

LUZILENE ARAUJO DE SOUZA

**EFEITO DE CORRIDAS DE TRÊS TAMBORES REPETIDAS SOBRE
OS BIOMARCADORES SANGUÍNEOS E PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS EM CAVALOS QUARTO DE MILHA**

RECIFE

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

LUZILENE ARAUJO DE SOUZA

**EFEITO DE CORRIDAS DE TRÊS TAMBORES REPETIDAS SOBRE
OS BIOMARCADORES SANGUÍNEOS E PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS EM CAVALOS QUARTO DE MILHA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientador:

Prof. PhD. Hélio Cordeiro Manso Filho

Co-orientadores:

Prof^ª. Dra. Clarisse Simões Coelho

Prof^ª. Dra. Helena Emília Cavalcanti da Costa
Cordeiro Manso

RECIFE

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S729b Souza, Luzilene Araujo de
Efeito de corridas de três tambores repetidas sobre os
biomarcadores sanguíneos e parâmetros fisiológicos em cavalos
quarto de milha / Luzilene Araujo de Souza. – 2017.
53 f. : il.

Orientador: Hélio Cordeiro Manso Filho.
Coorientadoras: Clarisse Simões Coelho, Helena Emília
Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária,
Recife, BR-PE, 2017.

Inclui referências.

1. Cavalo atleta 2. Cortisol 3. Exercício 4. Frequência cardíaca
5. Hematologia I. Manso Filho, Hélio Cordeiro, orient. II. Coelho,
Clarisse Simões, coorient. III. Manso, Helena Emília Cavalcanti da
Costa Cordeiro, coorient. IV. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**EFEITO DE CORRIDAS DE TRÊS TAMBORES REPETIDAS SOBRE
OS BIOMARCADORES SANGUÍNEOS E PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS EM CAVALOS QUARTO DE MILHA**

Dissertação de Mestrado Elaborada por

LUZILENE ARAUJO DE SOUZA

Aprovada em ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hélio Cordeiro Manso Filho
Orientador – Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof^ª. Dra. Clarisse Simões Coelho
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Prof^ª. Dra. Sandra Regina Fonseca de Araújo Valença
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof. Dr. José Mário Girão Abreu
Universidade Estadual do Ceará – UECE

AGRADECIMENTOS

É chegada a hora de agradecer, quase dois anos se passaram desde o início desta nova fase, e foram muitas emoções vividas neste período, assim como as dificuldades que bateram à porta e precisaram ser superadas para que se pudesse seguir em frente. Novas amizades construídas e outras fortalecidas, quão grande foi o aprendizado profissional e principalmente pessoal, que me fizeram pensar diferente e me estimularam a continuar a jornada.

A todos vocês que fizeram parte dessa caminhada, e grande conquista em minha vida, meu MUITO OBRIGADA!!! Com toda certeza sem a colaboração de vocês, jamais conseguiria.

“Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta”

Chico Xavier

RESUMO

A modalidade de três tambores (3TB) cresce rapidamente no Brasil e, nos últimos anos, destaca-se no Nordeste. Contudo, são escassos estudos sobre adaptações fisiológicas em condições controladas. Objetivou-se avaliar as alterações em cavalos submetidos ao teste de simulação de 3TB. Utilizaram-se 14 equinos Quarto de Milha, sendo 10 machos e 4 fêmeas com idade média de $6,3 \pm 2,5$ anos. Foram avaliados em seis momentos diferentes: repouso (T-0), imediatamente após o 1º (T-1) e 2º (T-2) ciclos de corrida, e com 15 (T-15), 30 (T-30) e 240 minutos (T-240) de recuperação. Foram mensuradas frequência cardíaca (FC), velocidade, distância e duração dos ciclos utilizando-se frequencímetro com equipamento GPS. Realizaram-se coletas sanguíneas para determinação das concentrações de glicose, lactato, proteínas totais (PT), albumina, globulina, ureia, creatinina, ácido úrico (AU), triglicérides, colesterol total, ácidos graxos não esterificados (AGNE), gamaglutamiltransferase (GGT), creatina quinase (CK), cortisol, bem como hemograma. Os resultados foram analisados pelo ANOVA e teste de Tukey, considerando $p < 0,05$. Os resultados mostraram que $\%FC > 170\text{bpm}$ foi mais elevado no 2º ciclo de corrida quando comparado com o 1º ($p < 0,05$). [Glicose] e [Lactato] foram mais elevadas em T-2 ($p < 0,05$). [PT], [Creatinina], [AU] e [Triglicérides] mantiveram-se elevadas em T-1, T-2 e T-30 ($p < 0,05$) respectivamente. [PT] e [Creatinina] retornaram às concentrações basais em T-30, e [AU] e [Triglicérides] em T-240. [AGNE], [Colesterol], [GGT] e [CK] não se modificaram. [Cortisol] foi mais elevada em T-2 ($p < 0,05$), retornando ao basal em T-240. [Hemácias], [Hemoglobina] e hematócrito foram mais elevados em T-2 ($p < 0,05$), sendo equivalentes entre os ciclos de corrida. Esses resultados sugerem boa adaptação e condicionamento dos animais frente a atividade física imposta, como também, que o protocolo proposto mostra-se ferramenta útil na determinação a campo da evolução do treinamento de equinos atletas, logo contribuindo para implementação de programas de treinamento e nutricionais adequados, visando melhor desempenho e bem-estar.

Palavras-chave: Cavalo atleta. Cortisol. Exercício. Frequência cardíaca. Hematologia.

ABSTRACT

The barrel racing (BR) is rapidly evolving in Brazil and in the last few years it has been highlighted in the Northeast, but there are few studies on physiological adaptations under controlled conditions. The objective of this study was to evaluate the changes in horses submitted to the BR. Fourteen Quarter Horses were used, 10 males and 4 females with mean age of 6.3 ± 2.5 years. Six different moments were evaluated: rest (T-0), immediately after the 1st (T-1) and 2nd (T-2) race cycles, and with 15 (T-15), 30 (T30) and 240 minutes (T-240) of recovery. Heart rate (HR), speed, distance and duration of the cycles were measured using a HR monitor with GPS. Blood samples were collected to determinate glucose, lactate, total proteins (TP), albumin, globulin, urea, creatinine, uric acid (UA), triglycerides, cholesterol, non-esterified fatty acids (NEFA), gammaglutamyltransferase (GGT), creatine kinase (CK), and cortisol concentrations, as well as the hemogram. The results were analyzed using ANOVA and Tukey's tests using $p < 0.05$. The results showed that %HR>170bpm was higher at the 2nd cycle when compared to 1st ($p < 0.05$). [Glucose] and [Lactate] were elevated at T-2 ($p < 0.05$). [TP], [Creatinine], [UA] and [Triglycerides] remained elevated at T-1, T-2 and T-30 ($p < 0.05$) respectively. [TP] and [Creatinine] returned to baseline at T-30, and [UA] and [Triglycerides] at T-240. [NEFA], [cholesterol], [GGT] and [CK] did not change. [Cortisol] was higher at T-2 ($p < 0.05$), returning to baseline at T-240. Red blood cells and hematocrit were higher at T-2 ($p < 0.05$). These results suggest a good adaptation and conditioning of the animals in front of the imposed physical activity, as well as that the proposed protocol is a useful tool in the determination of the evolution of the training of equine athletes, thus contributing to the implementation of adequate training and nutritional programs, for better performance and welfare.

Key-words: Cortisol. Exercise. Haematology. Heart rate. Horse athlete.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

		Página
Figura 1	Planta Pista Oficial de Três Tambores ABQM	16

LISTA DE TABELAS

Artigo - The effect of repeated barrel racing on blood biomarkers and physiological parameters in Quarter Horses.

		Página
Tabela 1	Heart rate, speed, duration, running distance and percentage ranges of HR in horses submitted to the barrel racing field test	50
Tabela 2	Heart rate and biomarkers of metabolism of carbohydrates, proteins, lipids, enzymes and hormones in Quarter Horses submitted to the barrel racing field test	51
Tabela 3	Hematological biomarkers in Quarter Horses submitted to the barrel racing field test	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μ	Micro
μkat	Microkatal
μmol	Micromol
3TB	Três tambores
ABQM	Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Quarto de Milha
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ALB	Albumina / albumin
ATP	Adenosina trifosfato
bpm	Batimentos por minuto
BR	Barrel racing
CBH	Confederação Brasileira de Hipismo
CF	Crude fiber
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CK	Creatina quinase
CP	Crude protein
DE	Digestible energy
dL	Decilitro
EE	Ether extract
FC	Frequência cardíaca
FCmax	Frequência cardíaca máxima
FCmédia	Frequência cardíaca média
FEI	Federação Equestre Internacional
fL	Fentolitros
g	Gramma
GGT	Gamaglutamiltransferase
ha	Hectare
HB	Hemoglobina
HR	Heart rate
HRmax	Heart rate maximum
Htc	Hematócrito

kg	Quilo
L	Litro
m	Metro
m/s	Metro por segundo
MCHC	Mean corpuscular hemoglobina concentration
MCV	Mean corpuscular volume
mmol	Milimol
NEFA	Non-esterified fatty acids
nmol	Nanomol
PT	Proteínas Totais
RDW	Índice de amplitude de distribuição eritrocitária
TP	Total protein
UA	Uric acid
UI	Unidades internacionais
VCM	Volume corpuscular médio

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
~	Aproximadamente
”	Segundo
[]	Concentração
> / <	Maior / menor que
±	Mais ou menos

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 O CAVALO QUARTO DE MILHA	14
2.1.1 Indústria do Quarto de Milha	14
2.1.2 Modalidades esportivas do Quarto de Milha	15
2.1.2.1 Prova de três tambores	15
2.2 FREQUÊNCIA CARDÍACA	16
2.3 BIOMARCADORES DO METABOLISMO ENERGÉTICO	18
2.4 BIOMARCADORES DO METABOLISMO PROTÉICO	20
2.5 BIOMARCADORES DO METABOLISMO MUSCULAR	22
2.6 BIOMARCADORES HEMATOLÓGICOS	22
3 HIPÓTESE	25
4 OBJETIVOS	26
5 REFERÊNCIAS	27
6 ARTIGO CIENTÍFICO	33
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53

1 INTRODUÇÃO

Biomarcadores são moléculas biológicas presentes em tecidos e fluidos corporais que podem ser medidos e avaliados objetivamente, sendo indicadores da normalidade metabólica, dos processos patológicos ou farmacológicos, contribuindo para o entendimento das adaptações fisiológicas frente aos desafios (MAMAS et al., 2011). O acompanhamento dos equinos atletas deve ser realizado através de exames bioquímicos que são ferramentas para o entendimento das adaptações ao treinamento, juntamente com o conhecimento de valores dos padrões de referência para interpretação das análises laboratoriais para as diferentes modalidades esportivas (HARVEY et al., 1994; BALARIN et al., 2006).

A avaliação dos biomarcadores hematológicos é empregada para caracterização do nível de esforço físico do cavalo atleta e de como ocorre elevação na capacidade de transporte de oxigênio e nutrientes durante o exercício (ROSE; HODGSON, 1994). Nos equinos, a grande elevação na concentração das hemácias e no hematócrito (Htc) é decorrente da contração esplênica, como também da maior frequência cardíaca (FC) nos exercícios de curta duração e alta intensidade (MCGOWAN, 2008). Além disso, mecanismos hormonais são ativados em função da atividade física, contribuindo assim para mobilização e utilização dos substratos energéticos (HYYPÄ, 2005).

Os cavalos da raça Quarto de Milha devido sua capacidade de percorrer distancias curtas com velocidade superior as demais raças, vem sendo empregado nos desportos de velocidade, como as corridas com menos de 500 metros, provas de vaquejada e de três tambores (3TB), demonstrando excelente adaptação a este tipo de atividade (ERICKSON et al., 1991; AZEVEDO et al., 2014; SANTIAGO et al., 2014). Durante a vaquejada, os cavalos apresentam o Htc elevado em cerca de 30% após um ciclo de três corridas, indicando boa adaptação para o tipo de exercício (SANTIAGO et al., 2014), e com velocidades próximas a ~9m/s (AZEVEDO et al., 2014).

A disciplina equestre de 3TB, onde o conjunto cavalo e cavaleiro perfazem um circuito no entorno de três tambores dispostos em forma de triângulo no menor tempo possível, tem sua origem nos Estados Unidos e foi introduzida no Brasil na década de 70. Tem como característica ser uma prova de curta distância (~140m), e com curta duração (~17”), envolvendo a participação de diversos biomarcadores bioquímicos e hematológicos, com predominância de metabolismo anaeróbio.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O CAVALO QUARTO DE MILHA

Por volta do ano 1600 surgia nos Estados Unidos a raça Quarto de Milha, proveniente de cruzamentos de garanhões da Arábia e Turquia com éguas inglesas trazidos pelos exploradores e comerciantes espanhóis. Estes cruzamentos produziram cavalos compactos, com musculatura forte e capazes de percorrer distâncias curtas com velocidade superior as demais raças. O cavalo foi se especializando com o trabalho com o gado e nos finais de semana os colonizadores se divertiam promovendo corridas nas ruas das vilas e pelas estradas dos campos, perto das plantações, com distância de um quarto de milha (402m), originando o nome da raça.

Tem como características ser um animal versátil, com extrema docilidade, conseguindo partidas rápidas e paradas bruscas, grande capacidade de mudar de direção, além da enorme habilidade de girar sobre si mesmo. Por essas razões passou a ser utilizado nas mais diversas disciplinas equestres, tanto as que requerem velocidade, quanto as de conformação e trabalho.

A chegada da raça no Brasil se deu no ano de 1955, quando a Swift-King Ranch importou seis animais dos Estados Unidos e passou a comercializá-los. Na década de 70, foi fundada a Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Quarto de Milha (ABQM) em São Paulo.

2.1.1 Indústria do Quarto de Milha

Segundo a ABQM, atualmente o plantel é composto por 454.920 animais registrados, representados por 106.733 proprietários, dos quais 52.937 são criadores e 31.597 associados cadastrados, espalhados por todas as regiões do país. O Sudeste apresenta a maior concentração deste plantel com ~53% dos animais, em seguida estão as regiões Nordeste, Sul, Centro-Oeste e Norte, com ~18%, ~14%, ~13% e ~2% dos equinos, respectivamente.

Conforme ABQM, os haras estão distribuídos em ~1 milhão de hectares, sendo avaliados em mais de R\$ 20 bilhões, movimentando a indústria do cavalo em todos os seus segmentos, apresentando uma média de consumo anual de ração de 918 mil toneladas, gerando um investimento de R\$ 730 milhões. A mão-de-obra empregada pela raça é bastante significativa e oferece mais de 310 mil empregos diretos. Nos últimos cinco anos, o *Stud Book* da ABQM registrou mais de 130 mil potros. Também neste mesmo período, a raça movimentou em leilões por todo o país em torno de R\$ 1 bilhão com a comercialização de aproximadamente 27 mil animais, pela média geral de R\$ 37 mil. Além disso, anualmente nos eventos oficiais e apoiados pela ABQM são entregues premiações que passam da casa dos R\$ 4 milhões.

2.1.2 Modalidades esportivas do Quarto de Milha

Graças a sua versatilidade o Quarto de Milha é empregado nas 21 modalidades da raça: 3TB, vaquejada, laço em dupla, laço de cabeça e pé, laço individual cronometrado e técnico, rédeas, apartação, laço comprido armada, laço comprido técnico, *ranch sorting*, *team penning*, corrida, *working cow horse*, conformação, seis balizas, cinco tambores, *performance halter*, maneabilidade e velocidade, *western pleasure*, *breakaway roping*, *bulldog*.

2.1.2.1 Prova de três tambores

A modalidade equestre de 3TB cresce rapidamente no Brasil. No Nordeste brasileiro, o esporte está em crescente ascensão e obteve no ano de 2015 o reconhecimento da Confederação Brasileira de Hipismo (CBH), iniciando assim a busca pelo reconhecimento pela Federação Equestre Internacional (FEI). O esporte de 3TB está cada vez mais presente nas festas de peão (rodeios), feiras agropecuárias, vaquejadas, entre outros.

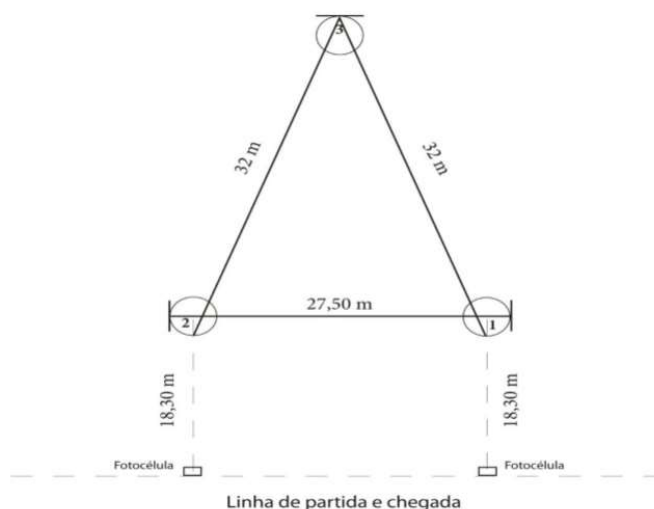
Dessa forma, tem sido grande o interesse sobre a avaliação dos cavalos que competem nesta modalidade, que é dividida em diversas categorias possibilitando a participação de cavaleiros e amazonas de várias idades e, estas categorias são segmentadas por grupo de idade

dos competidores que vai dos seis anos até competidores com mais de 50 anos e, ainda, é facilmente executado por cavalos Quarto de Milha.

A modalidade 3TB, caracteriza-se por ser uma prova de velocidade, curta distância (~140m) e duração (~17"). Nela, conjunto cavalo e cavaleiro perfaz um circuito ao cronômetro no entorno de três tambores dispostos na forma de triângulo no menor tempo possível.

A montagem do percurso, assim como as regras durante a execução da prova devem seguir as determinações da ABQM. A pista (Figura 1) deve ter a dimensão de 90x40m e devem ser utilizados tambores de aço vazios com capacidade para 200 litros e a disposição dos mesmos deve ser na forma de triângulo isósceles, com uma distância de 27,5m entre o primeiro e segundo tambores, e uma distância de 32m do terceiro para os outros tambores, e a distância entre o primeiro e segundo tambores para a largada/chegada deve ser de 18,30m.

Figura 1. Planta pista oficial de três tambores.



Fonte: ABQM (2017).

2.2 FREQUÊNCIA CARDÍACA

O exercício cria a necessidade para o uso de todos os sistemas fisiológicos do corpo do cavalo (PICCIONE et al., 2013). Um dos importantes parâmetros e de fácil realização para avaliação do desempenho atlético e dos gastos energéticos de equinos é a mensuração da FC, conforme afirmam WILLIAMS et al. (2009). A FC é impulsionada pelos níveis de oxigênio e

dióxido de carbono no sangue (FREEMAN et al., 2003), sugerindo assim, correlação positiva entre esta e consumo de oxigênio e gasto energético (SERRANO et al., 2002).

O conhecimento da frequência cardíaca média (FCmédia) e do tempo gasto durante o esforço podem ser utilizados para se estimar o consumo de energia durante o exercício e, com isso, obter-se um indicativo do grau de esforço físico de um cavalo ou esporte equestre (MANZO FILHO et al., 2012a). Atualmente, esta avaliação em cavalos sob condições de treinamento e competição tornou-se mais eficiente, devido à utilização de frequencímetros validados especificamente para a espécie (WILLIAMS et al., 2009).

Os monitores de FC podem ser acoplados aos animais enquanto estes são submetidos aos testes em laboratório, esteira de alta velocidade, ou em avaliações à campo. Esta última reflete condições de interação entre cavalo e cavaleiro, que não conseguimos obter nos testes de esteira (MANZO FILHO et al., 2012b), além de replicar os desafios que os equinos enfrentam em treinamentos e/ou competições, como condições climáticas e de pista.

Além do monitoramento da FC, estes equipamentos podem ainda mensurar a distribuição desta em diferentes zonas, as quais indicarão se o animal atleta está trabalhando de forma aeróbica ou anaeróbica, contribuindo assim para o entendimento dos diversos tipos de manobras realizadas durante as modalidades equestres praticadas (HUNKA et al., 2017).

Conforme o exercício praticado, a FC pode se modificar e suas variações estão correlacionadas com a intensidade das atividades realizadas nas mais diversas disciplinas equestres. Adaptações na FC durante o exercício ajudam a melhorar o fluxo sanguíneo para os tecidos envolvendo um determinado esforço, aumentando suprimento de sangue e a remoção de metabólitos gerados em função do exercício (TATEO et al., 2008). O aumento de oxigênio para a musculatura é alcançado através do aumento da ventilação/min, ventilação alveolar, e taxa de fluxo sanguíneo para tecidos, que são regulados pela FC (HINCHCLIFF; GEOR, 2008).

É relevante ressaltar que estas adaptações na FC são descritas nas mudanças de velocidade demonstrando correlação positiva (KINGSTON et al, 2006; AERTS et al., 2008; MUNSTERS et al., 2014) com o condicionamento em equinos, principalmente nas modalidades de 3TB, vaquejada e corridas, cujo exercício se caracteriza pela curta duração e alta intensidade, onde elevadas médias de FC são descritas e esperadas; no entanto, o contrário é observado nas atividades de resistência, como as provas de marcha e cavalgadas, com baixas médias de FC (HUNKA et al., 2017).

Cavalos de vaquejada desenvolvem exercício predominantemente anaeróbio e com frequência cardíaca máxima (FCmax) de ~209bpm e ~196bpm, puxadores e esteiras,

respectivamente (HUNKA et al., 2017). Enquanto que os cavalos de prova de marcha e cavalgadas com exercício predominantemente aeróbio com FCmax de ~140bpm e ~180bpm, respectivamente (MANSO FILHO et al., 2012a).

2.3 BIOMARCADORES DO METABOLISMO ENERGÉTICO

Mecanismos hormonais são importantes para a mobilização e utilização dos substratos energéticos. Os principais combustíveis, necessários para satisfazer a demanda energética durante exercício, são carboidratos e gorduras, na forma de glicogênio e triglicerídeos, respectivamente. A atividade física exerce influência sobre o sistema endócrino, promovendo a liberação de catecolaminas, que atuam promovendo a quebra do glicogênio muscular e hepático, o aumento da lipólise no tecido adiposo, e também inibe a liberação da insulina. Tais efeitos são manifestados como um aumento nas concentrações séricas de ácidos graxos não esterificados e glicose, os quais aumentam a disponibilidade do substrato para a realização do exercício muscular (HYYPÄ, 2005).

Aliada a ação das catecolaminas, observa-se uma elevação na secreção de cortisol em função de um aumento dos níveis plasmáticos de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), com pico circulatório variando entre cinco a 30 minutos após término do exercício (GORDON et al., 2007). Tendo como principal efeito metabólico durante o exercício, o aumento da gliconeogênese hepática, como também promove lipólise, fornecendo combustível para exercícios submáximos prolongados (HYYPÄ, 2005).

O aumento dos níveis de cortisol é esperado em provas equestres (KRAEMER et al., 2003; MIRCEAN et al., 2007), variando sua resposta de acordo com a duração e intensidade, nível de condicionamento atlético, como também estado nutricional e ritmo circadiano. Sua elevação já foi correlacionada tanto com exercícios de elevada intensidade quanto com aqueles constantes e moderados por tempo prolongado (MCGOWAN, 2008).

A mensuração do cortisol pode ser utilizada como índice de avaliação de treinamento, pois sua liberação é menor nos animais treinados quando comparados aos não treinados, quando estes são submetidos ao mesmo tipo de exercício durante o mesmo tempo (MARC et al., 2000; MIRCEAN, et al., 2007; FERRAZ et al., 2010).

Devido a influência do exercício físico um aumento na concentração de glucagon, decorrente da diminuição da insulina por ação de catecolaminas e do cortisol circulantes,

promovem a liberação na circulação sanguínea de glicose hepática, promovendo assim um efeito hiperglicemiante (MCKEEVER, 2002; HYYPÄ, 2005). Este mecanismo do glucagon é especialmente valioso durante exercício. No período de baixa insulina circulante, a absorção de glicose é facilitada pela translocação de GLUT-4, presente nos músculos esquelético e cardíaco, tecido adiposo e sistema nervoso central, que é induzida pelo exercício (THORELL et al., 1999).

Segundo Rodrigues et al. (2016), esta glicose circulante é a forma primária do carboidrato usado para produção de adenosina trifosfato (ATP), podendo ser obtida pelas células através da circulação ou do estoque de glicogênio intracelular, para realização da atividade muscular, seguida por quantidades menores presentes no sarcoplasma e de glicogênio estocado. A glicose da circulação pode ser originária da gliconeogênese hepática, glicogenólise hepática, ou do alimento consumido e digerido pelo cavalo (NRC, 2007). Embora seja uma fonte energética importante, com o aumento na intensidade do exercício, grande parte da energia é gerada via glicólise anaeróbia, com consequente liberação de ácido láctico, sendo esta via rápida, porém de baixa eficiência energética (MARTINS et al., 2005).

Elevações nas concentrações séricas de glicose após o exercício são esperadas e indicam um aumento da glicogenólise como consequência do aumento da demanda tecidual associado ao efeito fisiológico do estresse do exercício (ROSE; HODGSON, 1994).

Segundo Piccione et al. (2010), assim como na medicina esportiva humana, existe uma forte relação entre performance e as variações relacionadas ao lactato em cavalos. À medida que a intensidade do exercício aumenta, uma maior quantidade de lactato é produzida e uma maior proporção de energia é suprida pelas vias anaeróbias, situação decorrente de um menor suprimento de oxigênio nas células musculares (MARTINS et al., 2005).

Os equinos atletas apresentam grande capacidade de gerar e aproveitar o lactato, sendo este um importante parâmetro na medicina esportiva, pois está relacionado com esforço físico intenso, níveis de treinamento e condicionamento atlético (PICCIONE et al., 2010). Nas disciplinas equestres de alta intensidade e curta duração, seu aumento é esperado, onde as concentrações elevam-se rapidamente a medida que a velocidade atinge cerca de 7 a 9 m/s (MCGOWAN, 2008), sendo superiores a 4mmol/L, demonstrando assim uma predominância na produção de energia anaeróbia (BINDA et al., 2016; BRAZ et al., 2016) e com picos ao final da atividade e nos minutos iniciais de recuperação (EVANS et al., 2002).

De acordo com Santiago et al. (2013), o tempo de retorno dos valores da concentração de lactato aos valores basais pode ser utilizado para avaliação da capacidade de recuperação como também da utilização deste como substrato energético para atividade cardíaca e

muscular, sendo um indicativo de condicionamento físico. Por estes motivos, o limiar de lactato tem sido uma ferramenta eficiente na avaliação de programas de treinamento e performance atlética, associado com outros parâmetros.

Apesar de elevado gasto energético durante exercícios de alta intensidade, existe uma limitação na utilização das gorduras, em decorrência do declínio dos ácidos graxos circulantes causado pela diminuição da liberação destes do tecido adiposo. Tal fato não se dá pela diminuição na taxa de lipólise, mas pela diminuição no fluxo sanguíneo no tecido adiposo e inadequada remoção dos ácidos graxos pela corrente sanguínea, esta condição pode estar relacionada com o aumento do metabolismo do glicogênio no músculo (HOROWITZ; KLEIN, 2000).

Durante exercícios de baixa intensidade, a maior parte dos ácidos graxos oxidados são derivados do plasma e, de acordo com o aumento na intensidade do exercício, a contribuição dos triglicerídeos intramusculares também aumenta podendo representar perto da metade de toda gordura oxidada (HOROWITZ; KLEIN, 2000).

A relativa importância dos processos aeróbio e anaeróbio na produção de ATP depende da intensidade e duração do exercício e, conseqüentemente, do recrutamento das fibras musculares e da influência do treinamento em modificar este perfil metabólico (ROSE; HODGSON, 1994). O ATP é a principal fonte de energia prontamente disponível nas células, sendo gerado do catabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas; destas, carboidratos e gorduras são as fontes predominantes de ATP em condições anaeróbias (NRC, 2007).

2.4 BIOMARCADORES DO METABOLISMO PROTÉICO

As proteínas totais (PT) referem-se a todas as proteínas do plasma, que são compostas pela albumina (ALB) e globulinas, juntamente com o fibrinogênio, que estão envolvidas em funções como a manutenção da pressão osmótica e viscosidade sanguínea, transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção, regulação de pH sanguíneo e, participa na coagulação sanguínea (REECE; SWENSON, 2006).

Diferentes disciplinas equestres têm demonstrado mudanças na PT associada com hematócrito (ROSE; HODGSON, 1994; PICCIONE et al., 2007). O aumento nas [PT] e [ALB] durante exercícios de alta intensidade reflete o movimento compensatório de fluidos dos vasos para os tecidos, como também aumento na viscosidade do plasma (ROSE;

HODGSON, 1994; TYLER-MCGOWAN, 1999). A extensão deste deslocamento e a perda de fluidos parece estar relacionada com a duração e intensidade da atividade praticada (KOWAL et al., 2006).

Estes aumentos nas [PT] associados com exercícios de curta duração geralmente retornam aos valores basais em até 30 minutos depois do término do exercício, em contrapartida, nas provas de resistência com maior duração e/ou com sudorese excessiva, estas mudanças de fluidos podem ser mais substanciais e prolongadas. Assim sendo, aumento nas [PT] e [ALB] são relevantes na determinação do *status* de hidratação em cavalos e podem ser particularmente importantes no período de recuperação após exercício intenso ou em condições quentes (MCGOWAN, 2008).

A albumina é sintetizada pelo fígado, sendo a mais proeminente das proteínas plasmáticas, constituindo 35 a 50% das proteínas totais nos animais. Um papel importante da ALB é como uma proteína de ligação e transporte; sua concentração é afetada pelas mudanças no teor de água plasmática e volume intracelular. Mudanças nas concentrações de globulinas geralmente refletem inflamação e doença, embora a hidratação também possa impactar na concentração deste parâmetro (KINGSTON, 2008).

Como resultado da degradação de ATP para obtenção de energia para atividades de elevada intensidade, alguns metabólitos da degradação de purinas aparecem no sangue, como o ácido úrico, sendo este um bom indicador da intensidade do exercício (CASTEJÓN et al., 2006), apresentando pico de suas concentrações 30 minutos após o término (EVANS et al., 2002).

Avaliações das concentrações de ureia e creatinina podem ser utilizadas para avaliar o metabolismo proteico e também a função renal dos animais (MELO et al., 2013). A formação de ureia é uma reação que requer a utilização de energia e ocorre quase que exclusivamente no fígado e sua taxa depende da taxa de catabolismo proteico (RODRIGUES et al., 2016). Elevações nas suas concentrações podem refletir tanto uma aceleração no catabolismo proteico, quanto uma diminuição em sua excreção urinária (FOREMAN; FERLAZZO, 1996).

A creatinina é o produto final do metabolismo muscular, sendo eliminada do plasma por filtração glomerular, não sendo reabsorvida nos túbulos em grau significativo. O aumento nas concentrações pode estar relacionado à maior utilização de fosfocreatina na geração de energia para a contração muscular na fase inicial do treinamento (SNOW et al., 1982). Durante o exercício as concentrações de creatinina aumentam proporcionalmente a intensidade do exercício, estando este aumento relacionado com a mudança no fluxo sanguíneo renal (CASTEJÓN et al., 2006).

2.5 BIOMARCADORES DO METABOLISMO MUSCULAR

A avaliação do desempenho é fundamental para o reconhecimento de suas habilidades e a intensidade do exercício mais adequada em diferentes fases de treinamento (PATELLI et al., 2016). Alterações reversíveis na estrutura do músculo esquelético são promovidas pelo exercício, tais como, aumento na permeabilidade do sarcolema e das proteínas musculares, que são liberadas na circulação sanguínea (VALBERG, 1996).

A creatina quinase (CK) é uma enzima de alta especificidade para lesões musculares, sendo encontrada principalmente no citosol das células dos músculos esqueléticos e cardíaco, mas também nos rins, cérebro, diafragma, trato gastrointestinal, útero e bexiga (VALBERG, 1996). Seu pico de concentração sérica se dá entre quatro a seis horas pós lesão e os valores podem voltar ao normal com 24 até 96 horas (THOMASSIAN et al., 2007). Como citado acima, a elevação da atividade enzimática durante exercício é decorrente do aumento da permeabilidade da membrana celular e não da sua ruptura, podendo a CK extravasar para o plasma (ZOBBA et al., 2011). Os valores médios de CK variam de 100 a 300 UI/L (ROSE e HODGSON, 1994); no entanto, atividades de elevada intensidade podem resultar em aumento considerável da atividade da CK (>1000 UI/L), sem indicativo de lesão. Porém esse aumento não ultrapassa 5.000 UI/L (VALBERG, 1996). Segundo Patteli et al. (2016), o treinamento progressivo age reduzindo os níveis séricos de CK como efeito da adaptação muscular ao exercício. Em animais condicionados e com programa de treinamento adequado, pode ser observado que não há aumento acentuado nas [CK].

Enzima indicadora de função hepática, gamaglutamiltransferase (GGT), tende a se elevar em função do treinamento e sua intensidade, estando correlacionada com a síndrome de *overtraining*. O aumento de sua atividade tem sido descrito em equinos com excesso de treino e queda de performance, apresentando concentrações >100 UI⁻¹ (MCGOWAN, 2008).

2.6 BIOMARCADORES HEMATOLÓGICOS

O sangue é composto por muitos componentes que desempenham um papel fundamental no suporte ao aumento da taxa metabólica durante o exercício, transportando

oxigênio, água, eletrólitos, nutrientes, e hormônios para o trabalho muscular (KINGSTON, 2008).

A avaliação dos constituintes hematológicos é frequentemente utilizada para avaliação de desempenho atlético. Variáveis hematimétricas, como Htc, contagem de células vermelhas e concentração de hemoglobina (HB) podem ser utilizadas para avaliação dos efeitos tanto do exercício como do treinamento (TYLER-MCGOWAN et al., 1999), auxiliando no entendimento das adaptações que ocorrem durante a prática da atividade física.

Segundo de Camargo Ferraz et al. (2009) índices hematimétricos absolutos, volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), estão sendo utilizados para associação com síndrome de *overtraining* em equinos. O primeiro sendo a medida do tamanho dos eritrócitos e o segundo a da [HB] presente nestes, representando assim a quantidade de HB/eritrócito (KOWAL et al., 2006).

Os processos induzidos pelo exercício são refletidos em alterações nos constituintes sanguíneos, em virtude de uma maior liberação de catecolaminas com consequente contração esplênica e também do aumento da FC. O baço, órgão com capacidade de armazenar até 50% do total de células vermelhas, age nos equinos como um grande reservatório, liberando os eritrócitos na corrente sanguínea frente a um estímulo (KOWAL et al., 2006).

Em conformidade com a intensidade do exercício grandes elevações no volume total do sangue, volume plasmático, contagem de células, %Htc e [HB] acontecem. Estas adaptações fisiológicas são desejáveis e importantes para o trabalho muscular, principalmente quando falamos de equinos atletas, pois aumentam a capacidade de carreamento de oxigênio e fluxo sanguíneo para a microcirculação dos músculos durante a atividade física (MCGOWAN, 2008).

A quantidade de oxigênio que pode ser carreado pelo sangue está relacionada com o volume total de eritrócitos e [HB]. Conforme supracitado, o Htc aumenta linearmente com a intensidade do exercício, servindo como índice da capacidade deste, pois o volume de hemácias é fator determinante da capacidade de carrear oxigênio (ROSE; HODGSON, 1994).

Pesquisas demonstram que durante exercícios de alta intensidade e curta duração, como a vaquejada e a prova de três tambores, o Htc eleva-se cerca de ~41% e ~32% respectivamente, demonstrando boa adaptação para o tipo de exercício proposto (SANTIAGO et al., 2014; BINDA et al., 2016). Esses fatores são bastante reduzidos após a esplenectomia e causando grande redução da capacidade atlética dos animais (McKEEVER et al., 1993), semelhantemente aos quadros de anemia.

O conhecimento do grau da anisocitose pode ser importante para a avaliação da performance e a capacidade de transporte de oxigênio, podendo ser mensurada pelo índice de amplitude de distribuição eritrocitária (RDW) que reflete a heterogeneidade do tamanho das hemácias (BALARIN et al., 2006). Ainda assim os dados constantes na literatura são conflitantes, do ponto de vista dos valores de normalidade.

Embora o leucograma não seja utilizado para avaliação do condicionamento físico dos cavalos, alterações no número de leucócitos podem indicar situações de doenças subclínicas ou estresse, justificando assim a sua avaliação (MCGOWAN, 2008).

A análise dos leucócitos e linfócitos, para os cavalos atletas, deve ser realizada com os animais em repouso para refletir os reais valores dessas células. Conforme citado anteriormente, a liberação de hormônios associados ao estresse e catecolaminas durante exercício é capaz de promover mudanças significativas no número e na composição dos leucócitos, variando conforme a intensidade e duração, podendo o incremento ser de 10 a 30% (TYLER-MCGOWAN, 1999).

O exercício máximo provoca liberação de leucócitos sequestrados pelo baço e provenientes do *pool* marginal. Ocorre aumento do número de linfócitos e diminuição da relação neutrófilos/linfócitos. A linfocitose é transitória com exercício máximo e os números destas células diminuem rapidamente após o término da atividade (KOWAL et al., 2006). Adicionalmente, pode ocorrer linfopenia tanto nos cavalos de prova de explosão como nos de resistência (CYWINSKA et al., 2010), podendo ser um importante aspecto a ser avaliado no que diz respeito da manutenção da saúde desses atletas.

As plaquetas interagem com o endotélio e fatores de coagulação circulantes com a finalidade de manutenção da homeostasia normal, estando envolvidas em processos inflamatórios e imunológicos (KINGSTON, 2008). Sua atividade modifica-se após o exercício de elevada intensidade e em cavalos submetidos a esse tipo de esforço, quando ocorre máxima elevação na [hemácias] e no Htc, foi demonstrado que ocorre uma redução da agregação plaquetária, favorecendo o transporte das hemácias (KINGSTON et al., 1999).

3 HIPÓTESE

Existe correlação entre o tipo do exercício físico dos cavalos que praticam a modalidade esportiva três tambores com frequência cardíaca, biomarcadores hematológicos, do metabolismo energético, proteico e enzimas musculares.

4 OBJETIVOS

- 4.1 **Artigo:** avaliar as adaptações fisiológicas e bioquímicas de cavalos de três tambores treinados em condições tropicais, contribuindo assim para melhores programas de treinamento e nutricionais, visando melhor desempenho e bem-estar.

REFERÊNCIAS

ABQM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALO QUARTO DE MILHA, Regulamento Geral de Concursos e Competições da Raça Quarto de Milha, 2017. Disponível em: <http://abqm.com.br/app/webroot/documentos/1.4-regulamentodecompeticoesdaabqm-agosto2017.pdf>. Acesso em: 11/09/2017.

AERTS, J. M. et al. Controlling horse heart rate as a basis for training improvement. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 64, n. 1, p. 78-84, 2008.

AZEVEDO, N.M.S. et al. Analysis of tracheal secretion in healthy horses undergoing a Vaquejada Simulation Test. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 4, n. 10, p. 232-: 232-238, 2014.

BALARIN, M. R. S. et al. Valores da Amplitude de Distribuição do Tamanho dos Eritrócitos (RDW) em eqüinos Puro Sangue Inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 43, n. 5, p. 637-641, 2006.

BINDA, M. B. et al. Effects of 3-Barrel Racing Exercise on Electrocardiographic and on Blood Parameters of Quarter Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 47, p. 71-76, 2016.

BRAZ, P. H. et al. Avaliações séricas de glicose, lactato, creatina quinase e aspartato aminotransferase em equinos quarto de milha antes e depois de prova de corrida. **Acta Veterinaria Brasilica**. v. 10, n.4, p. 322-326, 2016.

CASTEJÓN, F. et al. Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. **Equine Veterinary Journal**. v. 38, n. S36, p. 70-73, 2006.

CYWINSKA, A. et al. Serum amyloid A level as a potential indicator of the status of endurance horses. **Equine Veterinary Journal**. v. 42, n. s38, p. 23-27, 2010.

DE CAMARGO FERRAZ, G. et al. Alterações hematológicas e cardíacas em cavalos Árabes submetidos ao teste de esforço crescente em esteira rolante. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 46, n. 6, p. 431-437, 2009.

EVANS, D. L.; PRIDDLE, T. L.; DAVIE, A. J. Plasma lactate and uric acid responses to racing in pacing Standardbreds and relationships with performance. **Equine Veterinary Journal**. v. 34, n. S34, p. 131-134, 2002.

ERICKSON, H.H. et al. Indices of performance in the racing Quarter Horse. **Equine Exercise Physiology**, v. 3, p. 41-46, 1991.

FERRAZ, G. C. et al. Influência do treinamento aeróbio sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 1, P. 23-29, 2010.

FOREMAN, J. H.; FERLAZZO, A. Physiological responses to stress in the horse. **Pferdeheilkunde**, v. 12, n. 4, p. 401-404, 1996.

FREEMAN, D. W.; TOPLIFF, D. R.; COLLIER, M. A. **Monitoring fitness of horses by heart rate**. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University, 2003.

GORDON, M. E. et al. Exercise-induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptina, glucose, insulin and cortisol in horses. **Veterinary Journal**. v. 173, p. 532-540, 2007.

HARVEY, J.W. et al. Haematology of foals up to one year old. **Equine Veterinary Journal**. v.16, n.4, p.347-353, 1994.

HINCHCLIFF, K.; GEOR, R. The horse as an athlete: a physiological overview. **Equine exercise physiology: the science of exercise in the athletic horse**. Saunders. 2008.

HOROWITZ, J. F.; KLEIN, S. Lipid metabolism during endurance exercise. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 2, p. 558s-563s, 2000.

HUNKA, M. M. et al. Heart rate and velocity in Vaquejada horses during field tests. **Comparative Exercise Physiology**, v. 13, n. 1, p. 25-30, 2017.

HYYPÄÄ, S. Endocrinal responses in exercising horses. **Livestock Production Science**. v. 92, n. 2, p. 113-121, 2005.

KINGSTON, J. K. Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training. In: Hinchcliff, KW, et al.: **Equine exercise physiology**. Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 398-409, 2008.

KINGSTON, J. K. et al. The effect of supramaximal exercise on equine platelet function. **Equine Veterinary Journal**. v. 31, n. S30, 181-183, 1999.

KINGSTON, J. K. et al. Use of a global positioning and heart rate monitoring system to assess training load in a group of thoroughbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**. v. 38, n. S36, p. 106-109, 2006.

KOWAL, R. J. et al. Avaliação dos valores hematológicos em cavalos (*Equus caballus*) da raça Puro-Sangue-Inglês (PSI) submetidos a teste de esforço em esteira ergométrica. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v. 13, n. 1, p. 25-31, 2006.

KRAEMER R. R. et al. Adiponectin responses to continuous and progressively intense intermittent exercise. **Medicine Science in Sports and Exercise**. v. 35, n. 8, p. 1320-1325, 2003.

MAMAS, M. et al. The role metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. **Archives of Toxicology**. 85: 5-17. 2011.

MANSO FILHO, H. C. et al. Avaliação da frequência cardíaca e do esforço físico em cavalos atletas pelo uso do frequencímetro. **Ciência Veterinária nos Trópicos**. v. 15, n. 1/2/3, p. 41-48, 2012a.

MANSO FILHO, H. C. et al. Heart rate responses of two breeds of four-gaited horses to a standardised field gaited test. **Comparative Exercise Physiology**. v. 8, n. 1, p. 41-46, 2012b.

MARC, M. et al. 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 Science**. v. 78, n. 7, p. 1936-1946, 2000.

MARTINS, C. B. et al. Determinação de variáveis bioquímicas em eqüinos antes e após a participação em prova de enduro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v. 12, n. 1-3, 2005.

MCGOWAN, C. Clinical pathology in the racing horse: the role of clinical pathology in assessing fitness and performance in the racehorse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v. 24, n. 2, p. 405-421, 2008.

MCKEEVER, K. H. The endocrine system and the challenge of exercise. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v. 18, n. 2, p. 321-353, 2002.

MCKEEVER, K. H. et al. Splenectomy alters blood pressure response to incremental treadmill exercise in horses. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v. 265, n. 2, p. R409-R413, 1993.

MELO, S. K. M. et al. Índices hematimétricos e bioquímica sanguínea no cavalo de cavalgada em condições tropicais. **Ciência Animal Brasileira**. v. 14, n. 2, p. 208-215, 2013.

MIRCEAN M. et al. Serum cortisol variation of Sport horses in relation with the level of training and effort intensity. **Bulletin USAMV-CN**. v.64, p. 488-492, 2007.

MUNSTERS, C. C. B. M. et al. Exercise testing in Warmblood sport horses under field conditions. **The Veterinary Journal**. v. 202, n. 1, p. 11-19, 2014.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Horses**. 6.ed. rev. Washington. D.C.: National Academies Press, 2007. 341p.

PATELLI, T. H. C. et al. Atividade sérica das enzimas creatina quinase e aspartato aminotransferase em equinos submetidos a duas modalidades esportivas. **PUBVET**. v. 10, n. 8, p. 608-614, 2016.

PICCIONE, G. et al. Serum electrolyte and protein modification during different workload in jumper horse. **Comparative Clinical Pathology**. v. 16, n. 2, 103-107, 2007.

PICCIONE, G. et al. Blood lactate levels during exercise in athletic horses. **Comparative Clinical Pathology**. v. 19, n. 6, p. 535-539, 2010.

PICCIONE, G. et al. Heart rate, net cost of transport, and metabolic power in horse subjected to different physical exercises. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 33, n. 8, p. 586-589, 2013.

REECE, W. O.; SWENSON, M. J. Composição e funções do sangue. **DUKES fisiologia dos animais domésticos**. Guanabara Koogan, p. 24-48, 2006.

RODRIGUES, I. M. S. M. M.; SPINDOLA, B. F.; BOTTEON, P. T. L. Perfil bioquímico e oxidativo de cavalos usados em prova simulada dos três tambores. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 38, n. 2, p. 93-100, 2016.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. An overview of performance and sports medicine. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse**. Philadelphia: WB Saunders, p. 5-11, 1994.

SANTIAGO, J. M. et al. Hematologia e bioquímica sérica de equinos de concurso completo de equitação em treinamento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v. 65, n. 2, p. 383-392, 2013.

SANTIAGO, T. A. et al. Blood biomarkers of the horse after field Vaquejada test. **Comparative Clinical Pathology**. v. 23, n. 3, p. 769-774, 2014.

SERRANO, M. G.; EVANS, D. L.; HODGSON, J. L. Heart rate and blood lactate responses during exercise in preparation for eventing competition. **Equine Veterinary Journal**. v. 34, n. S34, p. 135-139, 2002.

SNOW, D. H. et al. Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse. **Veterinary Record**, v. 110, n. 16, p. 377-384, 1982.

TATEO, A. et al. Change in some physiological variables induced by Italian traditional conditioning in Standardbred yearling. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.28, n. 12, p. 743-750, 2008.

THOMASSIAN, A. et al. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de eqüinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 44, n. 3, p. 183-190, 2007.

THORELL, A. et al. Exercise and insulin cause GLUT-4 translocation in human skeletal muscle. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**. v. 277, n. 4, p. E733-E741, 1999.

TYLER-MCGOWAN, C. M. et al. Haematological and biochemical responses to training and overtraining. **Equine Veterinary Journal**. v. 31, n. S30, p. 621-625, 1999.

VALBERG, S. J. Muscular causes of exercise intolerance in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v. 12, n. 3, p. 495-515, 1996.

WILLIAMS, R. J.; CHANDLER, R. E.; MARLIN, D. J. Heart rates of horses during competitive dressage. **Comparative Exercise Physiology**, v. 6, n. 1, p. 7-15, 2009.

ZOBBA, R. et al. Physical, hematological, and biochemical responses to acute intense exercise in polo horses. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 31, n. 9, p. 542-548, 2011.

6 ARTIGO CIENTÍFICO

The effect of repeated barrel racing on blood biomarkers and physiological parameters in Quarter Horses

L.A. Souza^{1*}, M.M. Hunka¹, P.C.R. Nery², C.S. Coelho³, H.E.C.C.C. Manso¹, H.C. Manso Filho¹

Author affiliations

¹Equine Research Center, Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brazil. Rua Dom Manuel de Medeiros s/n. CEP: 52171-900.

²UNINASSAU, Recife, PE, Brazil. Rua Joaquim Nabuco 778. CEP: 50010-480.

³Federal University of Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brazil. Rua Barão de Jeremoabo s/n. CEP: 40170-115.

*Corresponding Author: Luzilene Araujo de Souza, e-mail: luzilenesouza@gmail.com

Received 9 July 2017; Accepted 15 August 2017; Published on line 12 October 2017

Comparative Exercise Physiology – Wageningen Academic Publishers

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate barrel horses undergoing a field test with one repetition. Quarter-Horses were used (14 males and females; average age: 6.5 years old), and they ran two times for 5 min in the same field. Six different periods were evaluated: rest (T-0), immediately after the first (T-1) and second races (T-2), and after 15 (T-15), 30 (T-30) and 240 min (T-240) of recovery. Heart rate (HR), speed, distance and duration were measured using a HR monitor with GPS during the races. Blood was collected to determinate glucose, lactate, total proteins (TP), albumin, globulin, urea, creatinine, uric acid (UA), triglycerides, cholesterol, non-esterified fatty acids (NEFA), gammaglutamyltransferase (GGT), creatine kinase (CK), and cortisol concentrations, as well as to perform a haemogram. The results were analysed using ANOVA and Tukey's tests using a P -value of 5%, and they showed a maximum HR>200 bpm after both races. The largest %HR>170 bpm occurred in the second race ($P<0.05$). Glucose and lactate concentrations were elevated at T-2 ($P<0.05$). TP, creatinine, UA and triglycerides concentrations remained elevated at T-1, T-2 and T-30 ($P<0.05$). TP and creatinine concentrations returned to basal concentrations at T-30 ($P>0.05$), and UA and triglycerides returned to base concentrations at T-240 ($P>0.05$). NEFA, cholesterol, GGT and CK concentrations did not change ($P>0.05$). Cortisol concentrations were higher at T-2 ($P<0.05$) but at T-240 were similar to T-0 ($P>0.05$). Red blood cell concentrations and haematocrits had higher values after the second race ($P<0.05$). These results showed that barrel horses had intense exercise and that two races with a short rest interval between them produced similar metabolic and physiologic adaptations between races, showing that the proposed protocol may be a useful tool for field characterisation of horses' training and may contribute to the implementation of adequate training and nutritional programs.

Keywords: exercise, heart rate, cortisol, lactate, NEFA

INTRODUCTION

Barrel racing has been widespread in several countries, mainly in the Americas, and it involves a large number of horses and riders, demonstrating the importance of this discipline for the whole equine industry. In this discipline, competitors must run as fast as possible around three barrels set in a triangle in a course of approximately 140 m. For this purpose, animals must be adapted to short-duration, high-intensity exercise, with some repetition with short intervals between them, particularly for horses with the best times that run more often during the championship. This important aspect of barrel racing can produce different kinds of metabolic and physiologic adaptations from regular short-duration and high-intensity exercise and needs more attention to improve the nutritional and training programs of these horses and to contribute to their well-being.

Some studies have shown significant physiological and metabolic adaptations comparable with high-intensity and short-duration exercise in this equine discipline. During barrel races, the heart rate (HR) rises 136% compared to basal levels, and it is associated with increased red blood cell concentration (31%), haemoglobin concentration (36%) and haematocrit (33%) immediately following such exercise (Binda *et al.*, 2016). In another study with barrel horses, it was shown that lactate levels increased 16x immediately after the races, but these authors demonstrated less dramatic HR changes after the race (56 bpm) (Teixeira *et al.*, 2015). However, this value for HR was not expected for this kind of exercise, principally because during high-intensity and short-duration exercise sports such as racing, including barrel races and *vaquejadas*, previous research has described HRmax at ~200 bpm (Hunka *et al.*, 2017; Mukai *et al.*, 2007). Additionally, it is important to observe that elevated HR is associated with a large accumulation of lactate, above 12 mmol/L, which has been shown in barrel horses (Binda *et al.*, 2016; Teixeira *et al.*, 2015). Only one study showed an HRmax of 208 bpm immediately after the barrel races (Capelleto *et al.*, 2009).

Previous studies have not evaluated two races with short intervals between them. A field test was developed for barrel horses with two races with short intervals between them for the repetition to test the hypothesis that changes in heart rate and in different metabolic biomarkers occur in well-conditioned horses performing barrel racing with one repetition, making the test compatible with short-duration, high-intensity exercise. It is expected that the identification and understanding of these possible variations may serve to guide the establishment of training and nutrition programs that favor performance and the overall health and well-being of these equine athletes.

MATERIAL AND METHODS

The present study was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals from the Federal Rural University of Pernambuco under license number 090/2016.

Animals

Fourteen quarter horses were evaluated in this study. They were adults (6.3 ± 2.5 years) of both sexes (10 males, 4 females), with an average weight of 435.4 ± 39.0 kg, and they were considered healthy and already well-conditioned for the type of physical exercise being studied (barrel racing). These animals were receiving the same feeding management, including being fed Tifton hay (*Cynodon nlemfluensis*) as well as water and a mineral salt mixture *ad libitum*. In addition, they were supplemented with commercial concentrate pellets (6 kg/animal/day; digestible energy: 3.25 Mcal/kg; ether extract: 6%; crude fibre: 9%; crude protein: 12%) divided into 3 equal meals with minimum 6 h intervals between them. Between trainings sessions, for approximately 4 h per day, the animals had access to a dry-lot (3.0 ha) with shelters, forage and water and were turned out in groups of 3 or 4, separated by sex. These animals still had visual, auditory and olfactory contact with the other animals in the training centre when they were on the dry-lot.

Simulated barrel racing test

All animals used in this study had already been competing regularly for more than six months without any major health problems. They were trained three times a week for ~1 h each day. Training consisted of exercise at the pace, trot, and gallop in addition to specific training for barrel racing. The controlled barrel race tests were performed in the morning, between 6:00-9:00 h, at the same field. The barrels were arranged on the track in the form of an isosceles triangle, with a distance of 27.5m between the first and second barrels, and a distance of 32m from the third to the others barrels, and the distance between first and second barrels for to start/arrival was 18.30m. The tests consisted of a warm-up on the track lasting approximately 10 min, with trotting and short gallops. After this period, they competed in two races, with a 5 min interval between each race, followed by a recovery period of approximately 30 min of dismounted walking on the track after the second race. The entire race course and well-being procedures complied with the rules of the Brazilian Association of

Quarter Horse Breeders and the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. These well-being procedures and good management practices were also initiated 48 h before and continued for 72 h after the tests for all animals involved in the experiment.

Heart rate, speed and race duration

The HR was measured using a HR-monitor for horses equipped with GPS (Polar V800 Equine Science, Kempele, Finland) during the barrels races. Horses' HR were also evaluated at rest in a stall (T-0) and after 240 min (T-240) of recovery using a stethoscope. Just before the warm-up, the HR-monitors were adjusted on the horses' chests and turned on, and the animals performed their two races after the monitor was placed. The HR-monitor was used to measure the HR four times (immediately after the first race (T-1) and the second race (T-2), and at 15 (T-15) and 30 (T-30) min after the second race during recovery). In addition, after T-30, animals had full access to fresh water and Tifton hay. T-240 assessments were made with the animal at rest in a stall, similar to the evaluation performed at T-0.

The data stored in the HR-monitor was analysed using the Polar Flow Sync Software to determine the following parameters during both races: maximum heart rate (HRmax), medium heart rate (HRmed), minimum heart rate (HRmin), percentage of HR<149 bpm (%HR<149 bpm), HR between 150-169 bpm (%HR between 150-169 bpm), HR>170 bpm (%HR>170 bpm), maximum speed (Smax), medium speed (Smed), and race duration. During warm-up, racing and the first 30 min of recovery, the HR-monitor remained in place, but the duration of the races began at the start of the first race and stopped at the end of the second race, similar to real-life barrel races. The interval between races lasted 5 min, and the competitors remained walking on the racetrack until T-30.

Blood sample collection

Blood samples were collected via jugular venipuncture with a vacuum system in EDTA tubes (haemogram), EDTA/sodium fluoride tubes (total protein (TP), glucose and lactate) and tubes without anticoagulants for determination of serum constituents (albumin, urea, creatinine, uric acid (UA), triglycerides, total cholesterol, non-esterified fatty acids (NEFA), gammaglutamyltransferase (GGT) and creatine kinase (CK)). Samples were obtained at the same time as the cardiac evaluation with subsequent centrifugation to obtain plasma and serum, and they were stored at -20 °C until processing. The samples were

analysed using commercial kits for semiautomatic equipment (Doles D-250®, Goiânia, Brazil): TP, glucose, lactate, albumin, urea, creatinine, UA, triglycerides, total cholesterol, NEFA, GGT and CK. The globulin value was obtained by calculating the difference of TP minus albumin. The cortisol concentration was performed using an ELISA test in a semi-automatic reader (Mindray MR-96A, Bioclin, Belo Horizonte, Brazil). Finally, the counts of red blood cells, haemoglobin, haematocrit, red blood cell distribution width (RDW)-standard deviation (SD), RDW-coefficient of variation (CV), leukocytes, lymphocytes and platelets were obtained in a semiautomatic analyser (pocH-100iV Diff Sysmex, São Paulo, Brazil). All analyses were performed in duplicate.

Statistical analysis

The results were analysed using ANOVA with one factor and repeated measurements and Tukey's test to identify possible differences among the periods. In all cases, the level of significance was set at 5%, and the results were expressed as the mean $\pm$ average standard error. The statistical analysis software SigmaPlot 13.0 (Systat Software Ins., San Jose, CA, USA) was used for all the analyses.

RESULTS

All the animals completed the tests without clinical changes. There were no differences in duration between first and second races ($P>0.05$), but there were differences the distance covered, the first race being the longest ($P<0.05$). Furthermore, it was observed that HRmin, Smed and %HR<150 bpm were higher in the first race compared to the second race ($P<0.05$). It was also detected that %HR>170 bpm was higher in the second race compared to the first race ($P<0.05$) and that HRmed, HRmax, Smax, and the percentage of HR=150-169 bpm were similar in both races ($P>0.05$) (Table 1).

The highest HRs were reached at T-1 and T-2 ($P<0.05$), just after the races, and there was no difference between T-15 and T-30 values ($P>0.05$) or between T-0 and T-240 ($P>0.05$) (Table 2). Analysis of the biomarkers of carbohydrate metabolism revealed that glucose and lactate concentrations were higher at the end of the second race ($P<0.05$), and glucose levels returned to pretest values at T-30 ($P>0.05$), whereas lactate levels only returned to basal values at T-240 ($P>0.05$). TP, creatinine, UA and triglyceride levels remained elevated at T-1, T-2 and T-30 ($P<0.05$), but TP and creatinine concentrations

returned to similar concentrations to T-0 at T-30 ($P>0.05$), while UA and triglyceride levels returned to such concentrations at T-240 ($P>0.05$). Cortisol increased immediately after the first race and was higher at the time of the second race ($P<0.05$); however, at T-15 it was already similar to T-0 and T-240 ($P>0.05$). CK concentrations showed no differences during the study ($P>0.05$).

Finally, in Table 3, it can be observed that some haematological biomarkers were influenced by the exercise performed, including red blood cell and haemoglobin concentrations and haematocrit, which had higher values at the end of the second race ($P<0.05$). However, they were equivalent between the two races immediately after these races ($P>0.05$). It was also observed that mean corpuscular haemoglobin concentrations were higher at T-240 and that leukocyte and lymphocyte concentrations increased at the end of the second race ($P<0.05$), with the lowest absolute lymphocyte concentration occurring at the end of the recovery period ($P<0.05$).

DISCUSSION

In the present study, the simulated barrel racing tests were able to promote significant increases in HR, which reached approximately 204 bpm, and in some metabolic biomarkers, such as glucose, lactate and cortisol, after the race, which returned to pre-test values during the recovery period. However, lymphocyte concentrations were decreased at T-240, which was not expected for this type of exercise. Thus, it is possible to improve our understanding of the physical effort made by this group of athletes during competitions, even under controlled conditions, but this time with one repetition. The performance of controlled simulations from both a nutritional and a training point of view has been important in assessing performance and physical fitness, since they bring us the advantage of getting as close as possible to the conditions faced by horses and riders during competitions and/or training, because they are performed in the same environment and with similar speed. The adoption of two race cycles, with short interval between them, was chosen due to the fact that in many occasions in the trainings it becomes necessary to repeat for adjustments in the course performed.

HR assessment is important to evaluate the athletic performance and the level of physical exertion of the horses (Evans, 2007). Well-trained horses may have low HRs (<45 bpm) at rest and during the recovery period and have HRs below 64-72 bpm after 30 min of exercise (de Camargo Ferraz *et al.*, 2009). In the last decade, HR assessments made during training and competition have become more practical and efficient with the use of HR-

monitors equipped with GPS developed for horses (Williams *et al.*, 2009). These developments provide estimates of cardiovascular capacity and the level of effort horses exhibit in different equestrian disciplines (Evans, 2007; NRC, 2007), and they facilitate correlations with possible changes in blood biomarker concentrations, such as those performed in this study. In the current experiment, HR increased up to 5 times after the races when compared to values observed at T-0, but values were already below 64 bpm at T-30, suggesting that the animals in the study were well-adapted to the level of exercise they performed, even with two races with only a short interval between them. It should also be noted that the HRmax (~204 bpm) observed in the barrel racing horses was below the values described as the maximum for flat racehorses (~240 bpm) (Hinchcliff and Geor, 2008). However, our results were similar to those found by Capelleto *et al.* (2009), who reported an HRmax of ~208 bpm, but different from the results of Binda *et al.* (2016), who reported on barrel horses in field conditions. These differences may be associated with the protocols for HR evaluation and/or the devices used to measure this parameter.

The distribution of HR by zones may indicate the type of energy most used during exercise, facilitating the characterisation of the level of effort different types of exercise require from horses. In the current experimental model, it was observed that the second race was more exhausting than the first race, which was expected for the test model used with two races with a 5 min interval between them. In the second race, it was observed that %HR>170 bpm was ~52% higher than in the first race, which by contrast presented a higher percentage of %HR<149 bpm. This type of evaluation is still not frequent in the literature, but it should be used to understand different equine disciplines in practical conditions. For example, in *vaquejada* horses (Smax: ~9 m/s) it was observed that %HR>170 was ~13% in helper horses and 24% in pull horses (Hunka *et al.*, 2017), but in four-beat *marcha* horses (gaited, Smed: ~3.5 m/s), %HR>170 bpm was ~4% and %HR<149 bpm was ~82% (Manso Filho *et al.*, 2012). The differences observed among the equestrian disciplines evaluated were expected due to a discrepancy in the intensity and duration of the challenges faced by these groups of athletes. It should be noted that similar assessments with barrel racing horses have not been found in the literature, but the number of these types of evaluations are expected to improve and increase to facilitate their use in barrel races and other equine disciplines.

During physical activity, elevation of cortisol concentrations are expected and contribute to an important cascade of endocrine effects, which favor hepatic gluconeogenesis and lipolysis and contribute to better exercise and recovery after exertion (Baragli *et al.*, 2011). It should be noted that these changes in cortisol concentrations also favour the

maintenance of homeostasis, mobilising intra- and extracellular energy reserves as well as maintaining cardiovascular and water balance (Hyypä, 2005). In the present study, cortisol concentrations increased from the end of the first race up to 30 min of recovery after the end of the second race, similar to what is described for Arabian horses in barrel racing and running tests (Fazio *et al.*, 2014; Kedzierski *et al.*, 2014). However, at the end of the recovery period, cortisol concentrations were already the same as those observed at T-0, where animals were at rest, similar to what occurs in reining quarter horses, *mangalarga marchador* and Arabian racing horses, which are different challenges for horses in duration and intensity (Casella *et al.*, 2016; Coelho *et al.*, 2011; Kedzierski and Cywińska, 2014), demonstrating that horses are well-adapted to exercise with different durations and intensity when they are trained. In addition, Marc *et al.* (2000) reported that physical training tends to reduce the magnitude of cortisol elevations, demonstrating horses' metabolic adaptation during conditioning programs. Finally, roping horses, who participate in a sport that involves the presence of cattle along with equines, which represents a particularly stressful factor, also had elevations in cortisol concentrations during exercise with a peak at the end of exercise and a return to resting levels after recovery (Ramalho *et al.*, 2012), demonstrating that well-trained horses have significant adaptive responses to the activities developed after domestication and transition from production animals to athletic animals throughout the 20th century.

The determination of lactate concentrations associated with HR during exercise assessment systems may be used as an indication of the level of fitness in horses and their recovery capacity (Erickson *et al.*, 1991; Miller and Lawrence, 1987). In addition, the determination of glucose concentrations may contribute to a general understanding of the metabolic adaptation to a given exercise, serving as parameter for the general evaluation of athletic horses during and after training and competition (Marc *et al.*, 2000). It is known that elevation of carbohydrate metabolism biomarkers at the end of exercise may be an indicator of the animals' ability to adapt to the exercise and favour recovery since lactate is metabolised via gluconeogenesis to produce glucose, which is used to replenish hepatic and muscle glycogen stores that are reduced to some degree in intense exercise. In the present experiment, there was an increase in lactate (~8.5 times) and glucose (~1.4 times) at the end of the second race, following the increase in other blood parameters, similar to what occurs in race, trotters and *vaquejada* horses (Braz *et al.*, 2016; Nostell *et al.*, 2006; Santiago *et al.*, 2014). It was also observed that, at the end of the recovery period, glucose and lactate values were similar to those obtained in the pre-test ($P>0.05$), similar to other equestrian sports. However, it should be emphasised that the persistence of high lactate and/or low glucose concentrations

may be indicative of reduced conditioning or excessive effort for the athlete, favouring peripheral fatigue, and may culminate with the appearance of diseases in different body tissues. In addition, it is important to remember that these parameters are easily monitored during training and competition with portable devices and that this practice may contribute to the evaluation of horses' performance and fatigue levels, which may contribute to their performance evaluation and well-being.

The intensity and the duration of physical exercise are determining factors for the use of body fat sources, which are best used during low to moderate intensity and long duration activities (Hyypä, 2005; Kedzierski and Cywińska, 2014; Martin III *et al.*, 1993). Gradual elevation in triglycerides is associated with physical effort (Orozco *et al.*, 2007). In the present study, triglyceride concentrations peaked at T-30, representing a ~59% increase over pre-test values, making this metabolite available to restore the intramuscular reserves during the recovery phase. However, it should be noted that cholesterol and NEFA concentrations did not change significantly, which was not expected. But the haemo concentration observed at the end of exercise and at the beginning of the recovery may blind this evaluation, and this aspect of lipid metabolism may require further studies in this equine discipline.

In the current trial, the highest TP concentration occurred shortly after the barrel racing field test, which was expected due to fluid loss through sweating and redistribution of body fluids, similar to that described for *vaquejada* horses and race horses (Santiago *et al.*, 2014; White *et al.*, 2001). Additionally, in horses undergoing treadmill stress tests in a controlled environment, similar elevations were observed in TP concentrations (Santiago *et al.*, 2013). Interestingly, in simulated barrel racing tests, horses had no variations in albumin and globulin concentrations, which was not expected because these protein fractions tend to change along with TP concentrations (Santiago *et al.*, 2013). However, it should be emphasised that for animals in field tests, climatic conditions, harness and horse effects, the recovery model adopted should be taken into consideration for a better understanding the whole process. Finally, it should be noted that TP concentrations returned to values observed at T-0 as soon as at T-30, which has also been demonstrated in other equestrian disciplines (Santiago *et al.*, 2013; Santiago *et al.*, 2014), characterising the rapid normalisation of the distribution of body fluids in these sports in well-conditioned animals.

During exercise, protein and purine degradation may increase, leading to increased urea, creatinine and UA in the horse's plasma (Castejón *et al.*, 2006; Evans *et al.*, 2002; Pösö *et al.*, 1993). In the current experiment, urea concentrations did not change, unlike creatinine concentrations, which may be related to the greater degradation of phosphocreatine during

intense short-term exercise. On the other hand, UA, an important component of the antioxidative system, was increased in the recovery phase (T-30), contributing the pro-oxidative effects of exercise and favouring the animals' recovery after the simulated barrel racing test, which has been reported in other equestrian sports (Santiago *et al.*, 2013). However, further studies evaluating different antioxidative factors need to be performed.

The evaluation of blood enzymes, including CK and GGT, may facilitate recognition of animal health, particularly muscle health and evaluation of signs of chronic fatigue (Kim *et al.*, 2005; Valberg *et al.*, 1993). In this study, CK concentrations were not significantly different between the times assessed and were similar to the values found in the literature for healthy animals (Binda *et al.*, 2016), which suggests that the animals were adapted to the current challenge. Changes in GGT concentrations, which are possible indicators of stress overload, were not observed in this study. Horses with overtraining syndrome often have changes in this parameter (McGowan and Whitworth, 2008), and previous studies of healthy horses used in different disciplines did not have changes in this parameter (Kupczyński and Śpitalniak, 2015; Lekeux *et al.*, 1991).

In relation to haematological biomarkers, it was observed that after the races, there were significant elevations in different parameters, with a peak at T-2 for red blood cell concentration (~40%), haemoglobin (~42%) and haematocrit (~44%) in relation to the values determined at rest. However, these concentrations returned to pre-test values after 30 min of recovery ($P>0.05$). These results have been observed in different equine disciplines (Binda *et al.*, 2016; Capelleto *et al.*, 2009; Casella *et al.*, 2016; Kupczyński and Śpitalniak, 2015; Santiago *et al.*, 2013; Santiago *et al.*, 2014) and indicate typical and physiological adaptation to the proposed exercise in fit horses. Further analysis of the horses' blood cells revealed that leukocyte concentrations increased (~29%) in relation to the values obtained in the pre-test. Lymphocyte concentrations also followed this trend until 30 min into the recovery period. However, at the end of the recovery period, lymphocyte concentrations were lower, similar to the reduction observed in endurance horses (Cywińska *et al.*, 2010). Until now, there have been no reports regarding this process in barrel horses. Reduction in lymphocytes concentrations during the recovery period have been associated with duration and intensity of exercise in different species and are not affected by the level of conditioning (Kendall *et al.*, 1990; Pedersen *et al.*, 1998). This process had been related to some reduction in immune defenses, which may compromise the horse's full recovery during or after the championships.

CONCLUSION

Simulated barrel racing tests with two races conducted within a short interval were able to induce alterations compatible with the proposed physical effort, with HRs close to the maximum for the species and elevations in some biomarkers that returned to the concentrations observed in the pre-test. Additionally, a significant possible reduction in immune function produced by a reduction in lymphocyte concentrations was noted at the end of the recovery period. Thus, these observations may be used to evaluate this type of exercise and were proved to be an excellent tool for understanding the physiological adaptations that occur during barrel racing field tests, contributing to the implementation of training and nutritional programs compatible with this equestrian discipline and helping to promote better performance and well-being of horses.

DECLARATIONS

Ethics approval and consent to participate

Ethics Committee for Research of Rural University of Pernambuco, by the number 090/2016 approved this study.

Consent for publication

All authors read and approved the final manuscript.

Availability of data and material

All data generated or analysed during this study are included in this published article.

Competing interests

The authors declare that they have no conflict of interest, and this document is original, and no part of it is submitted anywhere else for conference or publication.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding, agencies in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Authors' contributions

Study conception and design: LAS, MMH, HCMF

Acquisition of data: LAS, MMH, PCRN

Analysis and interpretation of data: LAS, MMH, HCMF

Drafting of manuscript: LAS, MMH

Critical revision: CSC, HECCCM, HCMF

Acknowledgements

The authors would like to thank the Elson Campos Training Center (Bezerros-PE, Brazil) and CNPq – National Council for Scientific and Technological Development.

Authors' information

Not Applicable.

REFERENCES

Baragli, P.B., Sgorbini, M., Casini, L., Ducci, M. and Sighieri, C., 2011. Early evidence of the anticipatory response of plasma catecholamine in equine exercise. *Journal of Equine Veterinary Science* 31: 85-88.

Binda, M.B., Teixeira, F.A., Carvalho, R.S., Macedo, L.P., Conti, L.M.C., Manso Filho, H.C., and Coelho, C.S., 2016. Effects of 3-barrel Racing exercise on electrocardiographic and on blood parameters of quarter horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 47: 71-76.

Braz, P.H., Ghetti, E.R.D.M.L., Sartoretto, M.C. and Campos Deboletto, S.G., 2016. Avaliações séricas de glicose, lactato, creatina quinase e aspartato aminotransferase em equinos quarto de milha antes e depois de prova de corrida. *Acta Veterinaria Brasilica* 10: 322-326.

Capelleto, E.C., Angeli, A.L. and Graff, H., 2009. Respostas fisiológicas em quarto-de-milha após prova de tambor. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais* 7: 299-304.

Casella, S., Vazzana, I., Giudice, E., Fazio, F. and Piccione, G., 2016. Relationship between serum cortisol levels and some physiological parameters following reining training session in horse. *Animal Science Journal* 87: 729-35.

Castejón, F., Trigo, P., Muñoz, A. and Riber, C., 2006. Uric acid responses to endurance Racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. *Equine Veterinary Journal* 38: 70-73.

Coelho, C.S., Gama, J.A.N., Lopes, P.F.R. and Souza, V.R.C., 2011. Glicemia e concentrações séricas de insulina, triglicérides e cortisol em equinos da raça Mangalarga Marchador após exercício físico. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31: 756-760.

Cywińska, A., Gorecka, R., Szarska, E., Witkowski, L., Dziekan, P. and Schollenberger, A., 2010. Serum amyloid A level as a potential indicator of the status of endurance horses. *Equine Veterinary Journal* 42: 23-27.

De Camargo Ferraz, G., Teixeira-Neto, A.R., de Freitas D'Angelis, F.H., de Lacerda-Neto, J.C. and de Queiroz-Neto, A.D., 2009. Alterações hematológicas e cardíacas em cavalos Árabes submetidos ao teste de esforço crescente em esteira rolante. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 46: 431-437.

Erickson, H.H., Lundin, C.S., Erickson, B.K. and Coffman, J.R., 1991. Indices of performance in the racing quarter horse. *Equine Exercise Physiology* 3: 41-46.

Evans, D.L., 2007. Physiology of equine performance and associated tests of function. *Equine Veterinary Journal* 39: 373-383.

Evans, D.L., Priddle, T.L. and Davie, A.J., 2002. Plasma lactate and uric acid responses to Racing in pacing Standardbreds and relationships with performance. *Equine Veterinary Journal* 34: 131-134.

Fazio, E., Medica, P., Cravana, C., Molinari, P. and Ferlazzo, A., 2014. Effect of experience on adrenocortical and thyroid responses of Arabian horses to gymkhana games. *Journal of Equine Veterinary Science* 34: 799-804.

Hinchcliff, K.W. and Geor, R.J., 2008. The horse as an athlete: a physiological overview. *Equine exercise physiology: the science of exercise in the athletic horse*. Edinburgh: Elsevier.

Hunka, M.M., Lima, L.C.F., Souza, L.A., Silva, C.J.F.L., Silva, E.R.R., Manso, H.E.C.C.C. and Manso Filho, H.C., 2017. Heart rate and velocity in vaquejada horses during field tests. *Comparative Exercise Physiology* 13: 25-30.

Hyypä, S., 2005. Endocrinal responses in exercising horses. *Livestock Production Science* 92: 113-121.

Kędzierski, W. and Cywińska, A., 2014. The effect of different physical exercise on plasma leptin, cortisol, and some energetic parameters concentrations in purebred Arabian horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 34:1059-1063.

Kędzierski, W., Cywińska, A., Strzelec, K. and Kowalik, S., 2014. Changes in salivary and plasma cortisol levels in purebred Arabian horses during race training session. *Animal Science Journal* 85: 313-317.

Kendall, A., Hoffman-Goetz, L., Houston, M., MacNeil, B. And Arumugam, Y., 1990. Exercise and blood lymphocyte subset responses: intensity, duration, and subject fitness effects. *Journal of Applied Physiology* 69: 251-260.

Kim, J.S., Hinchcliff, K.W., Yamaguchi, M., Beard, L.A., Markert, C.D. and Devor, S.T., 2005. Exercise training increases oxidative capacity and attenuates exercise-induced ultra structural damage in skeletal muscle of aged horses. *Journal of Applied Physiology* 98: 334-342.

Kupeczyński, R. and Śpitalniak K., 2015. Analysis of acid-base balance as well as hematological and biochemical parameters in horses of combined driving discipline. *Archiv Fuer Tierzucht* 58: 221-228.

Lekeux, P., Art, T., Linden, A., Desmecht, D. and Amory, H., 1991. Heart rate, hematological and serum biochemical responses to show jumping. *Equine Exercise Physiology* 3: 385-390.

Manso Filho, H.C., Manso, H.E.C.C.C., McKeever, K.H., Duarte, S.R.R. and Abreu, J.M.G., 2012. Heart rate responses of two breeds of four-gaited horses to a standardised field gaited test. *Comparative Exercise Physiology* 8: 41-46.

Marc, M., Parvizi, N., Ellendorff, F., Kallweit, E. and Elsaesser, F., 2000. 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 Science* 78: 1936-1946.

Martin III, W.H., Dalsky, G.P., Hurley, B.F., Matthews, D.E., Bier, D.M., Hagberg, J.M., Rogers, M.A., King, D.S. and Holloszy, J.O., 1993. Effect of endurance training on plasma free fatty acid turnover and oxidation during exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism* 265: E708-E714.

McGowan, C.M. and Whitworth, D.J., 2008. Overtraining syndrome in horses. *Comparative Exercise Physiology* 5: 57-65.

Miller, P.A. and Lawrence, L.M., 1987. The effect of submaximal treadmill training on heart rate, lactate and ammonia in quarter horse. In: *Equine exercise physiology 2*. Davis, California: International Conference on Equine Exercise Physiology Publications, pp. 41-46.

Mukai, K., Takahashi, T, Eto, D., Ohmura, H., Tsubone, H. and Hiraga, A., 2007. Heart rates and blood lactate response in thoroughbred horses during a race. *Journal of Equine Science* 18: 153-160.

National Research Council (NRC), 2007. Nutrient requirements of horses, 6th edition. National Academies Press, Washington, DC, USA.

Nostell, K., Funkquist, P., Nyman, G., Essén-Gustavsson, B., Connysson, M., Muhonen, S. and Jansson, A., 2006. The physiological responses to simulated race tests on a track and on a treadmill in standardbred trotters. *Equine Veterinary Journal* 38: 123-127.

Orozco, A.A.G., Martins, C.B., Comide, L.M., de Queiroz Neto, A. and de Lacerda Neto, J.C., 2007. Alteraciones metabólicas durante entrenamiento em equinos de la raza Puro Sangre Árabe. *Revista Medicina Veterinaria* 13: 77-82.

Pedersen, B.K., Rohde, T. and Ostrowski, K., 1998. Recovery of the immune system after exercise. *Acta Physiologica Scandinavica* 162: 325-332.

Pösö, A.R., Essén-Gustavsson, B., Persson, S.G.B., 1993. Metabolic response to standardised exercise test in Standardbred trotters with red cell hypervolaemia. *Equine Veterinary Journal* 25: 527-531.

Ramalho, L.O., Caiado, J.C.C., Souza, V.R.C. and Coelho, C.S., 2012. Glicemia e concentrações séricas de insulina, triglicérides e cortisol em equinos da raça quarto de milha e mestiços usados em provas de laço em dupla. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 49: 318-324.

Santiago, J.M., Almeida, F.Q., Silva, L.L.F., Miranda, A.C.T., Azevedo, J.F., Oliveira, C.A.A., and Carrilho, S.S., 2013. Hematologia e bioquímica sérica de equinos de concurso completo de equitação em treinamento. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 65: 383-392.

Santiago, T.A., Manso, H.E.C.C.C., Abreu, J.M.G., Melo, S.K.M. and Manso Filho, H.C., 2014. Blood biomarkers of the horse after field *Vaquejada* test. *Comparative Clinical Pathology* 23: 769-774.

Teixeira, F.A., Araújo, A.L., Ramalho, L.O., Adamkosky, M.S., Lacerda, T.F. and Coelho, C.S., 2016. Oral creatine supplementation on performance of Quarter horses used in barrel racing. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 100: 513-519.

Valberg, S., Häggendal, J. and Lindholm, A., 1993. Blood chemistry and skeletal muscle metabolic responses to exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. *Equine Veterinary Journal* 25: 17-22.

White, A., Estrada, M., Walker, K., Wisnia, P., Filgueira, G., Valdés, F., Araneda, O., Behn, C. and Martínez, R., 2001. Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 128: 99-104.

Williams, R.J., Chandler, R.E. and Marlin, D.J., 2009. Heart rates of horses during competitive dressage. *Comparative Exercise Physiology* 6: 7-15.

Table 1. Heart rate (HR), speed, duration, running distance and percentage ranges of HR in horses submitted to the barrel racing field test

Parameter	Races ¹	
	1 st race	2 nd race
Duration (min)	1.09 ± 0.04	1.18 ± 0.02
Running distance (m)	189 ± 5 A	175 ± 4 B
Minimum HR (bpm)	118.33 ± 3.88 A	93.23 ± 4.42 B
Average HR (bpm)	151.53 ± 4.75	157.62 ± 4.80
Maximum HR (bpm)	201.80 ± 4.96	202.62 ± 3.43
Average speed (m/s)	2.67 ± 0.08 A	2.27 ± 0.05 B
Maximum speed (m/s)	10.71 ± 0.30	10.85 ± 0.13
% of HR < 150 bpm	56.54 ± 8.04 A	36.00 ± 5.15 B
% of HR between 150 and 170 bpm	3.46 ± 0.99	4.00 ± 1.26
% of HR > 170 bpm	27.23 ± 7.08 B	56.82 ± 5.97 A

¹Different capital letters on the same line indicate significant statistical difference between the averages ($P < 0.05$) obtained by Tukey's test.

Table 2. Heart rate and biomarkers of metabolism of carbohydrates, proteins, lipids, enzymes and hormones in Quarter Horses submitted to the barrel racing field test

Parameter ¹	Evaluation phase ^{2,3}					
	T-0	T-1	T-2	T-15	T-30	T-240
Heart rate (bpm)	38.07 ± 1.80 C	203.69 ± 4.61 A	204.46 ± 3.49 A	75.57 ± 3.48 B	62.86 ± 4.20 B	37.43 ± 2.05 C
Cortisol (nmol/L)	188.44 ± 36.69 B	331.63 ± 70.91 AB	467.10 ± 97.12 A	326.94 ± 48.83 AB	306.25 ± 45.25 AB	171.89 ± 32.56 B
Glucose (mmol/L)	5.66 ± 0.52 CD	6.11 ± 0.21 BCD	7.72 ± 0.32 A	7.15 ± 0.38 AB	7.05 ± 0.32 ABC	5.34 ± 0.22 D
Lactate (mmol/L)	1.60 ± 0.07 C	9.35 ± 0.40 B	13.79 ± 0.63 A	12.59 ± 0.70 A	8.65 ± 0.84 B	1.54 ± 0.02 C
Total protein (g/L)	69.10 ± 1.80 B	77.30 ± 1.90 A	76.30 ± 2.30 AB	72.40 ± 2.60 AB	69.10 ± 1.60 B	68.60 ± 1.80 B
Albumin (g/L)	28.40 ± 2.60	35.40 ± 2.20	33.40 ± 2.00	27.00 ± 1.70	28.70 ± 2.40	28.60 ± 2.60
Globulin (g/L)	40.80 ± 2.50	41.90 ± 3.20	42.90 ± 3.20	45.40 ± 3.00	40.50 ± 2.90	40.00 ± 3.50
Urea (mmol/L)	10.03 ± 0.84	11.22 ± 0.69	12.10 ± 0.84	11.93 ± 1.17	11.06 ± 0.70	12.15 ± 0.74
Creatinine (µmol/L)	91.94 ± 6.19 AB	110.50 ± 5.30 AB	113.15 ± 5.30 A	103.43 ± 5.30 AB	96.36 ± 6.19 AB	89.28 ± 5.30 B
Uric acid (µmol/L)	138.59 ± 1.78 B	142.16 ± 2.38 B	149.29 ± 2.38 AB	152.86 ± 3.57 AB	162.98 ± 7.14 A	139.18 ± 2.38 B
Triglycerides (mmol/L)	1.63 ± 0.03 C	1.67 ± 0.03 C	1.98 ± 0.05 ABC	2.52 ± 0.14 AB	2.59 ± 0.28 A	1.67 ± 0.05 BC
Cholesterol (mmol/L)	2.08 ± 0.06	2.29 ± 0.09	2.33 ± 0.10	2.20 ± 0.08	2.12 ± 0.10	2.11 ± 0.06
NEFA (mmo/L)	0.18 ± 0.04	0.12 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.17 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.23 ± 0.03
GGT (µkat/L)	0.52 ± 0.03	0.55 ± 0.04	0.50 ± 0.02	0.50 ± 0.04	0.51 ± 0.05	0.51 ± 0.04
CK (µkat/L)	4.60 ± 0.69	5.76 ± 0.85	5.91 ± 1.17	5.57 ± 1.00	5.52 ± 1.09	6.46 ± 1.47

¹ K = creatine kinase; GGT = gammaglutamyltransferase; NEFA = non-esterified fatty acids.² Different capital letters on the same line represents statistical difference ($P < 0.05$) by Tukey's test.³ T0 = at rest, T1 = immediately after first race, T2 = immediately after second race, T15 = 15 min after second race, T30 = 30 min after second race, T240 = 240 min after second race.

Table 3. Haematological biomarkers in Quarter Horses submitted to the barrel racing field test

Parameter ¹	Evaluation phase ^{2,3}					
	T-0	T-1	T-2	T-15	T-30	T-240
Red blood cells (x10 ⁶ /μL)	8.64 ± 0.36 C	11.89 ± 0.23 A	12.13 ± 0.26 A	10.38 ± 0.27 B	9.39 ± 0.36 BC	8.50 ± 0.16 C
Haemoglobin (g/dL)	13.57 ± 0.58 C	18.93 ± 0.41 A	19.31 ± 0.45 A	16.43 ± 0.53 B	14.90 ± 0.63 BC	13.41 ± 0.31 C
Haematocrit (%)	39.83 ± 1.74 C	55.81 ± 1.09 A	57.58 ± 1.29 A	49.27 ± 1.51 B	43.95 ± 1.84 BC	39.09 ± 0.82 C
MCV (fL)	46.09 ± 0.58	46.99 ± 0.59	47.48 ± 0.59	47.46 ± 0.62	46.75 ± 0.61	46.01 ± 0.57
MCHC (g/dL)	34.09 ± 0.17 AB	33.93 ± 0.20 AB	33.55 ± 0.17 AB	33.33 ± 0.17 B	33.91 ± 0.21 AB	34.29 ± 0.21 A
RDW-SD (fL)	36.94 ± 0.46	37.62 ± 0.49	37.73 ± 0.53	37.54 ± 0.48	37.01 ± 0.46	36.76 ± 0.46
RDW-CV (%)	19.68 ± 0.18	19.84 ± 0.18	19.60 ± 0.18	19.34 ± 0.18	19.44 ± 0.17	19.59 ± 0.15
Platelets (x10 ³ /μL)	40.93 ± 10.94	45.94 ± 12.28	48.93 ± 13.08	37.26 ± 9.96	38.45 ± 10.28	38.64 ± 10.33
Leukocytes (x10 ³ /μL)	8.31 ± 0.32 D	10.06 ± 0.32 ABC	10.73 ± 0.44 A	9.61 ± 0.35 ABCD	8.83 ± 0.42 BCD	10.11 ± 0.53 AB
Lymphocytes (x10 ³ /μL)	2.91 ± 0.25 CD	4.09 ± 0.29 AB	4.49 ± 0.31 A	3.94 ± 0.26 ABC	3.52 ± 0.28 ABCD	2.60 ± 0.20 D
Others (x10 ³ /μL)	5.40 ± 0.30 B	5.98 ± 0.33 AB	6.24 ± 0.41 AB	5.67 ± 0.34 B	5.31 ± 0.36 B	7.51 ± 0.53 A

¹MCHC = mean corpuscular haemoglobin concentration; MCV = mean corpuscular volume; RDW = red blood cell distribution width; SD = standard deviation; CV = coefficient of variation.

²Different capital letters on the same line represents statistical difference ($P < 0.05$) by Tukey's test.

³T0 = at rest, T1 = immediately after first race, T2 = immediately after second race, T15 = 15 min after second race, T30 = 30 min after second race, T240 = 240 min after second race.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a utilização de simulações a campo, as quais nos possibilita replicar as condições de pista como também climáticas, aproximando os equinos atletas dos reais desafios das competições, auxiliando desta forma no entendimento de como ocorrem as adaptações fisiológicas neste grupo de atletas, com o compartilhamento destas informações para os técnicos e treinadores envolvidos, pode-se contribuir para o desenvolvimento de programas de treinamento e nutricionais adequados, possibilitando uma melhor performance e consequente bem-estar desses equinos.