

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**DETERMINAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS SÉRICO EM EQUINOS  
SUBMETIDOS A EXERCÍCIOS EM ESTEIRA E SUPLEMENTADOS  
COM VITAMINA E (DL-ALFA-TOCOFEROL)**

**POLYANA PULCHEIRA PAIXÃO**

**VILA VELHA**  
**JULHO / 2016**

**UNIVERSIDADE VILA VELHA – ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**DETERMINAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS SÉRICO EM EQUINOS  
SUBMETIDOS A EXERCÍCIOS EM ESTEIRA E SUPLEMENTADOS  
COM VITAMINA E (DL-ALFA-TOCOFEROL)**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

**POLYANA PULCHEIRA PAIXÃO**

**VILA VELHA**  
**JULHO/2016**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

P142u Paixão, Polyana Pulcheira.  
Determinação de triglicédeos sérico em equinos submetidos a exercícios em esteira e suplementados com vitamina "E" (dl-alfa-tocoferol) / Polyana Pulcheira Paixão. – 2016.  
33 f.:

Orientadora: Tatiana de Sousa Barbosa. .  
Dissertação (mestrado em Ciência Animal)  
Universidade Vila Velha, 2016.  
Inclui bibliografias.

1. Equinos. 2. Exercício físico. 3. Antioxidante. I. Barbosa, Tatiana de Sousa. I. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.1

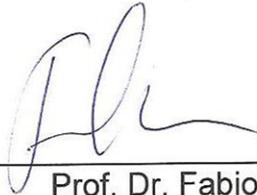
**POLYANA PULCHEIRA PAIXÃO**

**DETERMINAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS SÉRICO EM EQUINOS  
SUBMETIDOS A EXERCÍCIOS EM ESTEIRA E  
SUPLEMENTADOS COM VITAMINA E (DL-ALFA-TOCOFEROL)**

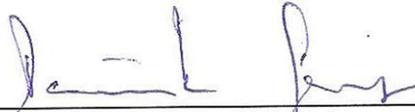
Dissertação apresentada a  
Universidade Vila Velha, como pré-  
requisito do Programa de Pós-  
Graduação em Ciência Animal,  
para obtenção do grau de Mestra  
em Ciência Animal.

Aprovada em 04 de Julho de 2016,

Banca examinadora:



Prof. Dr. Fabio Ribeiro Braga (UUV)



Prof. Dr. Dominik Lenz (UUV)



Prof. Dra. Tatiana de Sousa Barbosa (UUV)  
Orientadora

Dedicatória: Dedico este trabalho aos meus pais, pelo amor incondicional, pelo incentivo e apoio em todas as minhas escolhas e decisões.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus e aos espíritos de luz, por estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis, acalmando a minha alma e fazendo com que eu siga em frente.

À minha família que sempre me apoiaram em minhas decisões, me ajudando e dando força sempre que preciso.

À minha orientadora, Prof. Dr<sup>a</sup> Tatiana de Sousa Barbosa, pela oportunidade e paciência em ensinar.

À Emy Hiura e Prof. Dr. Fábio Braga, por permitirem a utilização do laboratório de Patologia Clínica para o desenvolvimento da pesquisa e por todo ensinamento que me passaram.

A minha prima Paula Pulcheira Brasileiro, por ajudar na realização da pesquisa e dos artigos desenvolvidos.

Aos meus amigos verdadeiros, de longa jornada, que estão sempre ao meu lado.

A FAPES pela bolsa do mestrado e a UVV por tudo que disponibilizou para que a pesquisa fosse concluída.

A todos que fazem parte da minha vida.

**MEU MUITO OBRIGADA!**

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	3
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	5
2.1 <i>Metabolismo lipídico</i> .....	5
2.2 <i>Metabolismo energético durante o exercício</i> .....	7
2.3 <i>Radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs)</i> .....	9
2.4 <i>Vitamina “E”</i> .....	11
2.5 <i>O cavalo condicionado ao esforço físico</i> .....	13
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	16
3.1 <i>Animais</i> .....	16
3.2 <i>Delineamento experimental</i> .....	16
3.3 <i>Colheita e processamento das amostras</i> .....	17
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	18
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	21
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	22

## RESUMO

PAIXÃO, POLYANA PULCHEIRA, MSc., Universidade Vila Velha – ES, julho de 2016. **Determinação de triglicerídeos sérico em equinos submetidos a exercícios em esteira e suplementados com vitamina “E” (dl-alfa-tocoferol).** Orientadora: Tatiana de Sousa Barbosa.

Os triglicerídeos são um dos componentes lipídicos do sangue e sua elevação é fator de risco maior para doenças cardiovasculares. A prática de exercícios é responsável pela diminuição da gordura presente no organismo, além de equilibrar a quantidade de energia ingerida e utilizada. A vitamina “E” é um antioxidante lipossolúvel tecidual que sustenta a cadeia de peroxidação lipídica, prevenindo sua oxidação, podendo atuar na redução da trigliceridemia. Este estudo teve como objetivo testar a hipótese de que as concentrações plasmáticas de triglicerídeos de equinos diminuem após serem submetidos ao esforço físico e suplementados com vitamina “E”. Para tanto, foram utilizados dez cavalos que realizaram exercício de longa duração em esteira em duas etapas, a primeira sem suplementação e a segunda com suplementação de vitamina “E”. Coletas de sangue foram realizadas nas duas fases, antes do teste (M0), imediatamente após o exercício (PE) e nos tempos 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas subsequentes. Observou-se aumento na concentração sérica de triglicerídeos em ambas as fases, sendo os valores da segunda fase superiores aos da primeira. Não se evidenciou neste estudo, portanto, redução na trigliceridemia em equinos suplementados com vitamina E.

**Palavras-chave:** Cavalos. Atividade física. Antioxidante.

## ABSTRACT

PAIXÃO, POLYANA PULCHEIRA, MSc., Universidade Vila Velha – ES, July 2016. **Determination of serum triglycerides in horses submitted a exercise on a treadmill high-speed and supplemented with vitamin "E" (dl-alpha-tocopherol).** Adviser: Tatiana de Sousa Barbosa.

Triglycerides are one of the lipid blood components and its elevation may cause a major cardiovascular problems. The exercise practice is responsible for lowering organism's fat and balancing energy intake and consumption. Vitamin "E" is a tissue liposoluble antioxidant that sustains the lipid peroxidation chain preventing its oxidation and possibly contributing to decrease triglycerids. The hypothesis of the present work was, that vitamin E could decrease the concentration of triglycerids in horses exposed to physical exercise. Ten horses to perform a long duration exercise on treadmill in two phases: the first one without the supplementation and the second with the vitamin "E" supplementation. Blood samples were collected on both phases, before the test (M0), immediately after the exercise (PE) and after 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hours. An increase on the serum triglycerides concentration was observed on both phases, being the levels of the second superior to the ones obtained in the first phase. Therefore, vitamin "E" supplementation did not show, any effect on reducing triglyceridemia in equines.

**Keywords:** horse, physical activity, antioxidant.

## 1. INTRODUÇÃO

Os triglicerídeos são um dos componentes gordurosos do sangue e sua elevação pode causar, em humanos, obesidade, doenças cardiovasculares, esteatose hepática, pancreatite, entre outros (FUCHS et al., 2012). A prática de exercícios é responsável pela diminuição da gordura armazenada no organismo e dos compostos lipídicos séricos, aumentando a massa magra e a expectativa de vida do indivíduo, equilibrando a quantidade de energia ingerida e utilizada (KEMPEN et al., 1995; RACETTE et al., 1995; COWBURN et al., 1997; CAMBRI et al., 2006).

Os substratos energéticos utilizados durante o repouso e o exercício físico são os carboidratos e os lipídeos. A contribuição de cada substrato para a manutenção da demanda de energia durante a atividade física é determinada pela intensidade e duração do esforço, treinamento, disponibilidade, estado nutricional e ação hormonal (POWERS & HOWLEY, 2005). A lipólise aumenta com o esforço físico, o qual resulta em um aumento significativo no número e na atividade das mitocôndrias, resultando também em um aumento na oxidação dos ácidos graxos livres (NELSON & COX, 2008; BRUSS, 2008).

Além de induzir processos biológicos com efeitos positivos, o exercício físico quando ultrapassa os limites fisiológicos pode levar a produção de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (EROs), os quais geram consequências prejudiciais ao organismo (CAZZOLA, 2003; YONEZAWA et al., 2010; CHUN-YEN et al., 2016). Uma das principais ações deletérias dos EROs é a lesão tecidual, tais como a oxidação das membranas lipídicas, contribuindo para acelerar o processo de fadiga e lesão nas fibras musculares, gerando intolerância ao exercício e diminuição de desempenho atlético. Cavalos submetidos a altas velocidades podem desenvolver níveis elevados de estresse metabólico dependendo da intensidade e duração do esforço muscular (DE MOFFARTS et al., 2005). O armazenamento de adenosina trifosfato e fosfato de creatina, rapidamente são consumidos levando a produção de energia por vias glicolíticas e/ou oxidativas (MCKENZIE, 2011a). Buscar o melhor desempenho e bem-estar dos animais durante as competições de resistência é essencial para promover e manter as condições

necessárias do esporte equestre que muito se desenvolve em toda parte do mundo (LUCK et al., 2015).

Para prevenir o surgimento do estresse oxidativo proveniente do exercício, vários estudos sugerem a utilização de suplementação dietética com substâncias antioxidante, tendo como objetivo neutralizar a produção dos EROs (DE MOFFARTS et al., 2005; YONEZAWA et al., 2010; RYAN et al., 2010). O principal antioxidante biológico associado ao estresse oxidativo é a vitamina “E”, também conhecida como sua forma ativa alfa-tocoferol (WILLIAMS et al., 2004). Sua função é prevenir a peroxidação lipídica fazendo a captura de radicais peroxila, além de agir na prevenção da oxidação de compostos lipídicos, e também é essencial para o funcionamento adequado das membranas celulares (SINGH et al., 2005). Os lipídios quando oxidados, não são metabolizados normalmente, acumulando-se e gerando patologias no sistema cardiovascular (MATTÁR, 2003).

Ainda, o exercício físico induz uma maior captura de triglicerídeos e colesterol ao diminuir a concentração da enzima triacilglicerol lipase hepática, cuja função é hidrolisar estes compostos quando conjugados numa sub-fração da HDL (lipoproteína de alta densidade), a HDL<sub>2</sub>, que ao ser liberada para o fígado, torna-se mais densa e transforma-se em HDL<sub>3</sub> (MURRAY & HARPER, 1993). Dessa maneira, com uma maior permanência da HDL<sub>2</sub> na circulação sanguínea, a captura dos triglicerídeos é constantemente realizada, diminuindo assim sua concentração sérica (BERG et al., 1994). Para efetuar essas funções, a HDL necessita do seu conteúdo antioxidante, a qual faz parte o alfa-tocoferol (PERUGINI et al., 2000). Portanto, a vitamina “E” poderia reduzir o acúmulo de triglicerídeos no sangue, o que beneficiaria a saúde do animal.

Com o intuito de descobrir o real efeito da suplementação da vitamina “E” em equinos submetidos a exercício de longa duração em esteira, este estudo teve como objetivo testar a hipótese de que as concentrações séricas de triglicerídeos em equinos diminuem após serem submetidos ao esforço físico e suplementados com vitamina “E”.

# 1. REVISÃO DE LITERATURA

## 2.1 *Metabolismo lipídico*

No organismo dos mamíferos existem dois tipos de tecido adiposo, sendo classificados como tecido branco e marrom. O tecido adiposo marrom está relacionado à regulação da temperatura corporal, e este está praticamente ausente em adultos, sendo encontrado em fetos e recém-nascidos. Já o tecido adiposo branco possui funções mais abrangentes e está presente em diversas regiões do organismo, como órgãos e estruturas internas (LASAR et al., 2013).

Os adipócitos constituem o tecido adiposo e são células especializadas em armazenar os lipídeos na forma de triacilglicerol (TAG) no seu citoplasma, sem que ocorra qualquer prejuízo a sua funcionalidade. Enzimas e proteínas reguladoras, necessárias para a realização da lipogênese e estocagem dos TAGs, estão presentes nestas células (KERSHAW & FLIER, 2004). Os sistemas neurais e hormonais são responsáveis pelo controle desses processos através dos sinais aferentes, ocorrendo de acordo com as necessidades energéticas do indivíduo (AHIMA & FLIER, 2000).

Os TAGs são constituídos por três moléculas de ácidos graxos de cadeia longa ligados a uma molécula de glicerol. Podem ter origem da dieta ou sintetizados pelo fígado, glândula mamária lactante e tecido adiposo (BEITZ, 2006; BRUSS, 2008). Em animais monogástricos, a síntese de triglicerídeos e ácidos graxos acontece principalmente no fígado, a qual utiliza a glicose e eventualmente aminoácidos como precursores (KOZLOSKI, 2009).

Os lipídeos plasmáticos estão presentes na forma de quilomícrons e lipoproteínas, já os derivados da dieta são catabolizados pelas enzimas lipases pancreáticas e sais biliares para dar origem ao 2-monoglicerídios e ácidos graxos livres. Estes entram no retículo endoplasmático das células da mucosa intestinal por difusão, e são convertidos em triglicerídeos. Após, serão associados a outros lipídios e proteínas específicas (apoproteínas), para formar os quilomícrons, que são macromoléculas. Estas partículas saem das células da mucosa, provavelmente por pinocitose reversa, e vão para os vasos linfáticos da região abdominal e, posteriormente, para a circulação sistêmica. A

liberação intestinal de quilomícrons ocorre por várias horas após a ingestão de gorduras (BEITZ, 2006).

Nos enterócitos, parte dos ácidos graxos são reesterificados a triglicerídeos, absorvidos e direcionados para o fígado, onde podem ser incorporadas as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), e então retornam para a circulação (KOZLOSKI, 2009). Se o animal não necessita de demanda energética no momento, os ácidos graxos são transportados para o tecido adiposo e armazenados, porém, se a demanda energética faz-se necessária, estes são transportados aos tecidos periféricos e sofrem oxidação para ocorrer produção de energia, podendo também ocorrer a hidrólise do tecido adiposo, liberando ácidos graxos não esterificados (PALMQUIST & MATTOS, 2011).

A classificação das lipoproteínas é estipulada de acordo com a sua densidade, sendo determinada pela proporção de lipídeos e proteínas que possuem em sua constituição. Quanto maior a quantidade de lipídeos menor a densidade, e quanto maior a quantidade de proteína mais densa fica a molécula. O HDL é a lipoproteína de alta densidade, e o VLDL a de muito baixa densidade. Contudo, há muitas diferenças nos compostos lipídicos plasmáticos entre as espécies, que são influenciadas pela quantidade e o tipo de alimento, saúde e idade do animal, bem como o equilíbrio hormonal (BEITZ, 2006).

O aumento exacerbado de triglicerídeos no sangue é considerado uma dislipidemia e em equinos é decorrente de estresse, falha na manutenção da homeostase energética, secundário a doenças e obesidade. Nesses animais as dislipidemias podem tornar-se graves rapidamente se não forem diagnosticadas precocemente, culminando na infiltração de lipídeos no fígado e outros órgãos (MCKENZIE, 2011b).

Com a domesticação dos cavalos, estes animais foram submetidos ao confinamento e ao excesso de fornecimento de alimentos energéticos, proporcionando maior acúmulo de gordura, sendo esses fatores responsáveis pelo aumento do índice de obesidade em equinos (PAZ et al., 2013). A obesidade está associada a distúrbios endócrinos, que tem sido relatado como uma das principais causas de laminite nesses animais (FRANK et al., 2010). Para descrever o aumento da adiposidade associada à resistência insulínica, que leva a alterações endócrinas, foi desenvolvido o termo Síndrome

Metabólica Equina (SME), aceito pela Associação Americana de Medicina Interna. Essa síndrome foi descrita em várias raças, e está relacionada com a falta de atividade física adequada para a espécie equina (FRANK, 2011).

Segundo Johnson et al. (2010), o tecido adiposo nesses animais libera pequenas quantidades de adipocinas, que em elevadas quantidades na circulação sanguínea, fazem moléculas pró-inflamatórias atuarem nos receptores de insulina, levando a resistência insulínica. Contudo, os malefícios da obesidade sobre a saúde dos cavalos ainda não estão bem elucidados como em humanos. Em relação a laminite, estudos realizados na Finlândia mostraram que 95% dos equinos hospitalizados com a doença eram obesos e 89% deles foram diagnosticados com hiperinsulinemia (KARIKOSKI et al., 2011).

## *2.2 Metabolismo energético durante o exercício*

O exercício físico regular gera benefícios para a saúde e está diretamente relacionado com a prevenção de várias afecções como doenças cardiovasculares, hipertensão, obesidade entre outros (STANTON et al., 2014). Contudo, atividades exaustivas podem perder seu efeito benéfico e causar estresse oxidativo (RADAK et al., 2013). Nos equinos, para que aja um eficiente desempenho durante a execução de exercícios de alta, moderada e baixa intensidade, deve-se ter um correto funcionamento dos sistemas nervoso, cardiovascular, respiratório e musculoesquelético, e assim manter e preservar a homeostasia (HYYPÄ, 2005). Apesar de esses animais terem a capacidade de gerar o aumento do consumo de oxigênio e a ventilação de forma rápida, aumentar sua capacidade de transporte de oxigênio e no início do exercício ocorre contração esplênica, eles passam por situações de estresse que ocasionam a ativação de respostas fisiológicas (HINCHCLIFF & GEOR, 2004; MELEIRO, 2006).

A mobilização das reservas energéticas é favorecida pela participação direta do sistema endócrino e sistema nervoso autônomo, que controlam a homeostasia cardiovascular e equilíbrio dos fluídos corporais. Os cavalos apresentam um melhor processo de recuperação após realização de uma atividade física, devido a essas diversas respostas fisiológicas que acontecem no seu organismo (HYYPÄ, 2005).

Quando o exercício se inicia, ocorre maior liberação de catecolaminas (noradrenalina e adrenalina), que chegam as membranas dos adipócitos e se ligam aos receptores desencadeando uma reação em cascata. Nessa reação a enzima lípase é fosforilada e se transforma na sua forma ativa. A função dessa enzima junto com a enzima monoacilglicerol lípase, é degradar os TAGs em uma molécula de glicerol e três de ácidos graxos. O glicerol após ser desligado não é utilizado mais para síntese de novos TGAs, seja no tecido adiposo ou no muscular, pois necessita da enzima glicerolquinase, que está ausente nesses tecidos. Este circula livremente pelo sangue até chegar ao fígado, onde pode participar da gliconeogênese ou agir como intermediário na glicólise na forma de gliceraldeído-3-fosfato (LIMA-SILVA et al., 2006). Já os ácidos graxos devido serem lipossolúveis, não conseguem circular livremente pela circulação sanguínea, então ligam-se a albumina sendo encaminhados posteriormente para o músculo esquelético onde serão utilizados como fonte de energia (BEITZ, 2006; LIMA-SILVA et al., 2006).

Para ocorrer a contração e relaxamento muscular, se faz necessário obter energia por meio do catabolismo do ATP (MACLEAY, 2004), o qual pode ser advindo das vias aeróbicas ou anaeróbicas, sendo produzida a medida que se torna necessária (PÖSO et al., 2004). Quando a intensidade do exercício aumenta, ocorre um aumento progressivo no metabolismo dos carboidratos e uma diminuição no metabolismo dos lipídeos, isso devido ao recrutamento das fibras rápidas e ao aumento de adrenalina na circulação sanguínea. Essas fibras são compostas por grande quantidade de enzimas glicolíticas e pouca quantidade de enzimas lipolíticas, o que explica o desvio do metabolismo das gorduras para a dos carboidratos (POWERS & HOWLEY, 2005).

Os ácidos graxos livres provenientes do tecido adiposo são a principal fonte de energia requerida na musculatura em repouso. Quando submetido a esforço moderado, a glicose sanguínea é utilizada, além dos ácidos graxos e corpos cetônicos (NELSON & COX, 2008). Com um exercício aeróbico leve de duração em média de 15 a 20 minutos, a musculatura utiliza em maior proporção a  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos livres do que a glicólise para a formação das moléculas de ATP. Na musculatura dos cavalos, há presente pequenos estoques de gordura, porém a maior parte é advinda do fígado ou tecido adiposo (MACLEAY, 2004; BRUSS, 2008).

Há um aumento progressivo da oxidação dos lipídios em atividades de baixa a moderada intensidade e com maior duração. Diferente das outras espécies, nos equinos ocorre um aumento dos triglicerídeos circulantes durante a realização do exercício. Estes são liberados pelo fígado na forma de VLDL que sofre ação da lipase, tendo como produto a liberação dos ácidos graxos para oxidação nos músculos (PÖSO et al., 2004). Em atividades com maior duração, acima de dez minutos, a energia utilizada é originária do metabolismo aeróbico. Durante o exercício, pode-se manter um estado estável da captação de oxigênio, com exceção de ambientes quentes e úmidos, e exercícios com uma taxa de trabalho relativamente alta (POWERS & HOWLEY, 2005).

A atividade física de variadas intensidades pode desencadear a indução de lesão celular e tecidual por meio da oxidação de componentes de membrana, como lipídeos, proteínas e carboidratos (DE MOFFARTS et al., 2007). A diminuição do desempenho e intolerância ao exercício são consequências do estresse oxidativo, o qual contribui para acelerar o processo de fadiga muscular (SEN & PACKER, 2000). Segundo Cazzola (2003), o exercício físico gera alto consumo de oxigênio corpóreo, o que leva a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs).

### *2.3 Radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs)*

Os radicais livres são produzidos durante processos biológicos e controlados por defesas antioxidantes. É definido como qualquer átomo ou molécula que possuem um ou mais elétrons desemparelhados (GUTTERIDGE & HALLIWELL, 2010). Sua formação ocorre principalmente nas mitocôndrias das células, por uma reação mediada pela enzima citocromo oxidase, em que o oxigênio ( $O_2$ ) sofre redução tetravalente recebendo quatro elétrons. Esta mesma enzima oxida quatro moléculas de citocromo C da cadeia transportadora de elétrons, liberando um elétron de cada uma delas que podem se ligar ao  $O_2$  e resultar na formação de água. No entanto, uma porcentagem do  $O_2$  metabolizado nas mitocôndrias é direcionado para outra via metabólica, e sofrem reação de redução univalente, dando origem aos radicais livres (KOURY & DONANGELO, 2003; DEATON & MARTIN, 2003).

Com a redução univalente, também são produzidos EROs, que são denominados como todos os radicais livres derivados ou não do oxigênio,

sendo eletronicamente instáveis, podendo reagir com vários compostos ao seu redor. Podem agir como agentes oxidantes recebendo elétrons ou como agentes redutores, ou seja, doando elétrons (AGARWAL et al., 2005). Estes estão envolvidos na produção de energia, regulação do crescimento celular, fagocitose, síntese de substâncias biológicas importantes e sinalização intercelular (VISIOLI et al., 2000).

Esses radicais derivados do oxigênio participam de muitos processos metabólicos, quando apresentam baixas concentrações, realizam o transporte de elétrons na cadeia respiratória, atuando como moléculas sinalizadoras (DOWNLING & SIMMONS, 2009). Entretanto, quando há um excesso na sua produção, ou diminuição dos agentes antioxidantes no organismo, eles passam a exercer um efeito prejudicial, instituindo-se o estresse oxidativo, que envolve a lipoperoxidação das membranas celulares e lesões teciduais (YONEZAWA et al., 2010). Existem três tipos principais de EROs: hidroxila ( $\text{OH}^\circ$ ), superóxido ( $\text{O}^{2-}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (ANDRADE et al., 2010).

O radical  $\text{OH}^\circ$  reage com compostos orgânicos que são necessários para a integridade e função dos organismos vivos, como as biomoléculas, provocando danos oxidativos, sendo os lipídeos os mais suscetíveis. É capaz de causar mais danos do que qualquer outro ERO, por isso é considerado o radical livre mais reativo. Sua formação ocorre a partir do peróxido de hidrogênio, em que os íons ferro ( $\text{Fe}^{++}$ ) ou cobre ( $\text{Cu}^+$ ) catalisam a reação, denominada como Fenton (MAIA, 2006). Também podem ser produzidos nas células da pele por meio da incidência da radiação ultravioleta, raios gama e raios X. Os danos intensivos e frequentes desse radical podem gerar mutações no DNA (BARREIROS et al., 2006) e dar início a lipoperoxidação (ANDRADE et al., 2010).

O radical  $\text{O}^{2-}$  é produzido com a adição de um elétron a partir do oxigênio molecular. Essa reação ocorre de forma espontânea em quase todas as células aeróbicas, principalmente na membrana mitocondrial, durante a respiração celular. É considerado um radical com baixa reatividade, agindo apenas no local onde é formado, desprovido da capacidade de penetrar em membranas lipídicas (NORDBERG & ARNÉR, 2001). Este radical participa de processos químicos importantes, dentre eles a formação do radical  $\text{HO}^\circ$  e na proteção contra infecções causadas por vírus, bactérias e fungos. *In vivo* é

gerado por fagócitos ou linfócitos e fibroblastos durante o processo inflamatório, com objetivo de combater corpos estranhos (BARREIROS et al., 2006).

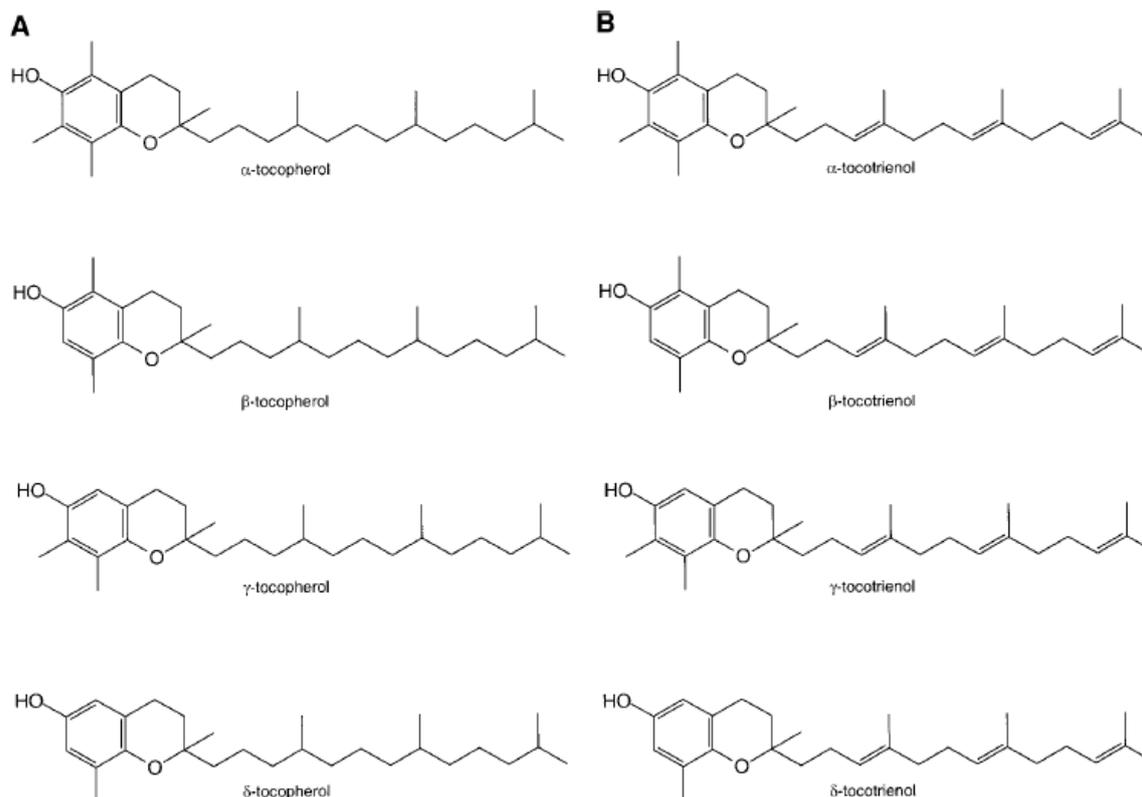
O peróxido de hidrogênio não é considerado um radical livre propriamente dito, e sim um metabólito do oxigênio com forte potencial deletério, devido sua ação intermediária na reação que produz o radical hidroxila. Este é capaz de penetrar em membranas biológicas e possui vida longa (NORDBERG & ARNÉR, 2001; MAIA, 2006).

O organismo dos animais tem a capacidade de se adaptar a diversos níveis de estresse para recuperar a homeostase. No processo de respiração, à medida que o  $O_2$  é utilizado, ocorre simultaneamente a produção de um sistema antioxidante com o objetivo de proteger as células da toxicidade desse gás, uma vez que o metabolismo aeróbico gera radicais livres (DROGE, 2002).

#### 2.4 Vitamina “E”

A vitamina “E” é constituída por uma família de oito compostos lipossolúveis sendo divididos em dois grupos: quatro tocoferóis principais ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) e por quatro tocotrienóis (também divididos em  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), sendo o alfa tocoferol o mais ativo e mais abundante na natureza (SCHNEIDER, 2005). Vários estudos comprovam que sua principal função no organismo é atuar como antioxidante (KONGKHAM et al., 2013; YURDAKUL et al., 2010; RYAN et al., 2010), prevenindo a oxidação de lipídeos e levando ao prolongamento da vida biológica dos ácidos graxos poliinsaturados, que estão presentes na membrana celular e sub-celular (SINGH et al., 2005). Estas substâncias interrompem a reação radicalar em cadeia quando doam um  $H^+$  para o radical peroxila. Cada tocoferol tem capacidade de reagir com até dois radicais peroxila, se tornando irreversivelmente desativado (BARREIROS et al., 2006).

**Figura 1.** Diferentes formas da vitamina “E”.



Fonte - Brigelius-Flohé & Traber (1999).

É encontrada em todas as membranas celulares, porém sua maior quantidade está na membrana mitocondrial interna onde se localiza o sistema de transporte de elétrons (GOHIL et al., 1986). Na sua estrutura há uma cadeia lateral hidrofóbica que protege as membranas celulares contra o dano oxidativo (MAROUKA et al., 2008).

De acordo com De Moffarts et al. (2005) e Yonezawa et al. (2010), o efeito deletério da formação de EROs no organismo e o estresse oxidativo induzido após exercício em equinos, pode ser controlado com a suplementação de antioxidantes, objetivando-se proporcionar um equilíbrio entre oxidante e antioxidante, para que se obtenha um melhor desempenho atlético e bem-estar animal.

Em um estudo realizado por Ryan et al., (2010) ratos foram submetidos a exercícios repetitivos para induzir a produção de estresse oxidativo e suplementados com vitamina E e C. Foi observado que os animais jovens suplementados obtiveram maior desempenho muscular e menores lesões

oxidativas, por meio da mensuração de malondialdeído e 4-hidroxiálquenal (subprodutos da peroxidação lipídica) no músculo homogeneizado.

Na maioria dos animais domésticos, há evidências de que a suplementação com alfa tocoferol pode beneficiar o sistema imune. Estudos sugerem que este antioxidante pode ter participação ativa na sinalização intracelular e expressão gênica, controlando o estresse oxidativo e processos inflamatórios por meio da diminuição de interleucinas e fator de necrose tumoral (JIANG et al., 2008; TAHAN et al., 2011). Além disso, também foi comprovado que esta possui capacidade de proteger diferentes tipos celulares, como células placentárias, fibroblastos, astrócitos e hepatócitos, com o objetivo de melhorar a viabilidade celular quando submetido a um estresse oxidativo (GALLO et al., 2010; MAKPOL et al., 2010).

A vitamina E é absorvida nas células intestinais juntamente com a absorção dos lipídeos. Em dietas com baixo teor de gordura, sua absorção é reduzida (MUSTACICH et al., 2007). Após absorvida, dentro dos enterócitos é incorporada aos quilomícrons que alcançam a corrente sanguínea, onde pode sofrer ação da lipase e ser encaminhada para diversas células e órgãos (STAHL et al., 2002). Nesse processo alguns tocoferóis também são transferidos para o HDL, sendo os fosfolipídios catalisadores desta reação (KOSTNER et al., 1995).

Existe uma variedade de formulações de vitamina E para suplementar equinos, sendo encontrados na forma sintética e natural. Há dois tipos de formulação sintética, o all-rac- $\alpha$ -tocopherol e o dl- $\alpha$ -tocopherol, e a formulação natural mais comum o RRR- $\alpha$ -tocopherol (FINNO & VALBERG et al., 2012). A diferença entre elas foi demonstrada nos cavalos, em que as concentrações do alfa tocoferol no fluido cérebro espinhal, assim como no plasma, foram significativamente maiores do que valores basais com a suplementação da vitamina E natural, ao contrário do que ocorreu após suplementação com a forma sintética, mesmo em doses elevadas (10.000 UI/ 500 kg cavalo/ dia) (PUSTERLA et al., 2010).

### *2.5 O cavalo condicionado ao esforço físico*

Evolutivamente os cavalos mais resistentes e velozes foram selecionados de acordo com as exigências do meio, como a necessidade de

fugir de predadores e percorrer longas distâncias para encontrar água e comida. O desempenho atlético desses animais ocorre devido a vários fatores fisiológicos da espécie equina, como alta capacidade aeróbica, grande número de mitocôndrias nos músculos, elevado estoque de glicogênio intramuscular, habilidade de contração esplênica no início do exercício e consequente aumento da capacidade de carrear mais oxigênio na circulação, eficiência na locomoção e eficiente termoregulação (HINCHCLIFF & GEOR, 2004).

A seleção das raças proporcionou uma variedade de atividades desenvolvidas por esses animais, de acordo com suas aptidões. Para atividade como transporte, pastoreio e esportes, que exigiam resistência e velocidade foram selecionados cavalos mais leves. Cavalos que percorrem altas velocidades (63 km/h) por distâncias de 800 a 500 metros, foram denominados Puros-Sangues. Os Árabes alcançam mais de 160 km em um dia nas competições de enduro, e os Quartos de Milha fazem provas de tiros percorrendo 400 metros ou menos atingindo velocidades de 88 km/h (HINCHCLIFF & GEOR, 2004).

Nos grandes centros de treinamento, os cavalos são confinados durante grande parte do tempo e possuem uma rotina de exercícios pré-estabelecida, sendo designados a competições e submetidos a situações de estresse, diferente do que ocorria no ambiente selvagem que viviam. Então, considerou-se a possibilidade do cavalo de corrida ser submetido a algumas situações de estresse que podem afetar sua performance, saúde e bem estar (MELEIRO, 2006).

Diversas raças de equinos participam de competições esportivas que vêm crescendo por todo país, como hipismo, enduros, vaquejadas, rodeios, pólo e salto. Devido a esse crescimento na atividade equestre, mais pesquisas em equinos precisam ser desenvolvidas pelas universidades e centros de pesquisa no Brasil. Parte desses estudos é realizada utilizando esteira rolante de alto desempenho, para garantir uniformidade do tipo de superfície que entra em contato com o casco do animal, nos ciclos dos andamentos e controle da velocidade e das condições ambientais (CHRISTOVÃO et al., 2007). As respostas metabólicas e musculares esqueléticas obtidas após realização do esforço físico, sob condições laboratoriais controladas, com uso de esteira

rolante, podem ser úteis para diversas pesquisas relacionadas ao desempenho esportivo dos cavalos (FERRAZ, 2006).

Muitos estudos ainda precisam ser desenvolvidos para proporcionar melhorias nas atividades equestres, buscando aumento do desempenho junto com bem estar animal. Hoje há poucas pesquisas sobre triglicerídeos em equinos e sua associação com antioxidantes, levando assim a elaboração desta pesquisa.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Animais

O trabalho foi realizado sob a aprovação do comitê de ética com o protocolo n°128/2009 CEUA/ UNESP – Botucatu.

Utilizou-se 10 equinos, sendo cinco da raça Puro Sangue Árabe e cinco da raça Crioula, mantidos em piquetes do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, sob as mesmas condições de manejo alimentar e sanitário, sendo constituído do manejo nutricional a base de feno de capim *cost-cross (Cynodon dactylon)*, 2kg de ração comercial para equinos (Royal Horse Esporte, Socil, Paulinia, SP, Brasil), oferecida uma vez ao dia e 30g de suplemento mineral (Equifós, Matsuda, SP, Brasil) misturada a ração, conforme recomendação de Lewis (LEWIS, 2000) e água *ad libitum*. Os animais estavam sem treinamento físico por mais de um ano, com idade variando de oito a dez anos, e peso médio de  $372,1 \pm 32,9$  kg, foram considerados hígidos mediante exame hematológico e bioquímico sérico prévio.

#### 3.2 Delineamento experimental

Os equinos foram submetidos a um teste padrão de exercício progressivo em esteira de alta velocidade (Mustang 2200 AG, Kagra, Suíça) inclinada a 6%, da qual a velocidade é elevada gradualmente, com o protocolo de exercício proposto por Watanabe et al. (2009). Utilizou-se a máscara de análise de trocas gasosas e dados ventilatórios (Metavet, Cortex, Alemanha), para se extrair a carga de trabalho para cada equino, com base no consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2m\acute{a}x}$ ) (Watanabe et al., 2009), sendo o valor médio dos animais de  $110,4 \pm 20,4$  mL/kg/min.

Após 14 dias do teste progressivo, os equinos foram submetidos ao teste de baixa intensidade e longa duração (TLD1). O teste, considerado de exercício predominantemente aeróbico (concentração de lactato inferior a 4mmol/L), foi realizado com a esteira inclinada a 6%, à velocidade de 35% do

$VO_{2\text{máx}}$  de cada animal pelo período de 60 min (PRINCE et al., 2002), correspondendo a uma velocidade média de  $2,3 \pm 0,5$  m/s.

A suplementação da vitamina E (dl-alfa-tocoferol) dos animais teve início logo após o teste TLD1, na dose de 1.000 UI/animal (Nutrient Requirements of Horses, 2007), por meio de cápsulas gelatinosas (E-tabs 1000 UI, Sigma Pharma, Hortolândia, Brasil) misturadas a raspas de rapadura, por via oral, diariamente e sem interrupção até o final do experimento. Após 59 dias do início da suplementação, os equinos realizaram o segundo teste (TLD2) com o mesmo protocolo de TLD1. A temperatura e a umidade relativa do ar do salão do Centro de Medicina Esportiva Equina da Unesp de Botucatu, onde os testes foram realizados, variou de 17,0 a 20,6 °C e 66 a 81%, respectivamente.

### *3.3 Colheita e processamento das amostras*

As coletas de sangue foram realizadas antes do teste (M0), imediatamente após o exercício (PE) e nos tempos 6h, 12h, 48h, 72h e 96h subsequentes, sendo armazenadas em tubos contendo ativador da coagulação para obtenção de soro e foram imediatamente separados e congelados a -80°C até serem processadas.

Foi então, realizado a dosagem em duplicata dos triglicerídeos séricos por meio de kit comercial (Bioclin®, teste enzimático) em analisador bioquímico semi-automático, da marca Mindray®, modelo BA-88A, no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária localizado no campus Boa Vista da Universidade Vila Velha.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias de cada característica comparadas pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade, sendo utilizado o programa Genes®.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira fase do experimento, sem suplementação com o antioxidante, o valor médio de triglicerídeos dos equinos antes de serem submetidos ao exercício em esteira (M0) encontra-se dentro do intervalo de normalidade (5,3 a 54,0 mg/dL) (ROBINSON, 2003). Já os equinos suplementados apresentaram um valor basal discretamente acima do valor máximo considerado normal e um valor significativamente maior do que os animais não suplementados.

Notou-se que em TLD1, no momento PE, a concentração sérica de triglicerídeos teve um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1). No estudo de Orozco et al. (2007), cujos animais foram submetidos a treinamento a campo e testes em esteira, sendo realizado coletas de sangue antes e após o exercício, também obteve-se o mesmo comportamento imediatamente após o esforço físico. O mesmo resultado foi observado no estudo de Coelho et al. (2011), no qual os cavalos realizaram marcha cadenciada a campo durante quarenta minutos. Mesmo com estes resultados, o aumento nas concentrações de triglicerídeos não ultrapassou o valor normal considerado para a espécie (ROBINSON, 2003). Este aumento de triglicérides imediatamente após a atividade ocorre devido a um bloqueio na ação da insulina e ao efeito hiperglicemiante gerado pelas catecolaminas e cortisol circulantes, gerando um balanço energético negativo, havendo lipólise e mobilização de outras fontes energéticas (DUGAT et al., 2010), para que ocorra uma produção de energia eficiente, levando a manutenção adequada dos esforços musculares (MIRCEAN et al., 2007).

Ainda nesta primeira fase, após 6 horas da realização da atividade, obteve-se a menor média, sendo considerado diferente significativamente de todos os outros momentos dosados, mas permanecendo dentro do intervalo de normalidade (ROBINSON, 2003). Observou-se uma elevação progressiva nos valores de triglicerídeos a partir do momento 12h até 96h, sendo este último a maior média encontrada. De acordo com Hyyppä (2005), nas horas pós-exercício, a normalização das concentrações de lipídeos é lenta, decorrente ao retorno da liberação de insulina na circulação sanguínea, levando a inibição da

lipólise, o que pode explicar os níveis elevados de triglicerídeos após 24 horas até o momento 96h depois da realização do teste. Dunnett et al. (2002), também cita que durante o exercício físico os triglicerídeos fazem parte das reservas energéticas que são utilizadas pelo organismo, ocorrendo o seu aumento gradativo, o que corrobora com os achados dessa pesquisa. Isso pode ser justificado pelo fato de que os lipídeos passam pelo processo de catabolismo celular por ação da enzima lipase, dando origem ao glicerol e ácidos graxos livres como fontes de energia (BERGERO et al., 2005).

Com a suplementação da vitamina “E” (TLD2) a concentração de triglicérides obteve o mesmo comportamento que TLD1. Houve um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no momento PE no qual atingiu o valor máximo e ultrapassou ao intervalo de normalidade, citado por Robinson (2003). Em seguida houve diminuição dos valores nos momentos 6h e 12h, e a partir de 24h elevou-se gradativamente nos momentos subsequentes até atingir um valor próximo ao inicial (figura 2).

De acordo com os resultados analisados, podemos considerar que a resposta do organismo dos animais com ou sem a suplementação, apresentou comportamento semelhantes, visto que em ambos os casos: a resposta no momento PE é maior que o M0, tendo uma diminuição no momento subsequente, com um período de manutenção de valores e retornando aos níveis iniciais mantendo-se estável. Contudo, todos os momentos dosados em TLD2 obtiveram valores de triglicerídeos maiores que TLD1, porém pode-se sugerir que neste protocolo de exercício a ação da vitamina nos triglicerídeos ocorreu apenas até 12 horas, pois a partir deste momento não foi observado diferença estatística entre TLD1 e TLD2.

Outros estudos também não encontraram resultados positivos para o uso da vitamina, como o de Meagher et al. (2001), que analisaram o efeito da vitamina “E” na peroxidação lipídica em seres humanos saudáveis. Realizaram a suplementação durante oito semanas em 30 indivíduos separados em seis grupos de cinco, sendo o primeiro placebo e os subsequentes consumindo 200, 400, 800, 1200 e 2000 UI/d da vitamina. Os grupos suplementados não obtiveram diferença do grupo placebo, sem apresentar efeito adicional do antioxidante na cadeia de peroxidação lipídica, questionando assim o efeito da vitamina “E” na diminuição dos triglicerídeos. Já Williams et al. (2004) utilizaram

cavalos que praticam enduro para avaliar a ação da vitamina “E” na peroxidação lipídica e no estresse oxidativo, e verificou que a suplementação não obteve benefícios significativos.

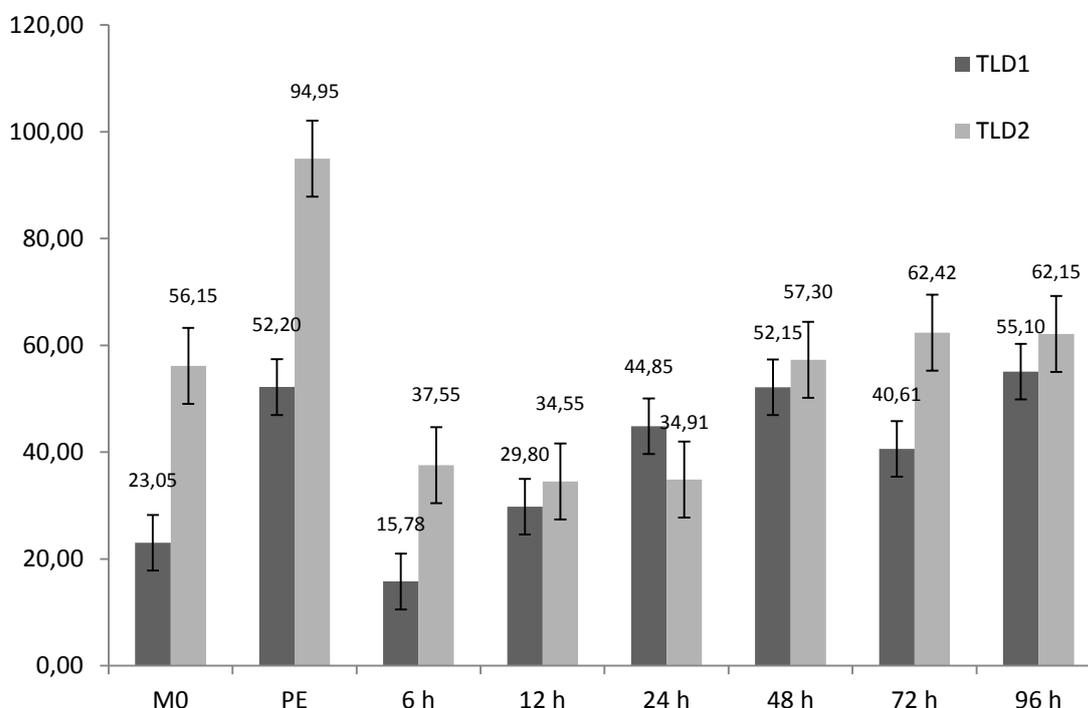
**Tabela 1.** Médias de triglicerídeos sérico ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ) em equinos submetidos a exercício físico em esteira sem e com adição de vitamina “E”.

Trat.	M0	PE	6h	12h	24h	48h	72h	96h
S/Vit E	23,05 Bbc	52,20 Ba	15,45 Bc	29,80 Aabc	44,85 Aab	52,15 Aa	40,60 Babc	55,09 Aa
C/Vit E	56,15 Abc	94,95 Aa	37,55 Abc	34,55 Ac	34,91 Ac	57,30 Abc	62,41 Ab	62,14 Ab
CV (%)	41,09	32,67	31,53	37,41	46,43	45,44	35,55	34,55

Médias seguidas da mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si em 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

M0 = triglicerídeos no repouso; PE = triglicerídeos imediatamente após o exercício; 6, 12, 24, 48, 72, 96 h = triglicerídeos em horas após o exercício.

**Figura 2.** Médias de triglicerídeos sérico em equinos antes e após submetidos a esteira, sem suplementação com vitamina “E” (TLD1) e com vitamina “E” (TLD2).



## 5. CONCLUSÃO

A concentração sérica de triglicerídeos não apresentou efeito significativo de redução após a prática do exercício de longa duração em esteira com este protocolo.

A utilização de vitamina “E” na dosagem 1.000 UI/animal, não reduziu a concentração sérica de triglicerídeos após a prática do exercício de longa duração em esteira.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, E. R.; MELO-STERZA, F. A.; SENEDA, M. M.; ALFIERI, A. A. Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na reprodução e principais mecanismos antioxidantes. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, v.34, n. 2, p. 79-85, 2010.
- AGARWAL, A.; GUPTA, S.; SHARMA, R. K. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod. Biol. Endocrinol*, v. 3, p. 28, 2005.
- AHIMA, R. S.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *Tren. Endocri, Metab*, v. 11, p. 327-32, 2000.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. *Quim. Nova*, v. 29, n. 1, 113-123, 2006.
- BEITZ, D. C. Metabolismo lipídico. In: REECE, W. O. *Dukes, fisiologia dos animais domésticos*. 12ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 477-479, 2006.
- BERG, A.; FREY, I.; BAUMSTARK, M. W.; HALLE, M.; KEUL, J. Physical activity and lipoprotein lipid disorders. *Spor. Med.*, v. 17, n.1, p.6-21, 1994.
- BERGERO, D.; ASSENZA, A.; CAOLA, G. Contribution to our knowledge of the physiology and metabolism of endurance horses. *Liv. Stoc. Produc. Scien.*, v. 92, p. 167-176, 2005.
- BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; TRABER, M. G. Vitamin E: function and metabolism. *J. FAS.*, v. 13, n. 10, p. 1145-1155, 1999.
- BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.) *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6ª ed. San Diego: Academic Press, p. 81-115, 2008.
- CAZZOLA, R.; RUSSO-VOLPE, S.; CERVATO, G.; GESTARO, B. Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. *Europ.J. of Clin. Invest*, n. 33, p. 924-930, 2003.
- CHRISTOVÃO, F. G.; BARROS, R. M. L.; FREITAS, E. V. V.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Análise cinemática tridimensional do movimento de equinos em esteira rolante. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.4, p.862-868, 2007.
- CHUN-YEN, K.; FWU-LIN, Y.; WEN-TIEN, W.; CHEN-HAN, C.; RU-PING, L.; WAN-TING, Y.; YI-MAUN, S.; KUANG-WEN, L. Vitamin D<sub>3</sub> reduces tissue damage and oxidative stress caused by exhaustive exercise. *Int. J. Med. Sci.*, v. 13, n. 2, p. 147-153, 2016.

COELHO, C. S.; GAMA, J. A. N.; LOPES, P. F. R.; SOUZA, V. R. C. Glicemia e concentrações séricas de insulina, triglicérides e cortisol em equinos da raça Mangalarga Marchador após exercício físico. *Pesq. Vet. Bras*, v. 9, p. 756-60, 2011.

COWBURN, G.; HILLSDON, M.; HANKEY, C. R. Obesity management by life-style strategies. *Br Med Bull*, v. 53, n. 2, p. 389-408, 1997.

DEATON, C. M.; MARLIN, D. J. Exercise associated oxidative stress. *Clin. Tech. Equine Pract.*, v. 2, p. 278- 291, 2003.

DOWLING, D. K.; SIMMONS, L. W. Reactive oxygen species as universal constraints in life-history evolution. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, v. 276, p. 1737-1745, 2009.

DE MOFFARTS, B.; KIRSCHVINK, N.; ART, T.; PINCEMAIL, J.; LEKEUX, P. Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidant status in trained thorough bred horses. *Veterin. Journ.*, v. 169, n. 1, p. 65-74, 2005.

DE MOFFARTS, B.; PORTIER, K.; KIRSCHVINK, N.; COUDERT, J.; FELLMAN, N.; VAN ERCK, E.; LETELLIER, C.; MOTTA, C.; PINCEMAIL, J.; ART, T.; LEKEUX, P. Effects of exercise and oral antioxidant supplementation enriched in (n -3) fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membrane fluidity in horses. *The Vet. J.*, v. 174, p. 113-121, 2007.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, v. 82, p. 47-95, 2002.

DUGAT, S. L.; TEX, T. S.; MATTHEWS, N. S.; GOLD, J. R. Values for triglycerides, insulin, cortisol and ACTH in a herd of normal donkeys. *J. Eq. Vet. Sci.*, v. 30, n. 3, p. 141-44, 2010.

DUNNETT, C. E.; MARLIN, D. J.; HARRIS, H. C. Effect of dietary lipid on response to exercise: relation ship to metabolic adaptation. *Eq. Vet. Journ.*, v. 34, p. 75-80, 2002.

FINNO, C. J.; VALBERG S. J. A comparative review of Vitamin E and associated equine disorders. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 26, p. 1251-1266, 2012.

FUCHS, C. D.; CLAUDEL, T.; KUMARI, P.; HAEMMERLE, G.; POLLHEIMER, M. J.; STOJAKOVIC, T. et al. Absence of adipose triglyceride lípase protects from hepatic endoplasmic reticulum stress in mice. *Hep.*, v. 56, n.1, p. 270-80, 2012.

FRANK, N.; GEOR, R. J.; BAILEY, S. R.; DURHAM, A. E.; JOHNSON, P. J. *Equ. Metab. Syn. J. Vet. Intern. Med.*, v.24, p.467-475, 2010.

FRANK, N. Equine Metabolic Syndrome. *Vet. Clin. Equine*, v.27, p.73-92, 2011.

GALLO, C.; RENZI, P.; LOIZZO, S.; LOIZZO, A.; PIACENTE, S.; FESTA, M. et al. Potential therapeutic effects of vitamin E and C on placental oxidative stress induced by nicotine: an in vitro evidence. *Op. Bioch. J.*, v. 4, p. 77-82, 2010.

GOHIL, K.; PACKER, L.; DE LUMEN, B.; BROOKS, G. A.; TERBLANCHE, S. E. Vitamin E deficiency and vitamin C supplements: exercise and mitochondrial oxidation. *J. Appl. Physiol.*, v. 60, p. 1989-91, 1986.

GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Bioch. Biop. Res. Com.*, v. 393, n. 4, p. 561-64, 2010.

HYYPPÄ, S. Endocrinal responses in exercising horse. *Liv. Prod. Sci.*, v. 92, p. 113-121, 2005.

HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. Equine Sports Medicine and Surgery. *Philadelphia: Saunders Elsevier*, p. 1105-1117, 2004.

JOHNSON, P. J.; WIEDMEYER, C. E.; LACARRUBBA, A.; GANJAM, V. K.; MESSER, N. T. Laminitis and the equine metabolic syndrome Veterinary. *Clin. N. Am.: Equ. Pract.*, v.26, p. 239-255, 2010.

JIANG, Q.; YIN, X.; LILL, M. A.; DANIELSON, M. L.; FREISER, H.; HUANG, J. Long-chain carboxychromanols, metabolites of vitamin E, are potent inhibitors of cyclooxygenases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, v. 105, n. 51, p. 20464-9, 2008.

KARIKOSKI, N.P.; HORN, I.; MCGOWAN, T.W. et al. The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine hospital. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.41, p.111-117, 2011.

KEMPEN, K. P.; SARIS, W. H.; WESTERTERP, K. R. Energy balance during an 8-wk energy-restricted diet with and without exercise in obese women. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 62, n. 64, 1995.

KOSTNER, G. M.; OETTL, K.; JAUHAINEN, M.; EHNHOLM, C.; ESTERBAUER, H.; DIEPLINGER, H. Human plasma phospholipid transfer protein accelerates exchange/transfer of alpha-tocopherol between lipoproteins and cells. *Bioc. J.*, v. 305, p. 659-667, 1995.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Rev Nutr.*, v. 16, n. 4, p. 433-41, 2003.

KOZLOSKI, G. V. Bioquímica dos ruminantes. 2ª ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, p, 216, 2009.

LASAR, D.; JULIUS, A.; FROMME, T.; KLINGENSPOR, M. Browning attenuates murine white adipose tissue expansion during postnatal development. *Bioc. Biop.*, v. 1831, n. 5, p. 960-968, 2013.

LIMA-SILVA, A. E.; ADAMI, F.; NAKAMURA, F. Y.; OLIVEIRA, F. R.; GEVAERD, M. S. Metabolismo de gordura durante o exercício físico: mecanismos de regulação. *Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum*, v. 8, n. 4, p. 106-114, 2006.

CAMBRI, L. T.; DE SOUZA, M.; MANNRICH, G.; DA CRUZ, R. O.; GEVAERD, M. D. S. Perfil lipídico, dislipidemias e exercícios físicos. *Rev. Bra. de Cineantrop. & Desem. Hum.*, v. 8, n. 3, p. 100-106, 2006.

LEWIS, L. D. *Nutrição Clínica Equina: Alimentação e cuidados*. São Paulo: Roca, p. 710, 2000.

LUCK, M. M.; LE MOYEC, L.; BARREY, E.; TRIBA, M. N.; BOUCHEMAL, N.; SAVARIN, P.; ROBERT, C. Energetics of endurance exercise in young horses determined by nuclear magnetic resonance metabolomics. *Fron. Phys.*, v. 6, p. 198, 2015.

MACLEAY, J. M. Diseases of the musculoskeletal system. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELLON, D. C. *Equine Internal Medicine*. 3ª ed., St. Louis: W. B. Saunders Company, p. 461- 522, 2004.

MAIA, M. S. *Viabilidade espermática e geração de metabólitos Reativos do Oxigênio (ROS) no semen ovino criopreservado em diluidor aditivado de Lauril Sulfato de Sódio (OEP), Trolox-C e Catalase*. Botucatu, SP: UNESP, 2006. 147 p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2006.

MAKPOL, S.; ZAINUDDIN, A.; RAHIM, N. A.; YUSOF, Y. A.; NGAH, W. Z. Alpha-tocopherol modulates hydrogen peroxide-induced DNA damage and telomere shortening of human skin fibroblasts derived from differently aged individuals. *Plan. Med.*, v. 76, n. 9, p. 869-75, 2010.

MAROUKA, N.; MURATA, T.; OMATA, N.; TAKASHIMA, Y.; FUJIBAYASHI, Y.; WADA, Y. Effects of vitamin E supplementation on plasma membrane permeabilization and fluidization induced by chlorpromazine in the rat brain. *J. Psychophar.*, v. 22, n. 2, p. 119-127, 2008.

MATTÁR, J. A. Radicais livres e uso de antioxidantes no doente grave. 2003 [cited 2015 May 3]. Available from: <http://www.sti-hspe.com.br/antioxidantescompletoboletimjulho2003.pdf> Portuguese.

MCKENZIE, E. Muscle physiology and nutrition in exercising horses. *Equ. Vet. J.*, v. 43, p. 637-639, 2011a.

MCKENZIE, H. C. Equine Hyperlipidemias. *Vet. Clin. Equ.*, v. 27, p. 59-72, 2011b.

MEAGHER, E. A.; BARRY, O. P.; LAWSON, J. A.; ROKACH, J.; FITZGERALD, G. A. Effects of Vitamin E on Lipid Peroxidation in Healthy Persons. *Journ. of the Ame. Med. Ass.*, v. 285, n. 9, p. 1178-1182, 2001.

MELEIRO, M. C. Z. *A influencia do estresse experimentado por cavalos de corrida, em determinados momentos de sua rotina, sobre a função imune in vitro*. São Paulo, SP: USP, 2006. 108 p. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres - Universidade de São Paulo, 2006.

MIRCEAN, M.; GIURGIU, G.; MIRCEAN, V.; ZINVELIUN, E. Serum cortisol variation of sport horses in relation with the level of training and effort intensity. *Bulletin USAMV-CN.*, v. 64, p. 488-92, 2007.

MOTTA, V. T. *Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações*. 4ª ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, p. 121-134, 2003.

MURRAY, R. K.; HARPER, H. A. *Harper's Biochemistry*. 23ª ed. London: Prentice Hall, p. 806, 1993.

MUSTACICH, D. J.; BRUNO, R. S.; TRABER, M. G. Vitamin E. *Vitam. Horm.*, v. 76, p. 1-21, 2007.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lipid biosynthesis. In: *Lehninger: Principles of Biochemistry*. 5ª ed., New York: W. H Freeman and Company, p. 805-850, 2008.

NORDBERG, J.; ÁRNER, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Fre. Radic. Bio. Med.*, v.31, p.1287-1312, 2001.

Nutrient Requirements of Horses. 2007 [cited 2015 Oct 30]. Available from: <http://nrc88.nas.edu/nrh/>.

OGURA, S.; SHIMOSAWA, T. Oxidative stress and organ damages. *Curr. Hypert. Rep.*, v. 16, p. 452, 2014.

OROZCO, C. A. G.; MARTINS, C. B.; COMIDE, L. M. W.; QUEIROZ-NETO, A.; LACERDA-NETO, J. C. Alteraciones metabólicas durante entrenamiento en equinos de la Raza Pura Sangre Árabe. *Rev. Med. Vet.*, v. 13, p. 77-82, 2007.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídios. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Eds.) *Nutrição de Ruminantes*. 2ª ed. Jaboticabal: FUNEP, cap.10, p. 299-322, 2011.

PAZ, C. F. R.; PAGANELA, J. C.; DOS SANTOS, C. A.; NOGUEIRA, C. E. W.; FALEIROSET, R. R. Relação entre obesidade, insulina plasmática e posicionamento da falange distal em equinos da raça crioula. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, p. 1699-1705, 2013.

PERUGINI, C.; BAGNATI, M.; CAU, C.; BORDONE, R.; ZOPPIS, E.; PAFFONI, P. et al. Distribution of lipid-soluble antioxidants in lipoproteins from healthy subjects. I. Correlation with plasma antioxidant levels and composition of lipoproteins. *Pharm. Res.*, v. 31, p. 55-65, 2000.

PRINCE, A.; GEOR, R.; HARRIS, P.; HOEKSTRA, K.; GARDNER, S.; HUDSON, C.; PAGAN, J. Comparison of the metabolic responses of trained Arabians and Thoroughbreds during high- and low-intensity exercise. *Equi. Vet. J.*, v. 34, p. 95-99, 2002.

PÖSÖ, A. R.; HYYPPÄ, S.; GEOR, R. J. Metabolic response to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. *Equine Sports Medicine and Surgery*. Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 771-792, 2004.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. Metabolismo do Exercício. In: *Fisiologia do Exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e desempenho*. 5ª ed. São Paulo: Manole, p. 50-70, 2005.

PUSTERLA, N.; PUSCHNER, B.; STEIDL, S.; COLLIER, J.; KANE, E.; STUART, R. L. Alpha-tocopherol concentrations in equine serum and cerebrospinal fluid after vitamin E supplementation. *Vet. Rec.*, v. 166, p. 366-368, 2010.

RACETTE, S. R.; SCHOELLER, D. A.; KUSHNER, R. F.; NEIL, K. M. Exercise enhances dietary compliance during moderate energy restriction in obese women. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 62, p. 345-349, 1995.

RADAK, Z.; ZHAO, Z.; KOLTAI, E.; OHNO, H.; ATALAY, M. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. *Antiox. Red. Sig.*, v. 18, p. 1208-46, 2013.

VISIOLI, F.; BORSANI, L.; GALLI, C. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovasc. Res.*, v. 47, p. 409, 2000.

ROBINSON, E. N. *Current Therapy in Equine Medicine*. 5ª ed. St. Louis: Saunders, p. 960, 2003.

RYAN, M. J.; DUDASH, H. J.; DOCHERTY, M.; GERONILLA, K. B.; BAKER, B. A.; HAFF, G. G. et al. Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress, improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats. *Exp. Gerontol.*, v. 45, p. 882-95, 2010.

SCHNEIDER, C. Chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. F. Res.*, v. 49, p. 7-30, 2005.

SINGH, U.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *An. Ver. Nutr.*, v. 25, p. 151-74, 2005.

STAHL, W.; VAN, D. E. N.; BERG, H.; ARTHUR, J.; et al. Bioavailability and metabolism. *Mol. Aspec. Med.*, v. 23, p. 39-100, 2002.

STANTON, T.; HALUSKA, B. A.; LEANO, R.; MARWICK, T. H. Hemodynamic benefit of rest and exercise optimization of cardiac resynchronization therapy. *Echocard.*, v. 31, p. 980-988, 2014.

KONGKHAM, S.; SRIWONG, S.; TASANARONG, A.. Protective effect of alpha tocoferol on contrast-induced nephropathy in rats. *Rev. Nefro.*, v. 33, p. 116-23, 2013.

TAHAN, G.; AYTAC, E.; AYTEKIN, H.; GUNDUZ, F.; DOGUSOY, G.; AYDIN, S. et al. Vitamin E has dual effect of antiinflammatory and antioxidante activities in acetic acid induced ulcerative colitis in rats. *Can. J. Surg.*, v. 54, p. 333-8, 2011.

WATANABE, M. J.; SILVEIRA, V. F.; MACHADO, L. P.; YONEZAWA, L. A.; KOHAYAGAWA, A.; THOMASSIAN, A. Aplicação da espirometria durante teste padrão de exercício progressivo em esteira para avaliação da troca gasosa respiratória de equinos da raça Árabe. *Archi. of Vet. Sci.*, v. 14, p. 17-24, 2009.

WILLIAMS, C. A.; KRONFELDT, D. S.; HESS, T. M.; SAKER, K. E.; WALDRON, J. N.; CRANDELL, K. M. et al. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. *Journ. of Ani. Sci.*, v. 82, p. 588-594, 2004.

YONEZAWA, L. A.; MACHADO, L. P.; SILVEIRA, V. F.; WATANABE, M. J.; SAITO, M. E.; KITAMURA, S. S.; KOHAYAGAWA, A. Malondialdeído e troponina I cardíaca em equinos da raça Puro Sangue Árabe submetidos ao exercício e à suplementação com vitamina E. *Rev. Cienc. Rural*, v.40, p.1321-1326, 2010.

YURDAKUL, T.; KULAKSIZOGLU, H.; PISKIN, M. M.; AVUNDUK, M. C.; ERTEMLI, E.; GOKÇE, G. et al. Combination antioxidante effect of  $\alpha$ -tocopherol and erdosteine in ischemia reperfusion injury in rat model. *Int. Urol. Nephrol.*, v. 42, p. 647-55, 2010.