3. Atividade da enzima mATPase histoquimicamente marcada, técnica histoquímica de nicotinamida adenina dinucleotídeo tetrazólio redutase (NADH-TR) e imunorreatividade da cadeia pesada de miosina para o músculo *Gluteus medius* de equinos da raça Mangalarga Marchador

Tipos de fibras	Característica metabólica	Característica de contração	Histoquímica mATPase	Imuno-histoquímica *	Histoquímica NAD-TR
I	Oxidativa	Lenta	Azul escuro	Positiva	Roxo escuro
IIA	Oxidativa e glicolítica	Rápida	Azul claro	Negativa	Roxo intermediário
IIX	Glicolítica	Rápida	Azul intermediário	Negativa	Roxo claro ou ausência de cor

\*anticorpo antimiosina de contração lenta

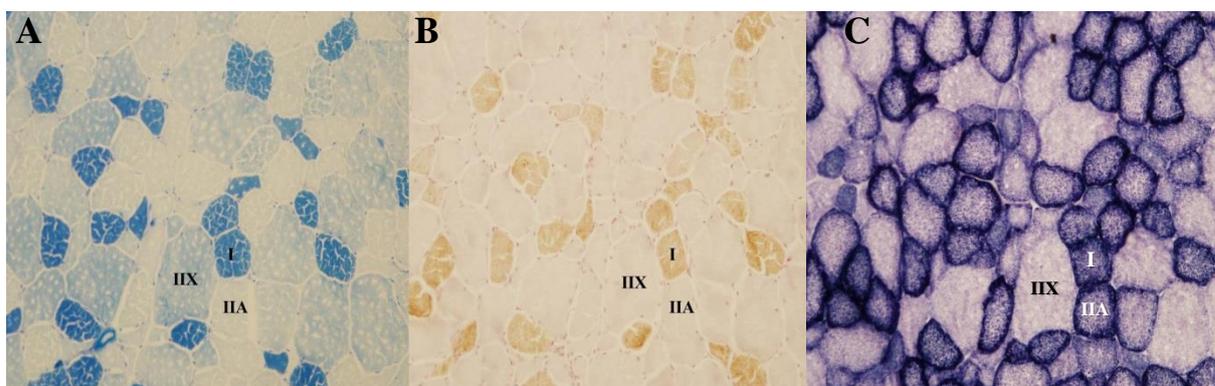


Figura 2. Cortes seriados de fragmento do músculo *Gluteus medius* de potra da raça Mangalarga Marchador. A) Coloração da atividade da miosina ATPase após pré-incubação em pH 4,53 e incubação em pH 10,50. Fibra tipo I: azul escuro, tipo IIA: azul claro e tipo IIX: azul intermediário. B) imuno-histoquímica para miosina de contração lenta. Fibras tipo I: dourado e tipo II: ausência de coloração. C) histoquímica para análise de NADH. Fibra tipo I: roxo escuro, fibra tipo IIA: roxo intermediário e fibra tipo IIX: roxo claro ou ausência de cor; aumento de 200 X

### 3.12. Análise morfométrica das fibras musculares

Para análise morfométrica das fibras musculares, foram capturadas três imagens de cada lâmina corada por histoquímica da atividade de mATPase. As imagens foram capturadas utilizando fotomicroscópio<sup>22</sup> e em seguida foram transferidas para o programa de análise de imagem Scion Image<sup>23</sup>. Todas as áreas foram inspecionadas e somente foram selecionadas as regiões que estavam livres de artefatos e continham cerca de 30 a 80 fibras musculares. As fibras musculares que apresentaram inteiramente dentro da imagem selecionada foram individualmente delimitadas, numeradas e classificadas por subtipo fibrilar (I, IIA e IIX) conforme a coloração histoquímica da atividade da mATPase (Figura 3).

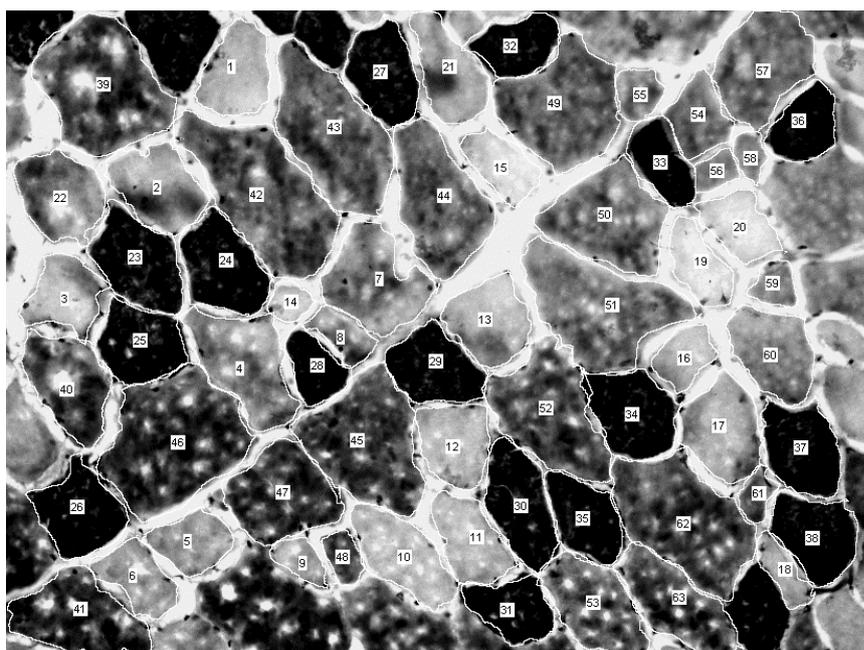


Figura 3. Delimitação individual, numeração de células e classificação do subtipo das fibras musculares do *Gluteus medius* de potras da raça Mangalarga Marchador utilizando o programa Scion Image. Fibras musculares numeradas de 1 a 22 correspondem ao tipo IIA, de 23 a 38 correspondem ao tipo I e de 39 a 63 são do tipo IIX

<sup>22</sup> Camedia Olympus 95-98 ME, Olympus.

<sup>23</sup> Scion Image para Windows, Scion Corp., USA (versão livre).

A delimitação e numeração das fibras musculares foram realizadas de forma manual. Em seguida, o programa de análise de imagens determinou a densidade óptica, a área de secção transversal ( $\mu\text{m}^2$ ), o diâmetro menor ( $\mu\text{m}$ ) e o diâmetro maior ( $\mu\text{m}$ ) de cada fibra numerada. A partir desses dados, determinou-se a proporção do tipo de fibras por campo analisado (%N), o valor médio da área de secção transversal (AMST), o valor médio do diâmetro menor (DMM) e a área total relativa (%ATR) ocupada por cada tipo de fibra muscular. A área total relativa (%ATR) foi determinada por meio do produto entre área média de secção transversal (AMST) e proporção do tipo de fibras por campo analisado (%N), ou seja,  $\%ATR = AMST \times \%N$ . O diâmetro menor é a menor distância da elipse transversal da fibra muscular. Foi utilizado nesse estudo para atestar a qualidade dos cortes seriados das amostras, uma vez que permite a correção da distorção ocasionada pelo corte transversal imperfeito das fibras musculares (Dubowitz, 1985), entretanto, os resultados não foram exibidos para discussão. A AMST foi utilizada para discutir o tamanho das fibras musculares.

### **3.13. Delineamento experimental e Análises estatísticas**

#### **3.13.1. Testes de Marcha em esteira ergométrica**

O experimento referente às análises dos Testes de Marcha foi delineado inteiramente ao acaso (DIC) em esquema de parcelas subdivididas. Cada teste de marcha representou uma parcela (T1: semana 1; T2: semana 3 e T3: semana 6); cada grupo de suplementação nutricional representou uma subparcela (S1: grupo controle (n=5); S2: suplementado com L-carnitina (n=4); S3: suplementado com cromo quelatado (n=4)) e cada momento de avaliação representou uma subsubparcela (etapa de exercício: M1: antes do exercício 0 min; M2: aquecimento 5 min; M3: 10 min; M4: 15 min; M5: 20 min; M6: 25 min; M7: 30 min; M8: 35 min; etapa de recuperação: R1: final do exercício; R2: 5 min; R3: 30min; R4: 1 hora).

Para comparação dos dados obtidos durante o exercício, foram considerados os dados antes do exercício até o final do período de marcha dos três testes de marcha. Ou seja: antes do exercício 0 min; aquecimento 5 min; 10 min; 15 min; 20 min; 25 min; 30 min; 35 min (final da marcha). Para a fase de recuperação, foram considerados apenas os dados dos Testes

de Marcha 1 e 3, os quais apresentaram a mesma duração da fase de marcha na esteira ergométrica (30 minutos). Como no Teste 2 a fase de marcha teve duração de 70 minutos e foi maior que a fase de marcha dos Testes 1 e 3, seus dados de recuperação não foram considerados para avaliação da aptidão física dos animais.

Os dados foram testados quanto à distribuição normal e homocedasticidade entre os tratamentos. Apenas os dados de lactatemia sofreram transformação logarítmica para se ajustarem à distribuição normal. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2003) e à análise de regressão utilizando o programa SAEG - Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas versão 9.1 (SAEG, 2007). Quando houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na análise de variância, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2003) a 5 % de probabilidade de erro.

### **3.13.2. Fibras musculares**

Para avaliação morfométrica das fibras musculares, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcelas subdivididas. Cada tratamento representou uma parcela (S1: grupo controle (n=5); S2: suplementado com L-carnitina (n=4); S3: suplementado com cromo quelatado (n=4)) e cada dia de coleta representou uma subparcela (INÍCIO: primeira semana; FINAL: sexta semana de treinamento).

Os resultados foram submetidos à análise da variância para medidas repetidas (*one-way* ANOVA) utilizando programa Statistical Analysis Systems considerando-se 5% de probabilidade de erro. Para a comparação entre os grupos de suplementação nutricional e os tempos de avaliação (antes e após o condicionamento físico) foi utilizada a análise de variância para medidas repetidas para dois fatores (*two-way* ANOVA), utilizando programa Statistical Analysis Systems considerando-se 5% de probabilidade de erro.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Testes de Marcha em esteira ergométrica

#### 4.1.1. Frequência cardíaca

A mensuração da frequência cardíaca (FC) durante o exercício é utilizada para fornecer informações sobre a intensidade de trabalho realizada, o grau de condicionamento físico e a evolução das adaptações ocasionadas pelo treinamento (Evans, 1994).

No presente estudo, não foi observado efeito ( $P=0,1295$ ) da suplementação de Cr ou de LC sobre a FC mensurada antes do exercício e durante os testes de marcha (Tabela 1). Apesar do Cr e da LC estarem relacionados ao metabolismo energético, o efeito do fornecimento dessas substâncias sobre o sistema cardiovascular dos equinos durante o exercício físico ainda não está completamente elucidado e a resposta da FC à suplementação tem se mostrado controversa entre os estudos. Há relatos de ausência do efeito da suplementação de Cr sobre a FC durante o exercício (Gentry *et al.*, 1999; Pagan *et al.*, 1995), aumento da FC do grupo suplementado (Vervuert *et al.*, 2006) e redução da FC do grupo suplementado mensurada logo após o segundo de três testes de marcha realizados a campo (Jordão *et al.*, 2010). No presente estudo, houve tendência ( $P=0,1295$ ) do grupo suplementado com Cr apresentar menores valores de FC que os grupos LC e Controle. Entretanto, essa diferença não foi significativa provavelmente devido à baixa intensidade do teste de marcha em esteira ergométrica e ao número reduzido de animais no grupo Cr ( $n=4$ ). Já em relação à suplementação de LC, não foi demonstrado efeito sobre a FC durante testes padronizados de exercício na esteira ergométrica (Niemeyer, *et al.*, 2005), durante teste a campo de animais em treinamento para Concurso Completo de Equitação (Iben *et al.*, 1999), assim como durante os teste de marcha do presente estudo. Por outro lado, a FC de equinos trotadores suplementados diminuiu 7 bpm ( $P<0,05$ ) em resposta ao treinamento, mas manteve-se inalterada nos animais do grupo controle (Chrobok, 2000). No presente estudo, as médias dos valores de FC do grupo suplementado com LC ficaram próximas às médias do grupo Controle (Tabela 1).

Tabela 1. Médias da frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) mensuradas em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) e coeficiente de variação (CV)

	Momento dos Testes de Marcha								Média	CV (%)
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'		
<b>Controle (n=5)</b>	46	75	106	120	123	125	124	123	105 <sup>A</sup>	
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	48	77	112	119	121	122	122	123	105 <sup>A</sup>	22,93 <sup>*</sup>
<b>Cromo (n=4)</b>	44	70	100	112	108	117	118	121	99 <sup>A</sup>	

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos de suplementação nutricional pelo Tukey (P<0,05); \* Coeficiente de variação entre os grupos de suplementação nutricional

Na figura 4 e tabela 2, observa-se que as médias de FC do Teste 1 durante a fase de marcha (aos 15, 25, 30 e 35 minutos de teste) foram mais elevadas (P<0,05) que as médias da mesma fase dos Testes 2 e 3. A frequência cardíaca durante exercícios submáximos geralmente sofre redução após o treinamento, embora essa redução se restrinja de 10 a 20 batimentos por minuto (bpm) em qualquer velocidade submáxima (Thomas *et al.*, 1983). No presente estudo (Tabela 2), houve redução de 11 bpm da média geral da FC do Teste 1 (110 bpm aos 7 dias de condicionamento) para o Teste 2 (99 bpm aos 21 dias de condicionamento) e essa última média manteve-se próxima à média do Teste 3 (100 bpm aos 42 dias de condicionamento). Esse resultado pode estar relacionado ao rápido aumento da capacidade cardiorrespiratória logo no início do treinamento relatado por Eaton *et al.* (1999), os quais observaram redução da FC ao final da quarta semana, mas não notaram mais alterações durante o restante dos quatro meses de treinamento. Entretanto, a FC não pode ser considerada isoladamente, uma vez que altos valores de FC registrados no início do treinamento podem estar relacionados a fatores psicogênicos de falta de adaptação ao ambiente e aos procedimentos de teste (Thomas *et al.*, 1983). Além disso, os fatores psicogênicos têm maior influência quando a FC encontra-se abaixo de 120 bpm (Persson, 1983) e os Testes 2 e 3 do presente estudo apresentaram FC abaixo desse valor.

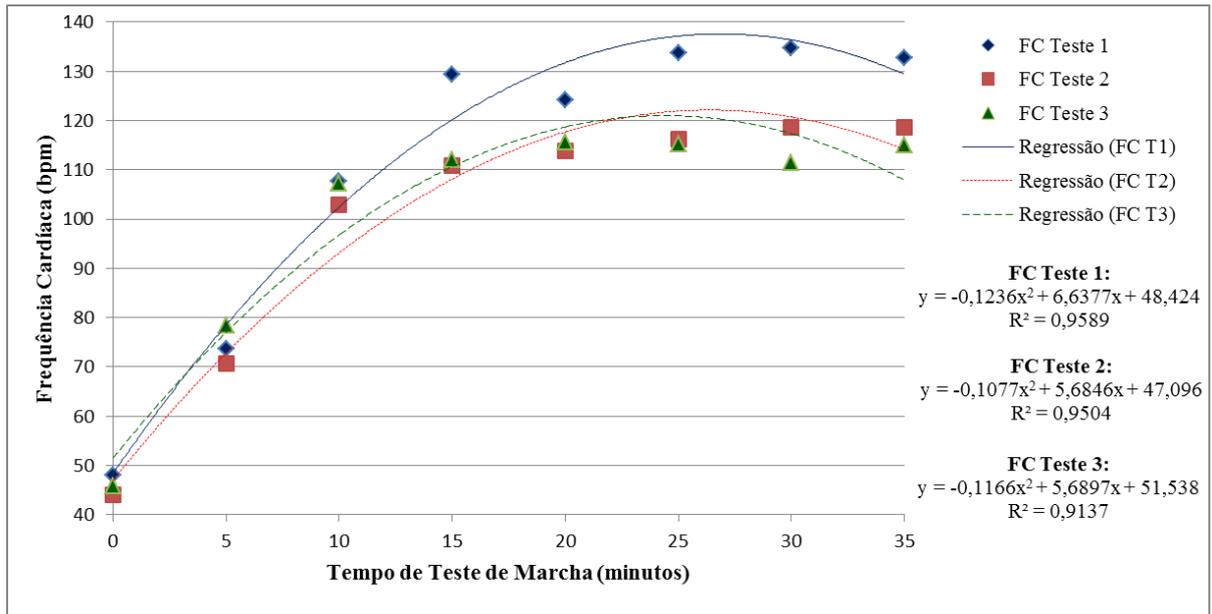


Figura 4. Médias de frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensuradas em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de treinamento, Teste 2: 21 dias de treinamento e Teste 3: 42 dias de treinamento), respectivas curvas de regressões polinomiais quadráticas, suas equações e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) corrigidos

Tabela 2. Valores médios de frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) registrados antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensurados em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de condicionamento, Teste 2: 21 dias de condicionamento e Teste 3: 42 dias de condicionamento), coeficientes de variação (CV) e (n=13)

	Momento do Teste de Marcha								Média	CV (%)
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'		
<b>Teste 1</b>	48 <sup>Ac</sup>	73 <sup>Abc</sup>	107 <sup>Aab</sup>	129 <sup>Aa</sup>	122 <sup>Aa</sup>	133 <sup>Aa</sup>	134 <sup>Aa</sup>	133 <sup>Aa</sup>	110 <sup>A</sup>	
<b>Teste 2</b>	44 <sup>Ac</sup>	71 <sup>Abc</sup>	103 <sup>Aab</sup>	111 <sup>Bab</sup>	114 <sup>Aab</sup>	116 <sup>Ba</sup>	119 <sup>Ba</sup>	119 <sup>Ba</sup>	99 <sup>A</sup>	29,26*
<b>Teste 3</b>	46 <sup>Ab</sup>	79 <sup>Aab</sup>	107 <sup>Aa</sup>	111 <sup>Ba</sup>	112 <sup>Aa</sup>	115 <sup>Ba</sup>	115 <sup>Ba</sup>	116 <sup>Ba</sup>	100 <sup>A</sup>	
<b>Média</b>	46 <sup>d</sup>	74 <sup>c</sup>	106 <sup>b</sup>	117 <sup>a</sup>	117 <sup>a</sup>	122 <sup>a</sup>	121 <sup>a</sup>	122 <sup>a</sup>		12,84 <sup>†</sup>

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os testes de marcha pelo Tukey ( $P < 0,05$ ); médias na linha seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os momentos do teste pelo Tukey ( $P < 0,05$ ); \* Coeficiente de variação entre testes de marcha; <sup>†</sup> Coeficiente de variação entre os momentos dos testes de marcha

Houve diferença entre os tempos avaliados de FC ( $P < 0,000$ ) e houve interação entre tempos e testes de marcha ( $P = 0,0153$ ). Considerando a média dos três testes (Figura 4 e Tabela 2), observou-se uma fase inicial de aumento da FC em relação ao valor antes do exercício (0 min.) até os primeiros 5 minutos de marcha (10 min. de teste) acompanhando o aumento da velocidade: de repouso para o passo (1,7 m/s) e desse para a marcha (3,5 m/s). Após essa fase, como a velocidade manteve-se constante durante a etapa de marcha (3,5 m/s), a FC não apresentou variação dos 15 aos 35 minutos de teste. Este comportamento da FC é condizente à relação entre FC e velocidade durante exercícios submáximos, a qual é amplamente conhecida e relatada na literatura (Lindholm e Saltin, 1974; Evans, 2004). Do ponto de vista fisiológico, a FC e o débito cardíaco aumentam em proporção direta ao consumo de oxigênio para garantir o suprimento de oxigênio necessário à síntese de trifosfato de adenosina (ATP) para a contração muscular. Se a taxa de trabalho for constante e abaixo do limiar de lactato, um platô de estabilidade da FC, do volume sistólico e do débito cardíaco é atingido em dois ou três minutos de exercício (Powers e Howley, 2005).

Conforme os dados da tabela 2, os maiores valores de FC registrados durante a fase de marcha (10 min. a 15 min.; 3,5 m/s) foram 134 bpm aos 30 minutos do Teste 1, 119 bpm aos 30 e aos 35 minutos do Teste 2 e 116 bpm aos 35 minutos do Teste 3. Esses valores encontram-se abaixo daqueles relatados na literatura durante testes de marcha realizados a campo com equinos da raça MM. Durante simulações de provas de marcha (média de 3,33 m/s) de 50 minutos de duração, Prates *et al.* (2009) registraram o valor máximo de 186,76 bpm e Jordão *et al.* (2010) registraram o pico de 153 bpm aos 17 minutos de teste. Considerando-se o efeito do treinamento de equinos da raça MM, foi registrada FC média de 173 bpm em teste de marcha (3,33 a 3,8 m/s) de 11 minutos de duração realizado com equinos destreinados e FC média de 142 bpm em teste de 70 minutos de duração após 63 dias de treinamento (Abrantes *et al.*, 2012). Já Marelli e Freire (2013) encontraram FC de 200 bpm aos 14 minutos do teste realizado antes do treinamento e aos 32 minutos do teste realizado após 42 dias de treinamento. A menor demanda cardiovascular do teste em esteira do presente estudo em relação às simulações de teste de marcha a campo é condizente com relatos da literatura de menores FC e concentrações de lactato na esteira ergométrica em relação aos exercícios a campo (Gottlieb-Vedi e Lindholm, 1997; Couroucé *et al.*, 1999). Nos exercícios a campo, fatores como temperatura e umidade do ar, superfície do terreno e atuação do cavaleiro influenciam as variáveis fisiológicas (Evans, 2004).

Valores máximos de FC de 165 bpm antes do treinamento e 148 bpm após 42 dias de treinamento foram registrados durante a etapa de 30 minutos de marcha em esteira

ergométrica realizado na intensidade de 70% do “limiar anaeróbio” individual (velocidade entre 3,6 e 4,4 m/s e 5% de inclinação) de éguas da raça Mangalarga Marchador (Garcia *et al.*, 2010). No estudo de Garcia *et al.*, 2010, as médias de FC registradas foram mais elevadas que as médias do teste de marcha do presente estudo e se aproximaram mais daquelas encontradas nos estudos com testes de marcha a campo, provavelmente, devido à maior inclinação da esteira e a maiores velocidades de marcha, uma vez que a FC está altamente correlacionada com a velocidade e inclinação da esteira (Sexton e Erickson, 1990). Como a inclinação de 5% da esteira foi apropriada para simular as condições de testes de intensidade progressiva a campo para equinos da raça MM (Garcia *et al.*, 2013), esta mesma inclinação parece ser mais adequada também para a simulação de testes de marcha, embora a maioria dos trabalhos da literatura relatou inclinações de 2,4% (Couroucé *et al.*, 2000) e 3,5% (Barrey *et al.*, 1993; Galloux *et al.*, 1993) para simular as condições de exercício a campo de animais que possuem o trote como andamento natural.

Durante a fase de recuperação da frequência cardíaca (Tabela 3), não houve efeito da suplementação de Cr ou LC ( $P=0,9667$ ). Esse resultado contrasta com os achados de Jordão *et al.* (2010), os quais relataram redução da frequência cardíaca de animais suplementados com Cr durante a fase de recuperação de testes de marcha realizados a campo com 50 minutos de duração. A diferença entre os resultados pode estar relacionada às menores intensidade e demanda cardiovascular do teste em esteira do presente estudo em relação aos testes de marcha a campo de Jordão *et al.* (2010). Em relação à suplementação de LC, os resultados do presente estudo corroboram os achados de Niemeyer *et al.* (2005), os quais relataram a ausência de efeito da suplementação na frequência cardíaca durante a etapa de recuperação após teste incremental em esteira ergométrica.

Tabela 3. Valores médios de frequência cardíaca em batimentos por minutos (bpm) mensurados em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) ao final do exercício (Final) e aos 5, 30 e 60 minutos de recuperação do Teste 1 (7 dias de condicionamento) e do Teste 3 (42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação (CV)

	Momento de recuperação				Média	CV (%)
	Final	5'	30'	60'		
<b>Controle (n=5)</b>	112	53	44	42	63 <sup>A</sup>	
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	100	57	44	45	61 <sup>A</sup>	29,29 <sup>*</sup>
<b>Cromo (n=4)</b>	102	53	45	43	61 <sup>A</sup>	
<b>Média</b>	105 <sup>a</sup>	54 <sup>b</sup>	44 <sup>c</sup>	43 <sup>c</sup>		16,24 <sup>†</sup>

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos de suplementação nutricional pelo Tukey (P<0,05); médias na linha seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os momentos dos testes de marcha pelo Tukey (P<0,05); <sup>\*</sup> Coeficiente de variação entre os grupos de suplementação nutricional; <sup>†</sup> Coeficiente de variação entre os momentos dos testes de marcha

No presente estudo, não houve diferença na FC de recuperação entre os testes de marcha (P=0,1298), mas houve diferença entre os tempos avaliados (P<0,0000). Considerando as médias do primeiro e terceiro testes de marcha (Tabela 3), foram registradas as FCs de 105 bpm logo ao final do exercício, 54 bpm aos 5 minutos, 44 bpm aos 30 minutos e 43 bpm aos 60 minutos de recuperação após o fim do exercício. Aos 30 minutos de recuperação, obteve-se valor de FC próximo à média dos valores encontrados durante o pré-exercício dos três testes de marcha (46 bpm).

#### 4.1.2. Lactato

A concentração de lactato sanguíneo é a variável que apresenta melhor correlação com o desempenho competitivo do animal (Lindner, 2000) e está relacionada à intensidade do exercício, possibilitando avaliar o sistema de produção energética mais utilizado (Desmecht *et al.*, 1996).

Não houve efeito (P=0,1110) da suplementação de Cr ou de LC nas concentrações sanguíneas de lactato durante os testes de marcha (Tabela 4). No presente estudo, embora

tenha ocorrido tendência de menores valores de FC do grupo suplementado com Cr, houve tendência ( $P=0,1110$ ) de maior lactatemia durante os testes de marcha dos animais suplementados com Cr em relação aos grupos Controle e LC (Tabela 4). Na literatura, há relatos de que a suplementação de Cr resultou em maiores concentrações de lactato tanto durante o exercício (Vervuert *et al.*, 2006) quanto após o exercício (Gentry *et al.*, 1999). Embora Jordão *et al.* (2010) e Pagan *et al.* (1995) tenham relatado ausência de efeito da suplementação deste mineral na lactatemia durante o exercício, não há relatos de que a suplementação tenha implicado em menores concentrações de lactato. Dessa forma, a suplementação de Cr parece aumentar a lactatemia de equinos em exercício, embora a tendência do presente estudo não tenha sido significativa. Essa tendência precisa ser mais bem elucidada utilizando exercícios de maior intensidade que resultem em maiores valores de lactatemia que o presente estudo.

Falaszini e Trombetta (2001) relataram que a suplementação diária de 12 g de LC proporcionou menor produção de lactato (mmol/L/min) durante exercício. Por outro lado, assim como no presente estudo, Niemeyer *et al.* (2005) também não observaram efeito da suplementação diária de 10 g de LC na lactatemia durante exercício submáximo de equinos jovens da raça *Standarbred* treinados por 5 semanas. A suplementação de LC tem sido utilizada no intuito de aumentar o metabolismo oxidativo de glicose e lipídios, reduzir a produção de lactato e aumentar o desempenho durante o exercício, principalmente durante aqueles de menor intensidade e longa duração (Geor, 2006). Dessa forma, a suplementação dessa amina ou do Cr pode ter efeito benéfico em situações de demanda metabólica mais elevada que a do presente estudo, no qual as concentrações sanguíneas de lactato durante os testes de marcha realizados em esteira ergométrica (Tabela 4) não atingiram 1,5 mmol/L. Segundo Lindner *et al.* (1997), concentrações de lactato de 1,5 mmol/L podem ser encontradas em equinos durante o repouso, embora a lactatemia antes do exercício foi menor que 1 mmol/L no presente estudo (Tabela 4).

Tabela 4. Médias da lactatemia (mmol/L) mensuradas em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) e coeficiente de variação (CV)

	Momento dos Testes de Marcha								Média	CV (%)
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'		
<b>Controle (n=5)</b>	0,91	0,70	0,74	0,74	0,78	0,82	0,82	0,80	0,79 <sup>A</sup>	
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	0,75	0,72	0,95	0,86	0,83	0,80	0,78	0,79	0,81 <sup>A</sup>	3,79*
<b>Cromo (n=4)</b>	0,85	0,78	1,25	1,32	1,21	1,11	1,17	1,13	1,10 <sup>A</sup>	

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos de suplementação nutricional pelo Tukey (P<0,05); \* Coeficiente de variação entre os grupos de suplementação nutricional

Houve diferença (P=0,0112) nas concentrações sanguíneas de lactato entre os testes de marcha (Figura 5 e Tabela 5). A maior média de lactatemia foi encontrada no Teste 1 (1,13 mmol/L com 7 dias de condicionamento) e a menor média de lactatemia foi do Teste 2 (0,72 mmol/L com 21 dias de condicionamento). A média de lactatemia do Teste 3 (42 dias de condicionamento) foi de 0,82 mmol/L e foi semelhante às médias dos testes 1 e 2. A redução da lactatemia durante exercícios submáximos em função do treinamento também ocorreu em trabalhos que utilizaram testes de marcha a campo. Abrantes *et al.* (2012), registraram 2 mmol/L de lactato sanguíneo em menos de 1 minuto do primeiro teste e aos 12 minutos do teste de marcha realizado após 63 dias de treinamento. Já a concentração de 4 mmol/L foi alcançada aos 5 minutos do primeiro teste e aos 69 minutos do teste após 63 dias de treinamento. Já no estudo de Marelli e Freire (2013), a concentração sanguínea de 4 mmol/L de lactato foi alcançada aos 34 minutos de teste de marcha antes do treinamento e aos 95 minutos de teste após 42 dias de treinamento.

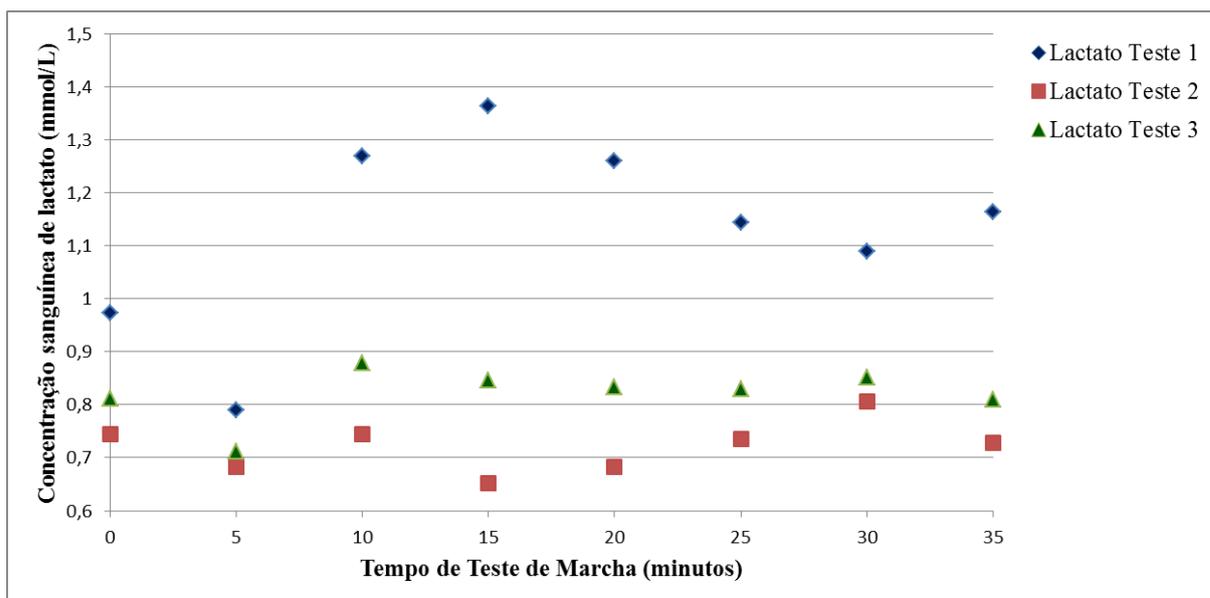


Figura 5. Médias das concentrações sanguíneas de lactato (mmol/L) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) obtidas em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de treinamento, Teste 2: 21 dias de treinamento e Teste 3: 42 dias de treinamento)

Tabela 5. Valores médios de lactatemia (mmol/L) obtidos antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensurados em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de condicionamento, Teste 2: 21 dias de condicionamento e Teste 3: 42 dias de condicionamento), coeficientes de variação (CV) e (n=13)

	Momento do Teste de Marcha								Média	CV (%)
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'		
<b>Teste 1</b>	0,96 <sup>A</sup>	0,79 <sup>A</sup>	1,27 <sup>A</sup>	1,36 <sup>A</sup>	1,26 <sup>A</sup>	1,14 <sup>A</sup>	1,09 <sup>A</sup>	1,16 <sup>A</sup>	1,13 <sup>A</sup>	
<b>Teste 2</b>	0,75 <sup>A</sup>	0,69 <sup>A</sup>	0,74 <sup>B</sup>	0,65 <sup>B</sup>	0,68 <sup>B</sup>	0,74 <sup>B</sup>	0,81 <sup>B</sup>	0,73 <sup>B</sup>	0,72 <sup>B</sup>	3,36*
<b>Teste 3</b>	0,80 <sup>A</sup>	0,71 <sup>A</sup>	0,88 <sup>B</sup>	0,85 <sup>B</sup>	0,83 <sup>B</sup>	0,83 <sup>AB</sup>	0,85 <sup>AB</sup>	0,81 <sup>B</sup>	0,82 <sup>AB</sup>	
<b>Média</b>	0,84 <sup>ab</sup>	0,73 <sup>b</sup>	0,96 <sup>a</sup>	0,95 <sup>a</sup>	0,93 <sup>ab</sup>	0,90 <sup>ab</sup>	0,92 <sup>ab</sup>	0,90 <sup>ab</sup>		1,13 <sup>†</sup>

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os testes de marcha pelo Tukey ( $P < 0,05$ ); médias na linha seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os momentos do teste pelo Tukey ( $P < 0,05$ ); \* Coeficiente de variação entre testes de marcha; † Coeficiente de variação entre os momentos dos testes de marcha

Na figura 5, observa-se que houve tendência de redução da lactatemia do momento antes do exercício (0 minuto) para a fase de aquecimento (5 minutos de teste) nos três testes de marcha. Entretanto, não ocorreu diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre esses dois tempos avaliados (Tabela 5). A manipulação dos animais antes do teste para coleta de amostra sanguínea pode ter desencadeado a liberação de catecolaminas em quantidade suficiente para estimular a glicogenólise muscular e consequentemente aumentar a lactatemia antes do exercício (Stainsby e Brooks, 1990). Durante exercícios leves e moderados, apesar de haver aumento da produção de lactato muscular, também ocorre aumento da capacidade de remoção do lactato em comparação à situação de repouso (Donavan e Brooks, 1983). Isso pode justificar a tendência redução da lactatemia da fase de aquecimento (5 minutos de teste; 1,7 m/s) em comparação aos valores mensurados antes do exercício (0 minuto de teste) do presente estudo.

A velocidade e a duração do exercício são os principais fatores que afetam a lactatemia. Quanto maior a velocidade e/ou o tempo, maiores são as concentrações sanguíneas de lactato. Entretanto, segundo Lindner e Boffi (2006), esse comportamento somente é válido para exercícios cuja velocidade implica concentrações de lactato acima de 2 mmol/L e tem duração contínua maior que 5 minutos. No presente estudo (Tabela 5), observa-se aumento da lactatemia em função do aumento da velocidade na fase de aquecimento (1,7 m/s; 5 minutos de teste) para o início da fase de marcha (3,5 m/s; 10 e 15 minutos de teste). Já durante o restante da fase de marcha (20 a 35 minutos de teste), as médias de concentrações sanguíneas mais elevadas de lactato foram 1,36 mmol/L no Teste 1, 0,81 mmol/L no Teste 2 e 0,88 mmol/L no Teste 3 e, por não terem atingido 2 mmol/L, o tempo de exercício aparentemente não teve influência sobre esta variável. As médias de lactatemia encontradas dos 20 aos 35 minutos do teste de marcha foram semelhantes à média registrada antes do exercício (0 minuto) (Tabela 5), o que sugere baixa intensidade do protocolo de teste de marcha e explica a ausência de tendência de crescimento exponencial dos dados de lactatemia (Figura 5).

As concentrações de lactato registradas durante o teste de marcha em esteira ergométrica do presente estudo foram inferiores às registradas ao final dos testes de marcha a campo com duração de 30 minutos de Wanderley *et al.* (2010) (2,63 mmol/L) e ao final dos testes de 50 minutos de Jordão *et al.* (2010) (2,29 mmol/L) e de Rezende *et al.* (2014) (1,97 mmol/L). Também foram menores que as concentrações sanguíneas de lactato registradas por Abrantes *et al.* (2013) aos 12,5 minutos (6,01 mmol/L) do primeiro teste de marcha a campo realizado com animais destreinados e menor que as concentrações de lactato registradas aos 15 minutos (5,50 mmol/L) do segundo teste de marcha a campo realizado após

21 dias de treinamento. Esses resultados indicaram que, assim como a demanda cardiovascular, a demanda metabólica do teste de marcha em esteira ergométrica realizado no presente estudo foi inferior à demanda metabólica de testes de marcha em condições de campo.

Durante a fase de recuperação após os testes de marcha (Tabela 6), não houve efeito da suplementação de Cr ou LC nas concentrações sanguíneas de lactato ( $P=0,6512$ ). Outros trabalhos que também testaram a suplementação de Cr também relataram ausência de efeito sobre as concentrações de lactato durante o período de recuperação (Pagan *et al.*, 1995; Gentry *et al.*, 1999; Jordão *et al.*, 2010). Esse resultado do presente estudo corrobora os achados de Niemeyer *et al.* (2005), os quais relataram a ausência de efeito da suplementação de LC nas concentrações de lactato durante o período de recuperação. Por outro lado, Falaschini e Trombetta (2001) relataram que os equinos suplementados com LC tiveram menores concentrações de lactato na recuperação de exercícios de maior intensidade executados nas fases finais da etapa de treinamento, demorando menor tempo para alcançarem os valores basais.

Tabela 6. Valores médios de lactatemia (mmol/L) mensurados em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) ao final do exercício (Final) e aos 5, 30 e 60 minutos de recuperação do Teste 1 (7 dias de condicionamento) e do Teste 3 (42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação (CV)

	Momento de recuperação				Média	CV (%)
	Final	5'	30'	60'		
<b>Controle (n=5)</b>	0,83	1,29	1,05	0,90	1,02 <sup>A</sup>	
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	0,68	1,16	2,12	1,09	1,26 <sup>A</sup>	3,38 <sup>*</sup>
<b>Cromo (n=4)</b>	1,04	1,34	1,28	1,02	1,17 <sup>A</sup>	
<b>Média</b>	0,85 <sup>b</sup>	1,27 <sup>ab</sup>	1,43 <sup>a</sup>	0,99 <sup>ab</sup>		2,47 <sup>†</sup>

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos de suplementação nutricional pelo Tukey ( $P<0,05$ ); médias na linha seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os momentos dos testes de marcha pelo Tukey ( $P<0,05$ ); \* Coeficiente de variação entre os grupos de suplementação nutricional;

† Coeficiente de variação entre os momentos dos testes de marcha

As concentrações sanguíneas de lactato durante o período de recuperação do presente estudo (Tabela 6) não diferiram entre os testes de marcha ( $P=0,7512$ ), mas diferiram entre os tempos avaliados ( $P=0,0232$ ). Considerando as médias do primeiro e terceiro testes de marcha (Tabela 6), registraram-se 0,85 mmol/L logo após o final do exercício, 1,27 mmol/L aos 5 minutos, 1,43 mmol/L aos 30 minutos e 0,99 mmol/L aos 60 minutos de recuperação após o fim dos testes. Também durante a etapa de recuperação, não foram registradas concentrações sanguíneas de lactato superiores a 1,5 mmol/L.

### 4.1.3. Glicose

Não houve efeito da suplementação ( $P=0,5994$ ) de Cr ou de LC na glicemia durante os testes de marcha em esteira ergométrica (Tabela 7). Apesar do Cr estar envolvido na potencialização dos efeitos da insulina, as respostas da glicose à suplementação de Cr são controversas. A suplementação de Cr resultou em maior taxa de metabolização da glicose em resposta a teste de tolerância e menores concentrações sanguíneas de glicose durante o repouso (Ott e Kivipelto, 1999). Já Pagan *et al.* (1995) relataram menores concentrações sanguíneas de glicose durante teste de exercício de intensidade progressiva em esteira ergométrica. Entretanto, também há relatos de ausência de alteração durante o repouso (Gentry *et al.*, 1999; Vervuet *et al.*, 2006) e aumento das concentrações sanguíneas de glicose logo após o final do exercício (Vervuet *et al.*, 2006). Assim como no presente estudo, Jordão *et al.* (2010) também não relataram efeito da suplementação de Cr nas concentrações sanguíneas de glicose, as quais foram obtidas após testes de marcha de 50 minutos de duração realizados a campo com éguas da raça MM.

Tabela 7. Médias da glicemia (mmol/L) mensuradas em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) e coeficiente de variação (CV)

	Momento dos Testes de Marcha								Média	CV (%)
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'		
<b>Controle (n=5)</b>	3,35	3,66	3,53	3,27	3,36	3,28	3,32	3,36	3,39 <sup>A</sup>	
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	3,70	3,68	3,60	3,48	3,56	3,55	3,59	3,64	3,60 <sup>A</sup>	66,82*
<b>Cromo (n=4)</b>	3,53	3,77	3,62	3,68	3,71	3,89	3,77	3,81	3,72 <sup>A</sup>	

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos de suplementação nutricional pelo Tukey (P<0,05); \*Coeficiente de variação entre os grupos de suplementação nutricional

Além de participar no transporte de ácidos graxos de cadeia longa para o interior da mitocôndria, a LC também transporta o excesso de acetil-CoA para fora dessa organela (Zeyner e Harmeyer, 1999). A redução da relação acetil-CoA/CoA aumenta a atividade da piruvato desidrogenase, o que facilita a oxidação da glicose (Power *et al.*, 2007). Dessa forma, o aumento da oxidação de glicose devido à suplementação de LC pode ter papel importante na redução da concentração sanguínea de glicose. Além disso, alguns pesquisadores relataram efeito direto da LC na sensibilidade à insulina e conseqüentemente na disponibilidade de glicose (Mingrone *et al.*, 1999). Entretanto, a suplementação de LC para equinos tem causado efeitos controversos nas concentrações sanguíneas de glicose. As concentrações sanguíneas de glicose não foram influenciadas em pôneis obesos durante programa de redução de peso (Schmengler *et al.*, 2013), mas sofreram redução no período pós-prandial de pôneis saudáveis (Van Weyenberg *et al.*, 2009). Contrastando com os resultados do presente estudo (Tabela 7) em que não houve influência da suplementação de LC nas concentrações sanguíneas de glicose, em trabalho realizado por Chrobok (2000), o aumento da concentração de glicose induzida pelo exercício foi significativamente menor em animais suplementados com LC. Porém, o exercício executado pelos animais de Chrobok (2000) consistiu em 15 minutos de aquecimento e 15 minutos de fase incremental que iniciou com 6 m/s e terminou com 11 m/s. Dessa forma, a intensidade do exercício foi maior que a dos testes de marcha em esteira ergométrica do presente estudo, o que pode ter influenciado nos resultados da ação de LC.

As concentrações sanguíneas de glicose não diferiram ( $P=0,1651$ ) entre os testes de marcha durante o exercício (Tabela 8). Esse resultado não era esperado, pois segundo Geor *et al.* (2002), o condicionamento físico altera a utilização de substratos durante exercícios submáximos e, após o treinamento, reduz-se o uso de carboidratos e eleva-se a contribuição dos lipídios como fonte energética. No trabalho realizado por Geor *et al.* (2002), seis semanas de treinamento de intensidade moderada resultaram em redução da concentração de glicose durante exercício submáximo a 55% da  $\dot{V}O_{2\text{máx}}$  por 60 minutos. Por outro lado, Abrantes (2013) realizou simulações de provas de marcha a campo e não encontrou alteração das concentrações sanguíneas de glicose após 93 dias de treinamento de éguas da raça MM. Já durante a realização de exercícios mais intensos, como os testes progressivos em esteira ergométrica, Ferraz *et al.* (2008) não encontraram alterações das concentrações sanguíneas de glicose após 90 dias de treinamento de equinos da raça árabe e Trilk *et al.* (2002) também não relataram alterações após seis semanas de treinamento de equinos para resistência.

Tabela 8. Valores médios de glicemia (mmol/L) obtidos antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensurados em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de condicionamento, Teste 2: 21 dias de condicionamento e Teste 3: 42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação (CV) e ( $n=13$ )

	Momento do Teste de Marcha								Média	CV (%)
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'		
<b>Teste 1</b>	3,83 <sup>A</sup>	4,02 <sup>A</sup>	3,70 <sup>A</sup>	3,47 <sup>A</sup>	3,52 <sup>A</sup>	3,49 <sup>A</sup>	3,57 <sup>A</sup>	3,62 <sup>A</sup>	3,65 <sup>A</sup>	
<b>Teste 2</b>	3,35 <sup>B</sup>	3,59 <sup>B</sup>	3,71 <sup>A</sup>	3,45 <sup>A</sup>	3,52 <sup>A</sup>	3,59 <sup>A</sup>	3,57 <sup>A</sup>	3,58 <sup>A</sup>	3,55 <sup>A</sup>	17,79*
<b>Teste 3</b>	3,36 <sup>B</sup>	3,50 <sup>B</sup>	3,33 <sup>B</sup>	3,47 <sup>A</sup>	3,55 <sup>A</sup>	3,57 <sup>A</sup>	3,48 <sup>A</sup>	3,55 <sup>A</sup>	3,48 <sup>A</sup>	
<b>Média</b>	3,52 <sup>a</sup>	3,70 <sup>a</sup>	3,58 <sup>a</sup>	3,46 <sup>a</sup>	3,53 <sup>a</sup>	3,55 <sup>a</sup>	3,54 <sup>a</sup>	3,58 <sup>a</sup>		9,92 <sup>†</sup>

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os testes de marcha pelo Tukey ( $P<0,05$ ); médias na linha seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os momentos do teste pelo Tukey ( $P<0,05$ ); \* Coeficiente de variação entre testes de marcha; † Coeficiente de variação entre os momentos dos testes de marcha

A glicose plasmática geralmente aumenta em todos os tipos de exercícios devido à estimulação da glicogenólise hepática (Rose *et al.*, 1977) e a intensidade do aumento está provavelmente associada ao grau de atividade simpática, o qual está relacionado à intensidade

do exercício (Snow *et al.*, 1992). No presente estudo, não houve diferença ( $P=0,1649$ ) nas concentrações sanguíneas de glicose entre os tempos avaliados durante o teste de marcha (Tabela 8). Essa resposta corrobora os resultados de frequência cardíaca e concentração de lactato encontrados, os quais sugeriram que o protocolo proposto de teste de marcha não teve intensidade suficiente para provocar alterações metabólicas evidentes. Nas simulações de provas de marcha realizadas a campo por Abrantes (2013), houve aumento da glicemia ocasionado pelo exercício e, aos 60 minutos de recuperação, as concentrações sanguíneas de glicose voltaram para os valores pré-exercício. Por outro lado, os achados de Rezende *et al.* (2014) corroboram o do presente estudo, pois os autores relataram que não houve alteração da glicemia mensurada antes do exercício e ao final de 50 minutos de teste de marcha realizado a campo.

Houve interação entre tempos avaliados durante o exercício e testes de marcha ( $P=0,0102$ ). Os dados do Teste 1 se ajustaram à curva de regressão polinomial quadrática (Figura 6), os dados do Teste 3 se ajustaram à regressão linear e os dados do Teste 2 não se ajustaram a nenhum destes modelos. No Teste 1, a glicemia avaliada antes do exercício e ao final do aquecimento foi mais elevada que nos Testes 2 e 3 (Tabela 8 e Figura 6). Esse comportamento pode estar relacionado à glicogenólise provocada pela liberação de catecolaminas durante a manipulação dos animais na etapa pré-exercício (Stainsby e Brooks, 1990), assim como ocorreu com as concentrações de lactato sanguíneo em repouso do presente estudo. Aos 10 minutos de teste (5 minutos de marcha), a glicemia do Teste 3 foi inferior às dos Testes 1 e 2 (Tabela 8), o que sugere que o efeito benéfico do condicionamento físico descrito por Geor *et al.* (2002) e discutido anteriormente ocorreu apenas nos momentos de aquecimento e primeiros 5 minutos de marcha (10 minutos de teste).

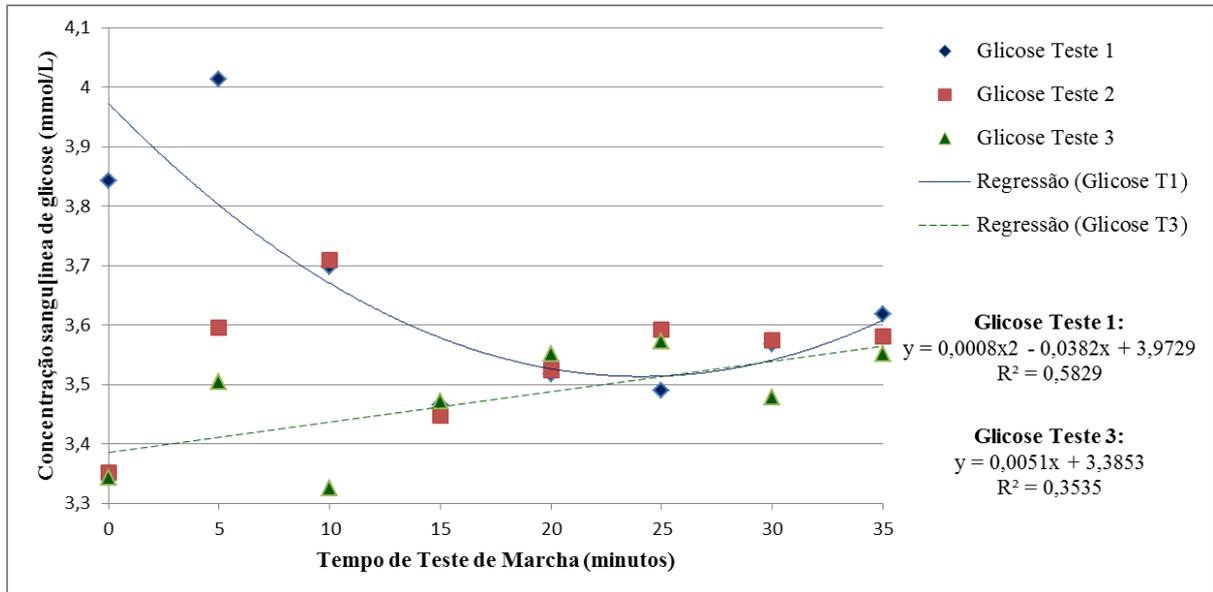


Figura 6. Médias das concentrações sanguíneas de glicose (mmol/L) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) obtidas em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de treinamento, Teste 2: 21 dias de treinamento e Teste 3: 42 dias de treinamento), curva de regressão polinomial quadrática do Teste 1, curva de regressão linear do Teste 3, suas respectivas equações e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) corrigidos

Durante a etapa de recuperação após o exercício (Tabela 9), não houve efeito da suplementação de Cr ou de LC na glicemia ( $P=0,3545$ ), semelhante aos resultados obtidos por Pagan *et al.* (1995), Gentry *et al.* (1999) e Jordão *et al.* (2010) que também avaliaram o efeito da suplementação de Cr. Embora tenha ocorrido tendência ( $P=0,0605$ ), as concentrações sanguíneas de glicose durante a etapa de recuperação não diferiram entre os testes de marcha. Foram registradas as médias de 3,64 mmol/L ao final do exercício, de 3,79 mmol/L aos 5 minutos de recuperação, de 3,68 mmol/L aos 30 minutos e de 3,73 mmol/L aos 60 minutos de recuperação após o teste (Tabela 9). Entretanto, esses valores não diferiram entre si ( $P=0,6317$ ).

Tabela 9. Valores médios de glicemia (mmol/L) mensurados em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) ao final do exercício (Final) e aos 5, 30 e 60 minutos de recuperação do Teste 1 (7 dias de condicionamento) e do Teste 3 (42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação (CV)

	Momento de recuperação				Média	CV (%)
	Final	5'	30'	60'		
<b>Controle (n=5)</b>	3,47	3,50	3,45	3,64	3,51 <sup>A</sup>	
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	3,76	3,88	4,04	3,86	3,88 <sup>A</sup>	28,68 <sup>*</sup>
<b>Cromo (n=4)</b>	3,73	4,06	3,61	3,73	3,79 <sup>A</sup>	
<b>Média</b>	3,64 <sup>a</sup>	3,79 <sup>a</sup>	3,68 <sup>a</sup>	3,73 <sup>a</sup>		11,47 <sup>†</sup>

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos de suplementação nutricional pelo Tukey (P<0,05); médias na linha seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os momentos dos testes de marcha pelo Tukey (P<0,05); <sup>\*</sup> Coeficiente de variação entre os grupos de suplementação nutricional; <sup>†</sup> Coeficiente de variação entre os momentos dos testes de marcha

#### 4.1.4. Triglicérides

Não foi encontrado efeito da suplementação (P=0,0668) de Cr ou de LC nas concentrações séricas de triglicérides durante os testes de marcha (Tabela 10). A insulina inibe a mobilização lipídica de adipócitos (Boffi, 2006). Dessa forma, ao modular os efeitos e concentrações sanguíneas desse hormônio, o Cr pode ter efeito sobre as concentrações sanguíneas de triglicérides, glicerol e ácidos graxos livres. Entretanto, assim como no presente estudo, não foi observado efeito da suplementação do Cr nas concentrações de triglicérides antes e após testes de marcha a campo (Jordão *et al.*, 2010; Rezende *et al.*, 2014) e nem nas concentrações de ácidos graxos livres de éguas adultas em repouso (Gentry *et al.*, 1999). Por outro lado, Pagan *et al.* (1995) relataram maiores concentrações de triglicérides no período após o exercício de animais suplementados com Cr e atribuíram esse efeito à menor concentração de insulina, que possivelmente resultou em maior mobilização lipídica durante a execução do exercício. A divergência entre os resultados pode estar relacionada à intensidade do exercício, uma vez que os animais do trabalho de Pagan *et al.* (1995) realizaram teste progressivo em esteira ergométrica, o qual possui maior intensidade que os testes de marcha

a campo de Jordão *et al.* (2010) e de Rezende *et al.* (2014) e que os testes de marcha em esteira ergométrica do presente estudo.

Embora a LC esteja relacionada à  $\beta$ -oxidação lipídica, alguns trabalhos que avaliaram sua suplementação para equinos relataram ausência de efeito sobre as concentrações sanguíneas de triglicérides (Van Weyenberg *et al.*, 2009; Schmengler, *et al.*, 2013), da mesma forma que ocorreu no presente estudo. Entretanto, Chrobok (2000) relatou redução das concentrações de ácidos graxos livres antes e durante a realização de exercícios de animais suplementados com LC. No presente estudo, houve tendência ( $P=0,0668$ ) de menor concentração sanguínea de triglicérides do grupo suplementado com LC em relação aos grupos Cr e Controle, embora não tenha ocorrido diferença significativa (Tabela 10). A redução da concentração sanguínea de ácidos graxos livres ou de triglicérides durante o exercício de animais suplementados pode ser justificada pelo aumento da captação de ácidos graxos livres para a  $\beta$ -oxidação mediada pela LC (Chrobok, 2000).

Tabela 10. Médias da concentração sanguínea de triglicérides (mg/dL) mensuradas em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) e coeficiente de variação (CV)

	Momento dos Testes de Marcha								Média	CV (%)
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'		
<b>Controle (n=5)</b>	30	34	34	34	35	37	38	38	35 <sup>A</sup>	
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	25	26	26	27	29	27	28	29	27 <sup>A</sup>	70,62*
<b>Cromo (n=4)</b>	30	33	32	35	35	35	36	35	34 <sup>A</sup>	

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos de suplementação nutricional pelo Tukey ( $P<0,05$ ); \* Coeficiente de variação entre os grupos de suplementação nutricional

As concentrações séricas de triglicérides durante o exercício (Figura 7 e Tabela 11) não diferiram entre os testes de marcha ( $P=0,5304$ ). No trabalho de Abrantes (2013), as concentrações séricas de triglicérides variaram entre os cinco testes de marcha realizados ao longo dos 93 dias de condicionamento, mas não foi demonstrada nenhuma tendência. Assim como no presente estudo, os valores mantiveram-se dentro dos limites de referência para a espécie equina, de 6 a 54 mg/dL, segundo Kaneko *et al.* (2008).

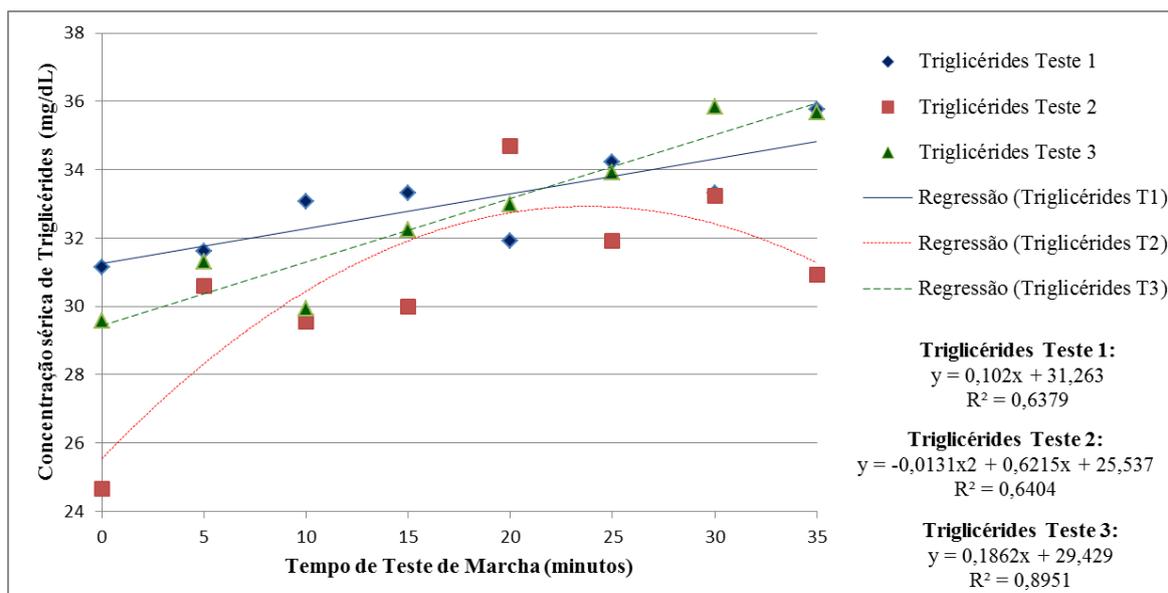


Figura 7. Médias das concentrações séricas de triglicérides (mg/dL) antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) obtidas em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de treinamento, Teste 2: 21 dias de treinamento e Teste 3: 42 dias de treinamento), curvas de regressões com suas respectivas equações e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) corrigidos

Tabela 11. Valores médios da concentração sanguínea de triglicérides (mg/dL) obtidos antes do exercício (0 minuto), ao final do aquecimento (5 minutos) e a cada 5 minutos durante a marcha na velocidade de 3,5 m/s (10, 15, 20, 25, 30 e 35 minutos) mensurados em cada teste de marcha (Teste 1: 7 dias de condicionamento, Teste 2: 21 dias de condicionamento e Teste 3: 42 dias de condicionamento), coeficientes de variação (CV) e (n=13)

	Momento do Teste de Marcha								Média	CV (%)
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'		
<b>Teste 1</b>	31	32	33	33	32	34	33	36	33 <sup>A</sup>	
<b>Teste 2</b>	25	30	30	30	35	32	33	31	31 <sup>A</sup>	50,50*
<b>Teste 3</b>	29	31	30	32	33	34	36	36	33 <sup>A</sup>	
<b>Média</b>	28 <sup>c</sup>	31 <sup>bc</sup>	31 <sup>bc</sup>	32 <sup>ab</sup>	33 <sup>ab</sup>	33 <sup>ab</sup>	34 <sup>a</sup>	34 <sup>a</sup>		13,94 <sup>†</sup>

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os testes de marcha pelo Tukey ( $P < 0,05$ ); médias na linha seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os momentos do teste pelo Tukey ( $P < 0,05$ ); \* Coeficiente de variação entre testes de marcha; † Coeficiente de variação entre os momentos dos testes de marcha

As concentrações séricas de triglicérides diferiram ( $P < 0,0000$ ) entre os tempos avaliados (Tabela 11). Houve incremento progressivo da concentração sérica de triglicérides ao longo da realização dos testes (Tabela 11). De acordo com Pagan *et al.* (1987) e Rose *et al.* (1991), ocorre aumento progressivo da oxidação lipídica com o aumento da duração do exercício principalmente durante exercícios de intensidades baixa a moderada, e, diferentemente de outros animais atletas, nos equinos há aumento das triglicérides circulantes durante a execução do exercício (Pösö *et al.*, 1989). Por outro lado, tanto Abrantes (2013) quanto Rezende *et al.* (2014) relataram que as concentrações séricas de triglicérides avaliadas antes do exercício não diferiram das concentrações avaliadas logo após o final de testes de marcha realizados a campo. Já no presente estudo, as concentrações séricas de triglicérides durante a marcha, dos 15 aos 35 minutos de teste, diferiram da concentração obtida antes do exercício (0 minuto) (Tabela 11).

Durante a etapa de recuperação após o exercício, não houve efeito ( $P = 0,4521$ ) da suplementação de Cr ou de LC sobre as concentrações séricas de triglicérides (Tabela 12). Assim como no presente estudo, a suplementação de Cr não alterou as concentrações séricas de triglicérides durante a recuperação nos trabalhos de Gentry *et al.* (1999) e de Jordão *et al.* (2010), mas Pagan *et al.* (1995) relataram maiores concentrações aos 15 e 30 minutos de recuperação no grupo suplementado. As concentrações séricas de triglicérides não diferiram ( $P = 0,6015$ ) entre os testes de marcha, mas diferiram ( $P = 0,0161$ ) entre os tempos avaliados (Tabela 12). Considerando as médias do primeiro e terceiro testes de marcha, registraram-se 35 mg/dL ao final do teste, 30 mg/dL aos 5 minutos, 35 mg/dL aos 30 minutos e 34 mg/dL aos 60 minutos de recuperação após o fim dos testes de marcha (Tabela 12).

Tabela 12. Valores médios da concentração sanguínea de triglicérides (mg/dL) mensurados em cada grupo (Controle, L-Carnitina e Cromo) ao final do exercício (Final) e aos 5, 30 e 60 minutos de recuperação do Teste 1 (7 dias de condicionamento) e do Teste 3 (42 dias de condicionamento) e coeficientes de variação (CV)

	Momento de recuperação				Média	CV (%)
	Final	5'	30'	60'		
<b>Controle (n=5)</b>	36	33	39	39	37 <sup>A</sup>	
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	30	27	35	32	31 <sup>A</sup>	58,59 <sup>*</sup>
<b>Cromo (n=4)</b>	37	31	31	31	32 <sup>A</sup>	
<b>Média</b>	35 <sup>a</sup>	30 <sup>b</sup>	35 <sup>a</sup>	34 <sup>ab</sup>		16,38 <sup>†</sup>

Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos de suplementação nutricional pelo Tukey (P<0,05); médias na linha seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os momentos dos testes de marcha pelo Tukey (P<0,05); <sup>\*</sup> Coeficiente de variação entre os grupos de suplementação nutricional; <sup>†</sup> Coeficiente de variação entre os momentos dos testes de marcha

## 4.2. Morfometria das fibras musculares

### 4.2.1. Proporção do número de fibras musculares

A proporção do número de fibras musculares dos tipos I (P=0,3197), IIA (P=0,0518) e IIX (P=0,0529) não sofreu efeito da suplementação de Cr ou de LC (Tabela 13). Resultado contrastante foi relatado por Rivero *et al.* (2002), os quais avaliaram o efeito da administração oral de 10 g diárias de LC para equinos da raça *Standardbred* e encontraram aumento da porcentagem das fibras tipo IIA ( $\Delta 23\%$ , P<0,05) após 5 semanas de suplementação concomitante a exercícios de condicionamento físico em esteira ergométrica. Essa adaptação muscular desapareceu após 5 semanas com contínua suplementação de LC e sem realização de exercícios físicos, o que sugeriu que a suplementação de LC potencializou os efeitos do condicionamento nas adaptações musculares. As cinco semanas de condicionamento foram compostas por exercícios de duração de 15 minutos na intensidade de 100 a 140% da VL<sub>4</sub><sup>24</sup>

<sup>24</sup> VL<sub>4</sub>: velocidade em que a concentração sanguínea ou plasmática de lactato é 4 mmol/L

em dias alternados aos exercícios de duração de 60 a 90 minutos na intensidade da 65% VLa4. Nesse caso, a maior intensidade dos exercícios (máximo de 100 a 140% da VLa4) do estudo de Rivero *et al.* (2002) comparada ao do presente estudo (máximo de 80% do limiar de lactato) pode justificar a divergência dos resultados, pois segundo Rivero *et al.* (2007), a conversão entre os tipos de fibras musculares parece ser mais dependente da intensidade do exercício do que de sua duração.

Houve tendência ( $P=0,0518$ ) da proporção das fibras do tipo IIA ser menor no grupo suplementado com Cr em comparação ao grupo controle, e tendência ( $P=0,0529$ ) de maior proporção de fibras IIX do grupo suplementado com Cr em relação ao grupo controle (Tabela 13). Segundo Rivero *et al.* (1993), equinos de excelente desempenho na atividade de enduro equestre apresentaram maior porcentagem e maior tamanho das fibras do tipo I e do tipo IIA e menor porcentagem das fibras do tipo IIX que os equinos de desempenho moderado nessa modalidade. Seguindo esse raciocínio, o aumento da relação das fibras do tipo IIX:IIA pode não ser desejável nos equinos da raça Mangalarga Marchador em treinamento para provas de marcha. Como essa prova é realizada em velocidade média de 12 km/h (3,3 m/s) durante aproximadamente 70 minutos, a capacidade de resistência muscular é primordial em relação à velocidade de contração muscular. Sendo assim, as adaptações musculares desejáveis seriam o aumento da proporção de fibras oxidativas de contração lenta (tipo I) e de fibras de contração rápida de metabolismo misto (tipo IIA, glicolíticas e oxidativa) no intuito de conferir maior resistência e postergar o início da fadiga. Como consequência, haveria redução proporcional das fibras do tipo IIX glicolíticas, o que resultaria em menor relação IIX:IIA. Apesar disso, não é possível concluir que a suplementação de Cr provoca alterações musculares indesejáveis aos equinos em treinamento para provas de marcha, pois a tendência encontrada no presente estudo pode estar relacionada ao fato de que a média da proporção de fibras do tipo IIA do grupo suplementado com Cr tendeu a ser menor que os demais grupos desde o início (com 7 dias de treinamento e suplementação) (Tabela 13).

Não houve efeito do condicionamento físico na proporção das fibras musculares do tipo I ( $P=0,6651$ ), do tipo IIA ( $P=0,3276$ ) e do tipo IIX ( $P=0,6369$ ) de potras da raça Mangalarga Marchador (Tabela 13). A ausência de efeito do condicionamento na proporção dos tipos de fibras musculares do presente estudo contrasta com os relatos da literatura. Conforme demonstrado no quadro 4, Serrano *et al.* (2000), Rivero *et al.* (2001), Rivero *et al.* (2002) e D'Angelis *et al.* (2005) relataram que o condicionamento de equinos em intensidades abaixo da velocidade em que a lactatemia é 4 mmol/L (VLa4) foi relacionado ao aumento da capacidade oxidativa muscular ocasionada pelas alterações das proporções dos tipos de fibras

musculares seguindo a seguinte ordem: IIX → IIA → I, principalmente com aumento da razão IIA:IIX (Rivero, 2007). O período de condicionamento de seis semanas do presente estudo pode ter sido insuficiente para determinar tais alterações, uma vez que Serrano *et al.* (2000), Rivero *et al.* (2001) e D'Angelis *et al.* (2005) utilizaram período de 12 a 18 semanas. Por outro lado, Rivero *et al.* (2002) utilizaram período inferior de condicionamento de cinco semanas, mas composto por exercícios de maior intensidade que o presente estudo. A divergência entre os resultados do presente estudo e dos demais trabalhos pode então ser justificada pela diferença no volume total de exercício (combinação de intensidade e duração), pois segundo Rivero *et al.* (2007), esse é o principal determinante do tipo e da magnitude das adaptações musculares.

Tabela 13. Proporção do número de fibras musculares (%N) dos tipos I, IIA e IIX de potras da raça Mangalarga Marchador no início (7 dias de treinamento) e no final de 42 dias de condicionamento aeróbio, suplementadas com L-Carnitina ou Cromo ou sem suplementação (Controle)

	I		IIA		Média	IIX		Média
	INÍCIO	FINAL	INÍCIO	FINAL		INÍCIO	FINAL	
<b>Controle (n=5)</b>	29,6 ± 7,1	32,7 ± 9,1	39,5 ± 8,3	39,3 ± 5,8	39,4 ± 6,9 <sup>E.M.</sup>	30,9 ± 7,9	28,0 ± 8,3	29,5 ± 8,0 <sup>E.M.</sup>
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	27,5 ± 3,8	27,8 ± 6,5	40,2 ± 5,2	37,17 ± 6,8	38,7 ± 6,1	32,3 ± 5,8	35,0 ± 7,1	33,7 ± 6,4
<b>Cromo (n=4)</b>	31,1 ± 5,7	30,28 ± 9,3	35,23 ± 1,5	32,93 ± 9,0	34,1 ± 6,5 <sup>E.M.</sup>	33,7 ± 5,7	36,8 ± 7,5	35,2 ± 6,6 <sup>E.M.</sup>
<b>Média</b>	29,4 ± 5,8	30,5 ± 8,4	38,4 ± 6,1	36,7 ± 7,5	37,5 ± 6,8	32,2 ± 6,5	32,9 ± 8,4	32,5 ± 7,4
<b>Significância (P)</b>								
<b>Suplementação</b>	0,3197		0,0518 <sup>E.M.</sup>		0,0529 <sup>E.M.</sup>			
<b>Condicionamento</b>	0,6651		0,3276		0,6369			
<b>Condicionamento X Suplementação</b>	0,6978		0,8036		0,3696			

Dados apresentados como média ± desvio padrão da média; E.M.= Efeito marginal entre suplementação (colunas)

Quadro 4. Adaptações musculares ocasionadas por diferentes programas de condicionamento físico de equinos (Adaptado de Rivero, 2007)

Referência	Estímulo	Duração e/ou distância	Frequência	Duração	Duração total	Respostas musculares
Serrano <i>et al.</i> (2000) Raça Andaluz 4 anos de idade	<u>Treinamento básico</u> 25 a 30% VLa4	45 min manhã (livre) 60 min tarde (com cavaleiro)	5 dias/semana	12 semanas	3 meses	↑ Razão das fibras IIA:IIX (17%) ↑ Área das fibras tipo IIA (16%)
	<u>Treinamento específico</u> 50 a 60% VLa4	45 min manhã (livre) 75 a 120 min tarde (com cavaleiro)	5 dias/semana	18 semanas	8 meses	↑ Razão das fibras I:II (35%) ↑ Razão das fibras IIA:IIX (23%) ↑ Área das fibras IIA (13%)
Rivero <i>et al.</i> (2001) Raça Andaluz 4 anos de idade	<u>Treinamento básico</u> 25% VLa4	45 min manhã (livre) 60 min tarde (com cavaleiro)	3 dias/semana	12 semanas	3 meses	↑ Razão das fibras IIA:IIX ↑ Diâmetro das fibras tipo I (15%) e tipo IIA (10%)
	<u>Treinamento específico</u> 50% VLa4	45 min manhã (livre) 75 a 90 min tarde (com cavaleiro)	3 dias/semana	18 semanas	8 meses	
Rivero <i>et al.</i> (2002) Raça Standardbred 2 anos de idade 10 g/d de L-Carnitina	100 a 140% VLa4  65% VLa4 (ambos em esteira)	15 minutos  60 a 90 minutos	A cada 2 dias  A cada 2 dias	5 semanas	5 semanas	↑ Porcentagem das fibras tipo IIA (35%) ↑ Razão entre as fibras IIA:I (23%) ↓ Área das fibras tipo I (34%)
D'Angelis <i>et al.</i> (2005) Raça Árabe 8 anos de idade	80% VLa4 (em esteira)  Treinamento intervalado ( <i>Farlek</i> )	50 min (10 km)	3 dias/semana	4 semanas	4 semanas	↓ Porcentagem das fibras tipo IIX (18%) ↑ Área das fibras tipo I (40%), IIA (52%) e IIX (50%) ↑ Área relativa ocupada pelas fibras tipo I (60%) e IIA (17%)
		60 min (15 km)	3 dias/semana	4 semanas	8 semanas	
		80 min (20 km)	3 dias/semana	4 semanas	12 semanas	
		68 min	1 dia/semana	4 semanas	12 semanas	

VLa4= velocidade em que a concentração sanguínea ou plasmática de lactato é 4 mmol/L

#### 4.2.2. Área média de secção transversal

A avaliação do tamanho das fibras musculares é realizada por meio da mensuração do seu diâmetro celular e uma das medidas consideradas é a área de secção transversal (Rehfeldt *et al.*, 2004).

No presente estudo, considerando as médias dos três grupos de suplementação nutricional, as fibras do tipo I apresentaram aumento de 24,1% da área média de secção transversal ( $P=0,0153$ ) após o condicionamento (Tabela 14). Entretanto, a hipertrofia ocasionada pelo período de condicionamento somente ocorreu nos grupos suplementados ( $P=0,0448$ ) com L-carnitina ou com cromo e houve tendência de hipotrofia das fibras tipo I do grupo Controle (Tabela 14). A influência do diâmetro das fibras musculares oxidativas no desempenho é controversa na literatura. Segundo Essén-Gustavsson e Lindholm (1985), equinos da raça *Standardbred* inativos apresentaram fibras mais largas que animais ativos da mesma idade. Os autores sugeriram que menor diâmetro das fibras musculares oxidativas é favorável por permitir maior rapidez de difusão de oxigênio para a fibra e maior facilidade de remoção dos produtos de degradação. Por outro lado, Rivero *et al.* (1993) relataram que equinos de excelente desempenho na atividade de enduro equestre apresentaram maior diâmetro das fibras tipo I e tipo IIA que os equinos de desempenho moderado nessa modalidade. No quadro 4, pode-se verificar que o condicionamento de equinos em intensidade abaixo da VLa4 foi relacionado à diversas alterações no tamanho das fibras musculares. Rivero *et al.* (2001) relataram hipertrofia das fibras tipo I ( $\Delta 15\%$ ) e IIA ( $\Delta 10\%$ ) após 8 meses de condicionamento de equinos da raça Andaluz. Já Serrano *et al.* (2000) relataram somente hipertrofia das fibras do tipo IIA ( $\Delta 13\%$ ) após 8 meses de programa de condicionamento semelhante ao utilizado por Rivero *et al.* (2001) de equinos também da raça Andaluz. D'Angelis *et al.* (2005) observaram hipertrofia das fibras musculares dos tipos I ( $\Delta 40\%$ ), IIA ( $\Delta 52\%$ ) e IIX ( $\Delta 50\%$ ) de equinos da raça Árabe treinados por 12 semanas, mas Rivero *et al.* (2002) encontraram hipotrofia das fibras do tipo I ( $\Delta 34\%$ ) de equinos da Raça *Standardbred* condicionados por 5 semanas e suplementados com LC. Dessa forma, a hipertrofia das fibras do tipo I dos grupos Cr e LC encontrada no presente estudo corroboram os resultados da maioria dos trabalhos citados que avaliaram as alterações musculares ocasionadas por condicionamento predominantemente aeróbio. Apesar da tendência de hipotrofia das fibras do tipo I do grupo Controle após o condicionamento, não houve

diferença entre os grupos de suplementação no desempenho físico dos animais durante os testes de marcha em esteira ergométrica. Todos os três grupos apresentaram menores valores de frequência cardíaca e lactatemia após 21 dias de condicionamento aeróbio, o que indicou efeito positivo do protocolo utilizado.

Considerando as fibras musculares tipo I (Tabela 14), houve interação entre suplementação e condicionamento ( $P=0,0448$ ). Após o período de condicionamento, os grupos suplementados com LC ( $4.142,6\mu\text{m}^2$ ) ou com Cr ( $4.220,4\mu\text{m}^2$ ) apresentaram AMST semelhantes entre si, mas maiores que a AMST do grupo controle ( $2.805,3\mu\text{m}^2$ ). Em relação ao grupo controle, a AMST do grupo Cr foi 50,5% maior e a AMST do grupo LC foi 47,7% maior. Segundo Philips *et al.* (1997), a hipertrofia das fibras musculares parece ser resultado do aumento da taxa de síntese proteica, o que contribui para o aumento da quantidade absoluta dos elementos contráteis (Campos *et al.*, 2002) e aumento da força e potência musculares (Hisaeda *et al.*, 1996). Provavelmente os suplementos fornecidos no presente estudo combinados aos estímulos do condicionamento físico aumentaram a taxa de síntese proteica das fibras musculares, pois há relatos de que o cromo quelatado aumentou o anabolismo, diminuiu o catabolismo de proteínas e provocou deposição de proteínas nas células musculares esqueléticas de ratos *in vitro* (Peng *et al.*, 2010). Já a LC foi relacionada à hipertrofia de células musculares do tipo I em humanos (Spagnoli *et al.*, 1990) e em cães (Dubelaar *et al.*, 1994), embora tenha ocorrido hipotrofia das células tipo I de equinos da raça *Standardbred* suplementados com LC e submetidos a treinamento (Rivero *et al.*, 2002).

Houve interação entre suplementação e condicionamento ( $P=0,0449$ ) na AMST das fibras tipo IIA. Apenas após o condicionamento, os grupos controle ( $3.066,15\mu\text{m}^2$ ) e suplementado com Cr ( $2.750,9\mu\text{m}^2$ ) apresentaram áreas médias de secção transversal das fibras tipo IIA semelhantes entre si e menores 18% e 26,6%, respectivamente, que a AMST do grupo suplementado com LC ( $3.746,7\mu\text{m}^2$ ). Apenas o grupo suplementado com Cr apresentou redução de 19,6% da AMST das fibras tipo IIA do início ( $3.420,1\mu\text{m}^2$ ) para o final do condicionamento ( $2.750,9\mu\text{m}^2$ ). Dessa forma, a suplementação de Cr combinada ao condicionamento aeróbio por seis semanas resultou em hipotrofia das fibras do tipo IIA das potras da raça MM.

Segundo Rivero (1997), a força gerada por uma determinada célula muscular é diretamente proporcional ao seu diâmetro. A maior proporção e maior diâmetro das fibras tipo IIA foram particularmente associada a alterações biomecânicas do trote de equinos (Persson *et al.*, 1991; Rivero e Clayton, 1996; Rivero *et al.*, 2001). No estudo de Persson *et al.* (1991), a maior porcentagem de fibras tipo IIA foi positivamente associada ao comprimento da

passada ao trote. Rivero e Clayton (1996) relataram que o número e o diâmetro das fibras tipo IIA foram correlacionados negativamente com o tempo de apoio do trote, já o diâmetro das fibras teve correlação positiva com a frequência das passadas de equinos jovens da raça Andaluz. Rivero *et al.* (2001) relataram que, após oito meses de treinamento aeróbio, houve aumento do número ( $\Delta 25\%$ ,  $P < 0,01$ ) e do diâmetro menor ( $\Delta 10\%$ ,  $P < 0,05$ ) de fibras tipo IIA, aumento da frequência da passada ( $\Delta 6\%$ ,  $P < 0,05$ ), redução do tempo de passada ( $\Delta 6\%$ ,  $P < 0,05$ ) e redução do tempo de apoio ( $\Delta 10\%$ ,  $P < 0,05$ ) durante o trote. As alterações da dinâmica de movimentação dos equinos de trote relatadas pelos trabalhos anteriores devem ser investigadas nos equinos da raça Mangalarga Marchador, pois a marcha é avaliada qualitativamente durante os Concursos de marcha. Dessa forma, a maior área das fibras do tipo IIA dos animais suplementados com LC em relação aos outros grupos obtida ao final do período de condicionamento ou a hipotrofia desse tipo de fibra ocasionada pela suplementação de Cr após o condicionamento podem ter atuações distintas e significativas no padrão de movimentação da marcha e influenciarem a qualidade do andamento.

No presente estudo, apesar de maior AMST da fibra do tipo IIA observada no grupo suplementado com LC em comparação aos demais grupos (Tabela 14), não foi evidenciado efeito da suplementação de LC em nenhuma das variáveis avaliadas nos testes de marcha em esteira ergométrica. Entretanto, a intensidade do protocolo do teste de marcha utilizado pode ter sido insuficiente para demonstrar os efeitos de melhor desempenho dos animais suplementados com LC. Comportamento semelhante em relação à atuação da suplementação de LC nas fibras musculares e no desempenho de equinos foi relatado por (Rivero *et al.*, 2002) e Niemeyer *et al.* (2005). A suplementação oral de 10 g de LC para equinos da raça *Standardbred* durante cinco semanas de condicionamento proporcionou aumento da porcentagem de fibras musculares do tipo IIA ( $\Delta 35\%$ ,  $P < 0,05$ ), atrofia das fibras tipo I ( $\Delta 24\%$ ,  $P < 0,01$ ), aumento da relação capilar por fibra ( $\Delta 40\%$ ,  $P < 0,01$ ), aumento da densidade capilar ( $\Delta 35\%$ ,  $P < 0,01$ ) e aumento do estoque de glicogênio intracelular ( $\Delta 11\%$ ,  $P < 0,05$ ) (Rivero *et al.*, 2002). Entretanto, as alterações musculares provocadas pela suplementação de LC não resultaram em melhora do desempenho dos animais quando Niemeyer *et al.* (2005) avaliaram a frequência cardíaca e lactato sanguíneo durante o exercício submáximo e na recuperação dos mesmos equinos jovens da raça *Standardbred* utilizados no experimento de Rivero *et al.* (2002). Os autores sugeriram que a produção endógena de LC supriu as exigências durante e após o exercício, o que também pode ter acontecido no presente estudo durante os testes de marcha em esteira ergométrica.

No presente estudo, as fibras do tipo IIX não apresentaram alterações significativas da AMST ocasionadas pela suplementação ( $P=0,3399$ ) ou pelo condicionamento físico ( $P=0,1987$ ) e também não foi encontrada interação entre condicionamento e suplementação ( $P=0,3972$ ) (Tabela 14). Esses resultados corroboram os achados de Serrano *et al.* (2000), Rivero *et al.* (2001) e Rivero *et al.* (2002), os quais relataram ausência de alteração na área das fibras do tipo IIX após o período de condicionamento físico aeróbio. Conforme ilustrado no quadro 4, apenas D'Angelis *et al.* (2005) relataram aumento de 50% da área das fibras do tipo IIX após 12 semanas de condicionamento físico de equinos da raça árabe. A diferença dos resultados de hipertrofia das fibras do tipo IIX de D'Angelis *et al.* (2005) em relação à ausência de alterações do presente estudo e dos demais trabalhos citados (Serrano *et al.*, 2000, Rivero *et al.*, 2001 e Rivero *et al.*, 2002) pode estar relacionada aos exercícios do tipo intervalado (*Speed play* ou *Farlek*) realizados pelos equinos de D'Angelis *et al.* (2005) nas últimas 4 semanas do período de condicionamento físico. Segundo Rivero (2007), as unidades motoras dos diferentes tipos de fibras são recrutadas de forma progressiva conforme ocorre aumento da intensidade e da duração do exercício seguindo a ordem  $I \rightarrow IIA \rightarrow IIX$ . Dessa forma, os exercícios de aceleração realizados pelos animais de D'Angelis *et al.* (2005) foram suficientes para recrutarem as fibras do tipo IIX. Já os protocolos de exercícios dos demais trabalhos (Serrano *et al.*, 2000, Rivero *et al.*, 2001 e Rivero *et al.*, 2002) e do presente estudo provavelmente tiveram intensidade insuficiente para recrutar as fibras do tipo IIX e para proporcionar estímulo de hipertrofia dessas fibras em resposta ao condicionamento físico.

Tabela 14. Área média de secção transversal (AMST) em  $\mu\text{m}^2$  de fibras musculares dos tipos I, IIA e IIX de potras da raça Mangalarga Marchador no início e ao final de 42 dias de condicionamento aeróbio, suplementadas com L-Carnitina ou Cromo ou sem suplementação (Controle)

	I		IIA		IIX	
	INÍCIO	FINAL	INÍCIO	FINAL	INÍCIO	FINAL
<b>Controle (n=5)</b>	3.117,5±1.018,3	2.805,3±668,6 <sup>b</sup>	3.291,2±302,1	3.066,15±537,2 <sup>b</sup>	5.218±869,6	5.217,9±1.354,5
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	2.852,7±889 <sup>B</sup>	4.142,6±1.262,6 <sup>Aa</sup>	3.273,3±596,7	3.746,7±1.062,7 <sup>a</sup>	5.812,8±1.576,7	5.543,2±1.611,0
<b>Cromo (n=4)</b>	2.813,17±509,7 <sup>B</sup>	4.220,4±1.965,7 <sup>Aa</sup>	3.420,1±438,7 <sup>A</sup>	2.750,9±682,6 <sup>Bb</sup>	5.583,2±1.015,1	4.364,3±1.669,0
<b>Média</b>	2.942,4±829 <sup>B</sup>	3.652,2±1.468,5 <sup>A</sup>	3.325,4±436,7	3.178,5±846,7	5.513,4±1.149,8	5.055,4±1.551,4
<b>Significância (P)</b>						
<b>Suplementação</b>	0,2491		0,1446		0,3399	
<b>Condicionamento</b>	0,0153*		0,4307		0,1987	
<b>Condicionamento X Suplementação</b>	0,0448*		0,0449*		0,3972	

Dados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão da média; médias e desvios padrões seguidos por letras maiúsculas na linha diferem entre si pelo efeito do condicionamento ( $P < 0,05$ ); médias e desvios padrões seguidos por letras minúsculas na coluna diferem entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ); \* = significativo ( $P < 0,05$ )

### 4.2.3. Área total relativa

A área total relativa é o produto entre a proporção do número de fibras musculares de cada tipo e a sua área média de secção transversal, ou seja,  $\%ATR = \%N \times AMST$ . No presente estudo, houve efeito da suplementação ( $P=0,0219$ ) na área total relativa ( $\%ATR$ ) das fibras do tipo IIA (Tabela 15). O grupo suplementado com Cr apresentou a menor  $\%ATR$  (27,5%) e o grupo Controle apresentou a maior  $\%ATR$  de fibras tipo IIA (34,3%). Entretanto, o grupo suplementado com LC apresentou  $\%ATR$  intermediária (32,3%) e não diferiu dos demais grupos (Cr e Controle). Não houve efeito da suplementação na área total relativa das fibras do tipo I ( $P=0,3356$ ) e do tipo IIX ( $P=0,4056$ ).

A tendência de menor proporção do número ( $\%N$ ) de fibras do tipo IIA do grupo Cr em comparação ao grupo controle discutida anteriormente ficou mais bem evidenciada na avaliação da  $\%ATR$ , a qual é o produto entre a AMST e a  $\%N$ . A hipotrofia das fibras do tipo IIA do grupo Cr após o condicionamento físico também contribuiu para a menor  $\%ATR$ . Dessa forma, a redução da área relativa de secção transversal das fibras do tipo IIA ocasionada pela suplementação do Cr pode implicar em perda da velocidade de contração muscular e da capacidade mista glicolítica e oxidativa proporcionadas por esse tipo de fibra. Entretanto, não houve diferença entre os grupos de suplementação no desempenho físico dos animais durante os testes de marcha em esteira ergométrica realizados no presente estudo. Novos estudos devem ser realizados com maior número de animais e com maior tempo de suplementação de Cr para confirmar a possível atuação negativa no tamanho e na  $\%ATR$  das fibras do tipo IIA.

As fibras musculares do tipo I apresentaram aumento ( $P=0,0158$ ) da área total relativa ( $\Delta 31,36\%$ ) após o período de condicionamento (Tabela 15). Isso foi ocasionado pela hipertrofia demonstrada pelo aumento ( $P=0,0153$ ) da AMST ( $\Delta 24,1\%$ ) dessas fibras (Tabela 14) sem, no entanto, ocorrer aumento significativo da proporção do número de fibras do tipo I (Tabela 13). Já a  $\%ATR$  das fibras do tipo IIA ( $P=0,1289$ ) e do tipo IIX ( $P=0,1028$ ) não foram alteradas pelo condicionamento. Esses resultados indicam que o protocolo de condicionamento utilizado promoveu aumento da capacidade metabólica oxidativa da musculatura dos animais e, conseqüentemente, beneficiou o condicionamento físico das potras. Apesar da baixa intensidade dos testes de marcha em esteira do presente estudo, os

dados de frequência cardíaca e lactato obtidos nos três testes sugerem efeito positivo do condicionamento e corroboram os achados de morfometria muscular.

D'Angelis *et al.* (2005) encontraram resultados semelhantes aos do presente estudo. Após 90 dias de condicionamento aeróbio em esteira ergométrica de equinos da raça Árabe, houve aumento da %ATR das fibras do tipo I, enquanto a %ATR das fibras do tipo IIA e do tipo IIX permaneceram inalteradas. Assim como no presente estudo, o aumento da %ATR das fibras do tipo I também foi atribuído à hipertrofia desse tipo de fibra ocasionado pelo condicionamento. Embora no trabalho de D'Angelis *et al.* (2005) tenha ocorrido hipertrofia das fibras do tipo IIX, os autores justificaram que não houve aumento da %ATR desse tipo de fibra devido à redução de sua frequência provocada pelo condicionamento aeróbio. Por outro lado, D'Angelis *et al.* (2008) determinaram as adaptações do músculo *Gluteus medius* de cavalos da raça Brasileiro de Hipismo (BH), que participaram de atividades físicas leves por 10 meses. Os autores relataram aumento da %ATR das fibras do tipo IIA após o condicionamento e o atribuíram tanto à hipertrofia quanto ao aumento da proporção do número de fibras do tipo IIA.

Tabela 15. Área total relativa (%ATR) de fibras musculares dos tipos I, IIA e IIX de potras da raça Mangalarga Marchador no início e ao final de 42 dias de condicionamento aeróbio, suplementadas com L-Carnitina ou Cromo ou sem suplementação (Controle)

	<b>I</b>		<b>IIA</b>		<b>Média</b>	<b>IIX</b>	
	<b>INÍCIO</b>	<b>FINAL</b>	<b>INÍCIO</b>	<b>FINAL</b>		<b>INÍCIO</b>	<b>FINAL</b>
<b>Controle (n=5)</b>	23,4 ± 5,5	26,3 ± 668,6	34,7 ± 8,5	33,9 ± 6,2	34,3 ± 7,3 <sup>a</sup>	41,9 ± 9,3	39,8 ± 9,8
<b>L-Carnitina (n=4)</b>	19,9 ± 6,9	26,4 ± 11,2	33,4 ± 5,8	31,1 ± 8,07	32,3 ± 6,9 <sup>ab</sup>	46,7 ± 7,6	42,4 ± 6,8
<b>Cromo (n=4)</b>	22,33 ± 6	34,7 ± 17,8	30,6 ± 3,1	24,3 ± 9,4	27,5 ± 7,5 <sup>b</sup>	47,1 ± 7,0	41 ± 11,7
<b>Média</b>	22,0 ± 6,0 <sup>B</sup>	28,9 ± 13,4 <sup>A</sup>	33,1 ± 6,5	30,1 ± 8,6	31,6 ± 7,7	44,9 ± 8,2	40,9 ± 9,4
<b>Significância (P)</b>							
<b>Suplementação</b>	0,3356		0,0219*		0,4056		
<b>Condicionamento</b>	0,0158*		0,1289		0,1028		
<b>Condicionamento X Suplementação</b>	0,4033		0,5165		0,8016		

Dados apresentados como média ± desvio padrão da média; médias e desvios padrões seguidos por letras maiúsculas na linha diferem entre si pelo efeito do condicionamento (P<0,05); médias e desvios padrões seguidos por letras minúsculas na coluna diferem entre os tratamentos (P<0,05); \* = significativo (P<0,05)

## 5. CONCLUSÕES

A suplementação diária de 10 mg de cromo quelatado ou de 10 g de L-carnitina não influencia o condicionamento físico de potras da raça Mangalarga Marchador submetidas a teste de marcha em esteira ergométrica na velocidade de 3,5 m/s, 3% de inclinação e duração de 40 minutos.

O protocolo de condicionamento em esteira ergométrica proposto melhora o condicionamento físico de potras da raça Mangalarga Marchador após 21 dias.

O condicionamento aeróbio em esteira ergométrica (máximo de 80% do limiar de lactato) concomitante ao fornecimento diário de 10 mg de cromo quelatado por seis semanas não provoca remodelação dos tipos de fibras musculares, mas resulta em hipertrofia das fibras musculares do tipo I e hipotrofia das fibras do tipo IIA. O mesmo protocolo de condicionamento combinado à suplementação diária de 10 g de L-carnitina por seis semanas também não atua na remodelação dos tipos de fibras musculares, mas provoca hipertrofia das fibras do tipo I e do tipo IIA de potras da raça Mangalarga Marchador.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, R. G. P.; REZENDE, A. S. C.; SANTIAGO, J. M. et al. Protocolo para treinamento de equinos Mangalarga Marchador para Concurso de Marcha. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49, 2012, Brasília. *Anais...* Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2012. (CD-ROM).

ABRANTES, R. G. P. *Validação de um protocolo de treinamento para provas de marcha da raça Mangalarga Marchador*. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ALKONYI, I.; KERNER, J.; SANDOR, A. The possible role of carnitine and carnitine acetyltransferase in the contracting frog skeletal muscle. *FEBS Lett.*, v. 52, p. 265-268, 1975.

ANDERSON, R. A.; KOLOZLOVSKY, A. S. Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self-selected diets. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.41, p. 1177-1183, 1985.

ANDERSON, R.A.; BRYDEN, N. A.; POLANSKY, M. M. ; DEUSTER, P.A. Exercise effects on chromium excretion of trained and untrained men consuming a constant diet. *J. Appl. Physiol.*, v.64, p. 249-252, 1988.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALO MANGALARGA MARCHADOR. ABCCMM. *Regulamento do serviço de registro genealógico do Cavalo Mangalarga Marchador*. Belo Horizonte: ABCCMM, 2007. 36p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALO MANGALARGA MARCHADOR. ABCCMM. *Regulamento Geral para Eventos Oficializados do Cavalo Mangalarga Marchador*. Belo Horizonte: ABCCMM, 2009, 54p.

BENAMOU, A. E.; HARRIS, R. C. Effect of carnitine supplement to the dam on plasma carnitine concentration in the sucking foal. *Equine Vet. J.*, v. 25, n. 1, p. 49-52, 1993.

BARREY, E.; GALLOUX, P.; VALETTE, J. P. et al. Determination of the optimal treadmill slope for reproducing the same cardiac response in saddle horses as overground exercise conditions. *Vet. Rec.*, v. 133, p. 183-185, 1993.

- BOFFI, F. M. Metabolismos energéticos y ejercicio. In: BOFFI, F. M. *Fisiología del ejercicio em equinos*. Buenos Aires: Inter-Médica, Argentina. cap. 1, p. 3-12, 2006.
- BRASS, B. P. Supplemental carnitine and exercise. *Am. J. Clin. Nutr.*, Supl. 77, p. 618-623, 2000.
- BREMER, J. Carnitine-metabolism and functions. *Physiol. Reviews*, v. 63, p. 1420-1480, 1983.
- BURTON, J. L.; MALLARD, B. A.; MOWAT, D. N. Effects of supplemental chromium on immune responses of periparturient and early lactation dairy cows. *J. Anim. Sci.*, v.71, p. 1532-1539, 1993.
- CABRAL, G. C.; ALMEIDA, F. Q.; QUIRINO, C. R. et al. Avaliação morfolométrica de equinos da raça Mangalarga Marchador: medidas lineares. *R. Bras. Zootec.*, v. 33, n. 4, p. 989-1000, 2004.
- CAMPOS, G. E. R.; LUECKE T. J.; WENDELN, H. K. et al. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 88, p. 50-60, 2002.
- CARROLL, C. L.; HUNTINGTON, P. J. Body Condition Scoring and Weight Estimation of Horses. *Equine Vet. J.*, v. 20, n. 1, p. 41-45, 1988.
- CASIUCH, R. *O romance da raça: histórias do cavalo Mangalarga Marchador*. São Paulo: Empresa das Artes, 1997. 254p.
- CEFALU, W. T.; WANG, Z. Q.; ZHANG, X. H. et al. Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle Glut-4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats. *J. Nutr.*, v.132, p. 1107-1114, 2002.
- CHAMEROY, K. A.; FRANL, N.; ELLIOTT, S. B.; BOSTON, R. C. Effects of a supplement containing chromium and magnesium on morphometric measurements, resting glucose, insulin concentrations and insulin sensitivity in laminitic obese horses. *Equine Vet. J.*, v.43, n.4, p. 494-499, 2011.
- CHANG, X.; MOWAT, D. N. Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves. *J. Anim. Sci.*, v.70, p. 559-565, 1992.

CHROBOK, C. *Effekt einer L-Carnitinzulage auf Leistungsparameter und den Muskelcarnitingehalt bei jungen Trabern im Laufe eines Trainings*. 2000. 179f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade de Medicina Veterinária de Hannover, Hannover, Alemanha.

COUROUCÉ, A.; GEFFROY, O.; BARREY, E. et al. Comparison of exercise tests in French trotters under training track, racetrack and treadmill conditions. *Equine Vet. J.*, S.30, p. 528-531, 1999.

COUROUCÉ, A.; CORDE, R.; VALETTE, J. P. Comparison of some responses to exercise on the track and the treadmill in French trotters: Determination of the optimal treadmill incline. *Vet. J.*, v. 159, n. 1, p. 53-63, 2000.

D'ANGELIS, F.H.F. *Avaliação do efeito da suplementação prolongada com creatina sobre músculos estriados esqueléticos de equinos em treinamento aeróbico*. 2004. 83 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

D'ANGELIS, F. H. F.; FERRAZ, G. C.; BOLELI, I. C. et al. Aerobic training, but not creatine supplementation, alters the Gluteus medius muscle. *J. Anim. Sci.*, v. 85, p. 579-585, 2005.

D'ANGELIS, F. H. F.; MARTINS, C. B.; SILVA, M. A. G. et al. Composição de fibras musculares esqueléticas de equinos jovens da raça Brasileiro de Hipismo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 58, n. 4, p. 672-674, 2006.

D'ANGELIS, F. H. F.; SILVA, M. A. G.; MARTINS, C. B. et al. Light exercise causes adaptive changes in muscles of young Brasileiro de Hipismo horses. *Cienc. Rural*, v. 38, n. 5, p. 1313-1318, 2008.

DE CASTRO, I. N.; PINHEIRO, N. L.; DE LA CORTE, F. et al. Muscle fiber types in Crioulo horses. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 24, p. 204-209, 2004.

DESMECHT, D.; LINDEN, A.; AMORY, H. et al. Relationship of plasma lactate production to cortisol release following completion of different types of sporting events in horses. *Vet. Res. Commun.*, v. 20, n. 4, p. 371-179, 1996.

DONOVAN, C. M.; BROOKS, G. A. Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. *Am. J. Physiol.*, v. 244, p. 463-470, 1983.

DUBELAAR, M. –L.; GLATZ, J. F.; De JONG, Y. F. et al. L-Carnitine combined with minimal electrical stimulation promotes type transformation of canine latissimus dorsi. *J. Appl. Physiol.*, v. 76, p. 1636-1642, 1994.

DUBOWITZ, V. Definition of Pathological Changes Seen in Muscle Biopsies. In: DUBOWITZ, V.; SEWRY, C.; OLDFORS, A. (Eds) *Muscle biopsy: a practical approach*. 2<sup>nd</sup> ed. Ballière Tindall; London: 1985, p. 82–101.

EATON, M.D.; HODGSON, D. R.; EVANS, D. L. et al. Effects of low- and moderate-intensity training on metabolic responses to exercise in Thoroughbreds. *Equine Vet. J.*, Supl. 30, p. 521-527, 1999.

ENNION, S.; SANT'ANA P. J.; SARGEANT, A. J.; YOUNG, A.; GOLDSPIK, G. Characterization of human skeletal muscle fibres according to the myosin heavy chains they express. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, v. 16, p. 35-43, 1995.

ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A.; THORNTON, J. Histochemical properties of muscle fiber types and enzyme activities in skeletal muscle of Standardbred trotters of different ages. *Equine Vet. J.*, v. 12, p. 175-180, 1980.

ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A. Muscle fiber characteristics of active and inactive Standardbred horses. *Equine Vet. J.*, v. 17, p. 434-438, 1985.

EVANS, D. L. The cardiovascular system: anatomy, physiology and adaptations to exercise and training. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. (Eds.) *The athletic horse: Principles and Practice of Equine Medicine*. W. B. Saunders Company: Philadelphia, USA. cap. 7, p. 129-144, 1994.

EVANS, D. L. Exercise testing in the field. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. *Equine Sports Medicine and Surgery: Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete*. Philadelphia: Saunders, cap. 3, p. 19-31, 2004.

FALASCHINI, A.; TROMBETTA, M. E. Modifications induced by training and diet in some exercise-related blood parameters in young trotters. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 21, n. 12, p. 601-604, 2001.

FERRAZ, G. C.; D'ANGELIS, F. H. F.; TEIXEIRA-NETO, A. R. et al. Blood lactate threshold reflects glucose responses in horses submitted to incremental exercise test. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.1, p. 256-259, 2008.

FERREIRA, D.F. *Sisvar versão 4.2*. Lavras: DEX/UFLA, 2003.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *FAO Statistics Division 2012*. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acessado em: 09 março de 2014.

GALLOUX, P.; VALETTE, J. P.; BARREY, E. et al. Exercise tests in saddle horses. 1: Comparison of step tests on a track and an inclined treadmill. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 13, n. 7, p. 417-421, 1993.

GARCIA, T. R.; REZENDE, A. S. C.; TERRA, R. A. et al. Frequência cardíaca de éguas Mangalarga Marchador durante teste de marcha em esteira ergométrica realizado antes e após treinamento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, Salvador. *Anais...* Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010. (CD-ROM).

GARCIA, T. R.; REZENDE, A. S. C.; SANTIAGO, J. M. et al. Hemogasometry and blood electrolytes in Mangalarga Marchador mares subjected to aerobic training. *Ciênc. Agrotec.*, v. 37, n. 6, p. 559-565, 2013.

GENTRY, L. R.; THOMPSON, D. L.; FERNANDEZ, J. M. et al. Effects of chromium tripicolinate supplementation on plasma hormone and metabolite concentrations and immune function in adult mares. *J. Equine Vet. Sci.*, v.19, n.4, p. 259-265, 1999.

GEOR, R. J.; McCUTCHEON, L. J.; HINCHCLIFF, K. W. et al. Training-induced alterations in glucose metabolism during moderate-intensity exercise. *Equine Vet. J.*, Supl. 34, p. 22-28, 2002.

GEOR, R. J. The role of nutritional supplements and feeding strategies in equine athletic performance. *Equine Comp. Exerc. Physiol.*, v. 3, n. 3, p. 109-119, 2006.

GOTTLIEB-VEDI M. *Circulatory and muscle metabolic responses to draught work of varying intensity and duration in Standardbred horses*. 1988. Thesis, Faculty of veterinary medicine, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

GOTTLIEB, M.; ESSEN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A. et al. Effects of a draft-loaded interval-training program on skeletal muscle in the horse. *J. Appl. Physiol.*, v. 67, n. 2, p. 570-577, 1989.

GOTTLIEB-VEDI, M.; LINDHOLM, A. Comparison of standardbred trotters exercising on a treadmill and a race track with identical draught resistances. *Vet. Rec.*, v. 140, p. 525-528, 1997.

GUNN, H. M. Muscle, bone and fat proportions and muscle distribution of thoroughbreds and quarter horses. In: GILLESPIE, J. R.; ROBINSON, N. E. (Eds) *Equine Exercise Physiology 2*. Califórnia: ICEEP Publications, p. 253-264, 1987.

GUTH, L.; SAMAHA, F. J. Qualitative differences between Actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. *Exp. Neurol.*, v. 25, p. 138-152, 1969.

HARMEYER ,J. The physiological role of L-carnitine. *Lohmann Information* , v. 27, p. 1-8, 2002.

HARRIS, P. A.; HARRIS, R. C. Ergogenic potential of nutritional strategies and substances in the horse. *Livest. Prod. Sci.*, v. 92, p. 147-165, 2005.

HISAEDA, H.; MIYAGAWA, K.; KUNO, S. Y. et al. Influence of two different modes of resistance training in female subjects. *Ergonomics*, v. 39, p. 842-852, 1996.

IBEN, C.; MOSCHITZ, E.; FEHLEISEN, B. Effect of L-carnitine supplementation on heart rate and some blood parameters in the eventing horse. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, v. 86, n. 10, p. 330-338, 1999.

JORDÃO, L. R.; BERGMANN, J. A. G.; REZENDE, A. S. C. et al. Effect of feed at different times prior to exercise and chelated chromium supplementation on the athletic performance of Mangalarga Marchador mares. *Comp. Exerc. Physiol.*, v. 7, n.3, p. 133-140, 2010.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRISS, M. C. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6. ed. Amsterdam: Elsevier: Academic Press, 2008. 916 p.

LIMA, R. A. S.; SHIROTA, R.; BARROS, G. S. C. *Estudo do complexo do agronegócio cavalo: Relatório Final*. Piracicaba: CEPEA/ESALQ/USP, 2006, 251 p.

LINDHOLM, A.; SALTIN, B. The physiological and biochemical response of standardbred horses to exercise of varying speed and duration. *Acta Vet. Scand.*, v. 15, p. 310, 1974.

LINDNER, A.; BARREY, E.; FAZIO, E. et al. *Performance diagnosis of horses*. Wageningen Pers: Netherlands. Cap. 2, p.8-28, 1997.

LINDNER, A. Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of sports horses in practice. *Rev. Med. Vet.*, v.151, n.1, p. 611-618, 2000.

LINDNER, A. E.; BOFFI, F. M. Pruebas de ejercicio. In: BOFFI, F. M. *Fisiología del ejercicio en equinos*. Buenos Aires: Inter-Médica, 2006. p. 243-254.

LOUISE FOSTER, C. V.; HARRIS, R.C. Formation of acetylcarnitine in muscle of horse during high intensity exercise. *Eur. J. appl. Physiol.*, v. 56, p. 639-642, 1987.

LOUISE FOSTER, C.V.; HARRIS, R.C.; SNOW, D.H. The effect of oral L-carnitine supplementation on the muscle and plasma concentrations in the Thoroughbred horse. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 91A, n. 4, p. 827-835, 1988.

LOUISE FOSTER, C. V.; HARRIS, R. C. Total carnitine content of the middle gluteal muscle of Thoroughbred horses: normal values, variability and effect of acute exercise. *Equine Vet. J.*, v. 24, n. 1, p. 52-57, 1992.

LUKASKI, H. C. Chromium as a supplement. *Annu. Rev. Nutr.*, v.19, p. 279-302, 1999.

MARELLI, C.; FREIRE, J. M. S. *Suplementação com óleo de soja na dieta de éguas da raça Mangalarga Marchador submetidas a treinamento para provas de marcha*. 2013. 15f. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Betim.

McDOWELL, L. R. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. Amsterdam: Elsevier Science, 2003, p. 497-504.

MERTZ, W. Chromium in human nutrition: a review. *J. Nutr.*, v.123, p. 626-633, 1993.

MINGRONE, G.; GRECO, A. V.; CAPRISTO, E. et al. L-carnitine improves glucose disposal in type 2 diabetic patients. *J. Am. Coll. Nutr.*, v. 18, p. 77-82, 1999.

MOONSIE-SHAGEER, S.; MOWAT, D. N. Effect of level of supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of stressed feeder calves. *J. Anim. Sci.*, v.71, p. 232-238, 1993.

MOWAT, D. N.; CHANG, X.; YANG, W. Z. Chelated chromium for stressed feeder calves. *Can. J. Anim. Sci.*, v.73, p. 49-55, 1993.

NASCIMENTO, J. F. *Mangalarga marchador: tratado morfofuncional*. Belo Horizonte: ABCCMM, 1999. 577p.

NEGRAO, C. E.; JI, L.; SCHAUER, J. F. et al. Carnitine supplementation and depletion: tissue carnitine and enzymes in fatty acid oxidation. *J. Appl. Physiol.*, v. 63, p. 315-321, 1987.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Catabolismo de ácidos graxos. In: \_\_\_\_\_. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. p. 647-672.

NIEMEYER, A.; VERVUERT, I.; APPELT, K. et al. Effects of L-carnitine supplementation on heart rate and selected metabolic responses in resting and exercising horses: a placebo-controlled double blind study. In: EQUINE NUTRITION CONFERENCE HANNOVER, 2005, Hannover. *Pferdeheilkunde*, v. 21, p. 107-109, 2005.

NOVIKOFF, A. B.; SHIN, W. Y.; DRUCKER, J. Mitochondrial localization of oxidation enzymes: Staining results with two tetrazolium salts. *J. Biophys Biochem. Cytol.*, v.9, p.47-61, 1961.

NUTRIENT requirements of horses. 6.ed. Washington: The National Academies Press, 2007. 341 p.

OFFENBACHER, E. G.; SPENCER H.; DOWLING H.; PI-SUNYER F. X. Metabolic chromium balances in men. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.44, p. 77-82, 1986.

OLGIVIE, R. W.; FEEBACK. D. L. A metachromatic dye-ATPase method for the simultaneous identification of skeletal muscle fiber types I, IIA, IIB, IIC. *Stain Technol.*,v. 65, p. 231-241, 1990.

OTT, E. A.; KIVIPELTO, J. Influence of chromium tripicolinate on growth and glucose metabolism in yearling horses. *J. Anim. Sci.*, v.77, p. 3022-3030, 1999.

PAGAN, J. D.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A. et al. The effect of dietary energy source on exercise performance in Standardbred horses. In: GILLESPIE, J. R.; ROBINSON, N. E. (Eds). *Equine exercise physiology 2*. Davis, CA: ICEEP Publications, 1987, p. 686-700.

PAGAN, J. D. Advancing the science of equine nutrition. In: *The Horse: Your Guide to Equine Health Care*, p. 12-18, 1995.

PAGAN, J. D.; ROTMENSEN, T.; JACKSON, S. G. The effect of chromium supplementation on metabolic response to exercise in Thoroughbred horses. In: EQUINE AND NUTRITION SYMPOSIUM, 1995, California. *Proceedings...* California, p. 96-101, 1995.

PECHOVA, A.; PAVLATA, L. Chromium as an essential nutrient: a review. *Vet. Med.*, v. 52, p. 1-18, 2007.

PENG, Z.; QIAO, W.; WANG, Z. et al. Chromium improves protein deposition through regulating the mRNA levels of IGF-1, IGF-1R and Ub in rat skeletal muscle cells. *Biol. Trace Elem. Res.*, v. 137, p. 226-234, 2010.

PERSSON, S. G. B. Evaluation of exercise intolerance and fitness in the performance horse. In: SNOW, D. H.; PERSSON, S. G. B.; ROSE, R. J. (eds) *Equine Exercise Physiology*. Cambridge: Granta Editions, 1983, p. 441.

PERSSON, S. G. B.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A. Energy profile and the locomotor pattern of trotting on an inclined treadmill. In: PERSSON, S. G. B.; LINDHOLM, A.; JEFFCOTT, L. B (Eds). *Equine Exercise Physiology*. Davies: ICEEP Publications, 1991, p. 231-238.

PHILIPS, S. M.; TIPTON, K. D.; AARSLAN, A. et al. Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, v. 273, p. E99-E107, 1997.

PINTO, L. F. B.; ALMEIDA, F. Q.; QUIRINO, C. R.; et al. Análise multivariada das medidas morfométricas de potros da raça Mangalarga Marchador: análise de componentes principais. *R. Bras. Zootec.*, v. 34, n. 2, p. 589-599, 2005.

PÖSÖ, A. R.; VILJANEN-TARIFA, E.; SOVERI, T. et al. Exercise-induced transient hyperlipidemia in the racehorse. *J. Vet. Med. Assoc.*, v. 36, p. 603-611, 1989.

POWER, R. A.; HULVER, M. W.; ZHANG, J. Y. et al. Carnitine revisited: potential use as adjunctive treatment in diabetes. *Diabetologia*, v. 50, p. 824-832, 2007.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. Adaptações circulatórias ao exercício. In: POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. *Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho*. 5 ed. Barueri: Manole, 2005. p. 164-191.

PRATES, R. C.; REZENDE, H. H. C.; LANA, A. M. Q. et al. Heart rate of Mangalarga Marchador mares under marcha test and supplemented with chrome. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 38, n. 5, p. 916-922, 2009.

REHFELDT, C.; FIEDLER, I.; STICKLAND, N. C. Number and size of muscle fibres in relation to meat production. In: te PAS, M. F. W.; EVERTS, M.E.; HAAGSMAN, H. P. (eds) *Muscle Development of Livestock Animals*. CAB International: Oxfordshire, cap.1, p. 1-38, 2004.

REZENDE, A. S. C. Aditivos ou suplementos? *Mangalarga Marchador: Revista Oficial da ABCCMM*, n. 59, p. 44-48, 2006.

REZENDE, A. S. C.; TRIGO, P.; LANA, A. M. Q. et al. Yeast as a feed additives for training horses. *Ciênc. Agrotec.*, v. 36, p. 354-362, 2012.

REZENDE, H. H. C.; REZENDE, A. S. C.; LANA, A. M. Q. et al. Bioquímica sérica e leucometria de equinos Mangalarga Marchador suplementados com cromo e submetidos à prova de marcha. *Biosci. J.*, v. 30, n. 1, p. 219-225, 2014.

RIVERO, J. L. L.; AGÜERA, E.; MONTEVERDE, J. G. et al. Comparative study of muscle fiber type composition in the middle gluteal muscle of Andalusian, Thoroughbred and Arabian horses. *Equine Vet. Sci.*, v. 9, p. 337-340, 1989.

RIVERO, J. L. L.; AGÜERA, E.; MONTERDE, J. G. et al. Fiber size and composition in the middle gluteal muscle of the Andalusian horse. *Equine Vet. J.*, v. 22, p. 286-287, 1990.

RIVERO, J.L.L.; LOPEZ, J.L.M.; GALISTEO, A.M.; AGÜERA, E. Muscle fibre type composition in untrained and endurance-trained Andalusian and Arab horses. *Equine Vet. J.*, v.23, p.91-93, 1991.

RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; HENCKEL, P. et al. Muscle fiber type composition and fiber size in successfully and unsuccessfully endurance-raced horses. *J. Appl. Physiol.*, v. 75, n.4, p. 1758-1766, 1993.

RIVERO, J. L. L.; RUZ, M. C.; SERRANO, A. L. et al. Effects of the 3 month endurance training programme on skeletal muscle histochemistry in Andalusian, Arabian and Anglo-Arabian horses. *Equine Vet. J.*, v. 27, p. 51-59, 1995.

RIVERO, J. L. L.; CLAYTON, H. M. The potential role of the muscle in kinematic characteristics. *Pferdeheilkunde*, v. 12, p. 635-640, 1996.

RIVERO, J. L. L.; TALMADGE, R. J.; EDGERTON, V. R. A sensitive electrophoretic method for the quantification of myosin heavy chain isoforms in horse skeletal muscle: Histochemical and immunocytochemical verifications. *Electrophoresis*, v. 18, n. 11, p. 1967-1972, 1997.

RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; BARREY, E. et al. Analysis of myosin heavy chains at the protein level in horses skeletal muscle. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, v. 20, p. 211-221, 1999.

RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; QUIROZ-ROTHER, E. et al. Coordinated changes of kinematics and muscle fibre properties with prolonged endurance training. *Equine Vet. J.*, Suppl. 33, p. 104-108, 2001.

RIVERO, J. L. L.; SPORLEDER, H. -P.; QUIROZ-ROTHER, E. et al. Oral L-carnitine combined with training promotes changes in skeletal muscle. *Equine Vet. J.*, Suppl. 34, p. 269-274, 2002.

RIVERO, J. L. L.; BOFFI, F. M. Aparato musculoesquelético. In: BOFFI, F. M. *Fisiología del ejercicio em equinos*. 1ª ed. Buenos Aires: Inter-Médica, 2006, p. 15-40.

RIVERO, J. L. L. A scientific background for skeletal muscle conditioning in equine practice. *J. Vet. Med. A.*, n. 54, p. 321-332, 2007.

RIVERO, J. L. L.; RUZ, A.; MARTÍ-KORFF, S. et al. Effects of intensity and duration of exercise on muscular responses to training of thoroughbred racehorses. *J. Appl. Physiol.*, v. 102, p. 1871-1882, 2007.

RONCATI, N. V.; CALORE, E. E.; SANTOS, R. P.; FERNANDES, W. R. Biópsia e tipificação de fibras musculares em equinos da raça Mangalarga Paulista. *A Hora Veterinária*, v.139, p. 40-44, 2004.

ROSE, R. J.; PURDUE, R. A.; HENSLEY, W. Plasma biochemistry alterations in horses during an endurance ride. *Equine Vet. J.*, v.9, p. 122, 1977.

ROSE, R. J.; KNIGHT, P. K.; BRYDEN, W. L. Energy use and cardiorespiratory responses to prolonged submaximal exercise. In: PERSSON, S. G. B.; LINDHOLM, A.; JEFFCOTT, L. B. (Eds.) *Equine exercise physiology 3*. Davis, CA: ICEEP Publications, 1991, p. 281-287.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. Clinical Exercise Testing. In: HODGSON, D. R. and ROSE, R. J. *The athletic horses: principles and practice of equine sports medicine*. Philadelphia: Saunders, 1994, p. 245-257.

SANTIAGO, J. M. *Caracterização morfológica da raça Mangalarga Marchador*. 2013. 110 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SCHMENGLER, U.; UNGRU, J.; BOSTON, R. et al. Effects of L-carnitine supplementation on body weight losses and metabolic profile in obese and insulin-resistant ponies during a 14-week body weight reduction programme. *Livest. Sci.*, v. 155, p. 301-307, 2013.

SERRANO, A. L.; RIVERO, J. L. Myosin heavy chain profile of equine gluteus medius muscle following prolonged draught-exercise training and detraining. *J. Muscle Res. Cell. Motil.*, v. 21, p. 225-245, 2000.

SERRANO, A. L.; QUIROZ-ROTHER, E.; RIVERO, J. L. L. Early and long-term changes of equine skeletal muscle in response to endurance training and detraining. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.*, v. 441, p. 263-274, 2000.

SEXTON, W. L.; ERICKSON, H. H. Effects of treadmill elevation on heart rate, blood lactate concentration and packed cell volume during graded submaximal exercise in ponies. *Equine Vet. J.*, v. 22, n. S9, p. 57-60, 1990.

SNOW, D.H.; GUY, P.S. Muscle fibre type composition of a number of limb muscle in different types of horse. *Res. Vet. Sci.*, v. 28, p. 173-144, 1980.

SNOW, D. H.; HARRIS, R. C.; MacDONALD I. A. et al. Effects of high-intensity exercise on plasma catecholamines in the thoroughbred horse. *Equine Vet. J.*, v. 24, p.462, 1992.

SPAGNOLI, L. C.; PALMIERI, G.; MAURIELLO, A. et al. Morphometric evidence of the trophic effect of L-carnitine on human skeletal muscle. *Nephron*, v. 55, p. 16-23, 1990.

STAINSBY, W. M.; BROOKS, G. A. Control of lactic acid metabolism in contracting muscles and during exercise. *Exerc. Sport Sci. Rev.*, v. 18, p. 29-63, 1990.

THOMAS, D. P.; FREGIN, G. F.; GERBER, N. H. et al. Effects of training on cardiorespiratory function in the horse. *Am. J. Physiol.*, v. 245, p. R160-165, 1983.

TRILK, J. L.; LINDNER, A. J. GREENE, H. M. et al. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performande. *Equine Vet. J.*, Suppl. 34, p. 122-125, 2002.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. UFV. *Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG*. Versão 9.1. Viçosa, MG: UFV, 2007.

VAN WEYENBERG, S.; BUYSE, J.; JANSSENS, G. P. Increased plasma leptin through L-carnitine supplementation is associated with an enhanced glucose tolerance in healthy ponies. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, v. 93, n.2, p. 203-208, 2009.

VINCENT, J. B. The biochemistry of chromium. *J. Nutr.*, v. 130, p. 715-718, 2000.

VERVUERT, I.; CUDDEFORD, D.; COENEN, M. Effects of chromium supplementation on selected metabolic responses in resting and exercising horses. *Equine Comp. Exerc. Physiol.*, v.3, p. 19-27, 2006.

VOLPE, S. L.; HUANG, H. W.; LARPADISORN, K.; LESSER, I. Effect of chromium supplementation and exercise on body composition, resting metabolic rate and selected

biochemical parameters in moderately obese women following an exercise program. *J. Am. Coll. Nutr.*, v.20, p. 293-306, 2001.

WANDERLEY, E. K.; MANSO FILHO, H. C.; SANTIAGO, T. A.; et al. Metabolic changes in four beat gaited horses after field marcha simulation. *Equine Vet. J.*, v. 42, Suppl. 38, p. 105-109, 2010.

ZEYNER, A.; HARMEYER, J. Metabolic functions of L-carnitine and its effects as feed additive in horses. A review. *Arch. Anim. Nutr.*, v. 52, p. 115-138, 1999.