

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

**SUPLEMENTAÇÃO COM CROMO PARA
EQUINOS MANGALARGA MARCHADOR EM
TREINAMENTO PARA PROVAS DE MARCHA**

HELOISA HELENA CAPUANO DE REZENDE

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária - UFMG
2009**

Heloisa Helena Capuano de Rezende

**SUPLEMENTAÇÃO COM CROMO PARA EQUINOS MANGALARGA
MARCHADOR EM TREINAMENTO PARA PROVAS DE MARCHA**

Tese apresentada à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Adalgiza Souza
Carneiro de Rezende

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2009**

R467s Rezende, Heloisa Helena Capuano de, 1955-

Suplementação com cromo para equinos Mangalarga Marchador em treinamento para provas de marcha / Heloisa Helena Capuano de Rezende. – 2009.

108 p. : il.

Orientadora: Adalgiza Souza Carneiro de Rezende

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

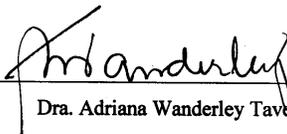
1. Mangalarga (Cavalo) – Alimentação e rações – Teses. 2. Cromo na nutrição animal – Teses. 3. Dieta em veterinária – Teses. 4. Suplemento alimentar – Teses. I. Rezende, Adalgiza Souza Carneiro de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.108 926

Tese defendida e aprovada em 12 de novembro de 2009, pela Comissão Examinadora
constituída por:



Profª. Adalgiza Souza Carneiro de Rezende
(Orientadora)



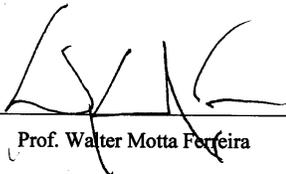
Dra. Adriana Wanderley Taveiros



Profª. Marília Martins Melo



Dr. Thiago Luiz de Salles Gomes



Prof. Walter Motta Ferreira



Dra. Bárbara Goloubeff

Aos cavalos, companheiros de
todas as horas e principal
motivo deste trabalho

AGRADECIMENTOS

Ao meu querido pai Luiz Fernando (*in memorian*) e a minha mãe Madelú, pela educação, pelo amor e carinho e pelo apoio nas tomadas de decisão e por terem me transmitido a paixão pelos cavalos.

A minha irmã Marise pelo amor, carinho, companherismo e apoio incondicional em qualquer tempo e a qualquer hora.

As minhas filhas Daniela e Patrícia pelo amor, alegria e paciência nas horas difíceis .

À Simone, pela sua luz, suas orações e seus sábios conselhos.

À Patrícia Moss, por ajudar com sua graça no treinamento e em outras etapas deste experimento.

À minha amiga Raquel Cheyne, por participar lado a lado em todos os momentos deste trabalho pela sua alegria, companherismo, dinamismo e incentivo nas horas mais difíceis e pela amizade incondicional.

A minha querida amiga e orientadora professora Adalgiza: pela sua força, incentivo, pela confiança, pela dedicação, carinho, paciência; com todos nós. Por estar sempre pronta para ensinar, ajudar e orientar acreditando que faremos o melhor!

A todos os funcionários da Fazenda Santa Helena: Pacífico, Grosso, Silvan, Zé Carlos pela inestimável ajuda e dedicação; especialmente ao Edílson pela sua simpatia, amizade, competência, disposição e prontidão para atender a todos os nossos pedidos que não foram poucos. Obrigada Edílson você foi um “amigo de fé” nesta etapa da minha vida.

Ao Tenente. Manoel, que gentilmente se deslocou para Fazenda Santa Helena onde realizou parte dos exames de laboratório com toda a sua competência e com um sorriso constante nos dias de sol e de chuva.

Aos proprietários do Haras Catuni, especialmente Dalton e Dario Colares, por gentilmente terem cedido os animais e instalações da Fazenda Santa Helena, além de terem acolhido durante todo o tempo necessário para realização da etapa experimental do trabalho.

A Cecília pela sua simpatia e acolhida em sua casa em Montes Claros meu muito obrigado! Da mesma forma agradeço à querida Dona Zezé Colares e a seu esposo Sr. João Carlos Penna Moreira pelas conversas e “histórias” que tornavam divertido nosso convívio.

Ao Professor Emerson Silami, por disponibilizar material para realização deste trabalho.

Ao Professor Ronaldo Braga Reis pelos conselhos certos nas horas certas e por ter intermediado o contato com a empresa Total Alimentos S.A, que patrocinou parte da etapa experimental do projeto contribuindo com a ração concentrada que foi fornecida aos animais durante todas as etapas do experimento. Meus agradecimentos a Total Alimentos S.A.

A Professora Evenildes pela sua inestimável ajuda e orientação nas dosagens de cortisol e insulina meu muito obrigado!

A professora Marília por sua ajuda e orientação com os exames laboratoriais. Agradeço também a Marcinha, que com sua competência e bom humor ajudou na realização das análises laboratoriais.

Ao querido professor Walter Motta e professora Ângela Lana, professor Norberto Rodriguez pela presença e amparo nos momentos necessários deste trabalho.

A Dr^a Adriana W. Taveiros e Dr. Thiago Salles Gomes minha admiração e meu muito obrigado pelas contribuições!

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pelo apoio financeiro que permitiu a realização deste trabalho.

Aos alunos Juliano e Lindomácia pela prontidão em me ajudar na finalização deste trabalho.

A querida Renata Maranhão, por atender sempre meus pedidos de socorro, escutar pacientemente e rir junto comigo das minhas reclamações.

Ao cão Boris (in memoriam), fiel companheiro por estar presente, nos acompanhando e alegrando nossos dias. Saudades!

Não poderia deixar de agradecer as queridas éguas que foram parte essencial do experimento. Amigas e companheiras desta jornada, sempre motivo de alegria e admiração e essencialmente motivo deste trabalho! Meu muito obrigado pela cooperação, pelo esforço, pela paciência com as nossas falhas e pela submissão as nossas vontades!

A Deus, por estar sempre presente na minha vida e me conduzir com seu imenso amor e paciência em todos aprendizados .

A todos que contribuíram direta e indiretamente para realização deste trabalho.

Todos têm um talento; o raro é
a coragem de seguir o talento
até os lugares a que ele leva.

Erica Jong

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. O cromo	13
2.2. Parâmetros bioquímicos	27
2.3. Metabolismo energético	37
2.4. Utilização da energia de reserva	41
2.5. Treinamento	45
2.6. Consumo de pastagens	50
3. MATERIAL E MÉTODOS	51
3.1. Local, clima, e período experimental.	51
3.2. Animais, tratamentos e delineamento experimental.	51
3.3. Instalações e dietas	52
3.4. Procedimento experimental	53
3.5. Análises laboratoriais	54
3.6. Determinação do consumo alimentar	54
3.7. Análise estatística	56
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5. CONCLUSÃO	78
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
ANEXOS	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição química dos alimentos fornecidos aos animais.....	52
Tabela 2	Composição química do sal mineral fornecido aos animais (base matéria natural).....	52
Tabela 3	Temperatura ambiente (°C) e umidade relativa do ar (%) em três horários (7:00, 12:00 e 18:00h) nos três dias da prova de marcha.....	57
Tabela 4	Médias dos momentos de coleta (antes e após a prova), independente da dose de cromo e do dia da avaliação.....	58
Tabela 5	Efeito da sulpementação com Cr-metionina nos parâmetros sanguíneos de éguas Mangalarga Marchador.....	58
Tabela 6	Médias das concentrações do hematócrito, proteína total, leucócitos e cortisol nos 3 grupos experimentais de éguas Mangalarga Marchador em provas de marcha.....	59
Tabela 7	Médias de triacilgliceróis, lactato, glicose e insulina nos grupos suplementados com 0, 5 e 10mg de Cr em éguas Mangalarga Marchador em provas de marcha.....	61
Tabela 8	Médias da concentração de (Glicose) em mg/dl, antes e depois do exercício, nos equinos de D0 (0 mg), D5(5 mg) e D10(10 mg), nos dias 1, 2 e 3 da prova de marcha.....	62
Tabela 9	Médias da concentração de (Insulina) ¹ em $\mu\text{U} / \text{mL}$, antes e depois do exercício, nos equinos de D0 (0 mg), D5(5 mg) e D10(10 mg), nos dias 1, 2 e 3 da prova de marcha.....	63
Tabela 10	Comparação entre os resultados obtidos em investigações desenvolvidas por diferentes autores com distintas raças, fontes de cromo e modalidade de exercício.....	64
Tabela 11	Concentrações sanguíneas de proteína total, de éguas Mangalarga Marchador suplementadas com cromo (0, 5 ou 10 mg), antes e depois do exercício durante os três dias de provas de marcha.....	65
Tabela 12	Médias da temperatura ambiente (°C) e umidade relativa do ar (%) nos 3 dias de prova de marcha.....	66
Tabela 13	Resultado da somatória da URA (%) e TA (°F) nos 3 dias de prova.....	66
Tabela 14	Hematócrito de éguas Mangalarga Marchador suplementadas com cromo (0, 5 ou 10 mg), antes e depois do exercício durante os três dias de provas de marcha.....	67
Tabela 15	Efeito médio do treinamento no grupo sem aplicação de cromo antes da prova.....	68
Tabela 16	Efeito do treinamento e da prova sobre a concentração de triacilgliceróis, proteína, cortisol e insulina nos animais que não receberam cromo.....	69
Tabela 17	Número total de leucócitos de éguas Mangalarga Marchador suplementadas com cromo (0, 5 ou 10 mg), antes e depois do exercício durante os três dias de provas de marcha.....	70
Tabela 18	Concentrações sanguíneas de cortisol ($\mu\text{g}/\text{dL}$), dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de prova de marcha.....	72

Tabela 19	Concentrações sanguíneas de lactato (mmol/L) dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de provas de marcha.....	73
Tabela 20	Concentrações sanguíneas de triacilgliceróis (mg/dL) dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de prova de marcha.....	74
Tabela 21	Concentração sanguínea de glicose (mg/dL) dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de prova de marcha.....	75
Tabela 22	Concentrações sanguíneas de insulina (μ U/mL) ¹ , glicose (mg/dL) dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de prova de marcha.....	76
Tabela 23	Consumo de concentrado, volumoso e da dieta total, em kg MS por dia e % PV por dia, de éguas suplementadas com cromo (0, 5 ou 10mg) e em treinamento para provas de marcha.....	78

RESUMO

O trabalho objetivou identificar os possíveis benefícios de uma suplementação com cromo na dieta de equinos Mangalarga Marchador submetidos a treinamento para provas de marcha, além de avaliar o consumo de matéria seca destes animais em regime de extensão. Os benefícios focados na pesquisa foram à ação desse mineral na melhor utilização da glicose, com consequente menor utilizações da via glicolítica anaeróbica para aproveitamento da energia de reserva e estímulo do sistema imune. Foram sorteadas 12 éguas Mangalarga Marchador, para três tratamentos, caracterizados pelo fornecimento de placebo, 5 e 10mg de cromo. O experimento teve duas etapas, de 24 e seis dias, respectivamente. A primeira para adaptação dos animais e a segunda para realizar três provas de marcha de 50 minutos, em dias alternados. Durante o período experimental os animais permaneceram soltos em pastagem de *Coast Cross* com sal mineral e água ad libitum e receberam suplementação com ração concentrada duas vezes ao dia. Antes e depois das provas foram coletadas amostras sanguíneas para análise de lactato, glicose, triglicérides, cortisol e insulina, número total de leucócitos, proteína total e hematócrito. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com arranjo em parcelas subdivididas, com quatro repetições e com o concurso de uma variável (temperatura na hora da prova). Para o consumo alimentar, as análises foram realizadas através de um delineamento inteiramente ao acaso com cinco repetições e três tratamentos. As médias foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste t de Student ($P < 0,05$). Para tempos de avaliação foi feito ajuste de modelo de regressão. Os resultados mostraram que não houve interação entre dose dia e momento (antes e depois do exercício) mostrando que o fornecimento de cromo na dieta, nas doses utilizadas não influenciou as variáveis analisadas, indicando que mais pesquisas devem ser realizadas a fim de elucidar sua ação e que o consumo de matéria seca pelos animais criados em liberdade está de acordo com as indicações do NRC.

Palavras-chave: concurso de marcha, glicose, hematócrito, cortisol, lactato, número total de leucócitos, mineral, consumo de matéria seca, parâmetros metabólicos

ABSTRACT

This experiment had the aim of identifying possible benefits of Chromium (Cr) supplementation on Mangalarga Marchador equine's diet submitted to training for marcha tests and evaluates the animals dry matter intake when kept in pasture. The benefits focused in this research were the action of Cr on better uptake of glucose and consequent less utilization of anaerobic glucolytic pathway to avail the fuel store and stimulus of the immune system. 12 mares were divided in three treatments, characterized by the supply of 0, 5 and 10 mg de Cr. The experiment had two phases, of 24 and six days, respectively. The first one for adaptation of the animal and the second one to execute three marcha tests of 50 minutes, every other day. Blood samples were collected before and after the test to analyze lactate, glucose triglycerides, cortisol and insulin, total number of leucocytes, total protein and hematocrit. A completely (randomized design was used, in split-plot arrangement, with four repetitions and with the competition of a variable (temperature in the hour at the test moment). For food consumption, the analysis was performed using a completely random design with five replications and three treatments. The mean results were submitted to variance analysis and compared by t test Student ($P < 0.05$). For evaluation times were made adjustment of regression model. There were not significant differences between Cr dose, day and schedule of tests for all analyzed parameters, but the values of total protein, blood volume and total white blood cells were higher after the marcha tests. Chromium has not influenced total serum protein, hematocrit and total white blood cells of MM mares in training. The results observed that dry matter intake of pasture animals was in agreement with NRC requirements.

Keywords: marcha test, glucose, hemoglobin, lactate, leucogram, mineral

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o terceiro maior rebanho de equídeos do mundo, sendo que Minas Gerais ocupa posição de destaque neste *ranking*. Ressalta-se que o Mangalarga Marchador é o cavalo mais criado no Brasil. O complexo do agronegócio equino movimenta cerca de R\$ 7,5 bilhões e gera cerca de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos. O segmento de equinos utilizados em diversas atividades esportivas movimenta valores de R\$ 704,9 milhões e 20.500 empregos, com a participação estimada de 50 mil atletas (Lima et al., 2006).

As raças de equinos nacionais tiveram origem a partir das necessidades próprias das regiões do país, ou pela preferência de grupos de criadores amantes do cavalo. Assim, ocorreu a formação da raça Mangalarga Marchador que teve origem no Sul de Minas Gerais, como resultado do acasalamento de éguas crioulas com garanhões vindos da Coudelaria de Álder do Chão, no Alentejo, Portugal (História..., 1991; Rocha, 1999) Conforme Camargo e Chieffi (1971) e Guerra e Medeiros (2007) o Mangalarga Marchador é a raça mais importante do Brasil, com andamento marchado, cômodo, imponente, distinta beleza zootécnica e docilidade.

Os cavalos da raça Mangalarga Marchador, assim como cavalos de outras raças têm sido cada vez mais submetidos a situações adversas como exercícios pesados, transporte de longa distância, agentes ambientais e todos os tipos de estresse relacionados às competições. Apesar disto, poucos estudos científicos foram realizados com esta raça brasileira para incrementar seu desenvolvimento e desempenho; portanto pesquisa mais detalhada a respeito da fisiologia do exercício, bem como maior conhecimento dos processos metabólicos que ocorrem no cavalo atleta durante e após a competição ainda se fazem necessários. Substâncias ergogênicas têm sido utilizadas

para obtenção de melhor desempenho dos cavalos atletas. Há contradições sobre o uso das mesmas e isto se deve ao fato dos trabalhos apresentarem resultados contraditórios, devido a grande variação individual e outros fatores como baixo número de animais disponíveis aos experimentos, limitações quanto a procedimentos experimentais, alto custo das pesquisas e outros.

Apesar de não se conhecer bem os efeitos do cromo no desempenho desta espécie, espera-se que ele possa ser utilizado como coadjuvante nos balanceamentos nutricionais para melhorar o desempenho desses animais em todas as modalidades de esportes, minimizando os efeitos indesejáveis das condições que lhe são impostas.

Em pesquisas realizadas com outras espécies monogástricas, foram observados resultados como melhor tolerância a glicose, com menor relação insulina: glicose, menores níveis de cortisol sanguíneo em situações de estresse e estímulo do sistema imune com aumento do número de leucócitos. Espera-se que nos equinos o cromo aumente a tolerância à glicose e aja como elemento antiestresse, incrementando o sistema imune e diminuindo os níveis de cortisol sanguíneo assim como acontece em outras espécies.

O estudo objetivou identificar os efeitos da suplementação com cromo na dieta de equinos Mangalarga Marchador em treinamento para provas de marcha sobre alguns parâmetros metabólicos e avaliar o consumo de matéria seca destes animais criados a pasto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CROMO

2.1.1. Histórico

O cromo foi descoberto na Rússia no ano de 1765 por P.S. Palla, mas o elemento somente foi isolado em 1797, pelo químico

francês Louis Nicholas Vaulquelin (Arfsteen, 1998), que separou o metal ao tratar crocoíta (PbCrO_4) com ácido clorídrico diluído, um minério advindo da Sibéria. O óxido crômico (CrO_3), resíduo dessa reação aquecido na presença de carvão, produziu o metal cromo.

O termo “cromo”, que deriva da palavra grega “*chroma*” e significa “cor”, foi sugerido à Vaulquelin por Antoine Fourcroy para denominar o novo elemento devido às cores de seus compostos (Asimov, 1980).

O efeito carcinogênico do cromo na forma hexavalente foi descoberto no final do século XIX na Escócia, em pessoas que trabalhavam manualmente com pigmentos contendo cromo (Cohen et al. 1993). Em 1936, o câncer de pulmão foi reconhecido como doença ocupacional em trabalhadores na Alemanha (Teleky, 1936). A partir de então, o cromo passou a ser estudado especialmente como um mineral de efeitos tóxicos para o organismo.

Embora teoricamente o cromo ocorra em todos os estados de oxidação de -2 a $+6$, é encontrado com mais frequência em 0 , $+2$, $+3$ e $+6$. O Cr (0) não está naturalmente presente no solo e é biologicamente inerte. A maior parte do cromo encontrada no ambiente está no estado de oxidação trivalente, enquanto a maioria da forma hexavalente é de origem industrial (Pechova e Pavlata, 2007).

O fato de o cromo ser um mineral essencial foi demonstrado pela primeira vez por Schwartz e Mertz (1959) em ratos e em 1977 nos humanos (Jeejebhoy et al. 1977). Nos anos seguintes, foram publicados diversos artigos sobre cromo na nutrição humana, relacionados a diversas situações clínicas e de estresse (Anderson et al., 1982; Anderson, 1997). O foco principal foi a associação entre cromo e diabetes mellitus, e diabetes tipo 2 (Rabnowitz et al. 1983). A partir de 1990, o cromo passou a ser intensivamente pesquisado como um mineral essencial em animais domésticos

(bovinos, ovinos, equinos, suínos e aves) (Pechova e Pavlata, 2007).

Entretanto, existem dúvidas sobre a eficiência e inocuidade do cromo como suplemento alimentar. Nas últimas décadas, inúmeros experimentos tentam elucidar as consequências da utilização de cromo na alimentação, mas apenas resultados controversos têm sido alcançados (Dallago, 2008).

2.1.2. Características

O cromo é um micromineral amplamente distribuído por todo o corpo, envolvido no metabolismo e, particularmente, nas reações anabólicas. As respostas animais à suplementação com cromo, contudo, têm variado e seu papel no metabolismo animal ainda não está muito bem estabelecido. Presume-se que a função primordial do elemento seja a participação na manutenção da homeostase glicêmica, como sugerido para humanos e animais de laboratório por Mendes (2000).

2.1.3. Propriedades químicas

O 21º mineral mais abundante na crosta terrestre é o cromo e a concentração média em solos dos Estados Unidos é de 40mg/kg (Barnhart, 1997).

O cromo divalente (Cr^{2+}) é fortemente reduzido quando em contato com o ar. A forma é rapidamente oxidada, produzindo cromo trivalente (Cr^{3+}). Isto explica porque o cromo divalente não está disponível nos sistemas biológicos. Já o hexavalente (Cr^{6+}) é a segunda forma mais estável e um forte agente oxidante, especialmente em meio ácido. O Cr^{6+} está ligado ao oxigênio como cromato (CrO_4^{2-}) ou dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) com uma forte capacidade oxidativa. Esta forma do cromo atravessa as membranas biológicas facilmente, reagindo com componentes protéicos e ácidos nucleicos dentro da célula, enquanto realiza

desoxigenação para Cr^{3+} . A reação com a matriz genética favorece as propriedades carcinogênicas do Cr^{6+} . O cromo trivalente (Cr^{3+}) é o estado de oxidação mais estável encontrado nos organismos vivos. Ele não possui a capacidade de atravessar ou transpor membranas com facilidade (Mertz, 1992) e tem baixa reatividade, fato mais significativo na diferenciação biológica do cromo hexavalente (Cr^{6+}) (Pechova e Pavlata, 2007).

De acordo com o NRC (2007), a forma trivalente é a forma mais comumente encontrada na natureza, tem baixa toxicidade e apresenta grande margem de segurança, especialmente porque é menos absorvida, em torno de 0,5%. As formas inorgânicas como aqueles presentes no cloreto de cromo (CrCl_3) e óxido crômico (Cr_2O_3) são pobremente absorvidos. Por esse motivo, o cromo é utilizado como marcador nas pesquisas que avaliam a digestibilidade no trato gastrointestinal. Pesquisas com animais demonstraram a maior eficiência de absorção quando são usados complexos orgânicos dietéticos, como o picolinato de cromo (Cr Pic), nicotinato de cromo (Cr Nic) e a levedura de cromo (NRC, 2007).

2.1.4. Metabolismo do cromo

2.1.4.1. Absorção

A forma orgânica do cromo parece ser mais biodisponível que a inorgânica. A absorção da forma inorgânica foi descrita estando entre 0,4 – 3% (Anderson, 1987), enquanto que a absorção do cromo, de fontes como leveduras de cervejaria, foi descrita em ratos como sendo de 10- 25% (Underwood, 2007).

O cromo hexavalente pode atingir ou penetrar em humanos e animais através da inalação ou por contaminação ambiental. Quando suplementados diretamente no intestino, os compostos de cromo hexavalente Cr^{6+} dissolvem-se melhor do que os compostos de cromo trivalente Cr^{3+} e

são mais bem absorvidos. Isto está documentado por experimentos com isótopos que revelaram uma concentração de cromo no sangue de três a cinco vezes maiores quando a suplementação foi realizada com Cr^{6+} (Makenzie et al. 1959). No entanto, se o cromo for suplementado oralmente, a maior parte do Cr^{6+} parece ser reduzida à Cr^{3+} antes de chegar ao sítio de absorção no intestino delgado (Doisy et al. 1976).

A principal via de absorção do Cr^{3+} é através do sistema digestivo. O local de maior absorção em ratos foi o jejuno, enquanto no íleo e no duodeno a absorção é menos eficiente (Chen et al. 1973). O mecanismo de absorção intestinal do cromo ainda não está completamente esclarecido, mas algumas publicações evidenciaram a difusão passiva (Stoecker, 1999b). A absorção do cromo inorgânico Cr^{3+} é indiretamente proporcional ao seu conteúdo da dieta. Em pessoas suplementadas diariamente com $10\mu\text{g}$ de cromo, somente 2% foi absorvido (Anderson e Kozlowski, 1985). Lyons (1994) alegou que a biodisponibilidade do cromo inorgânico é menor do que 3%, enquanto o cromo orgânico é 10 vezes mais disponível. Gomes, Rogero e Tirapegui (2005) concordaram com este autor quando afirmaram que a biodisponibilidade do cromo é baixa, apresentando valores que não ultrapassam 3% e esta porcentagem de absorção parece ser inversamente proporcional à quantidade de cromo na dieta. Para estes mesmos autores, vários fatores interferem na absorção do cromo, dentre os quais se podem ressaltar o fitato e a maior quantidade de minerais como o zinco, ferro e vanádio no intestino. Como estimuladores da absorção do cromo, podem ser destacados os aminoácidos, o oxalato, a vitamina C e o amido.

Borel e Anderson (1984) citaram que as causas da baixa biodisponibilidade do Cr^{3+} são numerosas e podem ser devido a formação de complexos insolúveis, pela ligação de agentes quelantes, interferência

com formas iônicas de outros minerais (Zn, Fe, V) e a baixa conversão da forma inorgânica em molécula bioativa, descrita por Ranhotra e Gelroth, (1986).

Anderson (1987) citou que uma vez absorvido, o cromo circula pelo plasma na concentração de 0,01 a 0,3 µg/L. Borel e Anderson (1984) relatam que essa concentração pode ser reduzida em determinadas circunstâncias, como durante infecções e em excesso de glicose. A circulação de cromo é associada com o percentual de β globulinas plasmáticas e, em concentrações fisiológicas, é transportado aos tecidos ligado à transferrina e possivelmente a um componente do fator de tolerância à glicose (FTG). Em concentrações supra-fisiológicas, o cromo liga-se inespecificamente a outras proteínas plasmáticas.

A concentração plasmática, entretanto, é um pobre indicador do *status* do mineral no organismo, pois não existe uma relação entre as reservas teciduais e a meia vida plasmática do cromo. A concentração corporal de cromo diminui com a idade, por razões ainda desconhecidas (NRC, 2007).

2.1.4.2. Transporte

De acordo com Kandror (1999), o cromo é absorvido de uma fração de β-globulina plasmática e transportado aos tecidos ligado a transferrina ou outros complexos em uma concentração fisiológica. Os receptores de transferrina são sensíveis à insulina e um aumento desse hormônio no sangue estimula o transporte dos receptores de transferrina da vesícula intracelular para membrana plasmática. A transferrina saturada com cromo liga-se aos receptores na superfície celular e o complexo formado é internalizado por endocitose. Parte do cromo é liberada na presença de pH ácido para formar novas vesículas. O cromo liberado pelas múltiplas moléculas de transferrina é sequestrado pela apocromodulina para

produzir cromo carregado de cromodulina (Vincent, 2000). Do sangue, o cromo é rapidamente absorvido pelos ossos, acumulando-se também no baço, fígado e rins (Stoecker, 1999a).

2.1.4.3. Excreção

O cromo é excretado principalmente na urina através da filtração glomerular ou ligado a pequenos transportadores orgânicos moleculares (Ducros, 1992).

Uma pequena quantidade é eliminada na perspiração e bile. A quantidade média de cromo excretada na urina humana é de 0,22µg/dia (Borel e Anderson, 1984), sendo a média de ingestão diária 62 - 85µg/dia, a qual é compatível com a taxa relativamente baixa de absorção (aproximadamente 0,5%).

Van Bruwaene et al. (1984), citados por Pechova e Pavlata (2007), monitoraram o metabolismo do cromo em vacas em lactação. Em um prazo de 102 dias após aplicação intravenosa de ⁵³Cr, 63% do mineral foi excretado na urina, cerca de 18% nas fezes e somente 3,6% no leite. Concordando com estes autores, Mohamedshah et al. 1998 observaram excreção mínima através do leite em pesquisa realizada em humanos suplementados com isótopo, em que foi detectado (⁵³Cr) no sangue, mas não no leite.

Clarkson (1997), citado por Gomes et al. (2005), afirmou que é comum observar concentração de cromo aumentada na urina após grande ingestão de carboidratos, principalmente na forma de açúcares.

A excreção é primordialmente urinária e aumenta com a ingestão de açúcares, exercícios físicos extremos e nos traumatismos. O cromo fecal é, em sua maior parte, proveniente do excedente alimentar que não pode ser absorvido (Carvalho e Haddad, 2000).

Em situações de estresse, assim como em dietas ricas em carboidratos, a excreção de cromo, especialmente pelo sistema urinário, pode aumentar de 10 a 300 vezes. Vários autores têm pesquisado os diferentes fatores que interferem na excreção de cromo pela urina em humanos. Em uma revisão destes fatores proposta por Anderson (1997), o autor sugeriu em quais situações aumenta a demanda de cromo e quando seu conteúdo na dieta deve ser aumentado. A forma de cromo utilizada na suplementação interfere fortemente na excreção urinária do mineral. Juturu et al. (2003) estudaram a excreção urinária de diferentes formas de cromo após uma única dose de 1000mg/kg em ratos. A administração de óxido crômico levou a uma concentração de cromo na urina menor que 0,2mg/l, enquanto que a administração de cloridrato de cromo e acetato de cromo levou a uma concentração de 174mg/l e 93mg/l na urina, respectivamente. Entretanto, segundo o NRC (2007), a excreção urinária não é um bom indicador do status dietético do mineral.

Para Minoia e Cavalleri (1998), o monitoramento da excreção de cromo na urina pode ser usado para avaliar o estresse. Entretanto, de acordo com Paustebach et al. (1997), a baixíssima eliminação na urina no período de meio dia representa seguramente uma limitação. Kumpulainen et al. (1983) consideraram a excreção de cromo na urina nas 24 horas um bom indicador da ingestão diária. No entanto, Pechova e Pavlata (2007) sugeriram que na avaliação da quantidade de cromo excretada na urina deveriam ser considerados todos os fatores que afetam sua excreção urinária.

As perdas urinárias de cromo geralmente não são restabelecidas rapidamente, em função da absorção intestinal deste mineral não ser suficiente para suprir o cromo perdido. Exercícios, tanto aeróbicos quanto o treinamento de força, aumentam a absorção de cromo intestinal, mas a perda urinária ainda é prioritária, resultando em balanço negativo de cromo, depleção e

redistribuição dos estoques corporais deste mineral no pós – exercício. Diante disso, postula-se que atletas possam apresentar deficiência de cromo com mais facilidade que indivíduos sedentários ou moderadamente ativos (Gomes et al., 2005).

Anonim (2005), citado por Uyanik et al. (2008), afirmou que cavalos em exercício intenso, alimentados com dieta alta em grãos, excretam mais cromo na urina do que cavalos sedentários.

2.1.4.4. Concentração de cromo no sangue

Até 1978, não haviam sido desenvolvidos métodos adequados para a análise do cromo em material biológico. Esta é a razão de existirem relativamente poucos dados do conteúdo de cromo nos diferentes tecidos e fluidos. Na literatura, as informações sobre as concentrações de cromo no sangue estão acontecendo concomitantemente com a melhoria da instrumentação para sua análise. Em 1978, com o uso do espectrofotômetro de absorção atômica, as análises do conteúdo de cromo em material biológico ficaram mais acuradas. Christensen et al. (1993) sustentaram que as concentrações são 0,035 – 0,04µg/l e 0,120 – 0,34µg/l respectivamente no soro de uma população humana sadia e no sangue total. Apesar de ter encontrado uma diferença na concentração basal de cromo no soro de adultos não suplementados e adultos com três meses de suplementação, Anderson (1987) não considera a concentração de cromo no soro como um bom indicador do seu *status* nutricional.

Pechova et al. (2002a) confirmaram esta suspeita quando verificaram que a suplementação com 10 mg de cromo por animal por dia em vacas de leite durante o pré-parto não teve efeito sobre a concentração de cromo no sangue.

Wood et al. (1990) também encontraram maior concentração do cromo no sangue

total do que a concentração de cromo no plasma, verificando valores dois a três vezes mais altas no sangue total. A concentração plasmática reflete a exposição de Cr^{3+} e Cr^{6+} , enquanto que a concentração intracelular reflete a exposição do Cr^{6+} . Isto porque somente o Cr^{6+} possui a capacidade de penetração no eritrócito (Minoia e Cavalleri, 1988). A baixa concentração de cromo nos eritrócitos também comprova o fato de que a concentração de Cr^{6+} não é significativamente ultrapassada pela capacidade de redução do Cr^{6+} no plasma sanguíneo (Barcelloux, 1999).

Para Pavlata e Pechova (2007), os resultados das pesquisas demonstraram que a determinação da concentração de cromo no sangue não fornece um bom indicativo para sua suplementação, portanto, não poderia ser usado para o diagnóstico de sua deficiência.

2.1.4.5. Concentração de cromo nos tecidos

A quantidade total de cromo no organismo humano varia entre 0,4 e 6mg. A reserva de cromo com relação ao peso vivo é mais alta em recém nascidos do que em adultos (Dubois e Belleville, 1991).

O cromo pode ser estocado em vários tecidos do organismo após a absorção, sem possuir um local específico, mas totalizando em média um pool de 4 a 6 mg. A maior quantidade de cromo parece estar distribuída no fígado, rins, baço e epidídimo, porém já se observou a maior concentração no coração e nos rins de ratos. Em ratos nos quais se injetou cromo marcado, foi verificada maior retenção desse mineral no fígado, ao mesmo tempo em que a maior proporção do cromo intracelular esteve presente no citosol em comparação às demais organelas (Gomes et al., 2005).

O cromo trivalente tende a se acumular no tecido epidermal, nos ossos, fígado, rins, baço, pulmão e intestino grosso. Em outros tecidos, especialmente músculos, parece ser

estritamente limitado ou não existe. Após suplementação de suínos pesando entre 30 e 60 Kg com 0,3mg/Kg de cromo, essa hipótese foi confirmada. Outros estudos que monitoraram a concentração de cromo em diferentes órgãos de aves adultas verificaram uma tendência menor deste mineral em se acumular no fígado, rins, pâncreas e baço, quando comparada ao sangue, músculos, coração e pulmões. Uma pequena quantidade de cromo foi detectada no cérebro (Pechova e Pavlata, 2007).

2.1.5. Função biológica do cromo

2.1.5.1. Mecanismo de ação

Ao cromo, são atribuídas funções que abrangem principalmente o metabolismo de carboidratos, mas também o metabolismo protéico e lipídico. Sua participação no metabolismo de carboidratos relaciona-se especialmente ao estímulo da captação de glicose pelas células de tecidos-alvo. Esse efeito não é causado pelo cromo de forma isolada ou mesmo na forma de co-fator enzimático, como a maioria dos minerais. O cromo age sob a forma de um complexo orgânico de baixo peso molecular denominado “fator de tolerância à glicose” (GTF), formado por Cr^{3+} , ácido nicotínico, glicina, cisteína e ácido glutâmico. O estudo do GTF iniciou-se em 1929, quando o mesmo foi isolado de leveduras. Em 1957, observou-se a existência deste complexo em humanos e, ainda, o Cr^{3+} foi definido como o componente ativo do mesmo. Em 1959, foi questionada a necessidade da ingestão de cromo na manutenção da tolerância normal à glicose em mamíferos, o que estimulou pesquisas referentes à relação do cromo com o metabolismo glicídico (Gomes et al. 2005).

Na década de 1960, o papel do cromo em animais foi investigado em ratos, camundongos e macacos. Em humanos, a importância do cromo na sensibilidade à insulina foi ressaltada a partir de 1977, por

observações em pacientes diabéticos submetidos à nutrição parenteral (isenta de cromo) por longo tempo. Nestes pacientes, constatava-se um agravamento do estado metabólico (Chowdhury et al., 2003).

Em relação aos mecanismos de ação do cromo, foi proposto que este mineral aumenta a fluidez da membrana celular e facilita a ligação da insulina com seu receptor. O complexo GTF funciona como um carreador para proteínas celulares deficientes em cromo (Vincent, 1994).

Recentemente, o cromo foi caracterizado como componente participante do mecanismo de amplificação da sinalização celular de insulina, ou seja, um fator colaborador do aumento da sensibilidade de receptores insulínicos na membrana plasmática (Vincent, 1999).

O mecanismo de participação do cromo na ação da insulina começou a ser estudado nos anos 1980, após o isolamento e a caracterização de um oligopeptídeo ligador de cromo, inicialmente denominado como substância ligadora de cromo de baixo peso molecular (low-molecular weight chromium-binding substance – LMWCr). Esse oligopeptídeo de 1,5kDa e com apenas quatro tipos de resíduos aminoacídicos (glicina, cisteína, glutamato e aspartato) possui aspecto tetranuclear que liga quatro íons de Cr^{3+} , tendo sido isolado em tecidos de várias espécies de mamíferos. As diferenças entre o GTF isolado das leveduras e o LMWCr dos tecidos de mamíferos são a presença de ácido nicotínico, existente apenas no GTF de leveduras, e a ausência de efeitos desse GTF sobre a ação insulínica assim como o cromo de forma isolada. O LMWCr, devido à semelhança com a calmodulina, recebe o nome também de cromodulina, quando ligado aos quatro íons de cromo. Na sua forma livre de minerais, é denominado apocromodulina e encontra-se predominantemente no meio intracelular,

mais especificamente no citosol e no núcleo (Gomes et al., 2005).

Segundo Yamamoto et al. (1989), o estímulo à ação da insulina depende do conteúdo de cromo na cromodulina intracelular. A cromodulina favorece a sensibilidade à insulina, devido ao estímulo da atividade de tirosina quinase do receptor insulínico na membrana plasmática. Aparentemente, o sítio de ativação está localizado próximo ou no próprio sítio ativo da enzima tirosina quinase, a qual causa a inibição da enzima fosfotirosina fosfatase, um inativador da tirosina quinase.

Em resposta a um aumento da glicemia, a insulina é rapidamente secretada para a circulação e liga-se na subunidade de seu receptor, localizada na face externa da membrana plasmática. Isto provoca uma alteração conformacional que resulta na autofosforilação dos resíduos de tirosina na subunidade α , localizada na face interna da membrana. Esta alteração desencadeia reações de fosforilação em cascata, com o objetivo de estimular a translocação dos transportadores de glicose (GLUTs) para a membrana plasmática (Lenninger, 1995).

O modelo proposto para explicar a ação da cromodulina como parte do sistema de auto-amplificação da sinalização da insulina sugere que a cromodulina é estocada na forma apo no citosol e núcleo de células sensíveis à insulina. O aumento da insulina circulante provoca duas situações concomitantes: (1) maior mobilização do cromo para células-alvo, mediada principalmente pela transferrina; (2) mobilização de receptores de transferrina a partir de vesículas intracelulares para se fundirem com a membrana. Dessa forma, a transferrina saturada com cromo liga-se a seus respectivos receptores e o complexo formado é internalizado por endocitose. No espaço intravesicular, o pH ácido promove a digestão deste complexo e a liberação do cromo para o citosol. Quatro íons de Cr^{3+} unem-se à apocromodulina, tornando-a ativa

sob a forma de cromodulina. Esta se liga ao sítio ativo no receptor insulínico, completando a ativação do mesmo e amplificando o sinal da insulina (Gomes et al., 2005).

Além de sua atuação principal sobre o metabolismo de carboidratos, o cromo também participa no metabolismo protéico estimulando a captação de aminoácidos pelas células, uma vez que está diretamente ligado à atividade insulínica (Kreider, 1999).

Existem evidências sobre a função do cromo no metabolismo lipídico, as quais parecem estar relacionadas com o aumento das concentrações de lipoproteínas de alta densidade (HDL) e a redução do colesterol total e de lipoproteínas de baixa densidade (LDL, VLDL), por meio do aumento da atividade da enzima lipase de lipoproteínas em indivíduos com dislipidemias (Grant et al., 1997). A diminuição da concentração plasmática de colesterol induzida pelo cromo foi atribuída ao fato desse mineral promover a inibição da enzima hepática hidroximetilglutaril-CoA redutase e um consequente efeito hipolipemiante (Zima, 1998 citado por Gomes et al. 2005).

Alguns sinais de deficiência marginal de cromo em roedores incluem a diminuição da tolerância à glicose e aumento das concentrações plasmáticas de insulina, colesterol e triacilglicerol. Além disso, pacientes com intolerância à glicose, *diabetes melito*, hipercolesterolemia e idosos costumam apresentar baixa concentração sérica de cromo. Isto demonstra que o cromo, além de estar ligado ao metabolismo de carboidratos, interfere no metabolismo protéico e lipídico simultaneamente, sendo um nutriente importante para o controle de doenças cada vez mais comuns na população (Lukaski, 2000).

2.1.5.2. Função do cromo no metabolismo

2.1.5.2.1. Metabolismo de carboidratos

De acordo com Pechova e Pavlata (2007), a associação entre cromo e metabolismo de carboidrato tem sido demonstrada em pessoas alimentadas com nutrição parenteral. Jeejebhoy et al. (1977), citados por Pechova e Pavlata (2007), observaram sintomas de diabetes e significativa intolerância à glicose e perda de peso em mulheres mantidas com nutrição parenteral durante cinco anos. A terapia com insulina não foi eficiente e somente após a suplementação com 250 µg de cromo o estado das pacientes começou a melhorar e mais tarde a terapia com insulina tornou-se redundante.

Estudos em humanos (Anderson, 1994), equinos (Pagan et al., 1995; Ott e Kivipelto, 1999), têm confirmado a possibilidade de influência da suplementação de cromo na tolerância à glicose e resistência à insulina.

A suplementação de cromo e insulina *in vitro* em tecido animal tem induzido a um aumento da oxidação da glicose. Observou-se formação de CO₂ + H₂ O, com aumento da gliconeogênese e conversão de glicose em gordura, associados ao aumento da utilização de glicose (Anderson, 1997).

2.1.5.2.2. Metabolismo de lípidos

Numerosos estudos mostraram que o cromo é essencial para o metabolismo lipídico e redução do risco de aterogênese. Por exemplo, ratos e coelhos alimentados com dieta deficiente em Cr tiveram aumento no colesterol total e concentração de gordura na aorta, mostrando aumento de formação de placa (Abraham et al. 1982). A suplementação com cromo reduziu o colesterol total no sangue deles. Após suplementação com cromo observam-se em humanos aumentos do HDL colesterol e redução do colesterol total, LDL e triacilgliceróis (Lefavi et al. 1993).

Macnara e Valdez (2005) pesquisaram a ação do propionato de cromo na lipogênese e lipólise no tecido adiposo em vacas

leiteiras Holandesas no período de 21 dias pré parto até 35 dias pós-parto. O cromo aumentou a síntese de gordura na malha de tecido adiposo e reduziu o relaxamento da malha o que pode ter ocorrido pela ligação da cromodulina com o receptor de insulina e aumento do fluxo de glicose para dentro do adipócito.

Uyanik et al. (2008), relataram que em cavalos da raça quarto de milha, a suplementação diária de 200 e 400µg de picolinato de cromo não influenciaram os níveis séricos de HDL e LDH; no entanto, ambas as doses reduziram levemente o colesterol total e um decréscimo significativo ($P < 0,05$) foi observado nos triacilglicerois nos cavalos suplementados com 400µg num período de 45 dias.

2.1.5.2.3. Metabolismo de proteínas

Assume-se que a atividade de cromo é mediada pela ação anabolizante da insulina, mas outros mecanismos não podem ser excluídos.

Roginski e Mertz (1969) afirmam que suplementação com cromo intensifica a incorporação de aminoácidos no coração pela absorção de proteínas e aminoácidos pelo tecido em ratos.

Evans e Bowman (1992) demonstraram aumento na captação de aminoácido e de glicose em músculos esqueléticos de ratos que foram incubados com Cr-picolinato. Este achado pode explicar o efeito da tolerância a glicose bem como o aumento no percentual dos músculos esqueléticos relatados por alguns investigadores. O potencial melhoramento da captação de aminoácido por células musculares é benéfico para a deposição da quantidade total de proteínas.

2.1.5.2.4. Metabolismo mineral

O metabolismo mineral é uma das áreas mais importantes na pesquisa equina. Nos últimos cinco anos, tem surgido grande quantidade de literatura sobre conteúdo mineral ósseo, disponibilidade de fontes orgânicas e inorgânicas, aumento da importância de minerais traços que antes eram considerados insignificantes e efeitos de crescimento, exercício ou sedentarismo no metabolismo mineral (Rich e Breuer, 2002).

Existem relativamente poucos trabalhos sobre o efeito de suplementação com cromo no metabolismo de outras substâncias minerais. A relação entre Cr e Fe tem sido investigada uma vez que estes dois minerais são transportados ligados a transferrina. Numa baixa saturação de Fe, os dois minerais ligam-se preferencialmente em sítios diferentes. Quando, no entanto, a concentração de Fe é mais elevada, ocorre competição para os mesmos sítios vinculativos. Este parece ser o motivo pelo qual menor retenção de cromo tenha sido identificada em pacientes que sofrem de hemocromatose do que em indivíduos saudáveis ou doentes com uma deficiência de Fe (Sargent et al. 1979).

Ani e Mostaghie (1992) publicaram evidências de que cromo pode prejudicar o metabolismo de Fe. Outros autores também têm relatado alterações na homeostase do Fe e a alteração mais significativa foi detectada em associação com a suplementação com Cr-picolinato (Lukaski et al. 1996). Schrauzer et al. 1986 relataram uma diminuição na perda de alguns microelementos (Zn, Fe, Cu e Mn) durante estresse em ratos suplementados com cromo. Interações entre Cr, Ca e Mg tem sido relatadas por Moonsie-Shageer and Mowat (1993), que verificaram aumento da concentração de Ca e Mg no sétimo dia após suplementação com cromo.

Também foi relatado por Anderson et al. (1996), diminuição nas concentrações de Fe

detectadas em resposta a suplementação de cromo.

Uyanik et al. (2008) afirmaram que a suplementação com 200 e 400µg de cromo via oral, durante 45 dias não influenciou os níveis de mineral (Ca, Pi, Mg) de cavalos Quarto de Milha, com escore corporal desfavorável. Entretanto, a suplementação com 400µg de cromo aumentou ($P < 0,01$) os níveis de concentração de cromo no soro.

Neste experimento, a dosagem de cromo no soro não foi realizada, pois de acordo com vários autores Schermaier et al. (1985), Anderson (1987), a concentração de cromo no soro não é um bom indicador do status nutricional do cromo. Da mesma maneira outros autores Wood et al. 1990, Pavlata e Pechova (2007) demonstraram que, a determinação da concentração de cromo no sangue não fornece um bom indicativo para sua suplementação e, portanto, não poderia ser usado para o diagnóstico de deficiência de cromo no organismo.

2.1.6. Regulação Hormonal

2.1.6.1. Cortisol

Uma série de estudos confirmou uma associação entre cromo e metabolismo durante aumento de estresse fisiológico, patológico e nutricional. A demanda de Cr aumenta em humanos e animais durante períodos de estresse; ex: fadiga, trauma, gestação, em dietas altas em carboidrato, estresse metabólico, físico e emocional, assim como efeitos ambientais (Anderson, 1994).

Sob a influência de um agente estressor, a concentração de cortisol aumenta, agindo como um antagonista da insulina através de um aumento da glicemia e reduzindo a utilização de glicose pelos tecidos periféricos. O aumento do nível de glicose no sangue estimula a mobilização da reserva de cromo. Diversos pesquisadores confirmaram também uma diminuição da

sensibilidade ao estresse em animais suplementados com cromo, através da redução da concentração de cortisol no sangue. (Chang e Mowat, 1992; Moonsie-Shageer and Mowat, 1993; Mowat et al., 1993; Pechova et al., 2002c).

No entanto, as concentrações séricas de cortisol em vacas leiteiras após o parto mostraram uma incoerência aumentando em animais suplementados com cromo (Burton et al., 1995; Yang et al., 1996), que sugere que a associação entre cromo e cortisol pode ser menos clara do que originalmente assumidas. Al-Saiady et al. (2004) constatou que adicionando cromo quelatado na alimentação das vacas leiteiras sob estresse do calor, houve melhora na produção de leite e ingestão alimentar sem afetar componentes do leite.

2.1.6.2. Insulina

O cromo melhorou a atividade da insulina e aumentou o número de receptores de insulina da superfície das células e sensibilidade das células-β pancreáticas juntamente com aumento da sensibilidade geral à insulina (Anderson, 1997b).

Atua como co-fator para a insulina e, por conseguinte, sua atividade no organismo é paralela às funções da insulina. Apesar de reforçar a atividade deste hormônio, o cromo não pode substituí-lo. Na presença de cromo orgânico um menor nível de insulina foi suficiente para alcançar uma resposta biológica similar (Mertz, 1993). São provas disso os resultados relatados por Striffler et al. (1999), o qual verificou aumento da secreção de insulina em ratos com deficiência de cromo durante a resposta a um aumento da concentração de glicose no sangue.

Stahlhut et al. (2006a) encontraram entre 10 a 45 min após a administração de glicose, menor concentração sérica de insulina no soro em vacas suplementadas com cromo

picolinato comparadas com vacas de grupo controle.

2.1.7. Reprodução

O mecanismo do efeito do cromo nas funções reprodutivas não está esclarecido. Uma das teorias (Lindemann, 1996) assume que a reprodução pode ser afetada pela alteração de sensibilidade à insulina. Maior atenção tem sido dedicada ao estudo do efeito do cromo sobre a reprodução em suínos. A suplementação de cromo em porcas durante o ciclo de reprodução teve um efeito positivo sobre o tamanho da leitegada no nascimento, bem como o peso ao desmame (Lindemann et al., 1995ab). Em contraste com isso, Campbell (1998) não encontrou efeito sobre o número de leitões por leitegada ou o número de leitões desmamados suplementando com 200µg /kg de cromo, já um efeito positivo (79-82%) foi verificado na porcentagem de prenhes de porcas suplementadas com cromo. O efeito das doses de cromo (0, 200, 600, 1 000 ppb alimentados como base) foi estudado em cooperativa envolvendo 353 ninhadas de três estações (Lindemann et al. 2004). A suplementação com picolinato de cromo aumentou o número de suínos nascidos vivos por ninhada, mas diminuiu o peso individual ao nascer do total de suínos nascidos. Garcia et al. (1997) estudaram o efeito da suplementação com Cr-picolinato sobre a sensibilidade dos tecidos à insulina, a taxa de ovulação, e secreção de progesterona e oxitocina. Apesar da suplementação com cromo ter tido um efeito positivo sobre a sensibilidade dos tecidos a insulina (redução da relação insulina: glicose), a taxa de ovulação e a concentração de progesterona manteve-se inalterada. As questões de reprodução, em relação à suplementação de cromo em bovinos têm recebido relativamente pouca atenção. Apesar disso, um efeito positivo da suplementação de cromo sobre o índice de inseminação, e o intervalo do período de

serviço tem sido estabelecido (Bonomi et al. 1997; Pechova et al. 2003), bem como uma incidência reduzida de endometrite e retenção de placenta (Chang et al. 1996; Villalobos et al. 1997). Bryan et al. (2004) estudaram o efeito da suplementação de Cr-metionina 6,25 mg / dia sobre a reprodução e lactação de bovinos no pasto. A maioria dos autores estudou o efeito da suplementação do cromo em funções reprodutivas em fêmeas. Em um único estudo, Anderson e Polansky (1981) exploraram o efeito da deficiência de cromo em ratos machos. Eles descobriram que ratos machos alimentados com uma dieta contendo menos que 100µg/kg em 50% tinham menos células espermáticas e fertilidade inferior a 25%.

Uyanik et al. (2008) investigaram o efeito de picolinato de cromo (CrPic) em animais recebendo diariamente, durante 45 dias 0, 200 e 400µg cromo oralmente, sobre alguns parâmetros bioquímicos, hormônios reprodutivos e atividade folicular em éguas Quarto de Milha entre quatro e treze anos de idade, com escore corporal desfavorável; e verificaram um discreto aumento no número de folículos e tamanho dos folículos nos grupos suplementados com 200µg e 400µg Cr respectivamente e, após a quarta semana foi determinado um aumento linear na taxa de estros. Além disto foi verificado um aumento do número de ciclo estral em uma estação de monta. Diante destes resultados os autores sugeriram que o cromo pode ter uma aplicação importante neste campo. No entanto, os autores afirmaram que estudos mais detalhados, com vários níveis de cromo por períodos mais longos devem ser avaliados para determinar a função biológica do cromo na reprodução equina.

2.1.8. Crescimento e composição corporal

O efeito da suplementação de cromo sobre a intensidade de crescimento tem sido especialmente estudado em suínos e

bovinos. Em bovinos, um efeito positivo da suplementação de cromo sobre o ganho de peso tem sido relatado por Chang e Mowat (1992), Moonsie-Shageer e Mowat (1993) e Kegley et al. (1997), enquanto Bunting et al. (1994), Mathison e Engstrom (1995) e Swanson et al. (2000) não encontraram qualquer efeito positivo. Apesar do fato dos resultados terem sido ambíguos, a maioria dos autores concordou que a suplementação com cromo durante períodos de estresse aumentado tem um efeito positivo no ganho de peso. Em intervalos mais longos, após períodos de estresse aumentados (venda, transporte ou movimento) não foi verificado nenhum efeito positivo sobre a intensidade de crescimento com a suplementação de cromo (Pechova e Pavlata, 2007). Os resultados acima referidos foram igualmente confirmados por resultados experimentais em suínos.

Page et al. (1993) verificaram aumento no ganho de peso quando suplementaram com 0,05 e 0,2 mg/kg, mas uma diminuição quando suplementando com 0,1 mg/kg de ração na alimentação. Outros estudos (Mooney e Cromwell, 1995, 1997) têm confirmado o efeito positivo da suplementação com 0,2 mg / kg de cromo sobre o crescimento, mas não em conversão de nutrientes. Inversamente, suplementação de 0-0.8 mg / kg Cr levou a uma tendência linear decrescente com respeito à ingestão de forragens, bem como a ganhar peso com cromo doses crescentes (Page et al., 1993). Outros estudos não têm relatado aumento de peso quando a suplementação de cromo era inferior a 0,25 mg / kg (Amoikon et al., 1995; Boleman et al., 1995; Lindemann et al., 1995b).

Um novo estudo semelhante (Lien et al. 2005) com propionato de cromo (0,2 mg / kg) em leitões com quatro semanas de idade, durante nove semanas do experimento, indicou que o cromo não teve qualquer efeito sobre o crescimento e desempenho mesmo tendo sido usada *Escherichia coli*

lipopolysaccharide como um agente indutor de estresse.

Diversos autores estudaram o efeito da suplementação de cromo sobre a composição da carcaça, especialmente a partir da perspectiva de conteúdo de gordura e conteúdo muscular, mas esses resultados não se confundem.

Page et al. (1993), Lindemann et al. (1995b) e Mooney e Cromwell (1995) relataram um aumento na proporção de tecido muscular em resposta à suplementação com cromo. Por outro lado, Ward et al. (1995) não observaram quaisquer efeitos da suplementação de cromo sobre a composição de uma carcaça de suíno. Do mesmo modo, Crow e Newcomb (1997) e Crow et al. (1997) não encontram nenhum efeito do Cr-picolinato sobre a proporção de músculo e gordura. Detalhado estudo em suínos foi realizado por Mooney e Cromwell (1997), que administraram cromo na forma de picolinato e cloreto a uma perspectiva em longo prazo. A suplementação com cromo não teve nenhum efeito significativo sobre gordura traseira (ou posterior) ou ganho de peso, mas a suplementação com cromo picolinato fez aumentar o conteúdo muscular em 5,4% enquanto que o conteúdo de gordura diminuiu para 8,2%.

Para Gardner et al. (1998), a suplementação com cromo em ovinos não teve qualquer efeito sobre o crescimento, peso ou conteúdo de glicogênio muscular, mas ele fez reduzir a camada de gordura subcutânea.

De acordo com Rich e Breuer (2002), as funções do cromo no crescimento, função imune e metabolismo energético de cavalos não estão bem esclarecidos, mas tem gerado grande interesse. Ott e Kivipelto (1999) verificaram que a suplementação com triplicolonato de cromo aumentou a taxa de metabolização de glicose, mas não teve nenhum efeito no crescimento e desenvolvimento de potros em um ensaio de 112 dias. Nos seres humanos, cromo é recomendado como uma ferramenta para

redução de peso e redução da gordura contida no corpo. Pitler et al. (2003) publicaram os resultados de uma meta-análise cujo objetivo era avaliar as provas do efeito de redução de cromo picolinato no peso corporal. Eles sugeriram efeito relativamente pequeno de cromo picolinato comparado com o placebo para a redução do peso corporal.

Uyanik et al. (2008) suplementando cavalos quarto de milha durante 45 dias com 200 e 400µg de cromo picolinato relataram que este não influenciou os níveis de glicose, proteína total e globulina.

2.1.9. Função imunológica

A produção animal impõe aos animais condições estressante, que podem alterar o funcionamento normal do sistema endócrino e imune, afetando consequentemente a sanidade dos animais.

Em novilhos estressados, a suplementação com cromo resultou em incrementos na concentração total de imunoglobulinas (Ig), particularmente IgM (Chang e Mowat, 1992), aumento na resposta de anticorpos para glóbulos vermelhos humanos e incremento sérico de IgG1 aos 14 dias pós estimulação (Moonsie- Shageer e Mowat, 1993). Em vacas leiteiras no pós - parto, a suplementação com cromo durante a prenhez tem demonstrado incremento na concentração total de Ig no colostro (Waddell e Mallard, citado por Borgs e Mallard, 1998) atribuído a maior circulação sanguínea de Ig na vaca.

Uma série de autores está investigando os efeitos do cromo sobre a função imunológica; no entanto o mecanismo básico de ação intracelular e intercelular permanece desconhecido. A função imunológica pode ser afetada em associação com a atividade insulina e / ou de cortisol, mas pode muito bem ser mediada pela produção regular de certas citocinas Borgs e Mallard (1998).

Gentry et al. (1999) concluíram que éguas adultas sedentárias com uma dieta de gramínea (bermuda Grass) suplementadas com Cr-tripicolinato (5mg/cabeça/dia), obtiveram efeito marginal na resposta imune, metabólica e hormonal.

Colegas de Rutgers suplementaram éguas geriátricas (21-32 anos) com dois níveis de cromo L-metionina por quatro semanas. Não houve alteração dos parâmetros imunes ou da resposta de glicose e insulina de forma consistente. Aparentemente, o cromo não apresentou efeito nas respostas da glicose/insulina ao teste de administração intravenosa de dextrose ou após teste natural de refeição rica em concentrados. Ao contrário de trabalhos anteriores em animais atletas, esses dados de animais em crescimento, sedentários ou geriátricos mostraram que a suplementação com cromo tripicolinato e cromo L-metionina não se justifica pela melhora da imunidade, crescimento ou resposta de glicose/insulina (Rich e Breuer, 2002).

2.1.10. Deficiência de cromo

Os documentos relacionados com o estudo experimental de deficiência de cromo são relativamente escassos e a maioria deles cita resultados de experimentos com animais em laboratório.

Anderson (1994) resumiu resultados de uma série de ensaios clínicos em seres humanos, ratos, camundongos e outras espécies animais, em uma revisão de sintomas fisiológicos e bioquímicos de deficiência de cromo. Frank et al. (2000ab) estudaram a deficiência de cromo, induzida experimentalmente em caprinos. A população com deficiência de cromo apresentou maior ganho de peso ($31,1 \pm 11,7$ vs $20,0 \pm 7,3$ kg) para o período de acompanhamento (84 semanas) em comparação com o grupo controle. Os autores explicam este efeito inesperado, pela possibilidade de que a deficiência de cromo tenha prejudicado a tolerância à glicose estimulando à liberação de insulina, levando

a uma subsequente hiperinsulinemia. A deficiência de cromo levou também um aumento nos parâmetros hematológicos (hemoglobina, hematócrito, eritrócitos, leucócitos e volume médio de eritrócitos); foi observado também um aumento da concentração de proteína e hiperinsulinemia quando comparado com o grupo controle (Pechova e Pavlata, 2007).

Até o momento as informações disponíveis são insuficientes para determinar se existe necessidade de cromo para cavalos, embora a recomendação diária de ingestão diária para humanos é de 50 - 200 μ g/d Anderson e Kozlovsky, 1985 citado pelo NRC (2007).

Embora nenhuma evidência de deficiência de cromo tenha sido encontrada em cavalos, a deficiência de cromo em humanos conduziu a sintomas associados com diabetes em adultos e doença cardiovascular (Vincent, 1999). De acordo com dados em outras espécies a concentração máxima de cromo na ração tolerável em cavalos estabelecida é de 3,000mg/kg de matéria seca na forma de óxido e de 100 mg/kg de matéria seca na forma de cloreto na forma de cromo trivalente (NRC, 2007).

2.1.11. Exigência de cromo

Jackson (1977) sugeriu que a necessidade de cromo deve ser mais alta em cavalos em exercício do que em cavalos sedentários. Enquanto não haja um suporte nas pesquisas em cavalos, isto é fortemente sustentado por Lukaski (2000) para humanos em treinamento de resistência. Pagan et al. (1995) descreveu que cavalos em exercício suplementados com 5mg de cromo originário de um produto de levedura apresentaram concentração de glicose no plasma mais baixa durante vários estágios de exercício em esteira. Igualmente, cavalos suplementados tiveram baixos de insulina no sangue 1 hora após alimentação com grãos do que os cavalos controle. Em contraste, Pagan et al. (1995) não observaram

nenhuma resposta na suplementação em cavalos não treinados, cavalos sedentários. Ott e Kivipelto (1999) descreveram que a suplementação com tripicolinato de cromo resultou em piques de concentração de glicose no plasma decrescendo mais rapidamente imediatamente a um teste intravenoso de sensibilidade à insulina. Da mesma forma, as médias de valores das taxas de glicose fracionadas decresceram em resposta a suplementação com tripicolinato de cromo. Gentry et al. (1997) descreveram que a suplementação com picolinato de cromo teve somente um efeito marginal na resposta metabólica, hormonal e imune. Vervuert et al. (2005) descreveu que em cavalos suplementados com cromo de um produto de leveduras não houve melhora no aproveitamento da glicose. Cavalos suplementados com cromo também apresentaram batimentos cardíacos altos e taxas de lactato sanguíneo aumentado no final de testes de exercício na esteira sugerindo que a capacidade de exercício em cavalos suplementados com cromo foi comprometida. A suplementação com cromo L metionina em éguas geriátricas por um período de 4 semanas não alterou a maioria dos parâmetros imunes (Dimock et al., 1999). Somado a isso, a suplementação com 4mg/dia de propionato de cromo não suavizou a elevação de leptina e insulina no plasma ou alterou a dinâmica da glicose e sensibilidade à insulina em cavalos de alto desempenho (Cartmill et al., 2005 citado no NRC - Horses, 2007).

Suplementação com cromo oral (5mg / dia), foi sugerida para acalmar cavalos e melhorar as suas respostas ao exercício possivelmente afetando metabolismo de glicose e de glicogênio, possivelmente potencializando a ação da insulina. O pretense efeito calmante do cromo pode ser benéfico em cavalos com rabdomiólise recorrente porque parece que o estresse é um crítico precipitador desta desordem. No entanto, devido a cavalos que apresentam PSSM (miopatia por estoque de

polissacarídeos) exibirem anormal sensibilidade à insulina, a suplementação com cromo pode ser contraproducente nestes animais (Valberg, 2005).

Porter et al., (1999) sugeriram que, em humanos, a suplementação diária de cromo não está justificada até o momento.

2.1.12. Cromo – Toxicidade

A toxicidade do Cr está associada principalmente com a forma hexavalente, enquanto que a forma trivalente é tida como um mineral extremamente seguro. O cromo hexavalente é mais solúvel e pelo menos cinco vezes mais tóxico (Barceloux, 1999).

O limite de segurança para o Cr^{3+} é de 1:10.000 e de fato sua toxicidade é mais baixa do que a toxicidade de todos os outros elementos essenciais tais como Cu, I, Zn e Mn e, especialmente Se (Lindemann, 1996).

A toxicidade do Cr^{6+} é mais provável que seja baseada num componente oxidativo do DNA (Cohen et al., 1993). No entanto, os detalhes da atividade tóxica do Cr^{6+} não são conhecidos. Assume-se que a genotoxicidade pode ser devida a uma forma transitória (Cr^{5+}) de origem intracelular formada pela redução do Cr^{6+} a Cr^{3+} (Stearns et al., 1995). A redução extracelular de Cr^{6+} a Cr^{3+} é considerada uma reação protetora (De Flora et al., 1989). O principal mecanismo de defesa contra a atividade do Cr^{6+} nos pulmões e no estômago é a redução de Cr^{6+} a Cr^{3+} por um mecanismo NADPH-dependente envolvendo ascorbato. Ensaaios com animais mostram que a glutatona desempenha um papel importante na redução do Cr^{6+} nos eritrócitos, também mostrando certa redução na atividade dos pulmões (Suzuki e Fukuda, 1990).

A intoxicação por cromo se caracteriza por alterações anatomopatológicas nos pulmões, rins e fígado. Os pulmões são afetados com hiperemia, erosão e alterações inflamatórias na mucosa do sistema respiratório

desenvolvidas após inalação de cromo. A sensibilização dos pulmões com compostos de Cr^{6+} pode causar um bronco espasmo ou até mesmo desenvolver uma reação anafilática. A exposição crônica ao cromo tem sido observada como causa de perfuração do septo nasal (Lee et al., 2002) e, no pulmão, pequenas células de câncer têm sido relatadas. A intoxicação aguda com Cr^{6+} levou a uma necrose tubular renal aguda caracterizada por mudanças intersticiais significativas e falência renal citado por Pechova e Pavlata (2007).

O Cr^{3+} não é a forma mais tóxica encontrada, porém esta forma é tóxica ao organismo quando ingerida em dosagens extremamente elevadas. Contudo, os graves problemas relacionados à intoxicação com cromo se referem ao Cr^{6+} que, normalmente, é inalado em ambientes industriais e pode causar ulceração do septo nasal, inflamação da mucosa nasal, bronquite crônica e enfisema citado por Gomes e Tirapegui, (2004).

De acordo com Lukaski (2000), citado por Gomes; Rogero; Tirapegui, 2005 a dificuldade de se estabelecer uma ingestão dietética recomendada (RDA) para o cromo deve-se principalmente às limitações da estimativa da ingestão do mesmo. Estas limitações abrangem desde a ausência de dados relativos à quantidade de cromo presente em alimentos às dificuldades de análise desse mineral na maioria dos alimentos, devido a sua reduzida concentração e a problemas de contaminações ambientais.

2.2. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Existe uma ampla informação a respeito da fisiologia do exercício do cavalo Puro Sangue Inglês de corrida, seja em condições de repouso ou durante o desempenho atlético, que tem permitido caracterizar sua adaptação fisiológica e bioquímica ao exercício ou trabalho de variada intensidade

e duração (Engelhardt, 1977; Snow, 1983; Rose e Evans, 1987; Carlson, 1987); isto contrasta com o escasso conhecimento que existe sobre a atividade fisiológica tanto em repouso como durante o exercício de outras raças, principalmente raças nacionais.

Através da avaliação dos constituintes sanguíneos, é possível determinar as modificações fisiológicas e bioquímicas que ocorrem como resposta ao exercício e treinamento ao quais os cavalos são submetidos. Estudos sobre as adaptações hematológicas e bioquímicas em cavalos de corrida (Puro Sangue Inglês) durante e depois do exercício, têm demonstrado que a frequência cardíaca, a concentração de ácido láctico sanguíneo, o volume total de glóbulos vermelhos e a concentração de hemoglobina podem ser indicadores confiáveis para avaliar a aptidão física e o nível de treinamento que apresenta um cavalo para realizar determinado exercício (Evans et al., 1993; Pearson, 1983).

Para a maioria dos exames hematológicos e bioquímicos são utilizadas amostras de sangue venoso, coletadas na veia jugular. Elege-se a veia jugular para coleta sanguínea, já que é ampla superficial e de fácil acesso. Quase não existem diferenças entre os resultados bioquímicos e hematológicos do sangue arterial e venoso, exceção feita quando se deseja conhecer a gasometria arterial e a condição ácido-base, em cujo caso é necessária uma amostra de sangue arterial. É recomendável obter as amostras antes da alimentação ou exercício e manipulá-las com cuidado, já que podem surgir distintos e numerosos problemas por hemólise, principalmente interferência com os ensaios bioquímicos e elevação falsa de alguns valores (Bayly e Kline, 2007).

O fornecimento de feno é capaz de afetar as concentrações de sódio, potássio e proteína dentro das primeiras horas após ingestão. Animais que estão se alimentando com verde fresco podem apresentar parâmetros ligeiramente diferentes dos que estão se

alimentando à base de ração altamente concentradas (Ralston, 1997). Segundo Kerr e Snow (1982), quando o cavalo é alimentado com feno, pode ocorrer um aumento no hematócrito e na proteína plasmática total, provavelmente associada com uma substancial produção de saliva. Portanto as amostras deveriam ser coletadas pelo menos três horas após a alimentação, principalmente quando uma grande quantidade de feno tiver sido ingerida.

O médico veterinário deve informar se durante a coleta do material ocorreu algum problema de tensão por parte do animal, pois tensão, transporte, excitação e manipulação produzem respostas fisiológicas, capazes de afetar uma série de parâmetros hematológicos e bioquímicos. Isto é mais evidente no cavalo, que mostra marcantes elevações nos parâmetros eritrocitários e numa menor extensão, na concentração das proteínas plasmáticas em resposta ao exercício, excitação ou administração de catecolaminas. A hematimetria e concentração de hemoglobina podem aumentar em 50%, enquanto que a concentração das proteínas plasmáticas pode aumentar em 1 a 2 g/dl. Uma leucocitose é induzida, com a mobilização do grupamento leucocitário marginal para a circulação geral (Lassen e Swardson, 1995).

Uma tensão prolongada resulta na liberação de corticosteróides endógenos, que produzem a típica “resposta de tensão” no leucograma. A combinação de liberação de catecolaminas e glicocorticóides, associada à tensão, transporte e excitação, bem como a muitos distúrbios gastrointestinais graves, pode resultar em concentrações glicêmicas marcadamente elevadas (até 400 mg/dl).

A característica mais importante do hemograma do cavalo é que o número de hemácias circulantes é altamente instável devido à grande reserva no baço que prontamente se contrai sob influência de emoções, medo ou atividade muscular, liberando as hemácias para a circulação.

Quando isto acontece, em questão de minutos, o hematócrito e a contagem de hemácias podem subir em até 30%. (Soares, 2004).

2.2.1. Hematócrito

O hematócrito corresponde à fração celular e sua relação com o total de volume sanguíneo expresso em porcentagem. O valor esperado para o PSI atleta está entre 38 e 45%, diminuindo também para animais fora de treinamento. Animais submetidos a treinamento de tiro (basicamente anaeróbico) como o Quarto de Milha de corrida, apresentam padrão intermediário entre o PSI e o animal em descanso. Os animais de salto e adestramento já possuem um valor mais baixo, entre 32 e 36% (Gonzalez e Silva, 2003).

As características individuais também são relevantes na interpretação dos resultados. Alguns animais fogem dos padrões de normalidade que estabelecemos para as categorias e apresentam excelente desempenho com resultados de hemograma aparentemente insatisfatórios, como uma contagem de hemácias baixa, ou um hematócrito persistentemente alto. Ao se conhecer o padrão do animal e da categoria, podemos fazer o acompanhamento do treinamento e determinar quando o animal está na sua melhor forma (Lassen e Swardson, 1995).

Outra característica interessante da espécie equina é a estabilidade do volume corpuscular médio (VCM). O volume das hemácias do cavalo se mantém dentro de limites rígidos, mesmo na presença de doenças, de tal forma que um aumento no hematócrito quase certamente corresponde a um aumento do número de hemácias e não ao aumento do volume destas (Schalm et al., 2000).

Enquanto a maior parte do aumento no hematócrito durante esforço de alta intensidade ocorre devido à contração

esplênica, as trocas de fluidos induzidas pelo exercício também desempenham importante papel. A extensão dessas trocas está aparentemente relacionada à duração e intensidade do esforço. Dadas as substanciais perdas de fluidos ocorridas durante o esforço prolongado de resistência, é comum que reduções no volume plasmático tenham participação nas alterações do hematócrito neste exercício (Kingston, 2004). Associados a elevação no hematócrito notam-se elevações na contagem eritrocitária e na concentração de hemoglobina, levando à aumento na capacidade de transporte de oxigênio, que é um importante fator na capacidade aeróbica do cavalo (Evans e Rose, 1988).

A extensão do aumento do hematócrito é função linear da intensidade do esforço, com relação linear entre o hematócrito e a velocidade (Rose, 1982; Persson, 1975). Com o aumento do hematócrito, ocorre elevação na contagem de eritrócitos e concentração de hemoglobina. Conseqüentemente, com a elevação de hemoglobina, ocorre aumento na capacidade de transporte de oxigênio, que se revela um fator importante na maior capacidade aeróbica do cavalo (Evans e Rose 1988).

2.2.2. Proteína Total

A dosagem de proteína total, albumina, globulinas e fibrinogênio fornece um índice de hidratação, assim como índices de infecção, inflamação, perda de proteína, ou decréscimo da produção de proteína.

A hiperproteinemia, geralmente é consequência da desidratação no cavalo atleta, mas devido a ampla variação dos níveis normais no plasma (5,5 – 7,5g/dl) pode ser difícil detectar um aumento em cavalos que possuem uma taxa normal. É importante lembrar que uma alta concentração de proteína no plasma também pode ser causada por uma elevação nas globulinas ou fibrinogênio. Hipoproteinemia

raramente acontece no cavalo atleta (Hodgson e Rose, 1994).

2.2.3. Leucograma

A mudança na proporção de leucócitos depende da intensidade e duração do exercício, assim como do grau de estresse aos quais os cavalos foram submetidos. A contagem total de leucócitos aumenta de 10% para 30% dependendo da intensidade e duração do exercício. Mas a amplitude deste aumento não é tão dramática para os índices de células vermelhas (número de eritrócitos, hemoglobina, volume corpuscular médio). O aumento do hematócrito é também devido à variação de volume do plasma e está correlacionada com o aumento de intensidade do exercício físico. O estresse em cavalos de enduro durante provas é associado com neutrofilia progressiva com desvio a esquerda e linfopenia. A persistência de tais parâmetros é sinal de exaustão (Rose e Hodgson, 1994).

Exercícios de longa distância e baixa a moderada intensidade, produzem leucocitose resultante da neutrofilia e linfopenia. (Pearson, 1975; Rose, 1982). A amplitude da leucocitose está relacionada com o aumento de cortisol no plasma e a velocidade é um fator importante que afeta a extensão da neutrofilia e linfopenia, com cavalos mais rápidos terminando a prova de enduro com uma relação neutrófilo/linfócito (N/L) mais alta que cavalos mais lentos. Sob condições de estresse severo como em cavalos exaustos, não existe apenas um grau maior de neutrofilia, mas também o surgimento de neutrófilos marginais. A resposta leucocitária de um exercício máximo difere da resposta de um exercício de enduro devido à liberação de linfócitos sequestrados pelo baço. Há somente um pequeno aumento dos leucócitos, devido ao aumento do número de linfócitos e uma consequente diminuição na relação N/L. Após um exercício máximo a linfocitose é transitória, permanecendo somente por poucas horas.

Após isto o número de linfócitos decresce, resultando num aumento da relação N/L, coincidindo com um aumento do nível de cortisol no plasma (Rose e Hodgson, 1994).

Quando a relação neutrófilos/ linfócitos alcança um valor de 10:1 e se produz um desvio para esquerda, esta é indicadora de esgotamento, estresse e também tem se sugerido que é indicativa de excesso de treinamento (Bayly e Kline, 2007).

2.2.4. Glicose

Nos mamíferos, a estabilidade da concentração de glicose no plasma representa o equilíbrio entre caminhos bioquímicos envolvendo carboidratos (gliconeogenesis, glicogenólises, glicólises), interações hormonais e ingestão alimentar.

A glicose plasmática geralmente aumenta em todos os tipos de exercício, devido a estimulação da glicogenólise hepática. No entanto, em exercícios prolongados, a concentração de glicose sofrerá um decréscimo, como resultado da depleção de glicogênio hepático (Rose et al., 1977).

A amplitude do aumento da concentração de glicose plasmática está provavelmente relacionada com o grau de atividade simpática, que está relacionado com a intensidade do exercício (Snow et al. 1992).

A utilização da glicose plasmática aumenta com a intensidade do exercício devido ao aumento na utilização por cada fibra muscular e ao incremento no número de fibras musculares em atividade (Santos, 2006).

De acordo com Orozco, (2007) em cavalos da raça puro sangue árabe, treinados para prova de enduro, a glicemia manteve-se constante em todas as etapas na fase de exercício, elevando-se significativamente na fase de desaquecimento.

2.2.5. Lactato

As mensurações de lactato permitem a adoção de condutas preventivas à saúde atlética do cavalo, bem como a modificação do programa de treinamento. Assim sendo, o conhecimento dos valores de lactato sanguíneo auxilia na avaliação da capacidade atlética de um cavalo submetido a determinado programa de treinamento, de tal modo que, alterações neste treinamento possam melhorar seu desempenho e prevenir lesões, por vezes despercebidas, ou observadas tardiamente, e que estejam limitando sua capacidade funcional (Thomassian et al., 2004).

O lactato é geralmente medido no plasma e as concentrações são cerca de 40 a 50 por cento mais elevadas do que os de sangue, embora a relação seja bastante variável (Rose e Hodgson, 1994).

Medidas diretas são facilmente disponíveis, de baixo custo e precisas. O analisador portátil (Accutrend lactate analyzer, Sports Resource Group) foi avaliado e preciso em cavalos entre 0,8 e 20mmol/L (Franklin e Peloso, 2006). Quando a concentração de lactato foi maior do que 10mmol/L os resultados foram subestimados ou quando o volume total de células (PCV) foi maior do que 53% em cavalos intensamente exercitados (Evans e Golland, 1996). Uma precisão também foi encontrada na comparação do analisador portátil de gás sanguíneo com o kit enzimático em cavalos com cólica. Da mesma forma que no estudo anteriormente citado, neste estudo também foram observadas limitações quando os níveis de lactato estavam acima de 10mmol/L. Na comparação do aparelho portátil de gás sanguíneo com o analisador de lactato portátil nos cavalos em exercício os resultados encontrados foram excelentes (Franklin e Peloso, 2006).

O lactato é produto do metabolismo muscular em qualquer tipo de exercício e o aumento de sua concentração é decorrente da limitação da disponibilidade de oxigênio para oxidação do piruvato na mitocôndria.

Desta maneira, a relação entre a concentração de lactato e a velocidade de exercício obtida nos testes de exercício, ilustra a situação na qual há um aumento exponencial de suas concentrações sanguíneas quando a contribuição da energia aeróbica começa a ser insuficiente frente aos requerimentos energéticos totais (Boffi, 2007).

A concentração sanguínea de lactato também aumenta quando ocorre estímulo da glicogenólise, que resulta em um aumento no piruvato, causando aumento no lactato segundo a lei de ação de massas (Arias et al. 2001; Rose e Hodgson, 1994). Portanto, o aumento de lactato no plasma não significa necessariamente uma falta de oxigênio disponível.

A concentração sanguínea do lactato é modificada pela atividade física, assim como durante a realização de exercício, a concentração sanguínea do lactato depende, em primeira instância, da intensidade da carga de trabalho e, em segunda, da duração da mesma. Após 20 a 30 minutos de concluída a carga de trabalho, o lactato volta aos níveis de repouso. A depuração do lactato é garantida, seja pela retransformação em glicose - glicogênio (ciclo de Cori) ou pela transformação em piruvato e sua oxidação muscular, sendo excretado pelo suor, fezes e urina (Arias et al. 2001).

Com relação ao exercício, a elevação do lactato ocorre imediatamente após o trabalho anaeróbico ter se iniciado e é inversamente proporcional à tolerância ao exercício. Os níveis circulantes sobem rapidamente até 1,5 - 2,5 mmol/ml a partir do momento que o animal começa a utilizar o metabolismo anaeróbico e, após os exercícios terem cessado os níveis também declinam rapidamente. Por isto, o treinamento acompanhado pela dosagem de lactato só tem valor se a coleta for feita imediatamente após o exercício (Boffi, 2007).

O comportamento do lactato pode ser mudado mediante o treinamento embora alguns autores considerem que só há incremento na depuração, enquanto outros propõem que há diminuição da produção e conseqüentemente, incremento na depuração. Durante a realização de atividade física também há mudanças no lactato, decorrentes da disponibilidade dos substratos; o incremento da glicemia e da taxa sanguínea da insulina ativa a glicólise, o que eleva a lactemia. Em contraposição, uma maior disponibilidade de ácidos graxos livres permite sua oxidação e conseqüentemente, a produção do lactato é menor. Quando corredores de fundo treinados realizam exercício de carga submáxima e longa duração, há pouco aumento na taxa sanguínea do lactato; após uma hora de exercício, esses níveis são menores de 4 mmol/l. Argumenta-se que o incremento no consumo do oxigênio contribui na maior extração do lactato (Arias et al. 2001).

Com o treinamento os níveis de lactato no sangue aumentam devido a maior capacidade do cavalo para eliminar o lactato dos músculos. Os eritrócitos atuam como reserva do excesso de lactato que os músculos não podem usar. Os cavalos identificados pelo seu bom desempenho tendem a apresentar concentrações de lactato elevadas, provavelmente devido ao maior índice de transporte desses aos eritrócitos (Boffi, 2007).

Em exercícios máximos, como corridas de puro sangue inglês há uma substancial produção de lactato. Os valores de concentração de lactato após a corrida estão entre 25 e 30mmol/L, enquanto que nas corridas de cavalos trotadores estes valores são mais baixos. É interessante observar que os cavalos podem ser divididos em dois grupos segundo o nível de transporte do lactato aos eritrócitos. Aproximadamente em uns 25% dos Trotadores, a atividade de transporte é lenta em comparação com 75% restante (Boffi, 2007). Em contraste, provas de enduro resultam num pequeno aumento

na concentração de lactato, frequentemente com valores inferiores a 2mmol/L (Rose e Hodgson, 1994). Após o cross country, um evento de três dias foi encontrado valores de lactato de 8mmol/L (Rose et al., 1980). No entanto, a concentração de lactato após a segunda fase foi somente de 2mmol/L, indicando que o metabolismo aeróbico foi predominante na maior parte do exercício no segundo dia de um evento de três dias.

As concentrações de lactato no sangue constituem um bom indicador do índice de glicólise anaeróbica que se está produzindo. O ácido láctico contribui com a fadiga ao diminuir indiretamente o pH, o qual interfere com o processo de contração muscular. Depois de um exercício máximo, o pH do sangue equino diminui de um valor normal de 7,4 a aproximadamente 7. O ácido láctico é menor que a glicose e é facilmente transportado através da membrana celular pelos transportadores específicos (o transportador monocarboxilato ou o de intercâmbio aniônico inorgânico) ou pela difusão anionica, que poderia fazer mais lento o processo de acidificação, portanto prolongar a capacidade do músculo nas atividades anaeróbicas. Nos cavalos o principal transportador é o monocarboxilato. Portanto, momentaneamente, durante os exercícios de atividade moderada, o lactato produzido por glicólises nas fibras rápidas (tipos IIA e IIX) é o combustível de preferência para as fibras musculares altamente oxidativas (tipo I). Parte do ácido láctico é extraída e usada como substrato energético pelo coração. O transporte do ácido láctico ao fígado, onde se converte em glicose e logo é recuperado pelo músculo (ciclo de Cori), contribui para o reabastecimento de glicogênio muscular. Sem dúvida quando se incrementam a intensidade e duração do exercício, estas fibras não conseguem utilizar todo o lactato produzido. Neste ponto, as concentrações de lactato no sangue se elevam com rapidez, diminuindo o pH dos músculos e produzindo o cansaço. Esta velocidade ou nível de

intensidade de esforço é conhecido como limiar ou umbral do lactato (Bayly e Kline, 2007).

As mensurações das concentrações de lactato no sangue em cavalos de esporte refletem sua condição muscular, ou seja, tendo-se como referência o limiar de lactato no sangue (V_4), revelam as reais condições do metabolismo aeróbio e anaeróbio do sistema músculo-esquelético (Thomassian, 2004).

A intensa produção de lactato resulta na diminuição do pH, o qual pode limitar a capacidade para o trabalho por interferir na atividade enzimática muscular. O termo V_4 representa a velocidade em m/s, na qual a concentração de lactato no sangue é de 4mmol/L, e é considerado um valor com repetibilidade e confiabilidade para a determinação do nível de condicionamento. Portanto, podemos afirmar que a velocidade na qual a concentração de lactato alcança o valor de 4 mmol/L de sangue (V_4), é utilizada para se determinar a aptidão atlética de um cavalo. Vários estudos indicaram que cavalos com alta capacidade aeróbica, normalmente têm baixas concentrações de lactato frente às intensidades de exercício submáximo (Thomassian, 2004).

2.2.6. Cortisol

O cortisol é um hormônio esteróide sintetizado no córtex da adrenal e é crítico na resposta ao esforço. É o principal glicocorticoide produzido pelos cavalos. De acordo com Zorn, (2008) pode ser chamado de “hormônio do estresse” já que é produzido pelo próprio organismo, notadamente sob as situações estressantes e que a medição de seu nível no sangue permite quantificar o estresse produzido em diferentes situações críticas. O significado da palavra estresse é pressão. Entretanto, atualmente, entende-se estresse como uma carga (com conotação negativa) que afeta a

saúde e o bem estar do indivíduo Appledye Hughes (1997), citados por Leal (2007), definiram estresse como a capacidade fisiológica e comportamental de um animal quando submetido a um desafio; e é causado pela interação entre fatores externos ou ambientais e predisposição individual. Esta última influenciada pela genética e experiências anteriores (Grandin, 1997; Pell e McGreevy, 1999), citados por Leal (2007). De acordo com Zorn (2008), para aqueles que apreciam a exatidão deveríamos falar de eustresse (estresse saudável) e distresse (estresse nocivo); que de acordo com Breazile, 1987; Moberg, 1987, podem desencadear alterações fisiológicas benéficas por estimular reações que incrementam o conforto e o bem estar de um indivíduo; ou no caso de diestresse que pode ou não ser maléfico, dependendo dos efeitos que desencadeia. Ainda de acordo com Leal (2008) o estresse pode ser classificado como agudo ou fisiológico e crônico. Assim como no estresse agudo, durante o estresse crônico há elevação das concentrações séricas de cortisol, mantendo-se ou não elevadas dependendo do grau do estímulo estressor (Beerda et al., 1999). De acordo com Nogueira e Barnabé (1997), concentrações elevadas de cortisol podem acarretar efeitos deletérios no desempenho dos animais.

As reações hormonais do organismo em decorrência do estresse se iniciam com a ativação do eixo HPA, por meio da secreção do hormônio liberador de corticotropina (CRH) pelo hipotálamo. O CRH ativa a adeno hipófise a liberar o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) que, por sua vez estimula a glândula adrenal a secretar o hormônio cortisol (Guyton e Hall, 2006).

O aumento do cortisol circulante desencadeia inúmeras cascatas fisiológicas. O principal efeito desse hormônio é a gliconeogênese, ou seja, a formação de glicose a partir de outros compostos, como as proteínas (Greco e Stabenfelt, 1999). Esse fenômeno ocorre por meio do aumento das enzimas hepáticas necessárias para a

conversão de aminoácidos em glicose pelos hepatócitos e pela mobilização de aminoácidos a partir de tecidos extra-hepáticos, principalmente músculos. Dessa forma, há um aumento do estoque de glicogênio nessas células, podendo ser utilizado em momentos de necessidade metabólica (Guyton e Hall, 2006). Além da gliconeogênese, o cortisol desencadeia redução moderada na velocidade de utilização da glicose pelas células, provocando uma elevação na glicemia (Guyton e Hall, 2006). Em contrapartida, há o aumento da secreção de insulina pelas células tipo β do pâncreas (Greco e Stabenfelt, 1999). O efeito resultante da insulina na corrente sanguínea é baixar as concentrações da glicose, dos ácidos graxos e dos aminoácidos e promover a entrada desses constituintes nas células dos tecidos (Guyton e Hall, 2006). No entanto, as altas concentrações plasmáticas de cortisol reduzem a sensibilidade de alguns tecidos aos efeitos estimulantes da insulina sobre a captação e utilização da glicose (Guyton e Hall, 2006). Esse processo metabólico é denominado resistência à insulina (IR) e são inúmeros os mecanismos pelo qual ele ocorre: redução da quantidade de receptores na superfície celular, mau funcionamento dos receptores de insulina nos tecidos e interferência no funcionamento de proteínas responsáveis pela passagem da glicose para a célula (Frank, 2005). Dessa forma, a concentração de insulina tende a se elevar para que a glicose atinja os tecidos, desencadeando um quadro de hiperinsulinemia causado pela hiperatividade das células pancreáticas (Johnson, 2002). A estimulação excessiva dessas células pode levar a exaustão e a ocorrência do *diabetes mellitus* (Ferguson e Hoenig, 2005). A IR e *diabetes mellitus* são as principais consequências das altas concentrações séricas de cortisol. Em indivíduos submetidos a situações de estresse crônico, tem se observado o desenvolvimento da síndrome metabólica. Largamente estudada em humanos, é

caracterizada por um quadro de hipertensão arterial, hiperglicemia, obesidade, resistência à insulina, hiperinsulinemia e *diabetes mellitus* (Brandão et al., 2005; Hanley et al., 2005). Em equinos é denominada síndrome de Cushing periférica ou síndrome metabólica equina. O animal apresenta sinais clínicos de laminites recorrentes, alterações reprodutivas como infertilidade, obesidade, infecções recidivantes (Johnson, 2002).

Metabolicamente, por meio do hormônio cortisol, o estresse permite a mobilização de aminoácidos e gorduras a partir de reservas tissulares. Esses compostos se tornam disponíveis tanto para a geração de energia quanto para a síntese de novos compostos, dentre eles a glicose, necessária para as funções vitais dos órgãos (Guyton e Hall, 2006). Existe uma relação entre a intensidade do esforço e a atividade medular adrenal nos cavalos. As concentrações de cortisol estão muito relacionadas com o ciclo circadiano, portanto, uma só amostra poderia não refletir os níveis reais. Segundo Douglas (2000), para se avaliar o ritmo de cortisol de um animal são necessárias duas coletas de sangue em um intervalo de oito a dez horas para dosagem do cortisol sérico. A ausência de variação da concentração sérica de cortisol durante o dia pode ser indício de estresse crônico, em suínos (Jong, 2000) e em equinos (Nogueira e Barnabé, 1997; Douglas, 2000). De acordo com Pell e Mc Greevy (1999), o ritmo circadiano pode ser afetado por vários fatores como exercício, padrões de sono, tipo de atividade ao que o indivíduo é submetido e ambientes estressantes, porém não se altera em decorrência de raça, idade, sexo ou prenhez (Douglas, 2000).

2.2.6.1. Resposta ao exercício

O exercício representa um potente estímulo fisiológico para o eixo hipotálamo-pituitário-adrenal. Esse eixo desempenha papel principal no ajustamento ao esforço

(Thornton, 1985) e a concentração plasmática de cortisol é influenciada pela duração do exercício (Valberg et al., 1993). Entretanto, a concentração plasmática induzida pelo exercício pode refletir as exigências fisiológicas de qualquer tipo de esforço (Desmecht et al., 1996). Diversos estudos determinaram elevações nas concentrações plasmáticas de cortisol logo após exercícios máximos e submáximos em cavalos (Snow e Mackenzie, 1977; Irvine e Alexander, 1994). Linden et al. (1991) compararam concentrações de cortisol em cavalos logo após provas de salto, concurso completo de equitação (CCE), trote, corridas e provas de enduro e revelaram que as concentrações plasmáticas de cortisol foram similares, exceto para o enduro, onde estas estavam 30% maiores que em qualquer outra atividade equestre. Irvine e Alexander (1994) também demonstraram que em alguns cavalos a antecipação ao exercício ativava o eixo adrenal.

A resposta do cortisol frente a um exercício varia muito conforme a intensidade e duração, o nível de aptidão e o estado nutricional do animal (McArdle et al., 1998). Segundo Harkins et al. (1993) e Marc et al. (2000) o aumento do nível de cortisol após o exercício é maior em cavalos não treinados.

No Brasil, Marques et al. (2000), Teixeira Neto (2006) e Orozco (2007) trabalhando com cavalos da raça puro sangue inglês e puro sangue árabe também observaram aumento na concentração dos níveis séricos de cortisol, em cavalos desempenhando exercícios de diferentes tipos e duração. No Chile, Garcia et al. (1999), num estudo com cavalo crioulo chileno também obtiveram resultado semelhante.

O exercício poderia duplicar ou triplicar o aumento de cortisol. Geralmente se registra um pico entre os 15 e 30 minutos após o final da prova. Os valores elevados diminuíram rapidamente (em 60 minutos) em cavalos de esporte ou regrediram

gradualmente (em torno de quatro horas aos níveis pré-existentes) (Boffi, 2007).

A competição afeta os níveis circulantes de cortisol e o aumento logo após o exercício geralmente depende da condição física individual e da experiência competitiva do cavalo. Os níveis de referência de cortisol em repouso foram maiores em cavalos de competição do que naqueles que não competem. Valores de referência de cavalos de esporte também evidenciaram uma alteração por estresse emocional prévio às provas de salto (Boffi, 2007). Ainda de acordo com este mesmo autor, foi realizado um estudo em cavalos de salto, de diferenciação dos tempos e da elevação de cortisol pós-exercício, levando-se em conta a altura dos obstáculos e o nível de rendimento dos cavalos. Quando comparados cavalos de salto que realizaram provas sem faltas no percurso com aqueles que realizaram um percurso com faltas, observaram-se aumentos mais prematuros nas concentrações séricas de cortisol logo após o salto naqueles cavalos que executaram um percurso perfeito. Este fato parece sinalizar a existência de um efeito adicional de estresse devido ao êxito de salto e da competição em si.

Miyashiro et al. (2007) em um trabalho cujo objetivo foi relacionar a intensidade do exercício físico e os níveis de cortisol plasmático em cavalos de enduro concluíram que o exercício físico que o enduro proporciona leva a um aumento dos níveis plasmáticos de cortisol e que os animais que percorreram maiores distâncias, os supostamente mais experientes, tiveram um menor aumento desse hormônio (12,38ug/dL em t2 e 9,04ug/dL em t3) em comparação aos animais que percorreram menores distâncias (18,69ug/dL em t2 e 12,56ug/dL em t3) e os desqualificados (24,4ug/dL em t2 e 17,23ug/dL em t3). Também verificaram que os animais eliminados por causas metabólicas tendem a apresentar maiores valores de cortisol no pós e no pré-exercício, indicando que o local de

competição e a inexperiência em competições influenciam nesse resultado.

2.2.7. Insulina

A insulina é o hormônio anabólico mais potente. Estimula a captação de aminoácidos para síntese protéica e muscular. Como consequência do maior índice de glicogenólise em resposta ao exercício, geralmente é possível registrar uma diminuição das concentrações plasmáticas de insulina e glucagon (McKeever, 2002; Hyppä, 2002).

O decréscimo da concentração de insulina se produziria porque as catecolaminas inibem a secreção pancreática. Após uma série de exercícios de variada duração e intensidade, tem-se observado uma diminuição da concentração de insulina, com exceção dos exercícios de resistência, em cujo caso se tem comprovado que existe um vínculo estreito entre os níveis plasmáticos de glicose e insulina. Dentro da primeira hora de exercício, a concentração de insulina ultrapassa os níveis de repouso. Parece que o treinamento não causa efeito algum no grau de supressão da insulina plasmática ou o tempo em que se produz uma supressão máxima, mas a condição de hiperinsulinemia de rebote foi menos prolongada logo após o treinamento. (Boffi, 2007; Hodgson e Rose, 1994). Alterações nas concentrações de insulina durante o exercício são atribuídas principalmente à elevação de catecolaminas circulantes responsáveis pela inibição da ação da insulina (McKeever, 2002). As alterações nas concentrações de glicose plasmática representam um estímulo para a glicogênese hepática (Rose e Hodgson, 1994). Fatores que influenciam a glicose sanguínea são bastante complexos, dependendo das taxas de glicogenólise e gliconeogênese (Rose et al., 1983). As concentrações plasmáticas de glicose aumentam geralmente após exercício máximo e submáximo de curta distância (Snow e MacKenzie, 1977; Rose, 1983) e

não se alteram após esforço de enduro (Rose et al., 1977; Snow et al., 1982). A velocidade e a duração do exercício parecem ser os fatores mais importantes que influenciam a glicose sanguínea, visto que após prova de enduro de 160 km de distância, a glicemia se relacionou negativamente com a velocidade (Rose et al., 1983).

2.2.8. Triacilgliceróis

Os lípidos que normalmente estão presentes no sangue incluem os ácidos graxos de cadeia longa (LCFAs), triacilgliceróis e colesterol. Estes lípidos são transportados ligados a proteínas, e no caso dos triacilgliceróis e colesterol, estes complexos são denominados lipoproteínas. Triacilgliceróis, também chamados de triacilgliceróis, são compostos de três moléculas LCFA unidas a uma molécula de glicerol. Triacilgliceróis é o maior lipídeo no tecido adiposo; e a maior forma de armazenamento de gordura no corpo. Triacilgliceróis são sintetizados primariamente no tecido adiposo, fígado, intestino delgado e glândula mamária. As concentrações circulantes em animais normais refletem o balanço entre absorção de triacilgliceróis pelo intestino delgado, síntese/secreção pelos hepatócitos e reabsorção pelo tecido adiposo. Este balanço é afetado pela concentração de gordura na dieta, produção de hormônios tais como insulina e glucagon (Thrall, 2004).

Dentre os fatores que influenciam a concentração de lípidos plasmáticos incluem-se a quantidade e o tipo de lipídeo dietético, o tempo após o consumo de alimentos, a saúde e a idade do animal, o exercício e o equilíbrio hormonal (Beintz, 1998).

Em exercícios de resistência, a utilização de ácidos graxos é realizada basicamente a partir da degradação de triacilgliceróis armazenados no tecido subcutâneo. Esta

mobilização lipídica ocorre como consequência da estimulação da lipase hormonosensível, catecolaminas presentes nos adipócitos. As catecolaminas incrementam o AMP cíclico, que estimula proteína quinase encarregada de estimular a lipase por fosforilação. Em contraposição, o aumento do lactato diminui a mobilização de ácidos graxos livres, aumentando a reesterificação dos mesmos sem afetar a lipólise, portanto o lactato é o primeiro modulador na mobilização de ácidos graxos livres durante o exercício submáximo de longa duração (Boffi, 2007).

Segundo Silva, (2007) a insulina também estimula a utilização dos ácidos graxos de triglicerídeos por aumentar a quantidade da lipase lipoprotéica encontrada na camada capilar do tecido adiposo. A ausência da insulina resulta em uma menor utilização tanto da glicose como de ácidos graxos pelo tecido adiposo e uma inabilidade para sintetizar triglicerídeos. Proteína de baixa densidade (VLDL) e os quilomícrons se acumulam na ausência de insulina, respondendo pelos triglicerídeos elevados no plasma. Na ausência da insulina, a lipoproteína lipase, encontrada no tecido adiposo, é sintetizada em pequenas quantidades.

2.3.METABOLISMO ENERGÉTICO

Segundo Clayton (1991), uma via metabólica envolve uma série de reações químicas. As três vias metabólicas musculares para produção de ATP no músculo são conhecidas como aeróbica; anaeróbica aláctica e anaeróbica láctica. Todas três produzem ATP continuamente numa maior ou menor extensão, com o equilíbrio entre elas dependendo da intensidade e duração do exercício. Fibras musculares são capazes de gerar ATP por qualquer uma das vias metabólicas, mas são mais bem adaptadas a um ou outro tipo de metabolismo em virtude de seus substratos energéticos estocados e concentrações

enzimáticas presentes. As vias anaeróbicas predominam em exercícios de alta intensidade e curta duração. Com o aumento da duração do exercício, a via aeróbica se torna mais importante.

Portanto, Boffi (2007), concorda com Clayton (1991) quando descreveu que o aporte energético durante o exercício não deriva de uma única via metabólica ao contrário, há uma integração do metabolismo aeróbico, anaeróbico e os substratos energéticos metabolizados. O grau de integração metabólica vai depender do tipo de exercício ao qual está submetido o animal.

Segundo Mc Cutcheon et al., (1999), a relativa contribuição das fontes aeróbicas e anaeróbicas para a produção total de energia durante um exercício extenuante varia com a intensidade e duração do exercício. Quando cavalos realizam exercícios de aquecimento previamente a exercícios aeróbicos, a contribuição energética para o metabolismo aeróbico aumenta quase em 80%.

Clayton (1991) afirmou que um dos desafios da fisiologia do exercício é determinar qual via metabólica para produção de energia é de importância primária ou secundária em uma modalidade esportiva e aplicar este conhecimento na formulação de um programa de condicionamento que seja esporte-específico.

Segundo Boffi (2007), podemos conhecer qual foi o substrato utilizado para produção de energia através da avaliação do VO_2 , do CO_2 gerado e do lactato produzido. A relação entre o dióxido de carbono produzido (VCO_2 , L/min) e o oxigênio consumido (VO_2 , L/min) se denomina coeficiente respiratório. O coeficiente respiratório é de 1 quando a única fonte de obtenção de energia são os carboidratos. Quando se utilizam os lipídios como fonte de obtenção energética é maior a necessidade de O_2 , portanto a relação de O_2 e CO_2 é de 0,7. Qualquer relação entre 0,7 e 1 indica que tanto os carboidratos quanto os

lipídios foram usados simultaneamente. Valores superiores a 1, indicam que partes da energia utilizada provem do metabolismo anaeróbico láctico. Isto significa que não é possível determinar que porcentagem de energia provenha da degradação aeróbica e que porcentagens da energia provem da degradação anaeróbica dos carboidratos. Os cavalos em repouso têm um valor médio de 0,9.

Ainda de acordo com Boffi et al. (2003), o VO_2 basal é de aproximadamente 3L/min nos equinos. Durante o exercício de baixa intensidade o VO_2 sofre variações devido a influencia de fatores psicogênicos, da mesma forma que pode ocorrer em repouso, daí serem os valores aproximados. Além disso, o aumento do VO_2 tem uma correlação positiva com o aumento da velocidade ($r^2 = 0,96 - 0,97$) em exercícios submáximos, devido a que a via oxidativa é capaz de proporcionar o total da energia utilizada. Quando a intensidade do exercício e máxima ou supramáxima, a alta correlação positiva observada em exercícios submáximos se perde como consequência do metabolismo anaeróbico que começa a gerar energia para poder satisfazer a demanda.

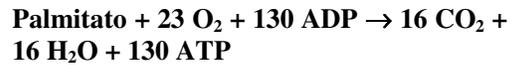
2.3.1. Metabolismo aeróbico

De acordo com Clayton (1991), metabolismo aeróbico implica que oxigênio é usado no processo de transferência de energia. O metabolismo aeróbico usa lipídeos e carboidratos como substratos energéticos que são quebrados na presença de oxigênio para liberar ATP, com dióxido de carbono e água sendo subprodutos.



Para Evans (2000), quando a demanda de energia é baixa durante um exercício de baixa intensidade, o metabolismo aeróbico é capaz de restabelecer o ATP. A mobilização de ácidos graxos não esterificados é baixa,

sendo que sua participação aumenta com o aumento da intensidade do exercício.



Uma série de reações químicas catalizadas por enzimas é envolvida no metabolismo aeróbico, resultando numa remoção completa de energia dos carboidratos e substratos lipídicos. O metabolismo dos lipídios produz ATP numa taxa limitada e mantém exercícios de relativa baixa intensidade. Quanto maior a intensidade do exercício, mais os equinos usam carboidratos em preferência aos lípides. Por outro lado, a liberação de lípides aumenta com a duração do exercício (Clayton, 1991).

ADP-P-P + CHO ou Lipídeos

Múltiplas reações ↓ oxigênio
químicas

ATP-P~P~P + CO₂ + H

Carboidratos e gorduras ingeridos em excesso são estocados no corpo para uso futuro. Carboidratos são estocados como glicogênio, sendo que a maior parte está presente dentro das fibras musculares, onde está prontamente disponível para produção de energia. Pequenas quantidades de glicogênio são estocadas no fígado e são transportadas aos músculos como glicose pela corrente sanguínea. Lipídeos estocados são transportados aos músculos como ácidos graxos livres na corrente sanguínea.

Segundo Evans (2000), o metabolismo aeróbico é altamente dependente de um bom aporte sanguíneo aos músculos, a fim de fornecer oxigênio e substratos energéticos e remover subprodutos. Quando o cavalo está descansando, os músculos recebem apenas 15% do volume sanguíneo circulante, mas durante o exercício intenso, há uma redistribuição seletiva do fluxo sanguíneo, de modo que os músculos em trabalho recebam 85% do volume sanguíneo.

Ainda Evans (2000) afirmou que a capacidade do equino de gerar energia aerobicamente é primariamente limitada pela disponibilidade de oxigênio nos músculos em trabalho. Limitações potenciais incluem a função das vias aéreas superiores, pulmões e sistema cardiovascular e concentração de hemoglobina no sangue. A concentração de enzimas no músculo parece estar em excesso em relação ao nível necessário para metabolizar totalmente o oxigênio disponível no músculo.

Para Boffi (2007), no entanto, a disponibilidade de O₂ a nível muscular, em geral, sempre é suficiente, contrário ao que se acreditava anteriormente. Por tanto, a ativação do metabolismo anaeróbico se dá quando o metabolismo aeróbico está funcionando ao máximo de sua capacidade e os requerimentos energéticos por unidade de tempo continuam aumentando. Ainda de acordo com esse mesmo autor, é importante lembrar que dentro do mesmo músculo existem fibras musculares que independentemente da disponibilidade de O₂, não podem gerar energia pela via oxidativa devido à ausência de mitocôndrias e de mioglobina, ambas vitais para o funcionamento do metabolismo aeróbico.

A recuperação de exercícios aeróbicos envolve repleção de glicogênio nas fibras musculares e no fígado. Tem sido mostrado que, depois de exercícios aeróbicos exaustivos no qual o glicogênio é totalmente depletado, se gasta pelo menos 48 horas para completa recuperação (Clayton, 1991).

2.3.2. Metabolismo anaeróbico alático

Segundo Clayton (1991), o termo anaeróbico alático indica que o oxigênio não é necessário para produção de energia e que o lactato não é produzido como subproduto. A fonte energética neste caso é a creatina fosfato, que possui uma ligação de alta energia similar ao ATP. A transferência da ligação de alta energia da creatina fosfato

ao ATP é catalisada pela enzima creatina fosfoquinase.

ADP-P~P + Creatina~P → ATP-P~P~P + Creatina

Ainda segundo a autora, as vantagens do metabolismo anaeróbico alático são que a creatina fosfato está prontamente disponível quando o exercício começa, provendo energia rapidamente o suficiente para suportar exercícios de alta intensidade, sem liberar nenhum subproduto tóxico. A desvantagem, segundo ela, é a rápida instalação da fadiga, devido à rápida depleção dos pequenos estoques musculares de creatina fosfato. A restauração deste estoque leva em torno de três minutos, se o animal descansar completamente, mas se o exercício continuar, isto se procede mais lentamente.

2.3.3. Metabolismo anaeróbico láctico

De acordo com Clayton (1991), metabolismo anaeróbico láctico, também conhecido como glicólise, suporta exercícios de alta intensidade por um período de aproximadamente 1-2 minutos. O substrato energético é o carboidrato, sendo que o oxigênio não é necessário na reação e o lactato aparece como um subproduto tóxico.

ADP-P ~P + CHO → ATP-P~P~P + Lactato

O carboidrato está prontamente disponível na forma de glicogênio estocado nos músculos e no fígado. O glicogênio hepático é transportado ao músculo pela corrente sanguínea na forma de glicose. O ATP é sintetizado em uma reação química catalisada pela enzima lactato desidrogenase. Como o substrato e a enzima estão presentes na fibra muscular, este sistema funciona quase que imediatamente depois que o exercício começa. Há produção de energia rapidamente o suficiente para suportar exercício de alta intensidade.

Uma das desvantagens desta rota metabólica é que o carboidrato não é quebrado completamente durante as reações químicas, portanto a energia liberada é consideravelmente menor do que no metabolismo aeróbico. O sistema anaeróbico láctico produz apenas três moléculas de ATP por cada molécula de glicose, comparado com 39 moléculas de ATP por molécula de glicose quebrada no metabolismo aeróbico. Por ser ineficiente na quantidade de ATP produzida, o sistema anaeróbico láctico depleta os estoques de glicogênio muito rapidamente.

Lactato é um subproduto tóxico do metabolismo láctico. A maior parte dele é removida dos músculos pela corrente sanguínea e levada ao fígado, sendo oxidada em glicogênio hepático que auxilia na manutenção da glicose sanguínea (Evans, 2000).

2.3.3.1. Fadiga e estresse

De acordo com Bayly, (1987) a diminuição do pH que está associada com aumentos nas concentrações de lactato muscular é reconhecida como uma das principais razões que levam os músculos à fadiga o que corrobora Harris et al. (1997) que relacionam a fadiga com o declínio da concentração de ATP nas células musculares e um aumento de ADP e Pi em todos os tipos de fibras (tipo I e tipo IIA e IIB). O aumento do ácido láctico diminui a capacidade da célula muscular de reciclar o Ca^{++} , interferindo no mecanismo de contração muscular. Outra observação é da interferência da acidose celular em enzimas da via glicolítica.

Segundo Evans, (2000) a fadiga é um mecanismo de defesa do organismo que impede que o pH celular decresça de forma a causar lesões irreversíveis.

A diminuição no desempenho de qualquer equino, segundo Faria e Rezende (2002), pode ser considerada como indício de

fadiga; ao contrário da fadiga muscular que é difícil de ser detectada, a fadiga do animal é percebida quando, por exemplo, um cavalo de corrida perde velocidade. A fadiga ou exaustão ocorre como resultado de um déficit corporal ou de energia, ou de água e eletrólitos. (Lewis, 2000).

2.3.3.2. Fadiga e velocidade

De acordo com Boffi (2007), a fadiga desenvolvida pelos velocistas (exercício de curta duração e alta intensidade) se produz basicamente como consequência do esgotamento das reservas do neurotransmissor (acetilcolina) e da utilização da via anaeróbica que dá como resultado a formação de ácido láctico, que se dissocia em lactato e íons de hidrogênio. Neste caso a fadiga se define como a incapacidade de continuar correndo a máxima velocidade.

O lactato é outro fator desencadeante da fadiga e visto desta forma, seria bom não gerar elevadas concentrações desse metabólito durante as corridas. Lamentavelmente, a alta velocidade de corrida é sinônima de altas concentrações de lactato, pelo fato de que a única forma de satisfazer as altas exigências energéticas por unidade de tempo é pela via glicolítica que tem como produto final ácido láctico.

Ainda para Boffi, (2007) a depleção de substratos energéticos, a diminuição do pH intracelular e o acúmulo de ácido láctico são aspectos importantes na produção da fadiga, nos exercícios de curta duração e alta intensidade.

2.3.3.3. Fadiga e resistência

De acordo com Boffi (2007), nos exercícios de baixa intensidade e longa duração a maior parte da energia consumida deriva da degradação aeróbica de carboidratos e ácidos graxos livres. Brandi e Furtado (2007) corroboram com esse autor

afirmando que, sendo esta uma atividade predominantemente aeróbica o animal apresenta menores concentrações de ácido láctico ao final da prova, portanto consideram que este fator não seja muito importante em promover fadiga muscular, mas sim a depleção das reservas de glicogênio e lipídios. Para Boffi (2007), neste tipo de exercício o umbral anaeróbico (4mmol/L) raras vezes é superado, portanto não se produz o acúmulo de lactato e íons de hidrogênio com conseqüente diminuição do pH. Portanto, os autores concordam que a fadiga ocorre basicamente como conseqüência da depleção do substrato energético (glicogênio), da perda de líquidos e eletrólitos e do aumento da temperatura corporal.

Ainda de acordo com Boffi (2007) os cavalos manifestam fadiga quando os depósitos intramusculares de glicogênio se esgotam porque nesse tipo de exercício apesar dos carboidratos e ácidos graxos livres serem conjuntamente utilizados como substratos energéticos somente a carência do primeiro produz fadiga.

Lewis, (2000) corrobora com os autores acima afirmando que, como a fadiga com um esforço submáximo se deve a um esgotamento do glicogênio, pode-se retardá-la através de uma melhora da saúde e alimentação para aumentar os depósitos de glicogênio e diminuir a sua taxa de utilização. Ainda de acordo com Lewis, (2000) os déficits e alterações induzidos pela perda de água e eletrólitos pelo suor e hipertermia podem contribuir para fadiga quando o exercício resultar em uma sudorese excessiva. Essa causa de fadiga tal como o esgotamento de glicogênio, requer vários dias para uma reposição completa de água e eletrólitos e recuperação.

Arias et al., (2001) concluíram que durante a realização de exercício de intensidade submáxima constante de longa duração por corredores de fundo, com reposição hídrica e sem, e sob condições ambientais neutras, a

concentração sanguínea do lactato se manteve invariável e apresentou correlação com a FC, embora não tenha tido nenhum efeito no nível de lactato. Estes autores acreditam que possivelmente, isto obedece ao fato de que a intensidade do trabalho realizado determina a produção de lactato e, nos atletas com treinamento de resistência, há maior utilização do piruvato, devido ao aumento no número de mitocôndrias e maior atividade das enzimas envolvidas no ciclo de Krebs e no sistema de transporte de elétrons. Além disso, a depuração do lactato é maior, visto que ele pode ser utilizado como substrato energético pelas fibras aeróbicas tipo I e as cardíacas, entre outras. O estado de hidratação não alterou o comportamento do lactato, mas sim a frequência cardíaca; isso pode ser um indicador, de que a hidratação, mesmo que parcial, melhora o desempenho esportivo.

2.4. UTILIZAÇÃO DA ENERGIA DE RESERVA

De acordo com Hintz (1997), a energia é o fator nutricional mais influenciado pelo trabalho. Sua quantidade, fonte e período de fornecimento devem ser considerados. A quantidade de energia necessária para competição tem sido estimada por vários métodos. Dados levantados de estudos de campo usualmente resultam em estimativas mais altas que estudos conduzidos com pequeno número de animais determinados em universidades. Talvez, o ambiente de laboratório universitário não seja tão estressante ou competitivo como a pista de competição. Baseado principalmente em dados de levantamento, o NRC (1989) sugere que o requisito de energia de equinos em trabalho pesado seja cerca de duas vezes o de manutenção. Assim um cavalo de 500 kg necessitará 32,8 Mcal de energia digestível. As estimativas francesas são de 1,7 a 1,9 vezes a manutenção para trabalho pesado como uma corrida intensa. As estimativas germânicas para trabalho pesado são de 1,5

a 2,0 a manutenção. A ingestão de matéria seca varia com a concentração energética, mas deve estar entre 2,5 a 3% do peso corporal.

A única fonte de energia que pode ser usada diretamente para produzir movimento muscular é a derivada da desfosforilação do trifosfato de adenosina (ATP) em difosfato de adenosina (ADP). Para que o movimento muscular continue, deve-se refosforilar o ADP em ATP em uma taxa igual à taxa de uso do ATP. Isso pode ser feito através da transferência do fosfato rico em energia do fosfato de creatina (FC) para o ADP (FC + ADP → C + ATP). O fosfato de creatina proporciona uma fonte de energia instantaneamente disponível para um esforço de intensidade alta, mas todo o ATP e o fosfato de creatina na musculatura proporcionam energia suficiente para somente 6 a 8 segundos de esforço muscular máximo. A quantidade de energia que eles proporcionam não é afetada nem pela alimentação nem pelo treinamento. Para uma atividade física adicional, torna-se necessário outro meio de ressíntese de ATP.

Existem dois meios principais de se proporcionar a energia exigida para a ressíntese do ATP:

1. A glicogenólise, que corresponde ao metabolismo anaeróbico da glicose ou do glicogênio em ácido láctico;
2. A oxidação aeróbica dos carboidratos, gorduras ou proteínas em dióxido de carbono e água. O metabolismo anaeróbico produz 3 moles de ATP por mole de glicose (ou 2 se a glicose for produzida através do glicogênio) e 2 moles de ácido láctico. Como esse processo não requer oxigênio ele pode ocorrer rapidamente. Contrariamente o metabolismo aeróbico produz dióxido de carbono e água a partir do ácido láctico ou da glicose e 36 moles de ATP por mole de glicose e mais de 120 moles de ATP por mole da maioria dos ácidos graxos usados (mais quanto maior o número de átomos de carbono no ácido

graxo); mas como se exige oxigênio, isso ocorre lentamente.

As quantidades disponíveis de energia a partir de fontes no corpo do equino, em comparação com a quantidade disponível a partir do ATP pré-formado, são cinco vezes maiores a partir do fosfato de creatina e se houver oxigênio disponível suficiente, 2000 vezes maior do glicogênio, mas, 17000 vezes maior a partir das gorduras. A utilização de todo glicogênio hepático disponível de equinos de 454 kg proporcionaria somente 0,6 Mcal, enquanto o glicogênio muscular proporcionaria 15 Mcal, as proteínas musculares 180 Mcal, as gorduras musculares 18 Mcal e o tecido adiposo 366 Mcal (com base em 4, 15, 9,15 e 4,65 Mcal/kg de glicogênio, gorduras e proteínas, respectivamente). Consequentemente, o equino possui mais de 35 vezes mais de energia disponível a partir da utilização das gorduras e proteínas corporais que a partir da utilização completa de glicogênio. No entanto sem oxigênio o glicogênio não é completamente utilizado, e produzem-se somente 2 moles, em vez de 36 moles de ATP. Como resultado pode-se produzir mais de 600 vezes mais energia a partir dos depósitos corporais aeróbicos do que anaeróbicamente.

Logo, o metabolismo anaeróbico produz uma quantidade pequena de energia rapidamente somente a partir da glicose ou do glicogênio. Essa energia ou se esgota ou a diminuição do pH intracelular decorrente da produção de ácido láctico e do seu acúmulo inibem a utilização, de forma que só se consegue produzir ATP suficiente a partir deles por alguns minutos de esforço intenso. Quanto maior o esforço muscular, mais rápido isso ocorre e mais rápido ocorre a fadiga ou a exaustão. Por exemplo, o equino consegue correr em uma velocidade máxima por somente cerca de 1m (1 km), depois do qual a velocidade diminui, devido a produção de energia rápida inadequada (ATP) por parte do metabolismo anaeróbico e a produção de energia mais lenta (ATP)

por parte do metabolismo aeróbico não ser suficientemente rápida para proporcionar a energia exigida para que o equino corra em sua velocidade máxima. As corridas de menos de 3 minutos de duração dependem primariamente, da produção de energia anaeróbica.

O metabolismo aeróbico produz uma grande quantidade de energia lentamente, primariamente a partir dos ácidos graxos livres provenientes das gorduras, mas também a partir da glicose, glicogênio e proteínas e conseqüentemente, pode proporcionar energia para uma produção de ATP suficiente para uma atividade prolongada. No entanto, à medida que o esforço muscular aumenta a taxa de utilização do ATP também aumenta, até que ela exceda a taxa na qual pode ocorrer a produção de energia aeróbica para sua ressíntese, momento no qual se exige velocidade mais rápida de produção de energia por parte do metabolismo aeróbico para impedir o esgotamento de ATP e interrupção da atividade muscular. Uma frequência cardíaca acima de 140 a 150 bpm é considerada como o limiar anaeróbico acima do qual se produz ácido láctico a partir do metabolismo anaeróbico mais rapidamente do que se pode utilizá-lo e conseqüentemente este começa a se acumular. Isso ocorre em velocidades de 5 a 10m/s, dependendo primariamente da condição física do equino, peso transportado e dificuldade do terreno percorrido. Logo a medida que a intensidade do esforço aumenta e o tempo de desempenho diminui, a porcentagem de energia ou ATP suprida pelo fosfato de creatina aumenta e pela glicólise aeróbica diminui, enquanto a produção de energia anaeróbica fica mais alta nas provas de meia distância ou de esforço.

Baldissera (1997) relata que a energia contida nos alimentos fica disponível aos animais sob a forma de trifosfato de adenosina (ATP) e a biossíntese do ATP se dá por três processos distintos, a saber:

- a) hidrólise da fosfocreatina, um composto rico em energia e sua hidrólise (catalizada pela enzima creatina fosfoquinase (CPK) restabelece as concentrações de ATP. Tal processo ocorre nas atividades físicas muito intensas e de curta duração (aproximadamente ao redor de 10 segundos) e, por ser um processo sem gasto de oxigênio nem formação de ácido láctico, é denominado de potência anaeróbica aláctica;
- b) glicólise anaeróbica, é composta por 11 etapas, onde a molécula de glicose se transforma em duas trioses e resulta na formação de ácido láctico, um ácido forte que irá provocar alterações no equilíbrio ácido – básico celular e plasmático, com conseqüências importantes na manutenção de uma atividade física intensa;
- c) oxidação mitocondrial completa dos nutrientes, onde os pares de prótons formados no ciclo de Krebs são tamponados, na cadeia respiratória, por uma reação com o oxigênio, resultando na formação de ATP e uma molécula de água.

De acordo com o NRC (Equinos, 2007), excesso de energia consumida pelo cavalo pode ser armazenado na forma de glicogênio ou como triglicerídeo. É mais eficiente utilizar imediatamente a energia absorvida, pois, existe o custo energético de armazenamento, mobilizando então, fontes de energia endógenas. Estes custos energéticos incluem o calor associado à digestão e absorção. Blaxter (1989), estimou que o custo energético de incorporação da glicose ao glicogênio seja em torno de 5%, entretanto se a glicose é metabolizada para síntese de ácidos graxos este custo energético é maior.

McMiken (1983), citado no NRC (Equinos) 2007, estimou que um cavalo de 500 kg de PV, com 5% de peso corporal em gordura, teria quase 10 vezes mais calorias estocadas

em gordura, do que em glicogênio. Entretanto, vários estudos relataram que o conteúdo de gordura corporal em equinos pode ser maiores que 10% do peso vivo. Consequentemente o total de energia armazenada como gordura pode variar entre os indivíduos.

A mobilização de AGL nos equinos está mais relacionada à duração do exercício que à sua intensidade. Segundo Lawrence (1994), a importância dos lípides como combustível durante o exercício diminui com o aumento da intensidade, entretanto, mesmo durante exercícios de altíssimas intensidades, os lípides são catabolisados para produção de energia. De acordo com os trabalhos de Goodman et al. (1973) e Freitas (2002) os cavalos com melhor condicionamento físico conseguem mobilizar e metabolizar os ácidos graxos mais eficientemente que os animais com pouco condicionamento. Isto segundo Rose (1982), pode ser consequência das maiores e mais importantes adaptações ao treinamento de resistência as quais se caracterizam pelo aumento no músculo esquelético das concentrações de enzimas das vias associadas ao início e ao fim da β -oxidação. O resultado dessas alterações é o aumento da capacidade de trabalho devido à grande oxidação de gorduras e a pequena utilização do glicogênio.

Para Harris (1997), os AGCL (ácidos graxos de cadeia longa) e TG (triglicérides) são, quantitativamente fontes importantes de energia, principalmente durante exercícios, porém suas contribuições na produção de energia não estão totalmente elucidadas. Em 1998, Rammestorfer et al., trabalhando com cavalos de enduro, citaram e confirmaram as conclusões de Rose et al. (1980) em animais de “Concurso Completo de Equitação”, quando relataram que AGCL e TG servem como fonte primária de combustível para o metabolismo aeróbico e não são utilizados por anaerobiose. Portanto, um suprimento adequado de AGCL aumentaria a economia de glicogênio, durante exercícios aeróbicos.

Orme et al. (1997) e Breidenbach et al. (1999) relataram que os mecanismos envolvidos na utilização das gorduras pelos equinos não estão bem elucidados, mas sua utilização traz benefícios no desempenho dos equinos atletas.

Lewis (1995) relatou que para cavalos alimentados para desempenho submáximo durante longo prazo, as fontes de glicose e glicogênio não são de grande interesse como no trabalho anaeróbico de curta duração, considerando que cavalos desempenhando trabalho prolongado contam fortemente com a oxidação de ácidos graxos livres provenientes da fermentação da forragem no intestino grosso e da mobilização das reservas corporais. No entanto, Ecker e Lindinger (1995), salientam que gorduras e óleos não devem ser oferecidos durante competições, pois retardam o esvaziamento gástrico e podem impedir a absorção de eletrólitos.

Ainda de acordo com Harris (1997), os resultados das pesquisas realizadas com equinos alimentados com dietas ricas em gorduras são variáveis nos parâmetros fisiológicos e no desempenho atlético, em virtude da utilização de animais de diferentes raças, idades, condição corporal, regime de treinamento e principalmente dietas. Com relação aos parâmetros sanguíneos, Hambleton et al. (1980) relatou resultados de respostas sorológicas em cavalos antes e depois do exercício, alimentados com 2, 8, 12 e 16% de gordura dietética (como óleo de soja). Esses animais quando avaliados quanto ao glicogênio hepático, ácidos graxos de cadeia longa, colesterol sérico, glicose plasmática e o nível de gordura dietética mostraram uma alta correlação com a concentração de colesterol e com mudanças na glicose plasmática, induzidas pelo exercício.

2.5. TREINAMENTO

O Brasil possui o terceiro maior rebanho de equinos do mundo, com 5,9 milhões de animais, superado apenas pela China e México, que têm 7,9 milhões e 6,3 milhões respectivamente. Dentre as principais modalidades de esportes equestres praticados no Brasil, estão as “cavalgadas” (passeios de média distância) e as provas de marcha (Lima, 2006).

Ao contrário de outras modalidades hípcas, a literatura a respeito de um protocolo de treinamento para animais submetidos à prova de marcha é extremamente escassa, para não dizer inexistente.

Se por um lado o objetivo do treinamento é obter o melhor desempenho possível do cavalo, é bem reconhecido que técnicas de treinamento inadequadas podem ter repercussões desastrosas. Até o momento não foi possível dizer se um sistema de treinamento é melhor que o outro, pois as comparações de diferentes programas são virtualmente impossíveis de serem conduzidas sob condições controladas (Bayly, 1987).

Um treinamento envolve períodos regulares de exercício para promover mudanças na estrutura e função do animal a fim de lhe permitir competir de forma mais eficaz. Adaptações ocorrem no sistema cardiovascular, células musculares e em elementos estruturais como tendões e ossos. Uma resposta eficaz a um treinamento eficiente depende de estímulos apropriados (Evans, 2000).

Animais submetidos ao adestramento mostram substanciais transformações e aprimoramento na qualidade da marcha. São constatadas variações no ritmo das batidas e conseqüentemente, na regularidade dos apoios, que pode ter origem no grau de competência e espontaneidade, no adestramento, na natureza e duração do trabalho, no peso da carga, na maneira pela qual são guiados ou equitados, nas

condições do terreno, na velocidade e tempo do exercício (Nascimento, 1999).

Segundo Procópio (2005), a produção de equinos no Brasil, apesar da sua elevada importância, ocorre com grande deficiência de estudos que visem orientar, de forma clara e precisa os produtores e técnicos da área. O conhecimento gerado por essas pesquisas é fundamental para o desenvolvimento de programas de treinamento e melhoramento genético animal. Focando-se nos cavalos marchadores das raças brasileiras, a qualidade buscada neste grupo de animais sofre grande empirismo, com insuficiência de conhecimento técnico e heterogeneidade de conceitos.

Para os cavalos de marcha o objetivo do treinamento são os concursos de marcha, provas de intensidade moderada com velocidade média de aproximadamente 12 km /h e duração média de 50 minutos nos quais são avaliados os quesitos: comodidade, diagrama de marcha, estilo e regularidade (Freitas, 2007).

De acordo com Rezende (2006), o concurso de marcha é uma prova equestre, sem similar no mundo, que pode ser definida como um exercício de longa duração, com grande gasto energético, no qual o animal desenvolve, em círculo, um longo percurso, sem descanso e em velocidade constante e excessiva. Prates et al. (2009) classificaram o concurso de marcha para raça Mangalarga Marchador como um exercício de esforço submáximo.

2.5.1. Programas de treinamento

Meirelles (1997) alegou, em concordância com Ridway (1994), que condicionar é conduzir o mais corretamente possível um estresse mental, metabólico e músculo-esquelético.

Muitas são as formas ou “fórmulas” e métodos de treinamento utilizados para a preparação do cavalo atleta; alguns até considerados “milagrosos”. Em geral, tais fórmulas e métodos, na maioria das vezes empíricas, se baseiam exclusivamente em variáveis tais como o desempenho de seus ascendentes, fenótipo e cronometragem, não atendendo, entretanto, os perfis fisiológicos do animal, que responde diferentemente conforme as exigências do exercício (Thomassian, 2004).

De acordo com Thomassian et al. (2004), é de suma importância destacar que os conhecimentos obtidos, assim como os princípios utilizados na ciência do exercício em humanos, nem sempre podem ser aplicados para o treinamento de equinos, uma vez que os treinadores de atletas humanos contam com o relato objetivo do atleta, das sensações e das dificuldades encontradas durante o transcorrer do exercício. Infelizmente, para os treinadores de cavalos e os pesquisadores da medicina esportiva equina, esta inter-relação direta não ocorre, estando na dependência de relatos das sensações do ginete e da observação da psiquê e do comportamento atlético dos cavalos.

Existe uma regra fundamental que é com frequência esquecida com respeito ao treinamento: não se pode condicionar ou preparar um atleta para desempenhar o seu melhor potencial seguindo-se uma fórmula padrão. Cada cavalo deve ser tratado como um indivíduo, Bayly (1987). Boffi, (2007) corrobora Bayly, (1987) ao afirmar que as pessoas vinculadas à preparação atlética sempre estão na expectativa de poder encontrar um protocolo de trabalho que lhes permita ter êxito e, lamentavelmente, não é possível dar uma única receita mágica que se adapte a todos os cavalos de cada uma das diferentes disciplinas hípicas.

Vários autores Hodgson, (1984); Bayly, (1987); Meirelles, (1997); Boffi, (2007) corroboram com respeito à especificidade do

treinamento que é regido por duas leis que dizem que; o plano de treinamento deve ser específico para cada cavalo, ou seja, as variações individuais devem ser consideradas assim como deve ser específico para cada modalidade hípica ou em outras palavras o tipo de exercício que se realiza durante as sessões de treinamento devem ser o mais parecido possível ao tipo de exercício que se realiza durante a competição. A razão para isto, segundo Bayly, 1987 é que as fibras musculares são recrutadas de forma ordenada. Geralmente as fibras tipo I (de contração lenta) são as únicas fibras que são ativas em níveis de exercício suave ou moderado, à medida que a intensidade do exercício aumenta, primeiro as fibras tipo IIa e finalmente as fibras tipo IIb serão recrutadas. Consequentemente, se um cavalo estiver competindo em eventos que irão requerer atividade de todas as fibras musculares, é importante que um efeito de treinamento seja induzido em cada uma delas.

Ainda segundo Boffi (2007), quando definimos um plano de treinamento devemos saber primeiro quais são as características do cavalo que participa de determinada modalidade equestre. Podemos resumir estas características basicamente em resistência, velocidade e força. Todas estão envolvidas na maioria das modalidades em menor ou maior grau, mas é importante poder identificar qual é a de maior importância, já que algumas destas características se contrapõem como é o caso da resistência, que é um aumento da capacidade aeróbica, com a velocidade e a força que constituem um aumento da capacidade anaeróbica.

Para Derman e Noakes (1994), independentemente da atividade esportiva ou da espécie, a habilidade atlética é determinada por quatro fatores principais: genética, ambiente, saúde e treinamento. Destes quatro fatores, depois da genética, o treinamento seria a variável mais importante para determinar o sucesso desportivo do atleta hígado. Neste sentido os programas de

treinamento de equinos devem objetivar os seguintes aspectos: aumentar a capacidade de realizar exercício, retardar as manifestações de fadiga, melhorar o desempenho (pelo aumento da destreza, força, velocidade e resistência) e diminuir os riscos de lesões.

Cury (1987) e Boffi (2007) concordam com Derman e Noakes (1994) ao afirmarem que todos os cavalos que participam de competições de alto rendimento devem ser submetidos a um programa de treinamento, cujo objetivo é desenvolver um atleta que expresse o máximo de seu potencial, preservando o animal para que tenha uma vida esportiva duradoura com menor número de lesões e que para atingir essas finalidades é necessário incrementar a capacidade aeróbica, a resistência a velocidade, a força muscular e coordenação neuromuscular mantendo o cavalo com uma atitude positiva em relação ao exercício.

2.5.2. Intensidade, frequência e duração do exercício

A intensidade do exercício é determinada principalmente pela velocidade, porém outros fatores como duração da sessão de treinamento, características do solo (firme ou fofo), carga que o animal carrega e a topografia do terreno, entre outras, também interferem. A melhor forma de avaliar a intensidade do exercício é através da medida do $VO_{2\text{ máx}}$, mas na prática é mais frequente a utilização dos níveis de lactato (mmol/L) ou porcentagens ou médias da frequência cardíaca máxima ($FC_{\text{máx}}$) para avaliar a intensidade. Ainda de acordo com este autor (intensidade = duração/distância + velocidade = carga).

De acordo com Arias et al. (2001), quando corredores de fundo treinados realizam exercício de carga submáxima e longa duração, há pouco aumento da taxa sanguínea do lactato; após uma hora de exercício, esses níveis são menores de

4mmol/L. De acordo com Rieu (1986), Serrato (1999) e Greenhalf, Hultman, e Harris citados por Arias et al. (2001); argumenta-se que o incremento no consumo de oxigênio contribui na maior extração do lactato.

Para Thomassian et al. (2004), as mensurações das concentrações de lactato no sangue em cavalos de esporte refletem sua condição muscular, ou seja, tendo-se como referência o limiar de lactato no sangue (V_4), revelam as reais condições do metabolismo aeróbico e anaeróbico do sistema músculo-esquelético. Boffi (2007) corrobora Thomassian et al. (2004) que o lactato é uma variável muito fidedigna, principalmente para monitorar a melhora da capacidade aeróbica.

Segundo Boffi (2007), a FC não é uma variável de eleição quando se deseja avaliar a melhora da capacidade competitiva, mas é ideal pela sua praticidade e por sua boa correlação em exercícios submáximos para monitorar a intensidade do exercício durante as sessões de treinamento.

A frequência dos exercícios também é importante, já que uma correta recuperação entre as séries permite gerar uma resposta positiva ao treinamento. Se os exercícios forem muitos frequentes pode haver uma perda do estado atlético como consequência de sobre-treinamento; ao contrário, se forem muito espaçados praticamente não se observarão melhoras (Boffi, 2007).

Os exercícios de alta intensidade não devem ser realizados diariamente, porque desta forma não haverá tempo suficiente para repor os depósitos de glicogênio muscular que foram consumidos durante o exercício, já que é necessário mais de 24h (72-96 horas) para o retorno aos níveis basais. A falta de glicogênio no início de uma sessão de treinamento gera fadiga durante a mesma e isto não é desejável pelos riscos implicados (Snow e Harris, 1991).

Cury (1997) concorda com Boffi (2007), com relação à frequência dos exercícios de alta intensidade e com o risco que esta conduta apresenta de levar os animais a uma intolerância ao exercício, com fadiga e aversão às corridas descrevendo como sinais de sobretreinamento perda rápida e exagerada de peso, aparecimento das costelas, perda de brilho nos pelos, diminuição ou perda do apetite, olhar tristonho e desânimo total. No entanto, Boffi (2007) argumenta que em cavalos atletas os sintomas de sobretreinamento não estão bem documentados como em humanos e que independente disto podemos observar em cavalos estresse e alterações de conduta. Por outro lado, o aumento do cortisol gerado pelo estresse produz uma imunossupressão que predispõe o animal a contrair doenças assim como predisposição para sofrer lesões por falta de recuperação e adaptação. Cury (1987) chama a atenção para o fato de que todo este manejo inadequado desgasta e estressa em demasia o cavalo atleta, impedindo-o de traduzir na pista todo o seu potencial.

A falta de treinamento adequado também é causa de mau desempenho. Animais em más condições atléticas não conseguem reproduzir na corrida as qualidades que traz dentro de si. Excesso de peso, mau condicionamento ou preparo insuficiente para determinada distância, são achados frequentes como causas de baixo desempenho. É tarefa de o treinador encontrar o ponto de equilíbrio para uma corrida, o que não é fácil (Cury, 1987).

Para que um plano de treinamento seja realmente efetivo, é preciso conseguir uma combinação correta dessas três variáveis, mas isto não é fácil, principalmente porque essas três variáveis estão sujeitas às características individuais. Manter um programa de treinamento com ciclos de baixa, média e alta intensidade reduz os riscos de sofrer sobretreinamento e mantém um nível elevado de rendimento (Boffi, 2007).

2.5.3. Aquecimento antes da competição

De acordo com Evans (1994), no começo do exercício, a FC aumenta rapidamente e alcança a estabilidade dentro de 2 a 3 minutos. Este aumento está associado com o aumento da atividade neural simpática ou a liberação de catecolaminas. A estabilidade da FC permanece constante durante cargas submáximas de exercício. A cinética da FC no começo do exercício sem um prévio aquecimento é dependente da intensidade do treino. Trabalhos mostram a importância do aquecimento antes das competições uma vez que o consumo de oxigênio aumenta mais rapidamente no começo do exercício, se houver aquecimento.

Tyler et al. (1996) realizaram um estudo para avaliar o efeito do exercício preparatório no suprimento energético durante exercícios de alta intensidade em equinos. O aquecimento e esfriamento, realizados antes e depois dos exercícios respectivamente, têm papéis relevantes na eficiência do treinamento, uma vez que o primeiro aumenta o consumo de O₂ pelos músculos e o segundo melhora o retorno dos índices fisiológicos aos valores basais. A cinética da troca gasosa é afetada pelo aquecimento prévio ao exercício em humanos, dando uma grande contribuição ao metabolismo aeróbico. Os resultados mostraram que, com o aquecimento, os cavalos obtiveram cinéticas mais velozes de trocas gasosas e uma grande proporção do seu requerimento energético total foi suprida por fontes aeróbicas.

Segundo Lawrence (1997) o aquecimento promove o aumento da temperatura dos músculos, sugerindo facilitar o metabolismo e a contração muscular, o aumento do débito cardíaco, a dilatação dos leitos capilares próximos à musculatura, aumentando o fluxo sanguíneo, com isso facilitando a oxigenação e a remoção de catabólitos. Lewis (1995) citado por Brandi e Furtado (2007) concorda com Lawrence (1997) e

relata que existe uma contribuição ao metabolismo aeróbico, favorecendo a geração de energia pela via aeróbica e reduzindo o risco de injúrias. Boffi (2007) também concorda com os autores acima citados, relatando que o aumento da temperatura corporal produz uma fluidificação do citoplasma celular, que permite acelerar a velocidade de diferentes reações químicas que integram os diversos processos metabólicos. Este aumento da temperatura também melhora a coordenação e a elasticidade dos músculos, ligamentos e tendões reduzindo desta maneira a probabilidade de sofrer lesões.

Brandi e Furtado (2007), corroboram com Lewis (1995) e Boffi (2007) que o aquecimento dos animais antes da prova diminua a probabilidade de injúrias e aumente o desempenho dos cavalos e relatam que, devido a poucos estudos sobre este assunto, não se tem uma recomendação pré-determinada. Ainda de acordo com Lewis (1995) o aquecimento favorece o metabolismo lipídico, pois é nesse período que as reservas começam a ser mobilizadas e se tornam disponíveis para os animais no momento da prova, sendo mais uma fonte de energia disponível, poupando a utilização de glicose e glicogênio.

Outro importante achado relata a resposta energética de cavalos que começaram a correr “aquecidos”. A taxa de oxigênio usada nos primeiros 30 segundos é muito maior se um apropriado aquecimento tenha sido feito; haverá menos dependência no metabolismo anaeróbico e menos acúmulo de lactato no início do final do exercício (Boffi, 2007). O desaquecimento é essencial para que o animal restabeleça seu metabolismo basal, principalmente ligado a fatores como a frequência cardíaca, a frequência respiratória e a temperatura retal. Estes fatores são indicativos da atividade metabólica do animal. É necessário que o animal seja desaquecido a contento, de acordo com a sua atividade Brandi e Furtado (2007).

Por sua vez, Hubbel et al. (1997), citados por Prates, (2007) avaliaram três intervenções de recuperação pós-exercício em equinos: andando a 1,8m/s por 30 minutos, ficando em estação por 90 minutos e em estação por 90 minutos com uma tala no membro anterior direito. Os resultados mostraram que andando a 1,8m/s, houve um aumento no rendimento cardíaco durante a fase de recuperação, acelerando o equilíbrio ácido-base e retornando as concentrações sanguíneas de lactato a valores normais mais rapidamente. Concluíram, portanto que, a limitação de movimentos após o exercício de carga máxima retarda a recuperação dos índices cardiopulmonares aos valores basais.

2.5.4. Concurso de marcha

De acordo com Fontes (1954), citado por Lage (2001) a marcha foi considerada como um tipo de locomoção de transição entre a andadura e o trote, ou entre o passo e o trote (Nascimento, 1999). Após decomposição dos movimentos, foi classificada pela Escola de Marcha e Adestramento da Associação Brasileira dos Criadores do Cavalos Mangalarga Marchador (EMA) como análoga ao passo acelerado, com o mesmo tipo de diagrama de apoios desse último (Escola, 1998).

Procópio (2005) considerou dentre as várias definições de marcha a que apresenta maior consenso, segundo a qual a marcha é descrita como um andamento natural, podendo também ser artificial, marchado, simétrico quando de boa qualidade, lateral e diagonal a quatro tempos. Seus movimentos e apoios, a exemplo do passo, são dos bípodes laterais e diagonais, intercalados por apoios tripedais, devido à dissociação dos membros. Suas reações são suaves com pouco deslocamento do centro de gravidade. O comprimento da sua passada está próximo a 2,0 metros e a velocidade entre 12 e 14 quilômetros por hora (Nascimento, 1999).

Segundo a ABCCMM (Associação Brasileira de Criadores do Caval Mangalarga Marchador) a marcha é conceituada como, andamento marchado, simétrico, a quatro tempos, com apoio alterado dos bípedes laterais e diagonais, sempre intercalado de momentos de tríplice apoio. As características ideais da marcha para efeito de avaliação, são a de um andamento regular, elástico, com ocorrência de sobrepegada ou ultrapegada, equilibrado, com avanços sempre em diagonal e tempo de apoio dos bípedes diagonais maiores que dos laterais, com movimentos discretos dos anteriores, descrevendo semicírculos quando vistos de perfil e com boa flexibilidade de articulações.

2.5.4.1. Avaliação da marcha

Ao se avaliar a qualidade da marcha, deve-se considerar a capacidade do animal em manter a regularidade durante todo o deslocamento, aliada a resistência. Além disto, o animal considerado mais próximo de um equilíbrio estável é aquele que produz menor oscilação do balancim céfalo-cervical durante seu deslocamento. Nesta dinâmica o cavalo deve manter o mesmo ritmo e velocidade durante todo o período de avaliação, sem alterar os demais itens que caracterizam e qualificam a marcha. (Nascimento, 1999).

O animal deve também apresentar passadas de grande amplitude, aliadas a movimentos de impulsão que lhe conferem rendimento satisfatório, permitindo percorrer determinada distância com menor número de passadas. Durante o deslocamento, o animal deve manter o tronco semi-rígido, movimentando apenas as cinturas e os membros; aprumos alinhados e equilibrados; garupa, ancas e escápula com boa flexibilidade e harmonia morfozootécnica, denotando estilo e elegância.

Em atitude o cavalo mantém a cabeça em ângulo aproximado ao de 90° com o

pescoço, estando este em posição oblíqua, formando ângulo próximo a 45° em relação ao solo. Assim o animal movimenta-se morfozootecnicamente elegante, evidenciando equilíbrio psicossomático e firmeza morfomecânica (Nascimento, 1999).

Durante o concurso de marcha os itens julgados pelos árbitros da ABCCMM incluem gesto de marcha, comodidade e estabilidade, estilo, rendimento e regularidade todos possuindo pesos iguais.

Rezende (2009) definiu o concurso de marcha como uma prova equestre sem similar no mundo; de longa duração, com grande gasto de energético, no qual o animal desenvolve em círculo, longo percurso sem descanso e com velocidade constante e excessiva. Requer, portanto, nutrição, treinamento e manejo diferentes daqueles exigidos pelas raças estrangeiras que apresentam o trote como andamento.

Prates (2009) caracterizou a prova de marcha como exercício de intensidade submáxima, através das médias da frequência cardíaca durante provas de marcha.

2.6. CONSUMO DE PASTAGENS

No Brasil, a grande extensão territorial, aliada ao clima e topografia permite a criação extensiva das diversas categorias de equinos, sem a necessidade de confinamento em baias. Para Moss et al. (2008), nesta situação a avaliação do consumo pelos animais a pasto fica comprometida, o que prejudica a suplementação e a realização de ensaios experimentais. A determinação do consumo alimentar é de grande importância na nutrição animal, tanto para o fornecimento de quantidades adequadas de alimento quanto para formulação de dietas balanceadas.

No entanto, de acordo com o NRC (Equinos, 2007) existem poucas informações a respeito do consumo voluntário de MS (CVMS) de

forragens frescas pelos equinos principalmente pela dificuldade de se medir o consumo em animais a pasto, isto porque, os equinos são altamente seletivos e em condições a pasto e, portanto, não se tem o controle do ingerido pela espécie. Os métodos utilizados consistem na subtração do resíduo de pastejo sobre a produção de MS da área pastejada, estudos com marcadores como n-alcano; mensuração da produção de fezes e da digestibilidade da matéria orgânica ou matéria seca; técnica do “*Cut and Carry*” para animais confinados, mudanças do peso vivo considerando as perdas insensíveis e excreções ou através da determinação do tamanho do bocado, número e duração do pastejo. Estimativa do consumo voluntário de MS nos equinos, sob pastejo, geralmente varia de 1,5 – 3,1% do PV (NRC-Equinos, 2007).

O LIPE® foi recentemente validado para espécie equina por Lanzetta et al. (2009) e tem sido sugerido como indicador para avaliação do consumo de animais criados extensivamente.

Ao contrário do consumo de pastagens frescas, alto consumo voluntário de matéria seca (CVMS) geralmente ocorre com fenos de alfafa quando comparado com fenos de gramíneas. Os CVMS variam em média entre 2 e 2,4% do PV para fenos de gramínea e alfafa, respectivamente (NRC-Equinos, 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. LOCAL CLIMA E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido durante o período de 29 de janeiro a 28 de fevereiro de 2006, na Fazenda Santa Helena - Haras Catuni, localizada no município de Francisco Sá, situado no norte de Minas a 70 km da cidade de Montes Claros.

O município de Montes Claros localiza-se na região norte do estado de Minas Gerais,

na bacia do Alto Médio São Francisco, situado na área do "Polígono das Secas", a 638 m de altitude, distante 420 km da capital mineira.

Os dados de temperatura ambiente e umidade relativa do ar foram mensurados através do termômetro de bulbo seco¹ e registrados diariamente: às 7:00h, 12:00h e 18:00h.

3.2. ANIMAIS E TRATAMENTOS

Foram utilizadas 12 éguas da raça Mangalarga Marchador, de 4 a 8 anos de idade e peso entre 350 e 450kg. Todas as éguas estavam vazias e apresentavam escore corporal entre 3,0 e 4,0, de acordo com a classificação de Carrol e Huntington (1988) apresentada no Anexo I

A distribuição das éguas aos tratamentos foi feita de acordo com o seguinte procedimento. A cada quatro éguas nascidas cronologicamente o mais próximo possível e com FC em repouso próximas foram sorteadas para os tratamentos descritos a seguir:

T0: dieta + placebo (controle);

T5: dieta + suplementação de 5 mg de Cr;

T10: dieta + suplementação de 10 mg de Cr

A suplementação com cromo-metionina² foi feita por via oral com veículo gel manipulado (Anexo II), de acordo com a dosagem estipulada para cada grupo; sendo depositado na cavidade bucal através de seringa descartável de 3ml. Esta suplementação foi realizada diariamente, imediatamente antes do fornecimento da ração concentrada.

¹ Termo – higrômetro de leitura direta Incoterm

² MiCroPlex® (cromo metionina 3%) - Zinpro

3.3. INSTALAÇÕES E DIETA

Os animais ficaram soltos em piquete de Coast Cross (*Cynodon dactylus x Cynodon nlemfluensis*), em sistema de pastejo contínuo. O concentrado foi fornecido em unidades de serviço, construídas no piquete de acordo com modelo preconizado por Carvalho e Haddad (1987). A dieta constituiu das gramíneas do piquete, como alimento volumoso, e concentrado peletizado³. A suplementação com concentrado para as éguas foi na proporção de 1,0 kg/ 100 kg de peso vivo, baseado nas recomendações do NRC (1989), calculada

de acordo com as pesagens feitas no início do pré-experimento e repetidas semanalmente. O concentrado foi oferecido em duas porções diárias, fornecidas as 06:00h e 13:00h.

Água e sal mineral⁴ foram fornecidos *ad libitum* em bebedouro e cocho de sal coberto, respectivamente. Nas tabelas 1 e 2 estão representadas as composições químicas do volumoso, concentrado e sal mineral fornecidos aos animais do experimento.

Tabela 1. Composição química dos alimentos fornecidos aos animais

Alimento	MS (%)	ED (Mcal/kgMS)	% MS						
			PB (%)	FB (%)	EE (%)	MM (%)	Ca (%)	P (%)	Cr (%)
Volumoso	29,64	2,07	8,28	31,89	3,72	10,00	0,41	0,22	0,00
Concentrado*	88,35	3,30	15,00	12,00	2,50	10,00	1,50	0,50	0,00

* Sulminal 15P® - Total Alimentos S/A. (níveis de garantia do fabricante)

Tabela 2. Composição química do sal mineral fornecido aos animais (base matéria natural)

Parâmetro	Concentração ¹
Cálcio – g	200
Fósforo – g	80
Magnésio – g	6
Enxofre – g	10
Sódio – g	100
Ferro – mg	1.000
Cobre – mg	1.200
Zinco – mg	3.000
Manganês – mg	1.200
Iodo – mg	80
Cobalto – mg	40
Selênio – mg	12
Flúor – máximo em mg	800
Vitamina A – U.I.	110.000
Vitamina D – U.I.	30.000
Vitamina E – U.I.	500

¹ Níveis de garantia do fabricante por kg do produto

³ Sulminal 15P® - Total Alimentos S/A.

⁴ Centauro 80® - Guabi.

3.4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os procedimentos realizados neste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética para Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFGM) em 9 de agosto de 2006 (protocolo nº 67/2006) conforme Anexo III.

O experimento durou 30 dias e foi dividido em duas etapas, sendo uma de 24 dias e outra de seis dias. A primeira etapa (pré-experimental) foi para adaptação dos animais à dieta, ao Cr e ao exercício que seriam submetidos na segunda etapa. Previamente ao estudo, as éguas utilizadas eram mantidas soltas em piquetes, não sendo exercitadas anteriormente para concursos de marcha. Antes do início da primeira etapa, as éguas foram vermifugadas⁵ e banhadas com solução carrapaticida⁶.

Os animais também foram pesados⁷ e avaliados quanto ao escore corporal, de acordo com metodologia proposta por Carol e Huntington (1988), no início do período experimental, sendo repetido semanalmente até o término do estudo.

No pré-experimento, o condicionamento dos animais ao trabalho foi feito de acordo com adaptação das recomendações de Meirelles (1997). Assim, os animais foram trabalhados, diariamente, 10 minutos no passo, cinco na marcha, quatro no galope, cinco na marcha e novamente 10 minutos no passo. A cada dois dias, 10 minutos após o exercício, a FC foi controlada e quando estava igual ou abaixo de 52 batimentos por minuto (bpm) significava não ter havido esforço representativo para o condicionamento e o exercício era aumentado em dez minutos no tempo de

marcha. Se a FC fosse 60 ± 4 bpm, demonstrava que o animal tinha apresentado boa recuperação e o exercício era mantido. Quando a FC se apresentava acima ou igual a 72 bpm significava ter havido excesso de trabalho e o tempo de marcha foi reduzido na proporção de cinco minutos por dia até que os batimentos ficassem entre 64 e 71 bpm.

No período experimental, os animais foram submetidos a três provas de marcha realizadas em dias alternados, de acordo com o regulamento da XXIII Exposição Nacional do Mangalarga Marchador, realizada pela ABCCMM (2004). De acordo com este regulamento, os animais devem passar por uma prova seletiva, que pode durar de 30 a 70 minutos. Os campeões de cada categoria são reunidos na prova oficial, que pode durar até uma hora, sendo que deve haver mudança do sentido da marcha pelo menos uma vez. Os árbitros testam à marcha dos animais nos estilos reunido, médio e alongado, mas os participantes devem manter os animais em marcha reunida e média. Nas provas deste experimento, as éguas foram mantidas em marcha cadenciada durante 50 minutos, sendo 25 minutos no sentido horário e 25 no sentido anti-horário. Os animais foram mantidos em marcha com velocidade média de 12 Km/h, sem excesso de velocidade, durante toda prova. O monitoramento da velocidade dos animais foi feito através de GPS⁸. As provas foram realizadas em pista elíptica com piso de chão batido.

No primeiro dia do pré-experimento e nos dias em que os animais foram submetidos às provas de marcha (período experimental), imediatamente antes e após o exercício foram coletadas amostras sanguíneas, através de punção da veia jugular. Para as análises de glicose, lactato, contagem total de leucócitos e hematócrito foram utilizados frascos de 5 ml para coleta a vácuo, que

⁵ Altec pasta® - Lab. Tortuga.

⁶ Butox® - Ciba.

⁷ Balança tipo romana composta Modelo N° 1317 – Balanças Açores.

⁸ Aferido pelo GPS e Trex Vista – Garmin

utiliza EDTA (sal dissódico do ácido etileno diamino tetra - acético) como anticoagulante. Para dosagem de proteína total, triacilgliceróis, cortisol e insulina foram utilizadas frascos a vácuo de 10 ml sem anticoagulante. Após coleta, o material do frasco de 10 ml foi centrifugado por 20 minutos a 3000 rpm para separação do soro, sendo este acondicionado em tudo de Eppendorf de 2ml e imediatamente resfriado e congelado a - 20 °C até o momento das análises.

A temperatura ambiente e umidade relativa do ar foram medidas através de termômetro de bulbo seco⁸ e anotadas diariamente, a fim de se avaliar a possível influência destes fatores climáticos no desempenho dos animais. A precisão do termômetro utilizado é de 0,5 °F e a equação de transformação para °C usada foi:

$$^{\circ}\text{C} = \frac{5}{9} (\text{F} - 32)$$

9

Para avaliação da composição química da dieta foram coletadas amostras representativas da mesma. As amostras do volumoso foram coletadas manualmente, simulando o hábito de pastejo dos equinos (Gardner, 1986), e congeladas até posterior análise.

3.5. ANÁLISES LABORATORIAIS

As análises de glicose e lactato foram realizadas imediatamente após a coleta de sangue, utilizando-se glicosímetro⁹ e lactímetro¹⁰ portáteis, respectivamente.

A contagem total de leucócitos e o hematócrito também foram realizados logo após a coleta em laboratório improvisado na própria fazenda.

A contagem total dos leucócitos foi realizada em câmara de Neubauer, conforme

⁹ MediSense Optimum® sensor para glicose e cetona sanguínea – Abbott Laboratories

¹⁰ Accutrend Lactate® - Roche

Ferreira Neto et al. (1978), e o hematócrito foi realizado usando-se microcentrífuga.

As análises de proteína total e triacilglicerol foram realizadas de acordo com os procedimentos colorimétricos¹¹ utilizando-se os Kits comerciais Bioclin¹¹, na Escola de Veterinária – UFMG.

A análise de cortisol e insulina foram determinadas por radioimunoensaio (RIA) em fase sólida¹² no qual o hormônio marcado com I compete por um período fixo de tempo com o respectivo hormônio da amostra para os sítios do anticorpo. Devido ao anticorpo estar imobilizado na parede de tubo de prolipropileno, a simples decantação do sobrenadante é suficiente para determinar a competição e isolar a fração ligada ao anticorpo do hormônio marcado. A contagem do tubo em contador gama gera um número cuja conversão pela curva de calibração fornece a medida do hormônio (cortisol ou insulina) presente na amostra (Farmer e Pierce, 1974).

3.6. DETERMINAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

3.6.1. Cálculo do consumo de sal mineral

O consumo de sal mineral foi mensurado durante todo período experimental, obedecendo ao seguinte critério: no primeiro dia do período pré-experimental foram pesados e fornecidos no cocho coberto 5 Kg de sal mineral. A cada dois dias as sobras eram retiradas do cocho, pesadas e anotadas. Em seguida, eram pesados 5 Kg de sal mineral para novo fornecimento no cocho do piquete. Ao final do período experimental o consumo diário de sal mineral por animal foi calculado na seguinte fórmula:

$$\text{CS (g/dia)} = \frac{\text{T} - \text{S}}{\text{ND}} \times \text{N}$$

¹¹ Kit Bioclin®

¹² Kit Coat -A- Count - DPC²®

Onde: CS = consumo de sal mineral (g/dia); T = pesagem de sal fornecido no cocho; S= sobras pesadas a cada 2 dias; N= número de animais no piquete (n=12); ND = número de dias de consumo (2).

3.6.2. Cálculo da quantidade de ração concentrada ofertada aos animais

A cada pesagem realizada, considerou-se 3,0% do peso corporal como o consumo total esperado para equinos em trabalho de atividade moderada (NRC, 1989). Do valor obtido, 40% representaram à quantidade do concentrado oferecida diariamente até a pesagem subsequente.

3.6.3. Estimativa do consumo de volumoso

Para estimativa do consumo diário de matéria seca total e do alimento volumoso foi utilizado o método dos indicadores, descrito por Rodriguez et al. (2006), onde:

$$\text{Consumo} = \frac{\text{Produção de fezes} \times 100}{(100 - \text{Digestibilidade})}$$

Nos cinco dias finais do período experimental foram realizadas coletas das fezes de cada animal, diretamente da ampola retal, uma vez ao dia, sendo as amostras acondicionadas em sacos plásticos, identificados por animal e dia, e congeladas até posteriores análises. No mesmo horário das coletas foi fornecido o indicador externo LIPE®, validado para a espécie equina por Lanzetta et al. (2009), para estimativa da produção fecal dos animais, na dosagem única de 500mg/animal/dia, administrado através de cápsulas via oral. O fornecimento do indicador iniciou-se 48 horas antes do início das coletas, para adaptação e eliminação uniforme nas fezes. A análise das fezes para determinação da concentração do LIPE®, foi realizada por Espectroscopia no Infravermelho (Saliba et al., 2003), no

Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da UFMG.

Foram calculados os valores de produção fecal com o indicador externo LIPE®, conforme descrito por Lanzetta et al. (2009):

$$\text{PF} = \frac{\text{LIPE}^{\circledR} \text{ fornecido (g)}}{(\text{Ai/MS total}) * 100}$$

Onde PF = Produção fecal; Ai = Relação logarítmica das intensidades de absorção das bandas dos comprimentos de onda a 1050 cm⁻¹ / 1650 cm⁻¹; MS total = matéria seca total.

O Ai é calculado através da fórmula:

$$\text{Ai} = \frac{\log I_0}{I}$$

$$\text{Ai} = \text{A1050} / \text{A1650}$$

A digestibilidade dos alimentos da dieta foi determinada pela técnica de sacos móveis (Silva, 2007), realizada na Escola de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no período de 24 a 28 de agosto de 2006. Foram utilizados dois equinos adultos com 220 kg de peso vivo e alimentado com uma dieta basal de 80% de volumoso e 20% concentrado (baseado num consumo de 2,0% de peso vivo em MS – NRC, 1989), dividida em quatro porções diárias. Foram utilizados sacos de náilon de porosidade de 45µ (Tenyl®) e com dimensão de 7,5 x 2,0cm, numa relação quantidade de amostra (mg)/área (cm²) de aproximadamente 17 mg MS/cm² de superfície. Os sacos foram selados à quente com seladora automática e preparados segundo Araújo et al. (1996). Posteriormente foram identificados com marcador permanente de plástico¹³, colocados em estufa de ventilação forçada à 55°C por 24h

¹³ Pilot®

e pesados. Foram inseridos aproximadamente 510 mg/saco de amostras moídas a 1 mm do volumoso pré-seco e do concentrado, em sacos separados.

Os sacos com amostras dos alimentos (sete por alimento) e um em branco, foram introduzidos no estômago dos animais através de sonda nasogástrica semi-siliconizada de 15 mm de diâmetro interno lubrificada com vaselina líquida. Todos os sacos foram previamente inseridos na sonda antes da passagem nos animais, com o auxílio de um êmbolo. Após a inserção nasogástrica, aproximadamente 750 à 1000 ml de água foram infundidos, sob pressão, na luz da sonda para facilitar a passagem dos sacos para o estômago (Moore-Colyer et al., 2002). A sondagem foi realizada uma vez ao dia, às 7:00 horas, durante dois dias, sendo os animais monitorados 24 horas durante quatro dias para recuperação dos sacos nas fezes. Foram realizadas duas sondagens por alimento nos animais.

Logo após a recuperação fecal dos sacos, o horário de excreção foi anotado e os sacos congelados à -20°C. Ao final de cada dia de coleta, os sacos foram descongelados e lavados durante 15 minutos em água fria em máquina de lavar, para remoção de impregnações. No procedimento de lavagem, utilizou-se um saco protetor, onde foram inseridos, em média, 25 sacos de náilon.

Em seguida os sacos foram secos em estufa de ventilação forçada a 55°C por 48h, e pesados para cálculo das perdas de MS para cada saco. Ao término do ensaio, os resíduos de sacos do mesmo alimento foram misturados, sendo então analisados quanto ao teor de MS a 105°C (Cunniff, 1995) no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG.

As perdas dos nutrientes após as incubações com sacos móveis foram expressas como coeficientes de digestibilidade aparente da MS (CDMS), determinados pelo resíduo de

cada saco, do alimento volumoso e concentrado, de acordo com a fórmula:

$$\text{CDMS (\%)} = 1 - \frac{\text{Resíduo do saco (mg)}}{\text{(I*MS}_{105^{\circ}\text{C}})}$$

Onde I é a quantidade de alimento (mg) inserido em cada saco e MS_{105 °C} teor de MS do alimento determinada a 105 °C (Moore-Colyer et al., 2002).

Após a obtenção dos valores de digestibilidade aparente, do alimento volumoso e concentrado e da produção fecal total, foram feitos os cálculos para se estimar o consumo de MS da dieta total e do volumoso, conforme Rodriguez et al. (2006). Como o consumo de MS diário e coeficiente de digestibilidade da MS (CDMS) do concentrado eram conhecidos, foi estimada a quantidade de fezes produzidas que correspondia à porção não aproveitada desse alimento. Em seguida, foi realizado o cálculo do consumo diário de volumoso, em kg de MS, uma vez que a DIMS também era conhecida e a produção fecal referente ao volumoso o resultado da diferença entre a produção fecal total e produção fecal referente ao concentrado. Logo, o consumo diário de MS total resultou do somatório dos consumos de concentrado e volumoso, em kg de MS por dia. Para estimativa do consumo diário de MS em porcentagem de peso vivo, foram considerados nos cálculos os valores das pesagens realizadas no período experimental para cada animal.

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições e com o concurso de uma variável (temperatura na hora da prova). Para o consumo alimentar, as análises estatísticas foram realizadas através de um

delineamento inteiramente ao acaso com cinco repetições e três tratamentos. Os dados foram submetidos a análise de variância e a comparação das médias dos grupos experimentais foi feita pelo teste T de Student com ($P < 0,05$). Para tempos de avaliação foi feito ajuste de modelo de regressão. Realizou-se teste de Lilliefors para verificar a normalidade dos dados e teste de Bartlett para averiguar a homocedasticidade de variâncias.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma quantidade limitada de trabalhos tem sido feita para determinar o efeito da suplementação com cromo no desempenho e resposta metabólica na espécie equina. Até o momento, as pesquisas científicas realizadas com cavalos não demonstraram qualquer benefício definitivo da suplementação dietética de cromo. Da mesma forma, informações na literatura científica sobre a necessidade para a suplementação de cromo em dietas de outras espécies como peixes, ovinos e coelhos é muito escassa para permitir conclusões.

A análise do cromo é um dos fatores apontados por Mertz, (1992) e Vincent, (2000) como responsável pela lentidão das

pesquisas, além da interação de cromo com outros fatores dietéticos e o diagnóstico do status do cromo.

Outra questão importante diz respeito à biodisponibilidade, ou seja, saber se todo cromo absorvido é igualmente disponível para conversão na sua forma biologicamente ativa.

4.1. DADOS CLIMÁTICOS

O clima da região onde foi realizado o estudo é semi-árido brando, com seis meses secos na região, com pouca chuva (Monteiro *et al.*, 2005). Os dados de temperatura ambiente e umidade relativa do ar registrados na Tabela 3 estão de acordo com os valores encontrados por Motta *et al.* (2002). A região de Montes Claros tem os seguintes parâmetros climáticos:

- temperatura mínima média anual (°C): 16-17 (Motta *et al.*, 2002).
- temperatura máxima média anual (°C): 28-31 (Motta *et al.*, 2002).
- precipitação total anual (mm): 1.100-1.200 (Motta *et al.*, 2002).
- umidade relativa do ar (%): 52-80% (Monteiro *et al.*, 2005).

Tabela 3: Temperatura ambiente (°C) e umidade relativa do ar (%) em três horários (7.:00, 12:00 e 18:00h) nos três dias da prova de marcha

Dia de Prova	7: 00h		12: 00h		18: 00h	
	T(°C)	UR (%)	T (°C)	UR (%)	T (°C)	UR (%)
1	25,7	91	30,0	60	24,4	96
2	25,6	91	32,0	58	26,7	91
3	24,0	96	30,0	60	24,4	96

4.2. EFEITO DO CROMO SOBRE OS PARÂMETROS AVALIADOS

A análise de variância revelou que não houve interação entre as doses de cromo, dia e

horário (antes e após) da prova nos parâmetros analisados (Anexo IV). Entretanto houve variações entre momentos de coleta antes e depois e entre os dias de prova 1, 2 e 3 (tabela 4).

Tabela 4: Média dos momentos de coletas (antes e após a prova), independente da dose de cromo e do dia de avaliação

Horário da prova	Variável							
	Proteína	Hematócrito	Leucócitos	Cortisol	Lactato	Triacilglicerol	Glicose	Insulina ¹
Antes	6,41 B	31,92 B	9,84 B	8,62 B	1,73 B	47,48 A	110,36 A	23,44
Após	6,74 A	35,67 A	12,53 A	14,16 A	1,90 A	48,57 A	108,42 A	53,02

Médias seguidas de letras distintas na coluna, diferem pelo teste de SNK ($p < 0,05$).

¹ Análise descritiva

A tabela 5 apresenta as médias desconsiderando-se os dias e horários de provas dos diferentes parâmetros analisados

nos três grupos experimentais, demonstrando que as diferentes doses de cromo (0, 5, e 10mg) não afetaram os parâmetros testados.

Tabela 5: Efeito da suplementação com Cr-metionina, sobre parâmetros sanguíneos em éguas Mangalarga Marchador em provas de marcha

Parâmetros	Grupos Experimentais			P - valor
	Controle	5 mg Cr	10 mg Cr	
Hematócrito %	32,08 ± 3,24	33,95 ± 2,66	35,33 ± 4,42	-
PT g/dL	6,72 ± 0,45	6,44 ± 0,83	6,56 ± 0,73	-
Leucócitos (x 10 ³)	10,02 ± 1,93	11,05 ± 2,65	12,48 ± 2,18	-
Cortisol µg/dL	10,94 ± 4,76	11,76 ± 5,39	11,45 ± 5,92	-
TG mg/dL	47,33 ± 25,60	46,97 ± 23,59	49,75 ± 26,37	-
Lactato mmol/L	1,85 ± 0,45	1,79 ± 0,30	1,79 ± 0,36	-
Glicose mg/dL	112,58 ± 18,18	101,45 ± 9,46	114,12 ± 27,63	-
Insulina µU/ml	28,66 ± 16,93	37,20 ± 13,62	48,83 ± 19,28	-

- : não significativo ($p > 0,05$)

Esperava-se a ação deste mineral na melhor utilização da glicose, afetando sua concentração na corrente circulatória e conseqüentemente os demais parâmetros. Assim como elemento antiestresse, diminuindo os níveis de cortisol e reforçando a atividade do sistema imune.

Hematócrito, Proteína total, Número total de leucócitos e Cortisol

A suplementação com cromo nas doses de 5 e 10mg não influenciaram os resultados do hematócrito, da proteína total, número total de leucócitos e cortisol que permaneceram dentro dos valores fisiológicos normais (hematócrito: 32-47%; Proteína total: 6,0-7,8g/dL ; Total de leucócitos(x 10³): 5,4 – 14,3, Boffi, 2007) nos três grupos experimentais.

Tabela 6: Médias do hematócrito (%), Proteína total (g/dL), nº de leucócitos (x 10³) e cortisol (µg/dL) nos grupos suplementados com 0, 5 e 10 mg Cr de éguas Mangalarga Marchador em provas de marcha

Dose Cr	Hematócrito	Proteína Total	Leucócitos	Cortisol
0	32,08	6,72	10,02	10,94
5	33,95	6,44	11,05	11,76
10	35,33	6,56	12,48	11,45
CV (%)	12,54	12,28	24,14	45,27

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem pelo teste de t (p<0,05).

A concentração de proteína total também foi avaliada por Uyanik et al. (2008), num estudo com cavalos quarto de milha submetidos a um exercício de passeio durante três horas por dia, todos os dias. Os animais foram suplementados com Cr – picolinato com doses de 200 e 400µg e não houve influência na concentração de proteína total, o que concorda com os resultados do presente estudo.

Na literatura consultada, não foram encontrados trabalhos sobre suplementação de cromo em equinos que avaliassem hematócrito e número total de leucócitos.

No entanto, um aumento nos parâmetros hematológicos (hemoglobina, hematócrito, eritrócitos, leucócitos e volume corpuscular médio) foi observado em uma população de cabras na qual uma deficiência de cromo foi induzida experimentalmente. Foi observado também um aumento da concentração de proteína quando os animais foram comparados com o grupo controle (Pechova e Pavlata, 2007).

Se o cromo tivesse influenciado positivamente no desempenho dos animais esperaria-se um aumento do hematócrito do grupo suplementado, pois, de acordo com Foreman et al. (2004) citado por Orosco, (2007) animais com bom desempenho apresentam aumento do hematócrito durante o exercício, o que melhora a capacidade de transporte de oxigênio para os tecidos.

A concentração de cortisol também não mostrou diferença significativa entre os grupos experimentais ao contrário do que se esperava. Também não houve alteração do número total de leucócitos dos animais suplementados em relação aos não suplementados (Tabela 6).

Santos (2002) afirmou que durante exercícios realizados por longas distâncias e com baixa a moderada intensidade, observa-se leucocitose resultante da ação da liberação de cortisol, que estimula a produção de neutrófilos e inibe a migração de granulócitos dos vasos sanguíneos para os tecidos. Era de se esperar então que tanto os níveis de leucócitos quanto

os de cortisol estivessem aumentados após o exercício.

Talvez a intensidade do exercício aliado ao manejo que os animais foram submetidos não tenha sido suficiente para provocar um nível de estresse capaz de alterar o nível de cortisol sanguíneo e consequentemente o aumento dos leucócitos.

Este resultado é semelhante ao encontrado por Vervuert et al. (2005), que suplementando cavalos Standardbred com Cr-levedura (4,15 e 8,3 mg Cr) observou em repouso uma discreta diminuição, mas não significativa, de cortisol no soro dos cavalos suplementados com 8,3mg Cr em relação ao grupo controle e ao grupo suplementado com 4,15 mg Cr.

Pagan et al. (1995), quando suplementaram cavalos de corrida (P.S.I.), com 5mg de Cr-levedura observaram após o trote de aquecimento ($P < 0,05$) e após uma velocidade de 8 e 11m/s ($P < 0,10$) menor concentração de cortisol no grupo suplementado.

De acordo com o NRC, (2007) até o momento as informações disponíveis são insuficientes para determinar se existe necessidade de se suplementar os equinos com cromo e nenhuma evidência de deficiência nesta espécie foi encontrada. Além disso, a maioria dos estudos experimentais de deficiência de cromo cita resultados com animais de laboratório.

O êxito da determinação das necessidades dietéticas depende em parte, do estabelecimento de procedimentos sensíveis para análise de cromo nos alimentos e dietas o que permitirá obter resultados reprodutíveis. Além disto, deve ser planejada pesquisa para controlar e medir o impacto dos fatores que contribuem para respostas suspeitas, inconsistentes dos animais à suplementação de cromo na dieta. Esta investigação tornaria possível documentar as circunstâncias em que a suplementação dietética de cromo poderia ser utilizada para melhor proveito.

Pesquisa feita recentemente na Universidade de Lousiana mostrou que suplementação com 5mg de Cromo na forma picolinato não afetou a resposta ou reação metabólica e hormonal em éguas adultas quando submetidas a um teste de tolerância à glicose, desafio de insulina, alimentação e exercício.

Triacilgliceróis - Lactato – Glicose e Insulina

Os triacilgliceróis são sintetizados primariamente no tecido adiposo, fígado, intestino delgado e glândula mamária e sua concentração circulante em animais normais reflete o balanço entre absorção de triacilgliceróis pelo intestino delgado, síntese/secreção pelos hepatócitos e reabsorção pelo tecido adiposo. Este equilíbrio é afetado pela concentração de gordura na dieta e produção de hormônios tais como insulina e glucagon (Thrall, 2004).

A concentração de triacilgliceróis não mostrou diferença ($p < 0,05$) entre os grupos suplementados no presente trabalho, ao contrário do que poderia se esperar, já que numerosos estudos mostraram que o cromo afeta o metabolismo lipídico (tabela7). No entanto Uyanik et al. (2008) observaram decréscimo ($p < 0,05$) nos triacilgliceróis em cavalos suplementados com 400 μ g de picolinato de cromo em um período de 45 dias. Ao contrário, Pagan et al. (1995), encontraram elevação nas concentrações de triacilgliceróis em cavalos suplementados com 5mg de Cr-levedura após 15 e 30 minutos de exercício ($P < 0,05$). Ainda de acordo com estes autores os triacilgliceróis elevados após o exercício, poderiam também estar relacionados com o metabolismo da glicose e a produção de insulina, já que a insulina inibe a mobilização de lípidos do tecido adiposo. Assim, se o cromo acelerasse a passagem de glicose da corrente circulatória para os tecidos, levaria a uma redução do nível de insulina na corrente circulatória a que resultaria em uma maior mobilização dos lipídeos como fonte de energia.

Uyanik et al. (2008), trabalharam com cavalos Quarto de Milha, com idade variando entre 4 e 13 anos em condições de campo, com escore corporal de 1-2. Além disso, as amostras sanguíneas foram colhidas após período de um dia de

descanso. Portanto, a diversidade dos resultados entre estes estudos pode ter ocorrido em razão dos diferentes momentos em que foram feitas as análises assim como diferentes metodologias, animais e ou procedimentos experimentais.

Tabela 7: Médias de triacilgliceróis (mg/dL), lactato (mmol/L), glicose (mg/dL) e insulina (μ U/ml) nos grupos suplementados com 0, 5 e 10mg de Cr em éguas Mangalarga Marchador em provas de marcha

Dose Cr (mg)	Triacilglicerol (mg/dL)	Lactato (mmol/L)	Glicose (mg/dL)	Insulina ¹ (μ U/ml)
0	47,33	1,85	112,58	28,66
5	46,97	1,79	101,45	37,2
10	49,75	1,79	114,12	48,83
CV (%)	16,37	23,13	22,53	-

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem pelo teste de t ($p < 0,05$).

¹ Análise descritiva

As doses de cromo utilizadas neste estudo não afetaram os níveis de lactato dos diferentes tratamentos e a média do lactato foi exatamente igual para os grupos suplementados com 5 e 10mg de Cr (Tabela 7). A participação no metabolismo de carboidratos relacionada especialmente ao estímulo da captação de glicose pelas células de tecidos-alvo (Gomes et al. 2005) levaria a uma baixa concentração sanguínea de insulina facilitando o aproveitamento dos lípidos e poupando as reservas de glicogênio o que nos levou a esperar níveis mais baixos de lactato nos animais suplementados.

Pagan et al. (1995), trabalhando com cavalos de corrida, encontraram lactato mais baixo no grupo que recebeu 5mg Cr (8,65 vs. 7,55mmol/L, $P=0,08$) após teste de velocidade de 11m/s e apesar de desconhecer a razão deste decréscimo, acreditaram que devia estar relacionado com a mudança no metabolismo de lípidos e carboidratos provocados pela redução na produção de insulina. Uma vez que o acúmulo de lactato tem sido responsabilizado como um fator que

contribui para fadiga durante exercícios de alta intensidade, interpretaram esta redução no acúmulo de lactato como benéfica para o desempenho do cavalo. No entanto, discordando destes autores, Vevuert et al. (2005), relataram concentração de lactato no sangue mais alta nos grupos suplementados com 4,5mg e 8,3mg Cr, nas velocidades de 8 e 9m/s. Esses pesquisadores afirmaram que o impacto negativo do cromo sobre o acúmulo de lactato durante o exercício necessita de mais esclarecimentos.

As concentrações de lactato foram avaliadas antes do exercício e imediatamente após a realização das provas. Possivelmente a diversidade dos resultados esteja relacionada com os diferentes tipos de exercícios testados. O concurso de marcha caracteriza-se por um exercício aeróbico de intensidade submáxima de longa duração. Neste estudo o resultado mostrou pequeno aumento da concentração de lactato, com valores inferiores a 2mmol/L condizente com os exercícios caracterizados como aeróbicos por Castejón et al. (1995). Já em exercícios máximos, como corridas de

Puro Sangue Inglês há uma substancial produção de lactato.

O cromo também não influenciou as concentrações de glicose que não apresentaram diferença significativa entre os grupos suplementados e o grupo controle neste experimento. A concentração média de glicose sanguínea foi 112,58 mg/dl para o grupo controle; 101,45 mg/dL para o grupo

suplementado com 5 mg Cr e de 114,12 mg/dL para o grupo que recebeu 10mgCr (Tabela 7) Além disto, os níveis de glicose mantiveram-se dentro dos níveis considerados como normais 75 – 115mg/dL (Kaneko, 1989) e não apresentaram diferenças significativas nos momentos de coletas (antes e depois da prova) e também entre os dias de prova (1, 2 e 3) como mostra a tabela 8.

Tabela 8: Médias da concentração de (Glicose) em mg/dl, antes e depois do exercício, nos equinos de D0 (0 mg), D5(5 mg) e D10(10 mg), nos dias 1, 2 e 3 da prova de marcha

Dia de prova	Glicose (mg/dL)		
	Antes	Depois	Média
1	113,30	110,80	112,10
2	109,30	107,00	108,20
3	108,40	107,30	107,90

CV = 22,5%

Vervuert et al. (2005) encontraram picos de glicose em cavalos suplementados com cromo, em testes de exercício a uma velocidade de 9 m/s sendo nos animais suplementados com 8,3 mg Cr: $7,9 \pm 0,9$ mmol⁻¹ enquanto que nos animais não suplementados o pique foi de $6,9 \pm 0,7$ mmol⁻¹. No repouso a concentração de glicose no plasma foi similar para os diferentes tratamentos (controle: $6,0 \pm 0,31$ mmol⁻¹ ; 4,15mgCr: $6,1 \pm 0,06$ mmol⁻¹; 8,3 mg Cr: $6,1 \pm 0,1$ mmol⁻¹).

No entanto Pagan et al. (1995) encontraram concentração de glicose significativamente mais baixa no grupo suplementado (5mg Cr) após velocidade de 8 e 9m/s ($P < 0,05$). Durante a fase de resfriamento do teste, os níveis de glicose reagiram rapidamente nos dois grupos (controle e suplementados) e não apresentaram diferença ($P > 0,10$).

Pagan et al. (1995), relataram um efeito benéfico da suplementação com 5mg de Cr sobre o metabolismo da glicose, em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida em exercício, assim como nos níveis de insulina que se apresentaram mais baixos no grupo que

recebeu cromo, com pique ocorrendo não antes de 2 horas após uma dieta de grãos. Apesar disto, em trabalhos conduzidos por Vervuert et al. (2005), e Uyanik et al. (2008), não houve efeito da suplementação com cromo no metabolismo da glicose, assim como neste trabalho.

Neste trabalho, no entanto, a análise estatística dos resultados mostrou que suplementação com cromo não teve qualquer efeito significativo sobre a concentração de glicose sanguínea, confirmando assim os resultados de outros pesquisadores que nenhuma mudança significativa na glicemia foi associada com a suplementação com cromo em outras espécies de animais (Mowat et al., 1993, Chang et al., 1996; Lindemann et al., 1995; Kegly et al., 1997; Ward et al., 1995; Gentry et al., 1997). Igualmente a este trabalho, Vervuert et al. (2005), e Uyanik et al. (2008), não constataram efeito da suplementação com cromo no metabolismo da glicose, em estudos com cavalos.

Em seres humanos, no entanto, a suplementação com cromo tem sido

associada com redução da glicemia em diabéticos tipo II (Thiel, 1996), enquanto que nem a glicemia nem valores de colesterol foram afetados nos indivíduos com diabetes não insulino-dependente (Anderson, 1987).

Neste trabalho, em relação à insulina, pela grande variabilidade apresentada entre os animais caracterizada pelo elevado desvio padrão e alto coeficiente de variação, além da distribuição não paramétrica da variável testada optaram-se apenas pela descrição

numérica das médias obtidas. O momento de coleta das amostras foi determinado pelo prazo mínimo de três horas após a ingestão de grãos.

Os resultados da insulina foram numericamente diferentes entre os grupos que receberam 0, 5 e 10 mg de cromo. A concentração média de insulina para estes três grupos foi: 28,66 $\mu\text{U}/\text{mL}$; 37,20 $\mu\text{U}/\text{mL}$ e 48,83 $\mu\text{U}/\text{mL}$, respectivamente (tabela 9).

Tabela 9: Médias da concentração de (Insulina)¹ em $\mu\text{U}/\text{mL}$, antes e depois do exercício, nos equinos de D0 (0 mg), D5(5 mg) e D10(10 mg), nos dias 1, 2 e 3 da prova de marcha

Doses de Cr	Insulina ¹ ($\mu\text{U}/\text{mL}$)		
	Antes	Depois	Média
0	10,92	46,42	28,66
5	29,16	45,25	37,20
10	30,25	67,40	48,83

¹ Análise descritiva

A suplementação com cromo picolinato declaradamente reforça a ação da insulina (Anderson, 1997), principalmente em animais idosos (Preuss, 1997); ambos citados por Ralston, 2002. Ainda de acordo com Ralston et al., (1999) a suplementação com cromometionina (0,02mg/kg) diminuíram ($P < 0,05$) a secreção de insulina em 30% a 57% após uma refeição padronizada de grãos em éguas idosas normais sem influenciar as mudanças de glicose no plasma. Mudanças similares, no entanto não foi observada após um teste de tolerância a glicose intravenosa, nem houve alterações estatisticamente significativas em éguas de idade hiperinsulemicas (Ralston não publicado). Potros suplementados com 210 a

420 μg de cromo tripicolinato/kg de ração apresentaram glicose mais baixa e resposta mais rápidas ao teste intravenoso de tolerância a glicose do que controles não suplementado. Em jejum, concentrações de glicose e insulina foram numericamente inferiores em cavalos suplementados, mas as diferenças não foram estatisticamente significativas.

A tabela 10 apresenta uma comparação dos dados das investigações desenvolvidas por diferentes autores, suplementando com diferentes fontes e doses de cromo, raças distintas e que desenvolveram modalidades de exercício diferentes.

Tabela10: Comparação entre os resultados obtidos em investigações desenvolvidas por diferentes autores com distintas raças, fontes de cromo e modalidade de exercício

Autores (data)	Fonte Cr	Dose	Raça	Sexo	Peso (kg)	Tempo (dias)	Idade (anos)	Exerc. (Intensidade)	Resposta
Pagan et al. (1995)	Cr-levedura	5mg	PSI	2 fêmeas 4castrados	-	14	-	Alta	+
Vervuert et al. (2005)	Cr-levedura	4,5 e 8,3 mg	Standardbred	2 fêmeas 3 castrados	412 a 458	21	3 a 5	Alta	-
Uyanik et al. (2008)	Cr Pic	200 e 400 µg	Quarto de Milha	21 fêmeas 3 machos	355 a 363	45	4 a 13	-	-*
Rezende (2009)	Cr - metionina	5 e 10mg	Mangalarga Marchador	12 fêmeas	350 a 450	26	4 a 8	Baixa	-

* resposta para triacilglicerol

Observa-se na comparação entre os resultados obtidos por Pagan et al. (1995) com os do presente trabalho que as doses de cromo foram iguais, mas as formas orgânicas foram diferentes. Neste trabalho a suplementação foi feita com cromometionina, enquanto Pagan et al. (1995) utilizaram um produto de cromo-levedura, o que pode ter influenciado nas respostas distintas à suplementação de cavalos Mangalarga Marchador, submetidos à prova de marcha e cavalos P.S.I., submetidos à teste de exercício em esteira rolante. O tipo de exercício também poderia ser outro fator que poderia ter influenciado as respostas.

Por outro lado, comparando o presente trabalho com o trabalho de Vervuert et al. (2005) que da mesma forma que (Pagan et al. 1995), trabalhou com testes de exercício em esteira, usando a mesma forma de cromo (cromo-levedura), verificamos resultados semelhantes entre Vervuert et al. 2005 e este trabalho. Ao contrário, os resultados de Pagan et al. (1995) e Vervuert et al. (2005) foram distintos, apesar das formas de cromo utilizadas por ambos terem sido iguais (cromo-levedura), assim com o tipo de exercício que os animais foram submetidos. Isto poderia sugerir que outros fatores além

da forma de cromo utilizada poderiam afetar a resposta à suplementação.

Uyanik et al. (2008) também pesquisaram a resposta da suplementação com Cromo utilizando o cromo picolinato nas doses de 200 e 400µg em cavalos da raça Quarto de Milha submetidos a exercício de passeio com 3 horas de duração, diariamente. Curiosamente estes autores tiveram uma resposta semelhante aos trabalhos de Vervuert et al. (2005) e Rezende (2009) apesar da forma distinta de cromo utilizada (cromo-picolinato) e da dose muito mais baixa que a utilizada nos trabalhos anteriormente referidos. Diante desta análise podemos pensar que o efeito do cromo não é dose dependente. Como este trabalho foi realizado com animais com uma faixa etária mais ampla, escore corporal (1-2) e tempo de duração maior que dos trabalhos citados anteriormente poderíamos pensar na possível influência ou não de fatores como estado nutricional, idade e tempo de suplementação.

Diante da diversidade das respostas encontradas, vimos necessidade de mais pesquisas com a espécie equina para obtermos uma resposta mais definida com respeito à utilização da suplementação com

chromo e seus possíveis benefícios, especialmente em cavalos de esporte.

4.3. EFEITOS DA PROVA E DO TREINAMENTO SOBRE OS PARÂMETROS ANALISADOS

Na tabela 4 estão as médias dos parâmetros analisados antes e após a prova de marcha,

independente da dose de chromo e do dia da avaliação. Pode se verificar que o exercício levou a um aumento ($P < 0,05$) da concentração sorológica de proteínas, hematócrito, leucócitos, cortisol e lactato. Isto poderia sugerir que outros fatores além da forma de chromo utilizada poderiam afetar a resposta à suplementação.

Tabela 4: Médias dos momentos de coletas (antes e após a prova), independente da dose de chromo e do dia da avaliação

Horário da prova	Variável							
	Proteína	Hematócrito	Leucocitos	Cortisol	Lactato	Triacilglicerol	Glicose	Insulina ¹
Antes	6,41 B	31,92 B	9,84 B	8,62 B	1,73 B	47,48 A	110,36 A	23,44
Após	6,74 A	35,67 A	12,53 A	14,16 A	1,90 A	48,57 A	108,42 A	53,02

Médias seguidas de letras distintas, na coluna, diferem pelo teste de SNK ($p < 0,05$). ¹ Análise descritiva

Proteína total

As concentrações de proteína total apresentaram diferença ($P < 0,05$) entre os

momentos de avaliação em cada dia de prova e entre os três dias de provas como mostra a tabela 11.

Tabela 11: Concentrações sanguíneas de proteína total, de éguas Mangalarga Marchador suplementadas com chromo (0, 5 ou 10 mg), antes e depois do exercício durante os três dias de provas de marcha

Dia de prova	Proteína total (g/dL)		
	Antes	Depois	Média
1	6,4 b	6,9 a	6,7 B
2	5,8 b	6,3 a	6,0 C
3	6,9 b	7,1 a	7,0 A

CV = 12,3% (proteína total); Letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, indicam médias diferentes pelo teste SNK ($p < 0,05$).

Os resultados mostraram um aumento da concentração de proteína total sempre após o exercício. No 3º dia de prova, a concentração de proteína total foi maior comparada com os dias anteriores. No entanto os valores apresentados permaneceram dentro da faixa de referência para equinos citados por Boffi, (2007), o que pode demonstrar que a prova

não provocou uma sudoração excessiva, que poderia ter provocado perda significativa de líquido corporal. A diferença ($p < 0,05$) entre os momentos analisados pode ter ocorrido em virtude de um aumento da pressão sanguínea, pois segundo Castejón et al. (1995) o exercício provoca um ligeiro aumento das

proteínas plasmáticas devido, possivelmente, ao aumento da pressão sanguínea.

No entanto, Boffi (2007) explicou que o aumento da concentração da proteína total após o exercício é uma resposta fisiológica. Esta resposta reflete perda de líquido, principalmente através do suor, já que nesta espécie a sudoração constitui o mais eficiente

mecanismo de dissipação de calor quando a temperatura ambiente é alta ou durante exercícios máximos e submáximos onde os cavalos podem perder de 10 a 15 litros de suor por hora.

A tabela 12 mostra a média da temperatura ambiente e umidade relativa do ar nos 3 dias de prova de marcha.

Tabela 12: Médias da Temperatura ambiente (°C) e umidade relativa do ar (%) nos 3 dias de prova de marcha

Dia da Prova	T (°C)	URA (%)
1	26,7	82,3
2	28,1	80,0
3	26,1	84,0

De acordo com Muriel (2007) um dos fatores de suma importância no estudo da fisiologia do exercício, mas que poucas vezes têm sido considerados são as condições ambientais sob as quais se desenvolvem as provas. À medida que a temperatura ambiente aumenta, se compromete à perda de calor por todos os mecanismos conhecidos e com o aumento da umidade relativa, a eficácia da evaporação é afetada de maneira importante. Isto está bem demonstrado uma vez que equinos transpiram profusamente sob estas condições. Este autor concordou com Meirelles (1997) na utilização da regra onde de acordo com o resultado da somatória da temperatura ambiente (em °F) e umidade (URA) se avalia as condições para cancelar uma competição de resistência (AnexoV). Quando este somatório for maior do que 150, a perda de calor estará seriamente comprometida (em especial se a umidade

contribuir com mais de 50% do total) e os cavalos devem ser monitorados rigorosamente para evitar desidratação e hipertermia. Aplicando os dados deste experimento à regra anterior descrita obtivemos valores acima de 150 nos 3 dias de prova Os resultados foram crescentes do primeiro para o último dia de prova respectivamente 156,2(1º dia), 161,8 (2º dia) e 163,5 (3º dia) como observado na tabela 13. A temperatura ambiente no 2º dia de prova foi mais elevada em relação aos outros dias (tabela 12) e pode ter contribuído para o déficit na hidratação. Além disso, observa-se também na tabela 12 que a umidade relativa do ar (URA) estava acima da média da região, de 52 a 80%, relatada por Monteiro et al. (2005), sendo que no 3º dia foi de 84% e este valor representa mais de 50% da somatória da umidade relativa do ar com a temperatura ambiente em graus fahrenheit.

Tabela 13: Resultado da somatória da umidade relativa do ar (%) nos três dias (1,2 e 3) de prova de marcha

Dia de prova	URA	TA (°F)	Σ
1	82,3	73,9	156,2
2	80,0	81,8	161,8
3	84,0	79,5	163,5

Observou-se menor valor de hematócrito no 2º e 3º dia de prova, embora os resultados dos valores ambientais da tabela 13 indiquem possibilidade de desidratação nesta população. Além disso, os valores deste parâmetro no 3º dia de prova (tabela 14) estão

dentro dos limites fisiológicos normais para equinos. Desta forma, acredita-se que os animais estavam adaptados ao ambiente onde foram criados, confirmando a rusticidade da raça Mangalarga Marchador.

Tabela 14: Hematócrito de éguas Mangalarga Marchador antes e depois do exercício durante os três dias de provas de marcha

Dia de prova	Hematócrito (%)		
	Antes	Depois	Média
1	32,8 b	36,5 a	34,7 A
2	31,1 b	35,4 a	33,2 B
3	31,7 b	35,1 a	33,4 B

CV = 12,5%

Letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, indicam médias diferentes pelo teste SNK ($p < 0,05$).

Esta hipótese de adaptação e rusticidade é reforçada pelas conclusões de Prates (2007), que, trabalhando com os mesmos animais, em experimento paralelo, concluiu que a temperatura e umidade ambiente, não interferiram nos parâmetros físicos (FC, FR e TR) avaliados, mostrando a adaptação dos animais ao clima e ambiente. Por outro lado, o fato de que, durante o exercício prolongado de baixa intensidade a concentração de proteínas plasmáticas aumenta, também foi comprovado por Teixeira Neto (2006) e Orozco (2007), e estão de acordo com vários autores por eles citados (Lucke e Hall, 1978; Rose 1977; Coyne et al.; 1990). Williamson et al. (1996) associaram as maiores elevações no número de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais à maior intensidade do exercício submáximo realizado acima de 170 bat/min.

No experimento paralelo realizado com os mesmos animais, Prates et al. (2009) caracterizou a prova de marcha como exercício submáximo baseado na FC onde registrou o valor de 186,76 bpm como maior FC apresentada entre os animais deste estudo.

Resultados do presente experimento também corroboram com Judson, Frauenfelder e Mooney, (1983) citados por Santos, (2006) que constataram elevação na concentração plasmática de proteínas após exercícios submáximos. A elevação relatada foi de 7,4g/dL para 8,0g/dL, enquanto que no presente experimento a elevação foi de 6,41g/dL para 6,74g/dL.

Quando as competições de resistência se realizam em climas frescos, as perdas de fluido por suor podem ser mínimas e as mudanças no hematócrito, proteínas plasmáticas totais e eletrólitos podem ser insignificantes (Muriel, 2007).

Para avaliação do “efeito treinamento” foi comparado às médias dos parâmetros das éguas em duas situações do trabalho: Sem treinamento e com treinamento, sendo que a situação sem treinamento corresponde a 1ª avaliação dos animais (dia zero) antes de ser realizado qualquer tipo de treinamento. O momento com treinamento corresponde à avaliação realizada no primeiro dia de prova “antes” do exercício no grupo que não recebeu cromo como mostra a tabela

Tabela 15: Efeito médio do treinamento no grupo sem aplicação de cromo antes da prova

Treinamento	Variável			
	Triacilgliceróis ¹	Proteína	Cortisol	Insulina ²
Sem	36,27 A	4,70 B	6,42 A	30,83
Com	37,03 A	6,79 A	7,12 A	13,5
CV(%)	20,60	27,28	24,95	

Médias seguidas de letras distintas, na coluna, diferem pelo teste de Fisher ($p < 0,05$).

¹ Utilização da transformação log (triacilgliceróis+10) na análise de variância; ² Análise descritiva

Na tabela 15 observa-se que dentre os parâmetros estudados (Triacilgliceróis, Proteína Total, Cortisol e Insulina), somente a Proteína Total, mostrou diferença ($P < 0,05$), sendo mais elevada nos animais com treinamento sem, no entanto, ultrapassar os valores de referência. Na análise da insulina o resultado foi aproximadamente 50% maior nos animais sem treinamento (30,83 μ U/mL) comparados com os animais treinados (13,5 μ U/mL). Os valores de triacilgliceróis (36,27 e 37,03 mg/dL) e cortisol (6,42 e 7,12 μ g/dL) não foram diferentes ($P > 0,05$) e estão de acordo com os valores de referência de 2-9 μ g/dL, para o cortisol (B.E.T LAB, 2008) e de 4 – 44 mg/dL para os triacilgliceróis (Kaneko, 1989).

Os valores das médias das concentrações de proteína total, em repouso, foram maiores ($P < 0,05$) nos animais treinados (6,79 g/dl) quando comparados com o mesmo grupo antes do treinamento (4,70 g/dL). Castro Jr. (2003) também registrou valores de proteína plasmática de 6,6 g/dL para equinos em repouso. Santos (2006) encontrou resultado semelhante na concentração de proteínas totais quando comparou grupos de treinamento e prova com grupo repouso. Foi verificada uma elevação ($P < 0,05$) nos grupos treinamento e prova quando comparadas com o grupo repouso. No entanto Hinchcliff et al. (2002) observaram a existência de uma interação significativa entre condicionamento físico e o tempo de duração do exercício de alta intensidade para que ocorra elevação nos níveis de proteínas plasmáticas totais. Para

esses autores o condicionamento promove redução na concentração plasmática de proteínas totais durante o repouso, no final do período de aquecimento e durante os 30 minutos de atividade de alta intensidade. Não altera, entretanto, a concentração de proteínas plasmáticas após o exercício de alta intensidade, nem afeta o percentual de hematócrito. Estes resultados corroboram Boffi, (2007) que relatou que a concentração de proteínas plasmáticas podem se alterar como consequência do treinamento e exercício. Em cavalos de corrida é comum um aumento de 15%, enquanto que em cavalos de enduro este aumento é de no máximo 25%. Este aumento pode ser explicado pelo fato de que cavalos treinados e condicionados possuem menor taxa de perda de líquidos e eletrólitos no suor, ingerem mais água, melhoram a habilidade de eliminar calor pela sudorese e pelo trato respiratório e aprendem a se hidratar (tomar mais água) melhor.

No entanto, estes resultados discordam dos encontrados por Hinchcliff et al. (2002) citados por Santos, (2006); que constataram que o condicionamento provoca uma redução na concentração plasmática de proteínas totais durante o repouso, no final do período de aquecimento e durante os primeiros 30 minutos de atividade de alta intensidade. O aumento da concentração plasmática de proteínas totais (Tab16) ocorreu possivelmente em função da perda de fluidos do compartimento vascular pelo suor, conforme citado por Santos (2006), relatado por Rose et al. (1983), Jablonska et al. (1991), Mc Keever et al. (1998) Andrews et al. (1995).

Tabela 16: Efeito do treinamento e da prova sobre a concentração de triacilgliceróis, proteína, cortisol e insulina nos animais que não receberam cromo

Momento	Variável			
	Triacilgliceróis ¹	Proteína	Cortisol	Insulina ²
Antes do treinamento	36,27 A	4,70 B	6,42 B	30,83
Depois da prova	33,12 A	6,79 A	14,12 A	61,00
CV(%)	15,74	27,19	34,46	

¹ Utilização da transformação log (triacilgliceróis+10) na análise de variância

² Análise descritiva

Além disso, Larsdotter et al., citado por Boffi, (2007) demonstraram que os cavalos treinados possuem menor concentração de enzima anidrase carbônica nas glândulas no nível das microvilosidades da membrana citoplasmática que desembocam na luz da mesma e que as células formadoras de suor são maiores que as dos cavalos não treinados o que justifica a maior sudoreação exibida pelos animais durante o exercício levando o aumento na concentração de proteínas plasmáticas. Além disto, considerando Rose et al. (1980) que relataram que a perda de água não se relaciona com a distância, terreno, velocidade ou temperatura e sim com a quantidade de água que o cavalo ingere durante a prova e com seu nível de treinamento este resultado reforça o nível de treinamento alcançado pelos animais em um curto período e a rusticidade da raça, já que, em provas de marcha, não é permitido parar nem ingerir água durante a prova. Segundo Carlson (1987) os equinos chegam a perder,

durante provas de resistência, entre 10 e 15 litros de suor por hora. Lacerda Neto et al. (2003) encontrou valores ligeiramente inferiores a estes, possivelmente devido à baixa intensidade do exercício (200m/min), quando comparada às velocidades médias de provas oficiais de enduro, aonde estas chegam a ultrapassar os 300 m/min (Ecker e Lindiner, 1995).

Hematócrito

A importância da resposta hematológica no campo da fisiologia do exercício se deve ao seu vínculo com a capacidade de transporte de oxigênio. Castejón et al. (1995) relataram que o exercício físico provoca uma série de respostas hematológicas que são devidas, principalmente a dois fatores: a hipóxia tissular e a esplenocontração, já que o baço é o principal reservatório de eritrócitos no cavalo.

Na tabela 14 estão as médias do hematócrito de todos os animais independente da dose de cromo.

Tabela 14: Hematócrito de éguas Mangalarga Marchador antes e depois do exercício durante os três dias de provas de marcha

Dia de prova	Hematócrito (%)		
	Antes	Depois	Média
1	32,8 b	36,5 a	34,7 A
2	31,1 b	35,4 a	33,2 B
3	31,7 b	35,1 a	33,4 B

CV = 12,5%

Letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, indicam médias diferentes pelo teste SNK ($p < 0,05$).

Na comparação entre os dias de prova (1, 2 e 3), houve diferença ($P < 0,05$) do primeiro dia para os dias 2 e 3, sendo que no dia 1 a média do hematócrito foi de 34,7% e nos dias 2 e 3 as médias foram inferiores e não diferiram. Os resultados mostraram também aumento do hematócrito, com relação aos momentos de coleta, sendo maiores ($P < 0,05$) após a prova (Tabela 14). Estas respostas concordam com as de Teixeira Neto (2006) e Orosco (2007), na avaliação feita durante provas de enduro, correspondente aos momentos antes e final da prova.

Diversos autores, como Martinez et al. (2000); Barton et al. (2003) e Foreman et al. (2004) citados por Orosco, (2007) atribuíram o aumento do hematócrito durante o exercício ao mecanismo α adrenérgico que atua sobre as fibras musculares lisas do baço durante o exercício. Este mecanismo provoca contração esplênica durante o exercício, liberando grande quantidade de eritrócitos para a circulação sanguínea aumentando a capacidade de transporte de oxigênio para os tecidos. Castejón et al. (1995) explicaram que o baço é o órgão que atua como reserva dos glóbulos vermelhos nas diversas espécies animais, mas nos equinos ele apresenta um maior desenvolvimento e pode armazenar até a metade das hemácias circulantes em condições de repouso.

Snow et al. (1983) constataram que o aumento do hematócrito e proteínas plasmáticas totais são resultados da contração esplênica e redução do volume plasmático por redistribuição do volume vascular, perda de fluido através do suor e da respiração entre si sugerindo uma adaptação ao exercício e ao ambiente. O segundo e terceiro dia de prova foram os mais quentes e úmidos com médias de temperatura de 28,1°C e 26,1°C e umidade relativa de 80 e 84% respectivamente (Tabela 12), o que pode ter contribuído também para o aumento do hematócrito dos animais no segundo e terceiro dia de prova.

De acordo com Castejón et al. (1995) durante o exercício pode-se verificar aumento do hematócrito, da hemoglobina e dos glóbulos vermelhos, o que favorece o transporte de oxigênio, no entanto este aumento não deve ser excessivo, pois pode levar a uma hiperviscosidade que impede o fluxo sanguíneo através do leito capilar do músculo.

Número total de leucócitos

O número total de leucócitos apresentou diferença ($P < 0,05$) entre os momentos de avaliação em cada dia de prova e entre os três dias de provas, caracterizada por uma leucocitose relativa após os exercícios e decréscimo do número total de leucócitos do primeiro para o último dia de prova (Tabela 17).

Tabela 17: Número total de leucócitos de éguas Mangalarga Marchador suplementadas com cromo (0, 5 ou 10 mg), antes e depois do exercício durante os três dias de provas de marcha

Dia de prova	Número total de leucócitos ($\times 10^3$)		
	Antes	Depois	Média
1	10,5 b	12,9 a	11,7 A
2	9,9 b	12,8 a	11,3 AB
3	9,2 b	11,9 a	10,5 B

CV = 24,1%

Letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, indicam médias diferentes pelo teste SNK ($p < 0,05$).

O número total de leucócitos apresentou diferença ($P < 0,05$), com aumento entre os dias 1 e 3 de prova, sendo que no terceiro dia de prova houve diminuição do mesmo, o que pode sugerir redução do estresse e adaptação ao exercício; já que a leucocitose pode ser fisiológica como resultado de estresse (Soares.;2004 e Thomassian, 2004).

O aumento do número de leucócitos, encontrado após a realização da prova de marcha, nos três dias de prova, está de acordo com Santos (2002). Este autor afirmou que durante exercícios de longas distâncias e com baixa a moderada intensidade, observa-se leucocitose resultante da ação da liberação de cortisol, que estimula a produção de neutrófilos e inibe a migração de granulócitos dos vasos sanguíneos para os tecidos. Esta afirmação está de acordo com Snow (1982), Rose e Hodson (1982) e Andrew et al. 1995, os quais contataram que uma vez terminado o exercício prolongado de baixa intensidade, é evidente a presença de leucocitose com neutrofilia e linfopenia.

Castejón et al. (1995) explicaram que a resposta leucocitária do equino atleta, depende do tipo de exercício. As provas de força levam ao aumento do número de linfócitos, em consequência da esplenocontração e do aumento da adrenalina, mas nos exercícios de resistência o que aumenta são os neutrófilos, como consequência do aumento do cortisol e da redução da migração dos neutrófilos dos vasos sanguíneos.

A Prova de marcha deve ser considerada como uma prova de resistência, pois de acordo com Prates et al. (2009) o concurso de marcha é uma prova de longa duração e de intensidade submaxima (Prates et al., 2009).

A resposta leucocitária (tabela 17) e do cortisol (tabela 18) encontrada no presente trabalho estão de acordo com a esperada por Castejón et al. (1995) para animais após uma prova de resistência.

Meleiro e Salles Gomes, (2008) afirmaram que em várias espécies incluindo a equina, o exercício provoca mudanças no número e na distribuição de leucócitos circulantes e que a leucocitose está entre as respostas mais consistentes frente ao exercício e, de forma geral, ocorre após todos os tipos de exercício. Entretanto, mais pesquisas sobre fisiologia do exercício na raça Mangalarga Marchador são necessárias para confirmação dessa hipótese.

Cortisol

Como esperado, a concentração de cortisol aumentou nos três grupos com o exercício.

No entanto, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os grupos na mensuração feita logo após o exercício.

Na tabela 18 pode se observar que houve aumento das concentrações de cortisol após o exercício em todos os dias de prova. Marlin, e Nankervis, (2008) consideraram que o aumento da concentração desse hormônio após o exercício é uma resposta fisiológica que acontece nos equinos para adaptação do organismo às maiores demandas de substratos energéticos para o processo de contração muscular. Entre os dias de prova, não houve alteração no nível sanguíneo de cortisol ($P > 0,05$) o que sugere que os animais estavam bem condicionados para o trabalho, pois segundo Marc et al. (2000) o aumento de cortisol após o exercício é maior em cavalos não treinados em relação aos treinados.

Tabela 18: Concentrações sanguíneas de cortisol ($\mu\text{g/dL}$), dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de prova de marcha

Dia de prova	Cortisol ($\mu\text{g/dL}$)		
	Antes	Depois	Média
1	7,40	15,0	11,2
2	10,7	13,2	12,0
3	7,70	14,2	11,0

CV = 45,3%

De acordo com Freestone et al. (1991), Harkis et al. (1993) e Marc et al. (2000) citados por Marques et al. (2002) em cavalos destreinados, as concentrações plasmáticas de cortisol são superiores a dos indivíduos treinados. Neste trabalho, não houve diferença ($p>0,05$) na concentração plasmática de cortisol entre os animais treinados e não treinados quando avaliados em repouso (Tabela15), o que pode sugerir uma adaptação ao ambiente e ao manejo que os animais estavam sendo submetidos.

Os dados da tabela 16 mostram claramente o estresse que a prova provocou nos animais, pois mostrou diferença ($P<0,05$) nas concentrações plasmáticas de cortisol, na comparação treinamento e prova. Este resultado corrobora com diversos autores (Lindner; Ferlazzo; Fazio et al.; Nagata et al.; Alberghina et al.; Marc et al.; 1992- 2002) citados por Boffi, (2007). Ainda de acordo com este último autor, os resultados de alguns estudos indicaram que a condição física e o treinamento afetariam a concentração de cortisol pós-exercício e por isto mesmo esta concentração constituiria um indicador fisiológico confiável para avaliação do treinamento, embora existam dados

controversos. Outros autores constataram que a competição afeta os níveis circulantes de cortisol e o aumento logo após o exercício geralmente depende da condição física individual e da experiência competitiva do cavalo. Os níveis de referência de cortisol em repouso foram maiores em cavalos de competição do que naqueles que não competem, e os valores de referência de cavalos de esporte também evidenciaram alteração por estresse emocional prévio as provas de salto. Além disto, deve-se considerar que a reação do cortisol plasmático nos cavalos varia entre indivíduos.

Lactato

As concentrações de lactato apresentaram diferença ($P<0,05$) entre os momentos de avaliação em cada dia de prova. Entre os três dias de provas houve diferença somente em relação ao 2º dia, quando a média da concentração de lactato (1,99mmol/L) diferiu ($P<0,05$) da concentração avaliada nos animais no 1º e 3º dias de prova. Entretanto os valores obtidos em todos os dias de prova, antes e depois do exercício, ficaram abaixo de 2,0mm/L (tabela 19).

Tabela 19: Concentrações sanguíneas de lactato (mmol/L) dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de prova de marcha

Dia de prova	Lactato (mmol/L)		
	Antes	Depois	Média
1	1,57 b	1,90 a	1,73 B
2	1,93 b	2,03 a	1,99 A
3	1,67 b	1,73 a	1,72 B

CV = 23,1%

Letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, indicam médias diferentes pelo teste SNK ($p < 0,05$).

A maior concentração de lactato depois do exercício ($P < 0,05$) demonstra que durante o trabalho os animais mobilizaram suas reservas de glicogênio. Hodgson e Rose (1994) afirmaram que lactedemia acontece durante todos os tipos de exercício, pois o lactato é produzido no trabalho muscular, mas as altas concentrações só acontecem na realização de exercícios de alta intensidade.

umentam pouco e atingem menos de 2mmol/L.

De acordo com Castejón et al. (1995) a concentração sanguínea de lactato após o exercício é um bom indicador da intensidade do exercício. Assim, quanto maior for a intensidade e força do trabalho maior será a participação da via anaeróbica de produção de energia com consequente maior produção de lactato. Esses autores ressaltaram que a produção de até 2mmol/L de lactato após a atividade física indica que a produção e a eliminação de lactato ficaram equilibradas e, portanto não ocorrerá acúmulo de lactato no músculo indicando que o exercício é eminentemente aeróbico.

No presente trabalho, apesar de ter ocorrido diferença ($p < 0,05$) na concentração sanguínea de lactato, nos momentos antes e após o exercício, os valores não ultrapassaram 2,0mm/L. Este resultado nos permite concluir que a prova de marcha é um exercício eminentemente aeróbico, concordando com Prates et al. (2009) que classificaram a prova

Hodgson e Rose (1994) concordaram com estes autores quando afirmaram que existe substancial produção de lactato nos exercícios de intensidade máxima (como nas corridas de cavalos Puro Sangue Inglês - P.S.I.) e que ao final deste tipo de exercício, as concentrações de lactato podem atingir 20 a 30mmol/L. Ao contrário, em provas de enduro, estes valores

de marcha como um exercício de intensidade submáxima.

A concentração sanguínea de lactato tem sido correlacionada à velocidade do exercício. O ponto em que começa a haver acúmulo de lactato é definido como o limite alcançado quando os cavalos atingem a velocidade de 350 a 400m/min: nesta velocidade o acúmulo de lactato atinge valores superiores a 4 mmol/L (Art et al., 1995). No presente experimento onde foi simulado um concurso de marcha, a velocidade média desenvolvida pelos animais foi de aproximadamente 200m/min e a média dos níveis de lactato avaliados permaneceram abaixo de 2mmol/L (1,90 moml/L) imediatamente após a prova (tabela 19).

Triacilgliceróis

O exercício não afetou a concentração sanguínea de triacilglicerol (tabela 20). No entanto, quando se comparou a concentração deste parâmetro entre os dias de prova, houve aumento no segundo dia ($P > 0,05$). Este achado, possivelmente, ocorreu devido à

ressíntese de triacilglicerol em função de uma sobra da energia mobilizada no primeiro dia de prova. Pode se inferir também que no primeiro dia, tenha ocorrido grande demanda

de energia o que levou a lipólise com consequente aumento plasmático dos triacilglicerol, o que ficou demonstrado no segundo dia de prova.

Tabela 20: Concentrações sanguíneas de triacilgliceróis (mg/dL) dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de prova de marcha

Dia de prova	Triacilgliceróis (mg/dL)		
	Antes	Depois	Média
1	37,0 a	34,8 a	35,9 B
2	73,0 a	74,3 a	73,65 A
3	32,4 a	36,6 a	34,5 B

CV =; 16,4%

Letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, indicam médias diferentes pelo teste SNK ($p < 0,05$).

De acordo com Chicharro e Vaquero (2001) os triacilglicerol constituem um substrato energético muito importante nos exercícios de resistência e o treinamento se associa a um aumento da sensibilidade beta adrenergica no tecido adiposo que provoca maior utilização dos ácidos graxos como fonte de energia.

A concentração de triacilglicerol manteve equilíbrio não sofrendo alterações ($p < 0,05$) tanto na análise efeito da prova quanto na análise do efeito do treinamento (tabela 15 e 16) Estes resultados sugerem uma eficiência na mobilização e utilização dos ácidos graxos, e ao contrário do que foi constatado por Goodman (1973) e Freitas (2002), não mostrou diferença entre cavalos com

diferentes graus de condicionamento para utilizar ácidos graxos com mais ou menos eficiência. Estes resultados também discordam de Rose (1982) que explica o melhor aproveitamento de ácidos graxos em cavalos melhor condicionados em consequência das maiores e mais importantes adaptações ao treinamento de resistência que se caracterizam pelo aumento das concentrações de enzimas no músculo esquelético das vias associadas ao início e ao fim da β -oxidação. No entanto, os achados do presente trabalho corroboram com Orme et al. (1997) e Breidenbach et al. (1999) os quais relataram que os mecanismos envolvidos com a utilização das gorduras pelos equinos não estão bem elucidados.

Tabela 16: Efeito do treinamento e da prova sobre a concentração de triacilgliceróis, proteína, cortisol e insulina nos animais que não receberam cromo

Momento	Variável			
	Triacilglicerol	Proteína	Cortisol	Insulina ²
Antes do treinamento	36,27 A	4,70 B	6,42 B	30,83
Depois da prova	33,12 A	6,79 A	14,12 A	61,00
CV(%)	15,74	27,19	34,46	-

¹ Utilização da transformação log (triacilgliceróis+10) na análise de variância

² Análise descritiva

Glicose

O efeito do exercício sobre os níveis de glicose sanguínea é variável em equinos com alguns apresentando aumento e alguma redução dos níveis. A glicose por si só não fornece muitas informações sobre o metabolismo dos carboidratos durante o

exercício, uma vez que reflete tanto a glicose metabolizada para atividade muscular quanto ao reabastecimento realizado pela glicogenólise hepática e depende do equilíbrio entre os dois processos (Santos, 2002).

Não houve aumento da glicose em função do exercício ou do dia de prova (tabela 21).

Tabela 21: Concentração sanguínea de glicose (mg/dL) dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de prova de marcha

Dia de prova	Glicose (mg/dL)		
	Antes	Depois	Média
1	113,3	110,8	112,1
2	109,3	107,0	108,2
3	108,4	107,3	107,9

CV = 22,5%

As médias permaneceram dentro dos limites fisiológicos considerados por Kaneco (75-115mg/dL). Mudanças na produção de glicose são geradas através da dependência de glicose plasmática nos tecidos, mediada pela glicogenólise e gliconeogênese hepática, influenciada pelo estado de condicionamento e intensidade, bem como pela duração do esforço (Coggan, 1991; Grern et al., 1995). Em todas as formas de exercício, geralmente a glicose plasmática aumenta devido ao estímulo da glicogenólise hepática. No entanto, de acordo com Hodgson e Rose (1994), em exercícios prolongados, pode ocorrer decréscimo como resultado da depleção de glicogênio no fígado. Teixeira Neto (2006) concordou com Hodgson e Rose (1994) que afirmaram que após exercícios prolongados ou provas de enduro tem sido observado decréscimo na concentração plasmática de glicose na maioria das vezes. No presente trabalho, apesar de ter ocorrido decréscimo nos valores de glicose após o exercício não houve diferença ($P>0,05$), entre os dias e momentos (antes e depois) do

exercício. Se considerarmos as características do concurso de marcha, (duração de 50 minutos, terreno plano sem grandes variações no piso) comparadas com provas de enduro e concurso completo de equitação (CCE) na qual a literatura se baseia na maioria das vezes, e como existe pouca pesquisa neste sentido, com relação à marcha e ao concurso de marcha, poderíamos inferir que neste trabalho, possivelmente a intensidade ou velocidade, assim como a duração do esforço não foram suficientes para provocar esta diferença nos níveis de glicose; além disto, o estado de condicionamento pode ter contribuído para esta resposta, o que pode ser reforçado pelos resultados do lactato (1,72-1,99mmol/L) que demonstraram a capacidade aeróbica dos animais.

Insulina

A insulina é um hormônio cuja liberação está relacionada com a concentração sanguínea de glicose. As concentrações plasmáticas de glicose aumentam geralmente após exercícios máximos e submáximos de curta distância

(Snow e Mackenzie, 1977; Rose et al., 1983) e não se alteram após esforço de enduro (Rose et al., 1977; Snow, 1982). Assim como no enduro, os resultados de concentração de glicose não se alteraram após a prova de marcha neste experimento; portanto como não

houve diferença deste metabólito e sua concentração se manteve dentro dos níveis considerados como normais (75-115mg/dL). A insulina também não foi afetada nos dias e momentos avaliados (Tabela 22).

Tabela 22: Concentrações sanguíneas de insulina ($\mu\text{U}/\text{mL}$)¹ glicose (mg/dL) dos animais dos três grupos experimentais (0, 5 e 10 mg de cromo), durante os três dias de prova de marcha

Dia de prova	Insulina ($\mu\text{U}/\text{mL}$) ¹			Glicose (mg/dL)		
	Antes	Depois	Média	Antes	Depois	Média
1	26,7	57,8	42,3	113,3 a	110,8 a	112,1 A
2	17,7	47,7	32,7	109,3 a	107,0 a	108,2 A
3	25,8	53,5	39,7	108,4 a	107,3 a	107,9 A

¹Apenas análise descritiva CV = 22,5% (glicose);

Letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, indicam médias diferentes pelo teste SNK ($p < 0,05$).

Neste trabalho, em relação à insulina, pela grande variabilidade apresentada entre os animais caracterizada pelo elevado desvio padrão e alto coeficiente de variação, além da distribuição não paramétrica da variável testada, optaram-se apenas pela descrição numérica das médias obtidas.

De acordo com McKeever, (2002) tanto nos equinos quanto na espécie humana, a diminuição das concentrações de insulina parece ter um limiar, que se ativa quando o esforço físico ultrapassa acima de 50% da capacidade aeróbica máxima coincidindo com o aumento das catecolaminas responsáveis pela inibição da produção da insulina nas células β do pâncreas. Juntamente com a inibição da insulina, ocorre aumento do glucagon, estimulando a gliconeogênese e inibindo a glicogênese (Wilmore e Costill, 1994), mantendo as concentrações de glicose no sangue durante o exercício e retardando o início da fadiga.

Neste trabalho, os níveis de insulina passaram de 23,44 para 53,02 $\mu\text{U}/\text{mL}$, antes e depois do exercício, respectivamente, como mostra a tabela 5 sugerindo que o esforço físico não atingiu a capacidade aeróbica máxima. Juntamente com a inibição da insulina, ocorre aumento do glucagon, estimulando a gliconeogênese e inibindo a glicogênese (Wilmore e Costill, 1994), mantendo as concentrações de glicose no sangue durante o exercício e retardando o início da fadiga.

Deve se ressaltar que, com relação à insulina, foi realizada somente análise descritiva, no entanto, observa-se na tabela 15 que as médias basais da concentração de insulina foram mais elevadas (30,83 $\mu\text{U}/\text{mL}$) nos animais sem treinamento do que nos animais com treinamento (13,5 $\mu\text{U}/\text{mL}$).

Tabela 15: Efeito médio do treinamento no grupo sem aplicação de cromo antes da prova

Treinamento	Variável			
	Triacilgliceróis ¹	Proteína	Cortisol	Insulina ²
Sem	36,27 A	4,70 B	6,42 A	30,83
Com	37,03 A	6,79 A	7,12 A	13,5
CV(%)	20,60	27,28	24,95	

Médias seguidas de letras distintas, na coluna, diferem pelo teste de Fisher (P<0,05).

¹ Utilização da transformação log (triacilgliceróis+10) na análise de variância

² Análise descritiva

Os resultados sugerem que provavelmente este comportamento dos níveis de insulina esteja relacionado com a maior capacidade de metabolização da glicose nos animais treinados. Este resultado corrobora com a opinião de vários autores (Hyypä, 2002; McKeever, 2002 e Rose e Hudgson, 1994) de que geralmente é possível registrar uma diminuição das concentrações plasmáticas de insulina e glucagon, como consequência do maior índice de glicogenólises em resposta ao

exercício. Para Boffi, (2007) parece que o treinamento não causa efeito algum no grau de supressão da insulina plasmática, porém a condição de hiperinsulinemia de rebote foi menos prolongada após o treinamento.

A concentração de insulina apresentou-se mais elevada (61,0µU/mL) depois da prova nos animais treinados quando comparada com animais antes do treinamento (30,83µU/mL), mostrando um comportamento inverso ao observado quando não havia o efeito prova.

Tabela 16: Efeito médio do treinamento e da prova no grupo sem aplicação de cromo

Momento	Variável			
	Triacilgliceróis ¹	Proteína	Cortisol	Insulina ²
Antes do treinamento	36,27 A	4,70 B	6,42 B	30,83
Depois da prova	33,12 A	6,79 A	14,12 A	61,00
CV(%)	15,74	27,19	34,46	

Médias seguidas de letras distintas, na coluna, diferem pelo teste de Fisher (p<0,05)

¹ Utilização da transformação log (triacilgliceróis+10) na análise de variância

² Análise descritiva

Na tabela 16, os resultados do cortisol ao contrário dos descritos na tabela 15, onde (P>0,05) apresentaram diferença significativa (P<0,05), mostrando a influência do efeito prova nesta variável. Pode-se inferir que o aumento da concentração de insulina nesta análise foi provavelmente desencadeado pelo aumento dos níveis de cortisol já que o principal efeito deste hormônio é, além da gliconeogênese (Greco e Stabenfelt, 1999);

provocar redução moderada na velocidade de utilização da glicose pelas células, levando a elevação na glicemia (Guyton e Hall, 2006) e em contrapartida aumento da secreção de insulina (Greco e Stabenfelt, 1999).

4.4. CONSUMO DE VOLUMOSO

Os dados apresentados na tabela 23 demonstraram que o cromo não influenciou

($P > 0,05$) no consumo de volumoso e consumo de matéria seca (MS) da dieta. Os resultados mostraram que o consumo de matéria seca de equinos em treinamento para provas de marcha está de acordo com as recomendações do NRC (1989) para equinos adultos em trabalho moderado, que varia de 1,75 a 2,5% PV. O consumo de MS das éguas do presente trabalho confirma também a indicação do NRC (2007), que apresentou resultados de trabalhos realizados no período de 1983 a 2003, onde o consumo de MS variou de 1,8 a 3,0% PV. Ainda de acordo com o NRC (2007) considera-se como trabalho moderado um treinamento de três a cinco horas semanal sendo: 30% ao passo,

55% no trote, 10% no galope e 5% no salto. No presente trabalho o treinamento dos animais para a prova de marcha esteve de acordo com esta prescrição, no entanto, ao invés de trotar os animais marchavam e eles não saltavam. Deve-se considerar, contudo, que os animais ao trote desenvolvem um exercício mais equilibrado que na marcha e, portanto, a intensidade dos exercícios pode ser distinta. Prates et al. (2009) em trabalho paralelo, concluiu que a prova de marcha é um exercício de intensidade submáxima, no entanto, são necessárias mais pesquisas para comprovar o esforço desenvolvido pelos animais em treinamento para prova de marcha.

Tabela 23: Consumo de concentrado, volumoso e da dieta total, em kg MS por dia e % PV por dia, de éguas suplementadas com cromo (0, 5 ou 10mg) e em treinamento para provas de marcha

Cromo (mg)	Peso vivo (kg)	Consumo concentrado ¹		Consumo volumoso		Consumo dieta total	
		kg MS/dia	% PV/dia	kg MS/dia	% PV/dia	kg MS/dia	% PV/dia
0	399	4,00	1,00	4,30	1,08	8,31	2,08
5	420	4,22	1,00	3,97	0,95	8,19	1,96
10	412	4,12	1,00	4,18	1,03	8,30	2,03
CV(%)	-	-	-	9,6	14,1	4,9	7,1

¹ Média do consumo de concentrado calculado: 40% de 2,5% do peso vivo

Não houve diferença estatística entre os tratamentos pelo teste SNK ($p < 0,05$).

5. CONCLUSÃO

A suplementação oral com cromo na forma de cromo - metionina nas doses de 5 e 10 mg, durante um período de 30 dias não influenciou nas concentrações sanguíneas de proteína total, hematócrito, número total de leucócitos, glicose, triacilgliceróis, lactato,

cortisol e insulina de éguas Mangalarga Marchador em condicionamento físico para provas de marcha. Também não afetou o consumo de matéria seca dos equinos mantidos a pasto e em treinamento para provas de marcha, sendo que este consumo se manteve dentro do limite indicado pelo NRC (2007).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, A.S.; SONNENBLICK, M.; EINI, M. *The action of chromium on serum lipids and on atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits.* *Atherosclerosis*, v.42, n., p.185–195, 1982.

AL-SAIADY M.Y., AL-SHAIKH M.A., AL-MUFARREJ S.I., AL-SHOWEIMI T.A., MOGAWER H.H., DIRRAR A. *Effect of chelated chromium supplementation on lactation performance and blood parameters of Holstein cows under heat stress.* *Animal Feed Science and Technology*, v.117, n., p.223–233, 2004.

AMOIKON, E.K.; FERNANDEZ, J.M.; SOUTHER, L.L. BORGS, P., SEFTON, A. E. *Effect of chromium tripicolinate on growth, glucose-tolerance, insulin sensitivity, plasma metabolites, and growth-hormone in pigs.* *Journal of Animal Science*, v.73, n., p.1123–1130, 1995.

ANDERSON, R.A. *Stress effects on chromium nutrition of humans and farm animals.* In: *Proceedings of Alltech's 10th Annual Symposium, Biotechnology in the Feed Industry*, Lyons P., Jacques K. A. (eds.), Nottingham University Press, UK, p.267–274, 1994.

ANDERSON, R.A. *Chromium.* In: MERTZ, W. (Ed). *Trace elements in human and animal nutrition.* New York: ACADEMIC PRESS, 1987. p. 225-244.

ANDERSON, R.A. *Nutritional factors influencing the glucose/insulin system: Chromium.* *Journal of American College Nutrition*, v.16, n., p.404 – 410, 1997b.

ANDERSON, R.A.; BRYDEN, N.A.; POLANSKY, M.M.; GAUTSCHI, K. *Dietary chromium effects on tissue*

chromium concentrations and chromium absorption in rats. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, v.9, n., p.11-25, 1996.

ANDERSON, R.A.; KOZLOWSKI, A.S. *Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self-selected diets.* *American Journal of Clinical Nutrition*, v.41, n., p.571–577, 1985.

ANDERSON, R.A.; POLANSKY, M.M. *Dietary chromium deficiency: effect on sperm count and fertility in rats.* *Biological Trace Element Research*, v.3, n., p.1–5, 1981.

ANDERSON, R.A.; POLANSKY, M.M.; BRYDEN, N.A.; ROGINSKI, E.; MERTZ, W. AND GLINSMANNET, W. *Effects of exercise (running) on serum glucose, insulin, glucagons and chromium excretion.* *Diabetes*, v. 32, n., p. 212–216, 1982.

ANDREWS, F.M.; GEISER, D.R.; WHITE, SUSAN L. *Haematological and biochemical changes in horses competing in a 3 star horse trial and 3- day-event.* *Equine Veterinary Journal*, suppl.20, p.57 - 63, 1995.

ANI, M.; MOSHTAGHIE, A.A. *The effect of chromium on parameters related to iron metabolism.* *Biological Trace Element Research*, v.32, n., p.57–64, 1992.

ARAÚJO, K.V.; LIMA, J.A.F.; TEIXEIRA, J.C.; FIALHO, E.T. *Uso da técnica do saco de náilon móvel na determinação da digestibilidade aparente dos nutrientes em eqüinos.* *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.25, n.5, p.957-963, 1996.

- ARFSTEEN, D.P. *Chromium, 1998*. In: J.T.Zelikoff, *Imunotoxicology of Environmental and Occupational Metals*. London: Taylor & Francis, 1998. p. 63 - 92.
- ARIAS, G.M.P.; DIAZ, H.D.P.; ARISTIZABAL, R.J.C.; JARAMILLO, H.N.L. *Effects of dehydration on blood lactate, heart rate and subjective perception of force during long term sub- maximum exercises*. Revista Brasileira Ciência e Movimento, v.9, n.4, p.41-46, 2001.
- ART, T.; VOTION D.; LEKEUX, P. *Physiological measurements in horse after strenuous exercise in hot, humid conditions*. Equine Veterinary Journal Suppl, v.20, p.120-124, 1995.
- ASIMOV, I *Gênios da Humanidade*. Rio de Janeiro: Bloch Editores 1980, v.1, p.213.
- BALDISSERA, V. *Fisiologia do exercício para equinos*. Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária, UFMG. Anais...Belo Horizonte: n.19, p.39-47, 1997.
- BARCELOUX, D.G. *Chromium. Clinical Toxicology*, v.37, p.173-194, 1999.
- BARNHART, J. *Occurences, uses, and properties of chromium*. Regulatory Toxicology Pharmacology, v.26, p.3-7, 1997.
- BAYLY, W.: *Programas de Treinamento do Equino Atleta*. Anais. V Ciclo Internacional de clínica Veterinária Equina, Jockey Club São Paulo, 987,126-129p, 1987.
- BAYLY, W.; KLINE, K.A. *Hematología y bioquímica*. In: Fisiologia del Ejercicio en Equinos. Buenos Aires: INTERMÉDICA, 2007. p. 145-151.
- BEERDA, B.; SCHILDER, M.B.; BERNADINA, W. *Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II. Hormonal and immunological responses*. Physiology and Behaviour, v.66, n.2, p.243-254, 1999.
- BEITZ, D.C. *Metabolismo lipídico*. In: DUKES, M.J.S. (Ed.). Fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 1998. p. 412-429.
- BLAXTER, K. *Nutrition and feeding of the geriatric horse*. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, v.18, n.3, p.491-508, 1998.
- BOFFI, F.M. *Fisiologia del ejercicio en equinos*. Buenos Aires: INTERMÉDICA, 2007, 302 p.
- BOFFI, F.M.; CITTAR, J.; MURIEL, M. BALSUS, G.; LOPÉZ, E. *Comparacion entre velocidad, frecuencia cardíaca y consumo de oxígeno en equinos SPC*. In: CONFERENCIAS INTERNACIONALES DEL CABALLO DE DEPORTE, [s.n.].Curitiba. Anais...Curitiba: CICADE, 2003.
- BOLEMAN, S.L.; BIDNER, T.D.; SOUTHERN, L.L.; WARD, T.L., PONTIF, J.E., PIKE, M.M. *Effect of chromium picolinate on growth, body-composition, and tissue accretion in pigs*. Journal of Animal Science, v.73, p.2033-2042, 1995.
- BONOMI, A.; QUARANTELLI, A.; BONOMI, B.M.; ORLANDI, A. *The effects of organic chromium on the productive and reproductive efficiency of dairy cattle* (in Italy). Rivista di Scienza dell' Alimentazione, v.26, p. 21-35, 1997.
- BOREL, J.S.; ANDERSON, R.A. *Chromium*. In: FRIEDEN, E. (Ed).

Biochemistry of the essential ultratrace elements. New York: PLENUM PRESS, 1984, v.3, p.426.

BORGS, P.; MALLARD, B.A. *Immune-endocrine interactions in agricultural species: Chromium and its effect on health and performance*. Domestic Animal Endocrinology, New York, N.Y.: Elsevier Science Inc. v.15, n.5, p.431-438 1998. <http://www.elsevier.com/locate/domaniend>.

BRANDÃO, A.P.; BRANDÃO, A.A.; BERENSON, G.S.; FUSTER V. *Síndrome metabólica em crianças e adolescentes*. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v.85, n.2, p.79- 81, 2005.

BRANDI, R.A.; FURTADO, C. E. *Importância da Nutrição e do Treinamento do Cavalo Atleta*. In: SIMPOSIO MINEIRO EQUINOCULTURA, 1, 2007, Lavras. Anais...Lavras: n.1,2007. p 83 -105. (Resumo).

BREAZILE, J.E. *Physiologic basis and consequences os distress in animals*. Journal of American Veterinary Medical Association, v.191, n.10, p. 1212-1215, 1987.

BREIDENBACH, A., H. FUHRMANN, E. DEEGEN, A. LINDHOLM, AND H.-P. SALLMANN, 1999: *Studies on equine lipid metabolism 2. Lipolytic activities of plasma and tissue lipases in large horses and ponies*. Journal Veterinary Medicine series A, v.46, n.1, p.193-198, 1999.

BRYAN, M.A.; SOCHA, M.T.; TOMLINSON D.J.: *Supplementing intensively grazed late-gestation and early lactation dairy cattle with chromium*. Journal of Dairy Science, v.87, p.4269-4277, 2004.

BUNTING, L.D.; FERNANDEZ, J.M.; THOMPSON, D.L.; SOUTHERN, L.L. *Influence of chromium picolinate on glucose usage and metabolic criteria in growing Holstein calves*. Journal of Animal Science, v.72, p.1591-1599, 1994.

BURTON, J.L.; NONNECKE, B.J.; ELSASSER, T.H. *Immunomodulatory activity of blood serum from chromium-supplemented periparturient dairy cows*. Veterinary Immunology and Immunopathology, v.49, p.29-38, 1995.

CAMARGO, M.X.; CHIEFFI, A. *Ezoognósia*. São Paulo: INSTITUTO DE ZOOTECNIA, 1971. 320p.

CAMPBELL, R.G.: *Chromium and its role in pig production*. In: Proceedings of Alltech's 14th Annual Symposium, Biotechnology in the Feed Industry, Lyons P., Jacques K.A. (eds.), Nottingham University Press, UK, 229-237, 1998.

CARLSON, G.P. *Haematology and body fluids in the equine athlete: a Review*. En: J.R. Equine Exercise Physiology 2. J.R. Gillespie and N.E. Robinson (eds): ICEEP Publications, Davis, CA., pp: 393-425. [Links] 1987.

CAROL, C.L.; HUNTINGTON, P.J. *Body condition scoring and weight estimation of horses*. Equine Veterinary Journal, v. 20, n.1, p. 41-45, 1988.

CARVALHO, R.T.L.; HADDAD, C.M. *A Criação e a Nutrição de Cavalos*. São Paulo: Editora Globo, 1987, 180p.

CASTEJON, F, RUBIO, M.B., AGUERA, E.I, ESCRICANO, B.M., REQUENA, F. y VIVO, R. *Respuesta hematológica y plasmática al ejercicio em cinta rodante* In VALORIZACIÓN MORFOFUNCIONAL EM LA SELECCION DE REPRODUCTORES DEL CABALLO DE

PURA RAZA ESPAÑOLA (CABALLO ANDALUZ), Foro de Opinion El Caballo Español, Córdoba, p. 186-196, 1995.

CASTRO JR, J.F.C. *Avaliação da influência da medicação pré-anestésica sobre os efeitos da anestesia geral intravenosa nos parâmetros endócrinos e metabólicos relacionados ao estresse em equinos*. 2003.112f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 2003.

CHANG X., MOWAT D.N.: *Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves*. Journal of Animal Science, 70, 559–565, 1992.

CHANG, X.; MALLARD, B.A.; MOWAT, D.N. *Effects of chromium on health status, blood neutrophil phagocytosis and in vitro lymphocyte blastogenesis of dairy cows*. Veterinary Immunology and Immunopathology, v.52, p.37–52, 1996.

CHEN, N.S.C.; TSAI, A.; DUER, I.A. *Effects of chelating agents on chromium absorption in rats*. Journal of Nutrition, v.103, p.1182–1186, 1973.

CHICHARRO, J.L., VAQUERO, A.F. *Metabolismo y utilización de substratos en el ejercicio* in __FISIOLOGIA DEL EJERCICIO, 2, Panamericana. p. 7-30, 2001

CHOWDHURY S, PANDIT K, ROYCHOWDURY P, BHATTACHARY A. *Role of chromium in human metabolism, with special reference to type 2 diabetes*. JAPI 2003;51: 701-5.

CHRISTENSEN J.M., HOLST E., BONDE J.P., KNUDSEN L. (1993):*Determination of chromium in blood and serum evaluation of quality control procedures*

and estimation of reference values in danish subjects. Science of the Total Environment, 132, 11–25, 1993.

CLARKSON, P.M. *Effects of exercise on chromium levels: Is supplementation required?* Sports Medicine , v.23, p.341-349, 1997.

CLAYTON, H.M. *Conditioning Sport Horses*. Mason: SPORT HORSE PUBLICATIONS, 1991. 242p.

COHEN, M.D.; KARGACIN, B.; KLEIN, C.B.; COSTA, A. M. *Mechanisms of chromium carcinogenity and toxicity*. Critical Reviews in Toxicology, v.23, p.255–281, 1993.

COOGAN, A.R. *Plasma glucose metabolism during exercise in humans*. Sport medicine, v.11, n.2, p.102-124, 1991.

CROW, S.D.; NEWCOMB, M.D.; RUTH, P. *Effect of dietary chromium addition on growth performance and carcass characteristics of growing and finishing pigs*. Journal of Animal Science, v. 79 Suppl. 1, p.79, 1997.

CROW, S.D.; NEWCOMB, M.D. *Effect of dietary chromium additions along with varying protein levels on growth performance and carcass characteristics of growing and finishing pigs*. Journal of Animal Science, v.79, Suppl. 1, p. 79, 1997.

CUNNIFF, P. (Ed.). *Official Methods of AOAC International*. 16 ed. Arlinton: AOAC International, 1995, v.1. .p.

CURY, L. *O Cavalo de enduro*. Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária, UFMG, Anais, n.19, p 27-37, 1997.

DALLAGO, B.S.L *Efeitos da suplementação de cromo (Cr) sobre o desempenho produtivo, a população de*

- protozoários e a resposta imunitária em ovinos.** 2008. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.
- De FLORA, S.; CAMOIRANO, A.; SERRA, D.; BENNICELLI C. **Genotoxicity and metabolism of chromium compounds.** Toxicological and environmental chemistry, v.19, p.153-160, 1989.
- DERMAN, K.D.; NOAKES, T.D. **Comparative aspects of exercise physiology.** In: The Athletic horse: principles and practice of equine sports medicine. Philadelphia: W.B. SAUNDERS, 1994, p.13 -25.
- DESMECHT, D.; LINDEN, A.; AMORY, H.; ART, T.; LEKEUX, P. **Relationship of plasma lactato production to cortisol release following completion of diferrent types of sporting events in horses.** Veterinary Research Communications, v.20, n.4, p. 371- 379, 1996.
- DIMOCK, A.N.S.L.; RALSTON, K.; MALINOWSKI, SICILIANO, P.D. **The effect of supplemental dietary chromium on the immune status of geriatric mares.** Pp 10-11 in Proc.16th Equine Nutr.Physiol. Soc.Symp., Raleigh.NC, 1999.
- DOISY, R.J.; STREETEN, D.H.P.; FREIBERG, J.M.; SCHNEIDER, A. J. **Chromium metabolism in man and biochemical effects.** In: PRASAD, A.S.; OBERLEAS, D. (Eds.). Trace elements in human health and disease. Essential and toxic elements. NewYork: ACADEMIC PRESS, 1976, v.2, p.79 -104.
- DOUGLAS, R. **Circadian cortisol rhythmicity and equine cushing's-like disease.** Journal of Equine Veterinary Science, v.19, n.11, p.684-753, 2000.
- DUBOIS F.; BELLEVILLE, F. **Chromium metabolism in man and biochemical effects.** In: PRASAD, A.S.; OBERLEAS, D. (Eds.). Trace elements in human health and disease. Essential and toxic elements, v.2. New York: ACADEMIC PRESS, 1991. p. 79-104.
- DUCROS, V. **Chromium metabolism.** Biological Trace Element Research, v.32, p. 65-77, 1992.
- ECKER, G. L.; LINDINGER, M. I. **Effects of terrain, speed, temperature and distance on water and ion losses.** Equine Vet. J. Suppl., v. 18, p.298-395, 1995.
- ENGENHARDT, W. **Cardiovascular effects of exercise and training in horses.** Adv. Vet. Sci. & Comp. Med v.21, n., p. 173-205, 1977.
- ESCOLA DE MARCHA E ADESTRAMENTO: EQUITAÇÃO E ADESTRAMENTO BÁSICO.** Belo Horizonte: Associação Brasileira dos criadores de cavalo Mangalarga Marchador, 1998a.16p.
- ESCOLA DE MARCHA E ADESTRAMENTO: INTERPRETAÇÃO DOS CONCEITOS DE MARCHA.** Belo Horizonte: Associação Brasileira dos criadores de cavalo Mangalarga Marchador, 1998b. 8p.
- EVANS, D.; ROSE, R. J. **Cardiovascular and respiratory responses in thoroughbred horses during treadmill exercise.** Journal Exp. Biological, v. 134, n., p.397-408, 1988.
- EVANS, D.L. **Training and fitness in Athletic horses.** Sydney: Rural Industries

Research and Development Corporation 2000, 87p.

EVANS, D.L. *The cardiovascular system: anatomy, physiology, and adaptations to exercise and training*. In: ___ The Athletic horse. Philadelphia: W. B. SAUNDERS, 1994, p.129-144.

EVANS, D.L.; GOLLAND, L.C. *Accuracy of Accusport for measurement of lactate concentrations in equine blood and plasma*. Equine Veterinary Journal, v. 28, p.398-402, 1996.

EVANS, D.L.; HARRIS, R.C.; SNOW, D.H. *Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in Thoroughbred horses*. Equine Veterinary Journal, v.25, p. 441- 445, 1993.

EVANS, G.W.; BOWMAN, T.D. *Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization*. Journal of Inorganic Biochemistry, v. 48,n. p. 243–250, 1992.

Exposição Nacional do Cavalo Mangalarga Marchador, 23ª, Belo Horizonte, Associação Brasileira dos Criadores de Cavalo Mangalarga Marchador, 2004.

FARIA, G.; REZENDE, A.S.C. *Treinamento do Cavalo Atleta*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária UFMG, 2002, p.9. (seminário disciplina de pós-graduação Zootecnia).

FARMER, R.W.; PIERCE, C.E. *Plasma Cortisol Determination: Radioimmunoassay and Competitive Protein Binding Compared*. Clinical Chemistry, v. 20, p. 411-414, 1974.

FERGUSON, D.C.; HOENIG, M. *Stress as a mechanism for diabetes and thyroid*

disease. In: Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists, 56, 2005, Middleton. Disponível em: www.ivis.org. Acessado em: 15/11/2006.

FERLAZZO, A.; MEDICA, P.; FAZIO, E.: *Hormonas y ejercicio*. In_ Fisiologia del Ejercicio em Equinos, Buenos Aires, Intermédica, 2007.p.153-164.FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S.; MAGALHÃES, L.M. *Patologia Clínica Veterinária*. Belo Horizonte, Rabelo Brasil, 1977, 279p.

FRANK, A.; ANKE, M.; DANIELSSON, R.: *Experimental copper and chromium deficiency and additional molybdenum supplementation in goats. I. Feed consumption and weight development*. Science of the Total Environment, v.249, p.133–142, 2000b.

FRANK, A.; DANIELSSON, R.; JONES B.: *Experimental copper and chromium deficiency and additional molybdenum supplementation in goats. II. Concentrations of trace and minor elements in liver, kidneys and ribs: haematology and clinical chemistry*. Science of the Total Environment, v.249, p.143–170, 2000b.

FRANK, N. *Insulin resistance in horses*. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, v. 52, 2006, Texas. Lexington: American association of equine practitioners, 2005. p.1-11.

FRANKLIN, R.P.; PELOSO, J.G. *Review of the Clinical Use of Lactate*. AAEP Proceedings v.52 p.305-309 – San Antonio, TX, 2006.

FREITAS, E.V.V. 2007. *Variáveis Fisiológicas em equinos submetidos a dietas com adição de óleo vegetal e a*

- exercício físico de longa duração*. 2007.54f. Dissertação (doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus Jaboticabal, Jaboticabal, 2007.
- FREITAS, E.V.V. 2007. *Treinamento para Concurso de Marcha*. In: SIMPOSIO MINEIRO EQUINOCULTURA, 1, 2007, Viçosa. Anais...Viçosa: 2007. p 179-188.
- FREITAS, E.V.V. *Adição de óleo na dieta de equinos da raça Mangalarga Marchador em provas de resistencia*. 2002.82f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.
- GARCIA, M.; GUZMAN, R.; CABEZAS, I. *Evaluación del entrenamiento tradicional del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguíneas*. Archivos de Medicina Veterinária, v.31, n.2, p.167-176, 1999.
- GARCIA, M.R.; NEWCOMB, M.D.; TROUT, W.E.: *Effects of dietary chromium picolinate supplementation on glucose tolerance and ovarian and uterine function in gilts*. Journal of Animal Science, v.75 Suppl. 1, p.82, 1997.
- GARDNER, A. L. *Técnicas de pesquisa em pastagens e aplicabilidade de resultados em sistemas de produção*. Brasília: II CA / EMBRAPA, 1986. 197 p.
- GENTRY, R.L; THOMPSON JR,D.L.; FERNANDES, J.M.; SMITH, L.A.; HOROHOV, D.W.; LEISE, B.S.; 1997. *Effects of chromium tripicolinate supplementation on hormone and metabolic concentrations and immune function in mares* Pp. 151- 152 in Proc.15th Equine Nutr.Physiol Soc. Symp., Ft Worth, TX.
- GARDNER, G.E.; PETHICK, D.W.; SMITH, G.: *Effect of chromium chelate supplementation on the metabolism of glycogen and lipid in adult Merino sheep*. Australian Journal of Agricultural Research, v.49, n., p.137–145, 1998.
- GENTRY, R.L; THOMPSON JR,D.L.; FERNANDES, J.M.; SMITH, L.A.; HOROHOV, D.W.; LEISE, B.S: *Effects of chromium tripicolinate supplementation on plasma hormone and metabolite concentrations and immune function in adult mares*.Journal Equine Veterinary Science v.19., n., p.259-265,1999.
- GOMES, M.R.; ROGERO, M.M.; TIRAPEGUI, J. *Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico*. Revista Brasileira Medicina Esporte, v.11, n.5, p. 262-266, 2005.
- GOMES, M.R.; TIRAPEGUI, J. *Cromo: novo nutriente ergogênico utilizado na atividade física?* Nutrition Pauta, v.64, n., p.23-33, 2004.
- GONZALEZ F.H.D., SILVA S.C., *Perfil Bioquímico Sangüíneo*. In: Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2003,198p.
- GONZALEZ, G.O. *Nutricion y alimentación del caballo atleta*. In: BOFFI, F.M. Fisiologia del Ejercicio em Equinos. Buenos Aires: Inter- Médica, 2006.cap15, p.205-222.
- GOODMAN, H. M. *Determination of energy source utilized by the light horse*. Journal Animal Science., Champaign, v.37, p. 56 – 60, 1973.
- GRANT, K.E.; CHANDLER, R.M.; CASTLE, A.L.; IVY, J.L.: *Chromium and exercise training: effect of obese women*.

Medical Science Sports Exercise.1977, v.8., n., p.992-998.

GRECO, D.; STABENFELT, G.H. *Endocrinologia*. In: CUNNINGHAM, J.G. Tratado de fisiologia veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: GUANABARA, 1999, p. 309-324.

GREEN, H.J.; JONES, S.; BALLBOURNET, M.; FARRANCE, B.; RANNEY, D. *Adaptations in muscle metabolism to prolonged voluntary exercise and training*. J. Appl. Physiol. Bethesda, v. 78, p. 138-145, 1995.

GUERRA, P.; MEDEIROS, S.A.F. *O agronegócio da equideocultura no Brasil*. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE EQUIDOCULTURA, 1, 2007. Viçosa, Anais..., Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007.

GUYTON, A. C.; HALL, J.E. *Tratado de fisiologia médica*. 11º ed.Guanabara Koogan Rio de Janeiro, 2006, 975p.

HAMBLETON, P.L., SLADE, L. M., HAMAR, D.W., KIENHOLZ, E. W.; LEWIS, L. D. *Dietary fat and exercise conditioning effect on metabolic parameters in the horse*. Journal of Animal Science, v. 51, n. 6, p. 1330-1339, 1980.

HANLEY, A.J.G.; WILLIAMS, K.; FEST A, A.; WAGENKNECHT LE, D'AGOSTINO RB JR.; HAFFENER, S.M. *Liver markers and development of metabolic syndrome*. Diabetes, v.54, n.11, p.3140 - 3147, 2005.

HARKINS, J.D.; HINTZ, H.F.; ELDREDGE, D.L.; SCHRETER, V.; SODERHOLM, V. *Effect of detraining on indices of performance and their correlation with athletic ability of polo*

horses. Journal Veterinary Science, v.13, n.6, p. 348-354, 1993.

HARRIS, D.B.; HARRIS, R.C., WILSON, A.M.; GOODSHIP, A. *ATP loss with exercise in fibres of the gluteus medius of the thoroughbred horse*. Reserch Veterinary Science, v.63, n., p. 231-237, 1997.

HINCHCLIFF, K.W. GROSS DK, MORLEY PS. *High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses*. Equine Veterinary Journal, v.34, n.1, p.9-16, 2002.

HINTZ, H.F.; *Alimentando o Cavalo Atleta*. Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG, n.19, p.49- 57,1997.

HINTZ, H.F.; *O cavalo de enduro*. Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG, n.19, p. 49-57, 1997.

HISTÓRIA do cavalo Mangalarga Marchador. Belo Horizonte: Nova Fronteira, 89p. 1991.

HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. *Evaluation of performance potential*. In: _____. The Athletic horse. Philadelphia: W. B. SAUNDERS, 1994b. p. 231-243.

HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. *Physiologic adaptations to training*. In: _____. The Athletic horse. Philadelphia: W. B. SAUNDERS, 1994a. p. 380-385.

HYYPÄ, S. *Endocrinal responses and regulation in exercising horse*. Book of Abstracts of the 53rd Annual Meeting of the European Association for Animal Production: 270, 2002.

IRVINE,C.H. G.; ALEXANDER, S. L. *Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the*

- horse. Domestic animal endocrinology, Stonehan, v. 11, n. 2, p. 227-238, 1994.
- JABLONKA, E.M.; *Changes in some haematological and metabolic indices in young horses during the first year jump-training.* Equine Veterinary Journal, v.23, n. 4, p. 309 – 311, 1991.
- JACKSON, S.J. *Trace minerals for the performance horses: Known biochemical roles and estimates of requirements.* Irish Veterinary Journal, v.50, n., p. 668 – 674, 1977.
- JEEJEBHOY, K.N.; CHU, R.C.; MARLISS, E.B.; GREENBERG GR, BRUCE-ROBERTSON A. *Chromium deficiency, glucose intolerance and neuropathy reversed by chromium supplementation in a patient receiving longterm total parenteral nutrition.* American Journal of Clinical Nutrition, 30, p. 531-538, 1977.
- JOHNSON, P.J. *The equine metabolic syndrome: Peripheral Cushing's syndrome.* Veterinary Clinics of North America: Equine practice, v.18, n.2, p.271-293, 2002.
- JONG, I. *Chronic stress parameters in pigs: indicators of animal welfare?* 2000. 171f. Tese (Doutorado) – Universidade de Groningen, Groningen, Holanda.
- JUTURU, V.; KOMOROWSKI, J.R.; DEVINE, J.P.; CAPEN, A. *Absorption and excretion of chromium from orally administered chromium chloride, chromium acetate and chromium oxide in rats.* Trace Elements and Electrolytes, v.20, p.23-28, 2003.
- KANDROR, K.V. *Insulin regulation of protein traffic in rat adipocyte cells.* Journal of Biological Chemistry, v.274, n., p.25210-25217, 1999.
- KANECO, J. J. *Clinical Biochemistry of domestic animals,* 4^aed. San Diego: Academic Press, 1989, 932p.
- KEGLEY, E.B.; SPEARS, J.W.; BROWN, T.T. *Effect of shipping and chromium supplementation on performance, immune response, and disease resistance of steers.* Journal of Animal Science, v.75, p.1956-1964, 1997.
- KERR, M.G.; SNOW, D.H. *Alterations in hematocrit, plasma proteins and electrolytes in horses following the feeding of hay.* Veterinary Rec, v.110, n., p.583, 1982.
- KINGSTON, J.K. *Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training.* In: HINCHCLIFF, K.W.; KANEPS, A.J.; GEOR, R.J. (Ed.) Equine sports medicine and surgery. Basic and clinical Sciences of the equine athlete. Weatherford: SAUNDERS Co., 2004. p. 939 - 948.
- KREIDER RB. *Dietary supplements and the promotion of muscle growth with resistance exercise.* Sports Med 1999; v.27, n., p.97-110.
- KUMPULAINEM, J.; LEHTO, J.; KOIVISTOINEM, P.; UUSITUPA M; VUORI E. *Determination of chromium in human milk, serum and urine by electrothermal atomic absorption spectrometry without preliminary ashing.* Science of the Total Environment, v.31, n., p.71-80, 1983.
- LACERDA – NETO, J.C.; SAMPAIO, R.C.L.; FERRAZ, G.C.; NETO, A.R.T.; PEREIRA, D.M.; TITTO, E.A.L.; CARVALHO, M.B.; NETO, A.Q. *Effects of intermittent water cooling and electrolyte supplements on serum osmolality and electrolytes of horses during low-intensity exercise.* Revista Portuguesa

de Ciências Veterinárias v.98, n.548, p.89-195, 2003.

LAGE, M.C.G.R. *Caracterização morfológica dos aprumos e do padrão de deslocamento de equinos da raça Mangalarga Marchador e suas associações com a qualidade da marcha*. 2001. 107f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

LANZETTA, V.A.S.; REZENDE, A.S.C.; SALIBA, E.O.S.; LANA, A.M.Q.; RODRIGUEZ, N.M.; MOSS, P.C.B. *Validação do Lipe® como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos*. Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.1, p.69-74, 2009.

LASSEN, E.D.; SWADARDSON, C.J. *Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities*. Equine Veterinary Clinics of North American Equine Practice. v.11n.3, p.351 – 389, 1995.

LAWRENCE, L. *Feeding the racehorse*. The veterinarian's practical reference to equine nutrition, p.7-15, 1997.

LAWRENCE, L. *Nutrition and the Athletic horse*. In: Hogdson, D.R.; Rose, R.J. (eds): The Athletic horse. Philadelphia: W. B. SAUNDERS, p. 205-230, 1994.

LEAL, B.B. *Avaliação do bem-estar dos equinos de cavalaria da Polícia Militar de Minas Gerais: indicadores etológicos, endocrinológicos e incidência de cólica*. 2007. 61f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

LEE, C.R.; YOO, C.I.; LEE, J.H.; KANG, S.K. *Nasal septum perforation of welders*.

Industrial Health, v.40, n., p.286–289, 2002.

LEFAVI RG, ANDERSON RA, KEITH RE, WILSON GD, MCMILLAN JL, STONE MH. *Efficacy of chromium supplementation in athletes: emphasis on anabolism*. International Journal of Sport Nutrition; n.2; p.111-22,1992.

LEFAVI, R.G.; WILSON, G.D.; KEITH, R.E.; ANDERSON, R.A.; BLESSING, D.L.; HAMES, C.G.; MC MILLAN, J.L. *Lipid-lowering effect of a dietary chromium (III)-nicotinic acid complex in male athletes*. Nutrition Research, v.13, n., p.239–249, 1993.

LENNINGER, A. L.; NELSON, D.L.; COX, M.M.: *Princípios de Bioquímica*, 2.ed., Savier, São Paulo, 1995, 839p.

LEWIS, L.D. *Alimentação e Cuidados do Cavallo*. São Paulo: Roca, 1985, 264p.

LEWIS, L.D. *Nutrição Clínica Equina - Alimentação e Cuidado*. São Paulo: ROCA, 2000. 710p.

LIEN, T.F.; YANG, K.H.; LINK, K.J. *Effects of chromium propionate supplementation on growth performance, serum traits and immune response in weaned pigs*. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, v.18, n., p.403–408, 2005.

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.

LINDEMAN, M.D. *Organic chromium – the missing link in farm animal nutrition?* Feeding Times , v.1, n., p. 8 –16, 1996.

- LINDEMAN, M.D.; KORNEGAY, E.T. *Further assessment of the effects of supplementation of chromium from chromium picolinate on fecundity in swine.* Journal of Animal Science, v.73 Suppl. 1, p.185, 1995b.
- LINDEMAN, M.D.; CARTER, S.D.; CHIBA, L.I.; DOVE, C. R.; LEMIEUX, F. M.; SOUTHERN L. L. *A regional evaluation of chromium tripicolinate supplementation of diets fed to reproducing sows.* Journal of Animal Science, v.82, n., p.2972–2077, 2004.
- LINDEMAN, M.D.; WOOD, C.M.; HARPER, A.F.; KORNEGAY E. T.; ANDERSON R. A. *Dietary chromium picolinate additions improve gain/feed and carcass characteristic in growing-finishing pigs and increase litter size in reproducing sows.* Journal of Animal Science, v.73, p.457–465, 1995a.
- LINDEN, A.; ART, T.; AMORY, H. et al. **Quantitative buffy coat analysis related to adrenocortical function in horses during a three-day event competition.** *Zentbl. Veterinaermed. Reihe A*, v.38, p.376-382, 1991.
- LUKASKI, H.C. *Magnesium, Zinc, and Chromium nutrient and physical activity.* American Journal of Clinical Nutrition, v.72, p.585S-93S, 2000.
- LUKASKI, H.C.; BOLONCHUK, W.W.; SIDERS, W.A.; MILNE, D.B. *Chromium supplementation and resistance training: effects on body composition, strength, and trace element status of men.* American Journal of Clinical Nutrition, v.63, n., p.954–965, 1996.
- LYONS T.P. (1994): *Biotechnology in the feed industry: 1994 and beyond.* In: Proceedings of Alltech's 10th Annual Symposium, Biotechnology in the Feed Industry, Lyons P., Jacques K.A. (eds.), Nottingham University Press, UK, 1–50.
- MACKENZIE R.D.; ANSWAR, R.; BYERRUM, R.U.; HOPPERT, C. A. *Absorption and distribution of 51 Cr in the albino rat.* Archives of Biochemistry, v.79, n., p.200–205, 1959.
- MACNAMARA, J.P.; VALDEZ, F. *Adipose tissue metabolism and production responses to calcium propionate and chromium propionate.* Journal of Dairy Science, v.88, p.498–507, 2005.
- MARC, M.; PARVIZI,N.; KALLWEIT,E.; ELSAESSER,F. *Plasma cortisol and ACTH concentrations in the warmblood horse in response to a standardized treadmill exercise test as physiological markers for evaluation of training status.*Journal of Animal Sciece, v.78, n.7. p.1993 – 1946, 2000.
- MARLIN, D.; NANKERVIS, K. *Equine exercise physiology.* Oxford. Blackwell Publishing 2002, 296p.
- MARQUES, M.S.; FERNANDES, W.R.; COELHO, C.S.; MIRANDOLA, R. *Influência do exercício físico sobre os níveis de lactato plasmático e de cortisol sérico em cavalos de corrida.* A Hora Veterinária, n.129, p.29-32, 2002.
- MATHISON, G.W.; ENGSTROM, D.F. *Chromium and protein supplements for growing-finishing beef steers fed barley-based diets.* Canadian Journal of Animal Science, v.75, n., p.549–558, 1995.
- McARDLE, W.D.; KATTCH, F.I.; KATCH, V.L. *Fisiologia do exercício.* 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998,p.117- 133; 339-367.
- McCUTCHEON, L.J.; GEOR, R.J.; ECKER, G.L.; LINDINGER, M.I. *Equine*

sweating response to submaximal exercise during 21 days of heat acclimation. Journal of Applied of Physiology, v.87, p. 1843-1851, 1999.

MCKEEVER, K.H.: *Exercise physiology of the older horse.* In_ Veterinary Clinics of North America: Equine Praticce; Geriatrics, WB Saunders, Philadelphia, v.18, n., p. 469-502, 2002.

MEIRELLES, J.S. *O cavalo de enduro.* Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária UFMG, n.19, p 5-10, 1997.

MELEIRO, M.Z.; SALLES-GOMES, C.O.M.: *Exercício e Imunidade em Eqüinos.* Revista Brasileira de Medicina +Eqüina, n.9, p.19 - 22, 2008.

MENDES, W.S. *Uso de cromo na nutrição de suínos.* Belo Horizonte: Escola de Veterinária. UFMG, 2000.9.p (Seminário de Zootecnia).

MERTZ, W. *Chromium in human nutrition: a review.* The Journal of Nutrition, v.123, p.626-633, 1993.

MERTZ, W. *Chromium: history and nutritional importance.* Biological Trace Element Research, v.32, n., p.3-8, 1992.

MERTZ, W.E.; ROGINSKI, E.E.; SCHROEDER, H.A.: *Some aspects of glucose metabolism of chromium deficient rats raised in a strictly controlled environment.* Journal Nutrition, v. 86, n.1, p. 107-112, 1965.

MINOIA, C.; CAVALLERI, A. *Chromium in urine, serum and red blood cells in the biological monitoring of workers exposed to different chromium valency states.* Science of the Total Environment, v.71, n., p.3323-3327, 1988.

MIYASHIRO, P.; MICHIMA, L.E.S.; BONOMO, C.C.M.; FERNANDES, W.R. *Alteração da concentração plasmática de cortisol causada pelo estresse decorrente do exercício físico em cavalos de enduro.* In: III Congresso Internacional de Medicina Veterinária FEI/CBH, v. 1. p. 6-6,2007, São Paulo.

MOBERG, G.P.: *Problems in defining stress and distress in animals.* Journal of American Veterinary Medical Association, v.191, n.10, p.1207-1211, 1987.

MOHAMEDSHAH, F.Y.; MOSER-VEILLON, P.B.; YAMIN, I.S. et al.: *Distribution of a stable isotope of chromium (53Cr) in serum, urine, and breast milk in lactating woman.* American Journal of Clinical Nutrition, v.67, p.1250-1255, 1998.

MONTEIRO, E.M.; SILVA, J.C.F.; COSTA, R.T.; COSTA, D.C.; BARATA, R.A. *Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais.* Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.38, n.2, p.147-152, 2005.

MOONEY, K.W.; CROMWELL, G.L. *Efficacy of chromium picolinate and chromium chloride as potential carcass modifiers in swine.* Journal of Animal Science, v.75, p.2661-2671, 1997.

MOONEY, K.W.; CROMWELL, G.L. *Effects of chromium picolinate supplementation on growth, carcass characteristics, and accretion rates of carcass tissues in growing-finishing swine.* Journal of Animal Science, v.73, p.3351-3357, 1995.

MOONSIE-SHAGGER, S.; MOWAT, D.N. *Effects of level of supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of*

stressed feeder calves. Journal of Animal Science, v.71, n., p.232-238, 1993.

MOORE-COLYER, M.J.S.; HYSLOP, J.J.; LONGLAND, A.C.; CUDDEFORD, D. *The mobile bag technique as a method for determining the degradation of four botanically diverse fibrous feedstuffs in the small intestine and total digestive tract of ponies*. British Journal of Nutrition, v.88, n., p.729-740, 2002.

MOSS, P.C.B.; ALVES, G.E.S.; REZENDE, H.H.C.; SALIBA, E.O.S.; LANNA, A. Q.; MOURA, R.S.; SILVA, V.P.; REZENDE, A.S.C.; *Efeito do Cromo sobre o consumo alimentar de éguas Mangalarga Marchador criadas a pasto e em treinamento para provas de marcha*. V&Z EM MINAS, v.100, p.78-80, 2009.

MOTTA, P.E.; CURTI, N.; OLIVEIRA-FILHO, A.T. *Ocorrência de macaúba in Minas Gerais, Brazil: relationship with climatic, pedological and vegetation attributes*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.37, n.7, p.1023-1031, 2002.

MOWAT, D.N.; CHANG, X.; YANG, W.Z.: *Chelated chromium for stressed feeder calves*. Canadian Journal of Animal Science, v.73, p.49-55, 1993.

MURIEL, M.G. *Patologias que Afetam o Rendimento*. In: Fisiologia Del Ejercicio En Equinos, BOFFI, F.M. Inter-Médica, Buenos Aires, 2007.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC - **Nutrients Requirements of Horses**. 5.ed. Washington: National Academy of Science, 1989. 100p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC-**Nutrients Requirements of Horses** 6.ed. Washington National Academy of Science, 2007.341p

NOGUEIRA, G.P.; BARNABE, R.C.: *Is the thoroughbred race horse under chronic stress?* Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v.30, n.10, p.1237-1239, 1997.

ORME, C.E.; HARRIS, R.C.; MARLIN, D.J.; HURLEY, H. *Metabolic adaptation to a fat supplemented diet by the Thoroughbred horse*. Br. J.Nutr. v. 8, n., p. 443 – 458, 1997.

OROZCO, C.A.G.: *Respostas Hematológicas e Bioquímicas de Equinos da Raça Puro Sangue Árabe em Testes de Esforço Progressivo Realizados em esteira rolante durante a fase de Treinamento e em Prova de Enduro a Campo*. 2007. 112f. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP, Câmpus de Jaboticabal - como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária - área de concentração em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária). JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL, 2007.

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

PAGAN, J.D.; JACKSON, S.G.; DUREN, S.E. *The effect of chromium supplementation on metabolic response to exercise in thoroughbred horses*. In: Proceedings of Alltech's 11th Annual Symposium, Biotechnology in the Feed Industry, Lyons P., Jacques K. A. (eds.), Nottingham University Press, UK, 249-256, 1995.

- PAGE, T.G.; SOUTHERN, L.L.; WARD, T.L.; THOMPSON JUNIOR, D.L. *Effect of chromium picolinate on growth and serum carcass traits of growing-finishing pigs*. Journal of Animal Science, v. 71, n., p. 656 – 662, 1993.
- PAUSTENBACH, D.J.; PANKO, J.M.; FREDRICK, M.M. DABT, P. H. D. *Urinary chromium as a biological marker of environmental exposure: What are the limitations?* Regulatory Toxicology and Pharmacology, v.26, p.23–34, 1997.
- PEARSON, S.G.B. *Blood volumen and work performance*. In: Proceedings of the 1st International Symposium on Equine Hematology, 1975 p.321.
- PECHOVA A., PAVLATA L., ILLEK J. *Metabolic effects of chromium administration to dairy cows in the period of stress*. Czech Journal of Animal Science, 47, 1–7,2002c
- PECHOVA, A.; CECH, S.; PAVLATA, L.; PODHORSKY, A. *The influence of chromium supplementation on metabolism, performance and reproduction of dairy cows in a herd with increased occurrence of ketosis*.Czech Journal of Animal Science, v.48, n., p.348–358, 2003.
- PECHOVA, A.; PAVLATA, L.; *Chromium as an essential nutrient: a review*. Veterinari Medicina, v.52, n.1, p1-18, 2007.
- PECHOVA, A.; PODHORSKY, A.; LOKAJOVA, E. ILLEK J.: *Metabolic effects of chromium supplementation in dairy cows in the peripartal period*. Acta Veterinaria Brno, v.71, n., p.9–18, 2002b.
- PELL, S.M.; McGREEVY, P.D.: *A study of cortisol and beta-endorphin levels in stereotypic and normal thoroughbreds*. Applied Animal Behaviour Science, v.64, n.2, p.81-90, 1999.
- PERSSON, S.G.B. *Evaluation of exercise tolerance and fitness in the performance horse*. In: SNOW, D.H.; PERSSON, S.G.B.; ROSE, E.J. (Eds.).Equine Exercise Physiology. Cambridge: GRANTA EDITIONS, p. 441 – 456, 1983.
- PITLER, M.H.; STEVINSON, C.; ERNST, E. *Chromium picolinate for reducing body weight: meta-analysis of randomized trials*. International Journal of Obesity, v.27, p.522–529, 2003.
- PORTER, D.J. *Chromium: friend or foe?* Archive Family Medicine. v.8, p.386-390, 1999.
- PRATES, R.C. *Parâmetros fisiológicos de éguas Mangalarga Marchador e alimentadas com dietas suplementadas com cromo*. 2007. 48f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- PRATES, R.C.; REZENDE, H.H.C.; LANA, A.M.Q.; BORGES, I.; MOSS, P.C.B.; MOURA, R.S.; REZENDE, A.S.C. *Heart rate of Mangalarga Marchador mares under marcha test and supplemented with chromium*. Revista Brasileira Zootecnia, v.38, n.5, 2009.
- PROCÓPIO, A.M. *Análise cinemática da locomoção de eqüinos Mangalarga Marchadores*. 2005. 69f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- RABINOWITZ M.B.; GONICK H.C.; LEVIN S.R.; DAVIDSON, M.B. *Clinical trial of chromium and yeast supplements on carbohydrate and lipid metabolism in*

diabetic men. Biological Trace Element Research, v.5, p.449–466, 1983.

RALSTON, S.L.; *Insulin and Glucose regulation* Vet Clin Equine v18 n 2, (2002) p295-304 In_ Endocrinology The Veterinary Clinics of north América Equine Practice. W.B.Saunders Company. Philadelphia.

RALSTON, S.L.; *Manejo Nutricional da Performance de Cavalos no dia da Competição*. Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG, n.19, p59-68,1997.

RALSTON, S.L.; DIMOCK A.N.; SOCHA, M.; *Glucose/insulin response to IV dextrose versus oral concentrate challenges following chromium supplementation in geriatric mares*. In: Proceedings of the 16th Equine Nutrition and Physiology Symposium.Raleigh, NC.Lexington (KY): ENPS. 1999, p. 90-1.

RAMMESTORFER ,C.; POTTER, G.D.; CUDD,T.A.; GIBBS, P.G.; VARNER, D.D.; HOUSEHOLDER, D.D. *Physiological response of mature quarter horses to reining training when fed conventional and fat supplement diets*, *Journal Equine Veterinary Science*, v.18, n.3,p. 175-183,1998.

RANHOTRA, G.S.; GELROTH, J.A. *Effects of high chromium baker's yeast on glucose tolerance and blood lipids in rats*. Cereal Chemistry, v.63, p.411–413, 1986.

REZENDE, A. S. C. *Aditivos ou Suplementos?* Mangalarga Marchador - Revista oficial da ABCCMM, v.18, n.59, p. 44 - 48, 2006.

RICH, G.A.; BREUER, L.H. *Recent Developments in Equine with Farm and Clinic Applications*.Proceedings of the Annual Convention of the AAEP 2002 In

Depth: Current Concepts in Equine Nutrition.

RIDWAY, K.J. *Training Endurance Horse*. In: The Athletic Horse: Principles and practice of equine sports medicina. Philadelphia: W. B. SAUNDERS, 1994.

ROCHA, J.F. *Os cavalos da Vila Quixote: A história de um sonho sem fronteiras*. São Paulo: 1999. 278 p.

RODRÍGUEZ, N.M.; SALIBA, E.O.S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. *Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. Anais de Simpósios... João Pessoa: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. 26p

ROGINSKI, E.F.; MERTZ, W. *Effects of chromium (III) supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet*. Journal of Nutrition, v. 97, n., p.525–530, 1969.

ROSE, R.J. *Hematological changes associated with endurance exercise*. Veterinary Reserche, v. 110, n., p.175, 1982.

ROSE, R.J.; ALLEN, J.R.; HODGSON, D.R.; STEWART, J.H. *Responses to submaximal treadmill exercise and training in the horse: changes in haematology, arterial blood gas and acid base measurements, plasma biochemical values and heart rate*. The Veterinary Record,v.113.n.26/27, p. 612-618, 1983.

ROSE, R.J.; EVANS, D.L. *Cardiovascular and respiratory function in the athletic horse: a review*. In: GILLESPIE, J.R.; ROBINSON, N.E. (Eds). Equine Exercise Physiology 2.ed. Davis: ICEEP Publications, 1987. p. 1-24.

- ROSE, R.J.; HOGDSON, D.R. ***Haematology and Biochemistry***. In: The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine (Hogdson D.R e Rose R.J., eds.):W.B. Saunders Co., Philadelphia: p.63 – 78, 1994.
- ROSE, R.J.; ILKIW, J.E.; SAMPSON, D. ARNOLD, K. S.; BACKHOUSE, J. W. ***Changes in blood gas, acid-base and metabolic parameters in horses during three-day event competition***. Res.Veterinary Science. v. 28, n., p.393, 1980.
- ROSE, R.J.; PURDUE, RA.; HENSLEY, W. ***Plasma Biochemistry alterations in horses during endurance rides***. Equine Veterinary Journal v. 9, n., p.122, 1977.
- SALIBA, E.O.S.; RODRIGEZ, N.M.; PILO-VELOSO, D. et al. ***Estudo comparativo da coleta total com a lignina purificada como indicador de digestibilidade para ovinos em experimento com feno de Tifton 85***. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40. 2003, Santa Maria. Anais... Santa Maria:
- SANTOS, V.P. ***Variações hemato-bioquímicas em equinos de salto submetidos a diferentes protocolos de exercício físico***. 2006. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Porto Alegre. Faculdade de Veterinária URS-2006
- SANTOS, V.P.; ***Avaliação Metabólica do Equino Atleta*** Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal, do programa de pós - graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.
- SARGENT, T.; LIM, T.H.; JENSON, R.L. ***Reduced chromium retention in patients with hemochromatosis: a possible basis of hemochromatotic diabetes metabolism***. v.28, p.70–79, 1979.
- SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROLL, E.J. ***Veterinary Hematology***. 5rd. ed. Philadelphia: LEA AND FEBIGER, 2000, 1344 p.
- SCHERMAIER, A.J.; O'CONNOR, L.H.; PEARSON, K.H. ***Semi-automated determination of chromium in whole blood and serum by Zeeman electrothermal atomic absorption spectrophotometry***. Clinical Chemistry Acta, v.152, p.123–134, 1985.
- SCHWARZ, K.; MERTZ, Z. ***Chromium (III) and glucose tolerance factor***. Archives of Biochemistry and Biophysics, 85, p.292–295, 1959.
- SILVA, V.P. ***Digestão total e cecal de alimentos volumosos em equinos***. 2007. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica.
- SILVA, V.P.; ALMEIDA, F.Q.; MORGADO, E.S.; FRANÇA, A.B.; VENTURA, H.T; RODRIGUES,L.M. ***Digestibilidade dos nutrientes de alimentos volumosos determinada pela técnica dos sacos móveis em equinos***. Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.1, p.82-89, 2009.
- SNOW, D.H. ***Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse***. Veterinary Record, v.110, n.16, p.377-384, 1982.
- SNOW, D.H. ***Skeletal muscle adaptations: a review***. In: SNOW, D.H.; PERSSON, S.G.B.; ROSE, E.J. (Eds).Equine Exercise Physiology. Cambridge: GRANTA EDITIONS, p. 160-183, 1983.

- SNOW, D.H.; HARRIS, R.C.; MacDONALD, I.A. FORSTER, C.D.; MARLIN, D.J. *Effects of high - intensity exercise on plasma catecholamines in thoroughbred horse*. Equine Veterinary Journal, v. 24, 462 p, 1992.
- SNOW, D.H; HARRIS, R.C. *Effects of daily exercise on muscle glycogen in the Thoroughbred racehorse*. In: PEARSON, S.G.B.; LINDHOLM, A.; JEFFECOTT, L.B. Equine Exercise Physiol. 3.ed. Davis: ICEEP, p.299 -304, 1991.
- SNOW, D.H; MACKENZIE, G. *The Metabolic effects of maximal exercise in the horse and adaptations with training*. Equine Veterinary Journal, v.9, p.34, 1977.
- SNOW, D.H; MACKENZIE, G. *Effects of training on some metabolic changes associated with submaximal endurance exercise in the horse*. Equine Veterinary Journal, v.9, p.226, 1977.
- SOARES, E.C. *Indicadores Hematológicos e Bioquímicos na Avaliação da Performance de Equinos Atletas*. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal, do programa de pós graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004 http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/performance_cavalos.pdf
- STAHLHUT, H.S.; WHISNANT, C.S.; LLOYD, K.E. BAIRD E. J. *Effect of chromium supplementation and copper status on glucose and lipid metabolism in Angus and Simmental beef cows*. Animal Feed Science and Technology, v.128, p.253–265, 2006a.
- STASHAK, T. *Claudicação em equinos segundo Adams*. 4 ed. São Paulo: ROCA, 1994. 943p.
- STEARNS, D.M.; KENNEDY, L.J.; COURTNEY, K.D. et al. Reduction of chromium (VI) by ascorbate leads to chromium DNA-binding and DNA strand breaks in vitro. Biochemistry, v.34, p.910 – 919, 1995.
- STOECKER, B.J. *Chromium*. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M., ROSS A.C, (Eds.): Modern Nutrition in Health and Disease. 9. ed. Williams, p.277–282 , 1999b.
- STOECKER, B.J. *Chromium: absorption, safety, and toxicity*. Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, v.12, p.163–169, 1999a.
- STRIFFLER, J.S.; POLANSKY, M.M.; ANDERSON, R.A. *Overproduction of insulin in the chromium – deficient rat*. Metabolism, v.48, p.1063 –1068, 1999.
- SUZUKI Y., FUKUDA K.: *Reduction of hexavalent chromium by ascorbic acid and glutathione with special reference to the rat lung*. Archives of Toxicology, v.64, p. 169–176, 1990.
- SWANSON, K.C.; HARMON, D.L.; JACQUES, K.A. LARSON, B.T., RICHARDS, C.J., D.W., PATON, S.J. *Efficacy of chromium-yeast supplementation for growing beef steers*. Animal Feed and Science Technology, v.86, p. 95–105, 2000.
- TEIXEIRA NETO, A.R. *Variáveis Fisiológicas e Estresse Oxidativo de Equinos durante Campeonato de Enduro*. 2006. 68f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária- Clínica Médica)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal.
- TEIXEIRA-NETO, A.R.; FERRAZ, G. C.; MATAQUEIRO, M. I.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. *Electrolyte*

reposition on physiologic variables of horses submitted to 30 and 60 km endurance rides. Ciência Rural, Santa Maria, v. 34, n.5, p. 1505-1511, 2004.

TELEKY, L.(1936): *Krebs bei chromarbeitern.* Deutsche medizinische Wochenschrift, 62, 1353.

THIEL, R.J. *The Truth About Minerals in Supplements.* American Naturopathic Medical Association, v.6, n.3, 1976.

THOMASSIAN, A.; WATANABE, M.J.; RIBEIRO, M.A. *Medicina Esportiva Equina Da Inspeção ao computador:* Parte 1– FMVZ – UNESP – Botucatu, 2004. Disponível em: www.spmv.org.br. Acessado em: 12 out. 2006.

THORTON, J.R. *Hormonal responses to exercise and training.* Veterinary Clinics of North America. Equine Practice, Orlando,v.1, p.477-495, 1985.

THRALL, M.A. *Laboratory evaluation of lipids.* In: Veterinary hematology and clinical chemistry. Philadelphia: LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, 2004. cap.28. p. 421-429.

TYLER, C.M.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. *Effect of a warm-up on energy supply during high intensity exercise in horses.* Equine Veterinary Journal, v. 28, n.2, p. 117-120, 1996.

UNDERWOOD, E.J. *Trace elements in human and animal nutrition.*4th ed.New York: Academic Press, 2007.

UYANIK, F.; GÜÇLÜ, B.K., BEKYÜREK, T.; ÜN, M., ABAY, M., CANOĞLU, E. The effect of chromium supplementation on body weight, serum glucose, proteins, lipids, minerals and ovarian follicular activity in working

horses. Journal of Animal and Veterinary Advances v.7, (6): 771-776, 2008.

VALBERG, S. Equine exertional rhabdomyolysis. Part I. Management of sporadic and recurrent exertional rhabdomyolysis. In: Proc.3rd Mid-Atlantic Nutr.Conf.Univ.Maryland. p.197-203, 2005.

VALBERG, S.; JOHNSON, L.; LINDHOLM, A.; HOLMGREN, N. Muscle histopathology and plasma aspartate aminotransferase, creatino kinase and myoglobin changes with exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. Equine Vet. J., NewMarket, v. 25, p. 11-16, 1993.

Valores de referência para equinos Bet Laboratórios. Disponível em: www.betlabs.com.br. Acessado em 02/11/2006.

VERVUERT, I.; CUDDEFORD, D.; COENEN, M. *Effects of chromium supplementation on selected metabolic responses in resting and exercising horses.* Equine and Comparative Exercise Physiology, v.3, n.1, p.19–27, 2005.

VILLALOBOS, F.J.A.; ROMERO, R.C.; TARRAGO, C.M.R.; ROSADO A. *Supplementation with chromium picolinate reduces the incidence of placental retention in dairy cows.* Canadian Journal of Animal Science, v.77, p.329–330, 1997.

VINCENT JB. *Relationship between glucose tolerance factor and low-molecular weight chromium-binding substance.* Journal of Nutrition, v.124,p.117-9, 1994.

VINCENT, J.B. *Mechanisms of chromium action: low-molecular-weight chromiumbinding substance.* Journal

American College Nutrition, v.18, p.6-12, 1999.

VINCENT, J.B. *The Biochemistry of chromium*. Journal of Nutrition, v.130, p.715–718, 2000.

VINSON, J.A, BOSE, P. *The effect of high chromium yeast on the blood glucose control and blood lipids of normal and diabetic human subjects*. Nutr Reports Intl;v.30,n.4, p.911-918,1984.

WARD T.L., SOUTHERN, L.L., ANDERSON R.A.: *Effect of dietary chromium source on growth, carcass characteristics, and plasma metabolite and hormone concentrations in growing-finishing pigs*. Journal of Animal Science, 73 (Suppl. 1), 189 (Abstr.), 1995.

WILLIAMSON, L.H., ANDREWS F.M, MAYKUTH P.L, WHITE S.L, GREEN, E.M. *Biochemical changes in three-day-event horses at the beginning, middle and end of Phase C and Phase D*. Equine Veterinary Journal, Suppl.22, p.92-98, 1996.

WILLMORE, J. H.; COSTILL, D. L. *Hormonal regulation of exercise*. In: WILLMORE J. H.; COSTILL, D. L. (Ed). Physiology of sport and exercise. Champaign, IL: Human Kinetics, 1994, p. 122-143.

WOOD, R.; MILLS, P.B.; KNOBEL, G.J. HURLOW WE, STOKOL, J.M. *Acute dichromate poisoning after use of traditional purgatives a report of 7 cases*. South African Medical Journal, v.77, p.640–642, 1990. www.ivis.org. Acessado em: 15/11/2006

YAMAMOTO A, WADA O, MANABE, S. *Evidence that chromium is an essential factor for biological activity of low-molecular-weight chromium-binding*

substance. Biochem Biophys Res Commun;163:189-93,1989.

YANG, W.Z.; MOWAT, D.N.; SUBIYATNO, A. LIPTRAP R.M. *Effects of chromium supplementation on early lactation performance of Holstein cows*. Canadian Journal of Animal Science, v.76, p.221–230, 1996.

ZORN, A. *Vencendo o estresse – Rolfing (SNA, Estresse, Equilíbrio e Rolfing)* file:///C:/Adjo/Html/RolfingB/stress_pt.htm acesso 20/11/2008.

ANEXO I

Descrição do sistema de escore corporal descrito por Carol e Huntington (1988)

Escore	Descrição		
	Pescoço	Dorso e costelas	Garupa
0 (muito magro)	Pescoço invertido marcado, estreito e frouxo na base.	Pele apertada sobre costelas. Processos espinhosos facilmente visíveis e palpáveis.	Pelve angular - pele apertada. Cavidade profunda na inserção da cauda e ao lado da garupa.
1 (magro)	Pescoço invertido, estreito e frouxo na base.	Costelas facilmente visíveis. Pele apertada ao lado do dorso-lombo. Processos espinhosos bem definidos.	Nádegas atrofiadas, mas com pele flexível. Pelve bem definida. Depressão profunda na inserção da cauda.
2 (moderado)	Estreito, porém firme.	Costelas visíveis. Dorso-lombo bem coberto. Processos espinhosos palpáveis.	Plana como o lado do dorso-lombo. Garupa bem definida, com alguma gordura. Ligeira cavidade na inserção da cauda.
3 (ideal)	Não rodado (exceto em garanhões). Pescoço firme.	Costelas cobertas - facilmente palpáveis. Ausência de sulco no dorso-lombo. Processos espinhosos cobertos, mas facilmente palpáveis.	Coberta por gordura e arredondada. Pelve facilmente palpável.
4 (obeso)	Ligeiramente rodado. Largo e firme.	Costelas bem cobertas - necessária forte pressão para sentir. Sulco presente no dorso-lombo.	Acúmulo de gordura na inserção da cauda. Pelve coberta com gordura - palpável apenas com forte pressão.
5 (muito obeso)	Marcadamente rodado. Muito largo e firme. Pregas de gordura.	Costelas muito cobertas e não palpáveis. Sulco profundo. Dorso-lombo largo e plano.	Grande acúmulo de gordura na inserção da cauda. Pele distendida. Pelve bem coberta - não palpável.

CAROL, C.L.; HUNTINGTON, P.J. Body condition scoring and weight estimation of horses. *Equine Vet. J.*, v. 20, n.1, p. 41-45, 1988.

ANEXO II

O produto utilizado no experimento foi da Zinpro Animal Nutrition.

Microplex 3% (versão concentrada: 30 X mais concentrado que o 0,1%)

3% referem-se ao princípio ativo (Cromo). A concentração do Cr é 3%

Os níveis do produto a 3% recomendados para equinos pelo Zinpro são de 5mg de cromo/cabeça/dia, isto significa 0,17gramas/animal/dia de Microplex 3%.

Manipulação do gel utilizado no experimento:

De acordo com a concentração informada pelo fabricante 5mg Cr/cabeça /dia corresponde a 0,17g/animal/dia do produto Microplex3%.

Foram feitas 100doses de 5mg Cr e 100 doses de 10mgCr.

Cada dose tem 1ml em veículo de glicerina, lanolina etoxilada e talco.

100 doses de 5mg Cr*: se uma dose utiliza 0,17g do produto, 100doses correspondem a 0,17g x 100 = 17g do produto. Completou-se para 100ml homogeneamente misturado aos veículos.

100 doses de 10mg Cr*: se uma dose de 5mg utiliza 0,17g do produto, para uma dose de 10mg (5mg x 2) utilizamos 0,17 x 2= 0,34g do produto para 1 dose. Para 100 doses teremos: 0,34g x 100 = 34g do produto: completou-se para 100ml homogeneamente misturado ao veículo.

*ambos foram armazenados em recipientes respectivamente identificados e hermeticamente fechados.

doses	uma dose	Qtde do produto	Qtde para 100 doses (100ml)
5mg de cromo	1ml	0,17g	17g
10mg de cromo	1ml	0,34g	34g

As doses foram posteriormente colocadas em seringas (BD) descartáveis de 3ml, para aplicação via oral nos grupos tratados; da mesma forma o grupo controle recebeu um placebo.

ANEXO III



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 67/2006**, relativo ao projeto intitulado "*Utilização de aditivos na dieta dos equinos: Parâmetros sanguíneos de equinos Mangalarga Marchador, em treinamento, alimentados com a adição de cromo na dieta*", que tem como responsável **Adalgiza Souza Carneiro de Rezende**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **9/ 08/2006**.

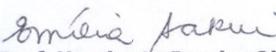
Este certificado expira-se em **9/ 08 / 2011**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 67/2006**, related to the project entitled "*Using of suplementiton in equine diet: Sanguineus parameters of Mangalarga Marchador horses traing for march tests anda fed wiht Chromiun enriched diet*", under the supervision of **Adalgiza Souza Carneiro de Rezende**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **August 9, 2006**.

This certificate expires in **August 9, 2011**.

Belo Horizonte, 9 de Agosto de 2006.


Prof. Humberto Pereira Oliveira
Presidente do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Prédio da Reitoria - Campus Pampulha
Avenida Antônio Carlos, 6627 - 7 Andar, Sala 7018
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4592 - Fax: (31) 3499-4027
www.ufmg.br/prpq/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

- CETEA / UFMG -
CÓPIA

(Mod.Cert. v1.0)

ANEXO IV

Variável	Dia	Horário da prova	dose			Média de dia ¹
			0	5	10	
Tri ² CV(%) = 16,37	1	antes	37,03	41,86	32,05	35,91 B
		Após	33,13	26,20	45,16	
	2	antes	70,42	71,15	77,65	73,67 A
		Após	74,90	71,88	76,00	
	3	antes	27,80	30,89	38,48	34,50 B
		Após	40,72	39,88	29,21	
Prot CV(%) = 12,28	1	antes	6,79	6,13	6,39	6,66 B
		Após	6,79	6,72	7,12	
	2	antes	6,21	5,52	5,85	6,02 C
		Após	6,48	6,12	6,20	
	3	antes	6,87	6,92	7,00	7,00 A
		Após	7,19	7,23	6,80	
Cort CV(%) = 45,27	1	antes	7,15	7,40	7,58	11,19 A
		Após	14,12	14,12	16,75	
	2	antes	13,88	8,75	9,62	11,99 A
		Após	13,75	12,70	13,25	
	3	antes	5,20	10,12	7,88	10,99 A
		Após	11,62	17,50	13,62	
Ins ³	1	antes	13,50	38,00	28,75	42,29
		Após	61,00	33,00	79,50	
	2	antes	9,25	23,25	20,75	32,75
		Após	45,00	53,75	44,50	
	3	antes	10,00	26,25	41,25	39,66
		Após	33,25	49,00	78,25	
Lac CV(%) = 23,13	1	antes	1,45	1,67	1,58	1,73 B
		Após	1,77	2,00	1,92	
	2	antes	2,00	1,90	1,92	1,99 A
		Após	2,40	1,68	2,02	
	3	antes	1,78	1,65	1,60	1,72 B
		Após	1,75	1,85	1,72	
Gli CV(%) = 22,53	1	antes	108,00	108,00	124,00	112,08 A
		Após	105,25	109,25	118,00	
	2	antes	113,25	99,25	115,50	108,21 A
		Após	105,25	100,25	115,75	
	3	antes	121,50	98,75	105,00	107,88 A
		Após	122,25	93,25	106,50	
Hem CV(%) = 12,54	1	antes	30,00	32,75	36,00	34,71 A
		Após	35,50	36,50	37,50	
	2	antes	29,00	31,75	32,50	33,25 B
		Após	34,50	34,50	37,25	
	3	antes	29,50	32,50	33,25	33,42 B
		Após	34,00	35,75	35,50	
Leuco CV(%) = 24,14	1	antes	8,25	10,36	12,82	11,68 A
		Após	11,45	12,68	14,50	
	2	antes	8,74	9,82	11,02	11,33 AB
		Após	12,38	12,70	13,32	
	3	antes	8,48	9,22	9,80	10,55 B
		Após	10,82	11,55	13,42	

¹Médias de dias de prova 1, 2 e 3 nas doses 0, 5 e 10 e horário da prova para cada variável; Médias seguidas de letras distintas, por dia de prova, diferem pelo teste de SNK ($p < 0,05$); ² Utilização da transformação log (triacilgliceróis+10) na análise de variância

ANEXO V

Regra para avaliar o cancelamento de uma competição de resistencia

$\Sigma \text{URA} + \text{TA} (^{\circ}\text{F}) =$ onde URA= umidade relativa do ar
TA= temperatura ambiente
 $^{\circ}\text{F} =$ graus fahrenheit

Quando esta somatória (Σ) for

< 130, geralmente a perda de calor não está comprometida.

> 150, a perda de calor está seriamente comprometida em especial se a URA contribuir com mais de 50% do total e os cavalos devem ser monitorados para evitar desidratação e hipertermia.

> 180, os mecanismos de perda de calor são inefetivos e a competição deve ser cancelada.

Tabela 11: Resultado da somatória da URA (%) e TA ($^{\circ}\text{F}$) nos 3 dias de prova

Dia de prova	U.R.A. (%)	TA ($^{\circ}\text{F}$)	Σ
1	82,30	73,90	156,20
2	80,00	81,80	161,80
3	84,00	79,50	163,50

ANEXO VI

ANOVA dos resultados obtidos pela diferença entre os valores antes e apos a prova.

Triacilglicerol (diferença)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	892.504872	446.252436	1.700	0.2365
erro 1	9	2363.143617	262.571513		
DIA	2	46.701489	23.350744	0.045	0.9557
DIA*DOSE	4	2404.901111	601.225278	1.168	0.3576
erro 2	18	9263.239733	514.624430		
Total corrigido	35	14970.490822			
CV 1 (%) =	15.74				
CV 2 (%) =	22.04				
Média geral:	102.9177778	Número de observações:	36		

Proteína total (diferença)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	0.592006	0.296003	0.642	0.5487
erro 1	9	4.148625	0.460958		
DIA	2	0.679839	0.339919	0.553	0.5845
DIA*DOSE	4	1.650794	0.412699	0.672	0.6200
erro 2	18	11.056700	0.614261		
Total corrigido	35	18.127964			
CV 1 (%) =	6.57				
CV 2 (%) =	7.59				
Média geral:	10.3269444	Número de observações:	36		

Cortisol (diferença)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	29.393889	14.696944	0.675	0.5332
erro 1	9	195.962500	21.773611		
DIA	2	31.977222	15.988611	0.476	0.6290
DIA*DOSE	4	68.646111	17.161528	0.511	0.7287
erro 2	18	604.890000	33.605000		
Total corrigido	35	930.869722			
CV 1 (%) =	28.28				
CV 2 (%) =	35.14				
Média geral:	16.4972222	Número de observações:	36		

Insulina (diferença)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	4968.233889	2484.116944	0.589	0.5752
erro 1	9	37987.602500	4220.844722		
DIA	2	27.800556	13.900278	0.008	0.9924
DIA*DOSE	4	15730.467778	3932.616944	2.165	0.1144
erro 2	18	32693.005000	1816.278056		
Total corrigido	35	91407.109722			
CV 1 (%) =	44.48				
CV 2 (%) =	29.18				
Média geral:	146.0527778	Número de observações:		36	

Lactato (diferença)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	0.111667	0.055833	0.332	0.7263
erro 1	9	1.515833	0.168426		
DIA	2	0.451667	0.225833	1.206	0.3226
DIA*DOSE	4	0.776667	0.194167	1.037	0.4156
erro 2	18	3.371667	0.187315		
Total corrigido	35	6.227500			
CV 1 (%) =	34.93				
CV 2 (%) =	36.83				
Média geral:	1.1750000	Número de observações:		36	

Glicose (diferença)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	35.388889	17.694444	0.022	0.9782
erro 1	9	7193.166667	799.240741		
DIA	2	13.722222	6.861111	0.014	0.9860
DIA*DOSE	4	387.777778	96.944444	0.199	0.9355
erro 2	18	8755.833333	486.435185		
Total corrigido	35	16385.888889			
CV 1 (%) =	28.83				
CV 2 (%) =	22.49				
Média geral:	98.0555556	Número de observações:		36	

Hematócrito (diferença)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	3.119005	1.559503	2.418	0.1444
erro 1	9	5.805165	0.645018		
DIA	2	1.062430	0.531215	1.020	0.3806
DIA*DOSE	4	2.088671	0.522168	1.003	0.4319
erro 2	18	9.375423	0.520857		
Total corrigido	35	21.450694			
CV 1 (%) =	45.22				
CV 2 (%) =	40.64				
Média geral:	1.7759919	Número de observações:		36	

Número total de leucócitos (diferença)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	2.285489	1.142744	0.209	0.8155
erro 1	9	49.295200	5.477244		
DIA	2	1.824356	0.912178	0.678	0.5202
DIA*DOSE	4	10.346011	2.586503	1.922	0.1504
erro 2	18	24.221500	1.345639		
Total corrigido	35	87.972556			
CV 1 (%) =	86.72				
CV 2 (%) =	42.98				
Média geral:	2.6988889	Número de observações:		36	

ANEXO VII

ANOVA dos resultados obtidos pelo aumento ou redução dos valores antes e após a prova, expressos em porcentagem.

Triacilglicerol (porcentagem)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	13122.016772	6561.008386	1.371	0.3021
erro 1	9	43063.443125	4784.827014		
DIA	2	826.676672	413.338336	0.070	0.9331
DIA*DOSE	4	49959.802744	12489.950686	2.101	0.1229
erro 2	18	107023.414250	5945.745236		
Total corrigido	35	213995.353564			
CV 1 (%) =	13.88				
CV 2 (%) =	15.47				
Média geral:	498.4219444	Número de observações:		36	

Proteína total (porcentagem)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	120.474822	60.237411	0.559	0.5903
erro 1	9	969.257075	107.695231		
DIA	2	162.933356	81.466678	0.601	0.5591
DIA*DOSE	4	348.921294	87.230324	0.643	0.6388
erro 2	18	2441.797950	135.655442		
Total corrigido	35	4043.384497			
CV 1 (%) =	19.04				
CV 2 (%) =	21.37				
Média geral:	54.5002778	Número de observações:		36	

Cortisol (porcentagem)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	29.393889	14.696944	0.675	0.5332
erro 1	9	195.962500	21.773611		
DIA	2	31.977222	15.988611	0.476	0.6290
DIA*DOSE	4	68.646111	17.161528	0.511	0.7287
erro 2	18	604.890000	33.605000		
Total corrigido	35	930.869722			
CV 1 (%) =	4.01				
CV 2 (%) =	4.98				
Média geral:	116.4972222	Número de observações:		36	

Insulina (porcentagem)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	4968.233889	2484.116944	0.589	0.5752
erro 1	9	37987.602500	4220.844722		
DIA	2	27.800556	13.900278	0.008	0.9924
DIA*DOSE	4	15730.467778	3932.616944	2.165	0.1144
erro 2	18	32693.005000	1816.278056		
Total corrigido	35	91407.109722			
CV 1 (%) =	10.06				
CV 2 (%) =	6.60				
Média geral:	646.0527778	Número de observações:		36	

Lactato (porcentagem)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	374.035206	187.017603	0.547	0.5969
erro 1	9	3078.471225	342.052358		
DIA	2	1558.154539	779.077269	1.884	0.1808
DIA*DOSE	4	1299.496828	324.874207	0.786	0.5494
erro 2	18	7444.355300	413.575294		
Total corrigido	35	13754.513097			
CV 1 (%) =	32.71				
CV 2 (%) =	35.97				
Média geral:	56.5397222	Número de observações:		36	

Glicose (porcentagem)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSE	2	145.510289	72.755144	0.101	0.9045
erro 1	9	6452.536700	716.948522		
DIA	2	17.038956	8.519478	0.021	0.9793
DIA*DOSE	4	462.899094	115.724774	0.285	0.8839
erro 2	18	7308.861950	406.047886		
Total corrigido	35	14386.846989			
CV 1 (%) =	27.92				
CV 2 (%) =	21.01				
Média geral:	95.9105556	Número de observações:		36	

Hematócrito (porcentagem)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA						
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc	
DOSE	2	9.538279	4.769140	2.355	0.1505	
erro 1	9	18.229828	2.025536			
DIA	2	3.147899	1.573950	1.183	0.3291	
DIA*DOSE	4	5.311816	1.327954	0.998	0.4341	
erro 2	18	23.948099	1.330450			
Total corrigido	35	60.175923				
CV 1 (%) =	47.79					
CV 2 (%) =	38.73					
Média geral:	2.9783202	Número de observações:		36		

Numero total de leucócitos (porcentagem)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA						
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc	
DOSE	2	382.446517	191.223258	0.656	0.5419	
erro 1	9	2621.824292	291.313810			
DIA	2	156.262950	78.131475	1.177	0.3309	
DIA*DOSE	4	618.489333	154.622333	2.329	0.0953	
erro 2	18	1194.992983	66.388499			
Total corrigido	35	4974.016075				
CV 1 (%) =	79.73					
CV 2 (%) =	38.06					
Média geral:	21.4075000	Número de observações:		36		