

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



TESE

**Avaliação Clínico e Metabólica de Equinos Crioulos
Atletas**

Lorena Alvariza Amaral

Pelotas, 2014

LORENA ALVARIZA AMARAL

Avaliação Clínica e Metabólica de Equinos Crioulos Atletas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (Área do conhecimento: Sanidade Animal).

Orientador: Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira

Pelotas, 2014

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

A111a Amaral, Lorena Alvariza

Avaliação clínica e metabólica de equinos crioulos atletas / Lorena Alvariza Amaral ; Carlos Eduardo Wayne Nogueira, orientador. — Pelotas, 2014.

40 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Proteínas de fase aguda. 2. Exercício. 3. Obesidade. 4. Osteoartrite. I. Nogueira, Carlos Eduardo Wayne, orient. II. Título.

CDD : 636.1

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Banca examinadora:

Prof. PhD Flávio De La Corte

Prof. Dr. Márcio Nunes Corrêa

Prof. Dr. Charles Ferreira Martins

Agradecimentos

À Deus, pela vida, pela saúde, pela paciência e perseverança. Por me fazer cair quando me senti suficiente e me fazer levantar quando perdi a confiança.

À minha família, pela educação e por não poupar esforços para ajudar a realizar meus sonhos, pela confiança e incentivo.

As amigas Bruna, Ilusca e Cláudia por todo apoio e ajuda, com certeza sem os esforços delas esse momento não seria possível.

A Millie, pela paciência, amizade e companheirismo durante todos esses anos e por me confiar a responsabilidade de fazer parte da vida do João!

A equipe Albeitar, Cassiano, Lucas e Eduardo pelo apoio e momentos impagáveis de convivência e trabalho.

Ao meu orientador, Carlos Eduardo Wayne Nogueira, por confiar e acreditar em minha capacidade técnica durante esses sete anos de pós-graduação. Agradeço à todos os momentos, fácil e difícil pois foi através dessa experiente nos tornamos mais sensatos e profissionais. Se hoje estou aqui foi graças às oportunidades que me concedestes.

A todo o ClinEq, ao Prof. Charles e Profa. Bruna por estarem sempre a disposição para agregar tanto em força de trabalho quanto em conhecimento técnico.

Ao Carlos por me fazer feliz, por ser a pessoa que me faz crescer cada dia, me faz ter coragem e não fugir das dificuldades. Fostes o maior presente que Deus pode me conceder.

Resumo

AMARAL, Lorena Alvariza. **Avaliação Clínico e Metabólica de Equinos Crioulos Atletas**. 2014. 40f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A pesquisa por marcadores precoces de inflamação tem sido o foco na medicina humana e veterinária durante as últimas décadas. Acredita-se que tanto o exercício físico quanto a obesidade sejam capazes de gerar a reação de fase aguda. O primeiro estudo teve como objetivo caracterizar a reação de fase aguda e sua relação com desempenho de cavalos submetidos a uma competição de longa distância. Foram avaliados 23 equinos os quais foram divididos em dois grupos sendo o grupo 1 composto pelos 10 primeiros colocados na competição e o grupo 2 composto pelos 13 animais que concluíram a competição em colocações inferiores. Foram efetuadas coletas sanguíneas em repouso (dia 0) e no ultimo dia de competição e foram realizados o teste de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). Os resultados demonstraram que o exercício físico imposto influenciou de forma significativa ($p < 0,0001$) as concentrações séricas das proteínas inflamatórias. A haptoglobina foi superior nos animais com baixo desempenho. Conclui-se que o exercício prolongado é capaz de gerar reação de fase aguda e que o monitoramento da concentração de haptoglobina pode ser um sinalizador de processo inflamatório e baixo desempenho. O segundo estudo teve como objetivo associar a adiposidade corporal e a forma de criação de potros com o perfil energético sanguíneo, as concentrações sanguíneas de proteínas inflamatórias e lesões osteoarticulares no tarso comparando animais criados em regimes intensivo ou extensivo. Foram avaliados 40 potros com 18 meses de idade da raça crioula, sendo 20 animais criados em sistema extensivo e 20 animais em sistema intensivo. Foram efetuadas avaliação bioquímica e eletroforese proteica. Foram efetuadas a mensuração de acumulo de gordura através de ultrassonografia e estudo radiológico da região por tarso. Foi observado maiores níveis de colesterol total e LDL, glicemia, amiloide A sérica, transferina, haptoglobina, glicoproteína acida e proteína de 23Kda não identificada no animais do grupo intensivo com relação aos do grupo extensivo. Em 100% dos animais do grupo intensivo foram observados lesões articulares enquanto 23% dos animais do grupo extensivo apresentaram tais alterações. No teste de Fisher foi observado que os animais do grupo intensivo apresentaram 105% mais chance de desenvolver osteoartrite que os animais do grupo extensivo. Ainda, no teste de Pearson foi observada correlação positiva entre a gordura na crista do pescoço com o grau de comprometimento articular. Conclui-se que tanto o exercício quanto o sobre peso foram capazes de gerar uma reação de fase aguda, sendo que durante o exercício prolongado a haptoglobina apresentou relação com o desempenho dos animais. Já os potros em criação intensiva, além da reação de fase aguda, foi observada elevada incidência de osteoartrite juvenil e alterações no metabolismo energético.

Palavras-chave: Proteínas de fase aguda. Exercício. Obesidade. Osteoartrite.

Abstract

AMARAL, Lorena Alvariza. **Avaliação Clínico e Metabólica de Equinos Crioulos Atletas**. 2014. 40f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The search for early markers of inflammation has been the focus in human and veterinary medicine during the last decades. To determine the value of the measurement of proteins in the situations described, two studies were conducted. It is believed that both the physical exercise as obesity can generate an acute phase reaction. The first study aimed to characterize the acute phase reaction and its relation to performance of horses subjected to long distance competition. Was developed during the March of Resistance of Crioulo horses, consisting of a route of 750 km traveled. Were evaluated 23 horses, of wich were divided into two groups, with the first group consisting of the top 10 in the competition and the second group comprises the 13 animals that completed the competition in lower positions. Blood samples were collected at rest (day 0) and on the last day of competition and testing polyacrylamide electrophoresis (SDS-PAGE) gel were performed. The results showed that imposed physical exercise influenced significantly ($p < 0.0001$) in serum concentrations of haptoglobin, ceruloplasmin, immunoglobulin A, acid glycoprotein and the protein with molecular weight of 23 kDa. Haptoglobin was higher in animals with low performance. The second study aimed to associate adiposity and the shape of creation of foals with blood energy profile, blood concentrations of inflammatory proteins and osteoarticular lesions in the tarsus comparing animals raised in intensive or extensive regimes. Were evaluated 40 Crioulo foals at 18 months old, 20 animals kept in extensive systems and 20 animals in intensive system. Protein electrophoresis and biochemical evaluation were performed. Measurement of fat accumulation were made by ultrasound and radiological study of the tarsus region. Higher levels of total cholesterol and LDL, blood glucose, serum amyloid A, transferrin, haptoglobin, acid glycoprotein and unidentified protein 23Kda of animals in the intensive group compared to the extensive group was observed. The intensive group also showed greater deposit of fat in the crest of the neck, retroperitoneal area and base of the tail region. In 100% of the animals in the intensive group were observed lesions compatible with juvenile osteoarthritis while 23% of the animals in extensive group showed such changes. In Fisher's exact test was observed that the animals in the intensive group had 105% more likely to develop osteoarthritis than animals from extensive group. Still, the Pearson test positive correlation between fat on the crest of the neck with the degree of joint involvement of foals was observed. We conclude that both the exercise and the overweight were able to generate an acute phase reaction, and during prolonged exercise haptoglobin were related to animal performance. Already foals in intensive farming, besides the acute phase reaction, high incidence of juvenile osteoarthritis and changes in energy metabolism was observed.

Keywords: Acute phase proteins. Exercise. Obesity. Osteoarthritis.

Lista de Tabelas

ARTIGO 1 Reação de fase aguda e sua relação com desempenho de cavalos em competição de longa distância

- Tabela 1 Valores médios (\pm erro padrão da média) e percentagem de elevação das proteínas inflamatórias avaliadas antes e após a competição.19
- Tabela 2 Valores médios (\pm erro padrão da média) das proteínas inflamatórias do grupo 1 e 2 avaliadas antes e após a competição.20

ARTIGO 2 Relação entre adiposidade, perfil energético, proteínas inflamatórias e lesões osteoarticulares em equinos jovens sobre diferentes sistemas de criação

- Tabela 1 Escores de lesões radiográficas sugestivas de osteoartrite juvenil.....28
- Tabela 2 Valores médios das variáveis avaliadas nos potros submetidos ao sistema de criação intensivo e extensivo29
- Tabela 3 Espessura da gordura acumulada na crista do pescoço, região retroperitoneal e na base da cauda nos animais criados em sistema intensivo e extensivo.....29
- Tabela 4 Classificação das articulações em relação aos achados radiográficos indicativos de osteoartrite nos potros submetidos ao sistema de criação intensivo e extensivo30

Lista de Figuras

ARTIGO 2 Relação entre adiposidade, perfil energético, proteínas inflamatórias e lesões osteoarticulares em equinos jovens sobre diferentes sistemas de criação

- Figura 1 Imagem radiológica da região do tarso esquerdo de um potro em criação extensivo. Sem alteração articular.....30
- Figura 2 Imagem radiológica da região do tarso esquerdo de um potro em criação intensiva. Presença de osteófito caracterizando osteoartrite juvenil30

Lista de Abreviaturas

ABCCC- Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos

AGL – Ácidos Graxos Livres

Da - Dálton

PFAs- Proteínas de Fase Aguda

IgA - Imunoglobulina A

IgG - Imunoglobulina G

kDa - Kilo Dálton

mEq/L - Mili Equivalente por litro

mg/dL - Miligramas por decilitro

mL - Mililitro

mm – Milimetro

UI/L - Unidade internacional por litro

IL-1-Interleucina 1

IL-6- Interleucina 6

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral

Sumário

1. Introdução.....	10
2. Objetivos.....	13
3. Artigos	14
3.1 Artigo 1.....	14
3.2 Artigo 2.....	25
4. Conclusão Geral.....	34
5. Referências Bibliográficas.....	35

1 INTRODUÇÃO

A equinocultura no país está em uma fase de exponencial crescimento e valorização. A raça Crioula é responsável por grande parte dessa situação, juntamente com o Mangalarga Marchador, foram as raças que mais difundiram criações no Brasil e América do Sul nos últimos anos.

Os criadores da raça Crioula tem investido em modalidades atléticas e competições morfológicas. Uma das modalidades desenvolvida são as provas de resistência física caracterizadas pelas competições de enduro e a Marcha de Resistência do Cavalo Crioulo. Dentre as competições morfológicas a categoria que chama atenção é chamada de Incentivo, sendo composta por animais com até 18 meses de idade (ABCCC, 2012).

A marcha de resistência da raça Crioula, foi caracterizada por Amaral et al. (2013) como uma prova de elevada exigência física associada a intensa lesão muscular e catabolismo proteico.

A competição morfológica de categoria Incentivo é caracterizada pela presença de animais com sobre peso, com excesso de revestimento de gordura e desenvolvimento muscular. Esses potros geralmente recebem dietas ricas em carboidratos, são mantidos em sistema de confinamento e submetidos a exercícios repetitivos para o desenvolvimento muscular. Freeman (2005) relata, uma serie de alterações metabólicas e ortopédicas que estão relacionadas ao tipo de manejo dos animais jovens .

Tanto o exercício físico como o acúmulo de gordura podem ser responsáveis por gerar um evento conhecido como reação de fase aguda (CYWINSKA, et al. 2010; TRAYHURN E WOOD, 2004) .A reação de fase aguda se constitui em uma série de alterações fisiológicas e metabólicas que iniciam imediatamente após uma injúria tecidual e nos casos descritos acima essa injuria pode ocorrer como consequência de lesões musculares, e na obesidade, a produção de citocinas pelos adipócitos são responsáveis por esse evento. Entre as inúmeras manifestações

sistêmicas desta reação de fase aguda está a alteração nas concentrações de várias proteínas plasmáticas, que são denominadas de "proteínas de fase aguda" e seu aumento é reflexo do processo inflamatório estabelecido (CERÓN et al., 2005).

Processos inflamatórios que passam despercebidos ou não exibem sinais clínicos evidentes podem resultar em infecções subclínicas que subsequentemente podem prejudicar o crescimento e desempenho dos animais. Em casos mais graves, a deterioração clínica resultante pode evoluir para morte (ECKERSALL, 2010).

A pesquisa de marcadores precoces de inflamação tem sido o foco na medicina humana e veterinária durante as últimas décadas. Para este fim, os esforços têm-se centrado na identificação bioquímica de proteínas de fase aguda (PFA) como marcadores para o grau de inflamação e seu tempo de evolução. Em resposta a infecção ou lesão, estas proteínas são rapidamente libertadas na corrente sanguínea e suas concentrações estão diretamente relacionadas com a gravidade da doença subjacente. Em geral, as PFAs são definidas como proteínas cuja concentração aumenta ou diminui no plasma em pelo menos 25%, após um estímulo inflamatório (GABY & KUSHNER, 1999). A quantificação destas proteínas pode fornecer informações valiosas com relação a diagnóstico e prognóstico e, finalmente, tem uma grande influência sobre a evolução da doença. A reação de fase aguda é uma resposta inespecífica, complexa e altamente orquestrada para minimizar danos nos tecidos; melhorar o processo de reparação, e restaurar a homeostase após a infecção, trauma ou estresse. Esta resposta é estimulada quando as células lesadas liberam metabólitos do ácido araquidônico e dos produtos de estresse oxidativo, seguido da liberação de citocinas, como a interleucina (IL)-1b, IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF- α), a partir de macrófagos e monócitos. Aumentos na circulação destes mediadores pró-inflamatórios estimulam a produção de PFA pelos hepatócitos (ECKERSALL, 2010).

Na década de 40, a proteína C reativa (PCR) foi o primeiro marcador reconhecido em humanos, e tornou-se posteriormente uma ferramenta de diagnóstico de valor inestimável na medicina humana para detectar e monitorar a processos inflamatórios (PEPYS, 1981). As PFAs mais frequentemente mensuradas na prática equina são fibrinogênio, amiloide A sérica, e haptoglobina (HULTEN et al. 2002). Durante o exercício físico, alguns autores sugerem a existência da reação de fase aguda (CYWINSKA et al. 2010), porém se comprovada sua ocorrência, a

mensuração da concentração sérica de proteínas de fase aguda pode ser utilizada como ferramenta na avaliação de processos inflamatórios agudos antes e após o exercício e ainda serem utilizados no intuito de entender sua relação com desempenho dos animais durante a atividade física prolongada.

Da mesma forma observa-se a importância da reação de fase aguda em animais jovens com sobre peso, sua caracterização, juntamente com outros eventos patológicos são um alerta para os equívocos cometidos durante o manejo nutricional e condução da condição física dos animais que poderá comprometer severamente seu futuro atlético.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Determinar as alterações clínicas e metabólicas associadas a sistemas de criação e exercício físico em equinos.

Objetivo Específico

- Caracterizar a reação de fase aguda e sua relação com desempenho de cavalos submetidos a uma competição de longa distância.
- Determinar a relação entre adiposidade corporal, perfil energético, proteínas inflamatórias e lesões osteoarticulares de potros criados em regime intensivo e extensivo.

3 ARTIGOS

3.1 Artigo 1

REAÇÃO DE FASE AGUDA E SUA RELAÇÃO COM DESEMPENHO DE CAVALOS EM COMPETIÇÃO DE LONGA DISTÂNCIA

Amaral, L. A; Paz, C. F.; Haetinger, C.; Py Crespo, E; Nogueira, C. E. W

**Aceito para publicação na revista *Arquivo Brasileiro de Medicina
Veterinária e Zootecnia, Qualis A2***

Reação de fase aguda e sua relação com desempenho de cavalos em competição de longa distância

Acute phase reaction and its relationship to performance horses competing long distance

Resumo

O exercício físico é um dos estímulos fisiológicos mais estressantes que um animal pode sofrer, e dependendo de sua intensidade sugere-se que possa gerar uma reação mediada por proteínas de fase aguda (PFA). O objetivo desse estudo foi caracterizar a reação de fase aguda e sua relação com desempenho de cavalos submetidos a uma competição de longa distância. . O experimento foi desenvolvido durante a Marcha de Resistência anual promovida pela Associação Brasileira de Cavalos Crioulos (ABCCC), composta por um percurso de 750 km percorrido durante 15 dias. Foram avaliados 23 equinos os quais foram divididos em dois grupos sendo o grupo 1 composto pelos 10 primeiros colocados na competição e o grupo 2 composto pelos 13 animais que concluíram a competição em colocações inferiores ou foram desclassificados antes de concluir a prova. Foram efetuadas coletas sanguíneas em repouso (dia 0) e no ultimo dia de competição e foram realizados o teste de eletroforese em gel de poli-acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) para identificar as proteínas (albumina, haptoglobina, ceruloplasmina, transferrina, imunoglobulina G, imunoglobulina A, glicoproteína ácida e proteína de peso molecular de 23 kDa) Os resultados demonstraram que o exercício físico imposto influenciou de forma significativa ($p < 0,0001$) as concentrações séricas de haptoglobina, ceruloplasmina, imunoglobulina A, glicoproteína ácida e proteína de peso molecular de 23 kDa. Quando comparados os resultados dos grupos estudados foi observado que a concentração de haptoglobina após a competição foi superior no grupo de animais com baixo desempenho (grupo 2). Conclui-se que a competição de longa duração é capaz de gerar reação de fase aguda e que o monitoramento da concentração de haptoglobina pode ser um sinalizador de processo inflamatório e baixo desempenho.

Palavras-chave: Reação de fase aguda, exercício, equinos, proteínas.

Abstract

Exercise is one of the most stressful physiologic stimuli that an animal might suffer, depending on its intensity suggests that it may generate a reaction mediated by acute phase proteins (APP). The aim of this study was to characterize the acute phase reaction and its relation to performance horses subjected to long distance competition. The experiment was conducted during the annual March of Resistance promoted by the Brazilian Association of Crioulo Horse Breeders (ABCCC), composed of a route traveled with 750km over 15 days.

There were evaluated 23 horses which were divided in two groups, one group composed by the 10 best placed horses and the second group consisting of 13 animals that have completed the competition in other positions or were disqualified before concluding the proof. All horses at the beginning of the competition (day 0) and on the last day of competition were subjected to collection of blood and SDS-polyacrylamide gel (SDS-PAGE) electrophoresis was used to measure APPs concentrations (albumin, ceruloplasmin, transferrin, haptoglobin, acid glycoprotein, immunoglobulin G, immunoglobulin A and a protein with molecular weight of 23 kDa). By the evaluation of the results, it was observed that exercise influenced in a highly significant form ($p < 0.0001$) in the serum concentrations of the ceruloplasmin, haptoglobin, acid glycoprotein, immunoglobulin A and protein with molecular weight of 23kDa. When comparing the results of the study groups was observed that the concentration of haptoglobin after the competition was higher in the group of animals with low performance (group 2). We conclude that the long term competition is able to generate acute phase reaction and monitoring the concentration of haptoglobin may be an indicator of inflammation and low performance.

Keywords: Acute phase reaction, exercise, horses, proteins.

Introdução

O exercício físico é um dos estímulos fisiológicos mais estressantes que um animal pode sofrer, durante esse período inúmeras reações metabólicas são mediadas na tentativa de adaptação do organismo (Gondin *et al.*, 2013). Sugere-se que a reação de fase aguda mediada por proteínas pró e antiinflamatórias ou também chamadas de proteínas de fase aguda (PFA) tenha importante papel no processo de adaptação muscular. Essas proteínas são responsáveis por promover a sinalização imunológica e reparação de tecidos lesados durante o esforço físico (Ceciliane *et al.*, 2002).

As proteínas de fase aguda podem ser classificadas em positivas, representadas pela glicoproteína ácida, haptoglobina, ceruloplasmina, macroglobulina e amiloide A, e em negativas, como a albumina e a transferrina, cujas concentrações séricas tendem a decrescer em condições inflamatórias (Murata *et al.*, 2004; Cerón *et al.*, 2005). De maneira geral, as PFA possuem a finalidade de inibir a continuidade do dano tecidual, isolando e destruindo o organismo agressor e ativando o processo de reparação necessária para o retorno do organismo às funções normais (Cerón *et al.*, 2005).

Apesar de inúmeras controvérsias, a resposta de fase aguda é relatada após o exercício prolongado em seres humanos. Essa reação induzida pelo exercício foi caracterizada por

alterações nas concentrações séricas de citocinas pró-inflamatórias, proteína C-reativa e haptoglobina. Tem sido proposto que esse quadro resulta da depleção de glicogênio e danos no músculo esquelético (Fallon, 2001).

Em equinos, as alterações nas concentrações de haptoglobina têm sido relatadas em cavalos de corrida durante e após serem exercitados em esteira (Masini *et al.*, 2003), podendo ser o resultado de hemólise intravascular induzida pelo exercício. Cywinska *et al.* (2010) determinaram que elevadas concentrações séricas de Amiloide A sérica podem ser um indicador não-específico de falta de condicionamento físico de cavalos de enduro, resultando na eliminação durante a competição de longa distância. Contudo, Gondin *et al.* (2013) apesar de terem observado aumento nas concentrações séricas de proteínas de fase aguda em cavalos de polo, esses autores consideraram um processo de resposta fisiológica dos competidores.

Se comprovada sua ocorrência, a mensuração da concentração sérica de proteínas de fase aguda pode ser utilizada como ferramenta na avaliação de processos inflamatórios agudos antes e após o exercício e ainda serem utilizados no intuito de entender sua relação com desempenho dos animais durante a atividade física prolongada.

O objetivo desse estudo foi caracterizar a reação de fase aguda e sua relação com desempenho de cavalos submetidos a uma competição de longa distância.

Materiais e Métodos

O estudo foi conduzido durante a Marcha anual de Resistência promovida pela Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC) na cidade de Santo Antonio da Patrulha/RS durante o mês de Julho de 2012. As etapas ocorreram em uma propriedade rural localizada no interior do município.

Foram avaliados 23 animais participantes, sendo 13 fêmeas e 10 machos, com peso médio de 430 ± 35 kg.

O regulamento da competição determina que todos os animais inscritos sejam entregues à comissão organizadora para serem soltos em um ambiente coletivo durante 30 dias prévios ao início da prova. Esse ambiente era composto exclusivamente de pastagem de azevém (*Lolium multiflorum* Lam) e cochos com água *ad libitum*. Esta mesma área era utilizada para os animais descansarem e alimentarem-se durante os 15 dias de competição. Consta também no regulamento a proibição da utilização de medicamentos, suplementos e alimento concentrado durante esses 45 dias.

Após o término da competição os animais foram divididos em dois grupos conforme seus desempenhos. O grupo 1 foi composto pelos 10 primeiros colocados avaliados e o grupo

2 foi composto pelos outros 13 animais que ficaram em colocações inferiores ou foram desclassificados antes de concluir a prova.

Com relação às coletas de material, todos os animais, previamente ao início da competição (dia 0) e após o último dia (dia 15), foram submetidos à coleta de amostras sanguíneas em tubos sem anticoagulante.

As amostras em foram centrifugados por 5min a 400G e separado o soro para congelamento a -80C e posterior análise laboratorial.

A concentração plasmática de proteína total foi determinada pelo método colorimétrico, por reação com o biureto, utilizando-se kit comercial (Labtest), e a leitura realizada por espectrofotômetro. Para obtenção da concentração das frações protéicas, utilizou-se eletroforese em gel de acrilaminada contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme técnica descrita por Laemmli (1970). Após o fracionamento, o gel foi corado durante 10min em solução de azul de coomassie e, em seguida, colocado em solução de ácido acético a 7% para retirar o excesso de corante, até que as frações protéicas se apresentassem nítidas. As concentrações dessas proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS 9301 - Tokio, Japan.). Como referência, utilizou-se uma solução marcadora (Sigma - Saint Louis, EUA) com pesos moleculares 29.000, 45.000, 66.000, 97.400, 116.000 e 205.000 dáltons (Da), além de proteínas purificadas² – albumina, IgG, haptoglobina e transferrina.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em parcelas subdivididas, sendo os grupos 1 e 2 as parcelas e os momentos as subparcelas.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Para verificar a distribuição das variáveis, os dados foram testados quanto à normalidade pelos testes de Shapiro Wilk e Lilliefors considerando significância de 5%. Foi efetuada a análise de variância simples com comparação entre médias através do teste de LSD sendo considerado significativo $p < 0,05$.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal nº 4602/2010 na Universidade Federal de Pelotas.

Resultados

Foram avaliados 23 animais durante a competição sendo que 17 completaram os percursos durante 15 dias e seis foram desclassificados durante este período.

Na Tab. 1 estão apresentados os valores médios e erros-padrão para as concentrações séricas de haptoglobina, glicoproteína ácida, ceruloplasmina, imunoglobulina A, imunoglobulina G,

albumina, proteína plasmática total, transferrina e uma proteína não identificada com peso molecular de 23k Da para os grupos 1 e 2 nos momentos antes e após a competição.

Tabela 1. Valores médios (\pm erro padrão da média) das proteínas inflamatórias do grupo 1 e 2 avaliadas no momentos antes (D0) e após a competição (D15).

Proteína (mg/dl)	Grupo	XD0 \pmSD0	XD15\pmSE D15
Haptoglobina	G1	46,2 \pm 4,5 ^{a,A}	70,1 \pm 6,9 ^{a,B}
	G2	53,8 \pm 2,4 ^{a,A}	92,7 \pm 7,6 ^{b,B}
Glicoproteína ác.	G1	4,3 \pm 1,1 ^{a,A}	13,1 \pm 2,8 ^{a,B}
	G2	5,6 \pm 0,8 ^{a,A}	16 \pm 2,6 ^{a,B}
Ceruloplasmina	G1	2,4 \pm 0,5 ^{a,A}	4,3 \pm 0,4 ^{a,B}
	G2	3,1 \pm 0,7 ^{a,A}	5,2 \pm 0,7 ^{a,B}
IgA	G1	150,9 \pm 5,4 ^{a,A}	85,3 \pm 11,3 ^{a,B}
	G2	156,8 \pm 11,2 ^{a,A}	107 \pm 17,3 ^{a,B}
IgG	G1	1376 \pm 67,7 ^{a,A}	1431 \pm 65,1 ^{a,B}
	G2	1390,2 \pm 52,3 ^{a,A}	1500 \pm 76,8 ^{a,B}
Albumina	G1	4186 \pm 110 ^{a,A}	4126 \pm 65,1 ^{a,B}
	G2	4082 \pm 130 ^{a,A}	3916,5 \pm 307 ^{a,B}
PPT	G1	7200 \pm 200 ^{a,A}	7600 \pm 200 ^{a,B}
	G2	7500 \pm 100 ^{a,A}	7800 \pm 100 ^{a,B}
Transferrina	G1	435,6 \pm 17,6 ^{a,A}	419,2 \pm 14,8 ^{a,B}
	G2	421,7 \pm 11,5 ^{a,A}	449,4 \pm 17,7 ^{a,B}
Proteína 23 kDa	G1	436,2 \pm 17,9 ^{a,A}	529,1 \pm 27,1 ^{a,B}
	G2	419 \pm 13 ^{a,A}	508,5 \pm 19,1 ^{a,B}

Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os momentos pelo Teste LSD ($P < 0,05$). Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre os grupos pelo Teste LSD ($P < 0,05$). Valores de referência segundo Jacobsen (2007) para haptoglobina: 20-100mg/dl; glicoproteína ác.: 7-9mg/dl; ceruloplasmina: 30-40mg/dl; IgA: 60-350mg/dl; IgG: 500-2000mg/dl; albumina: 3000-4000mg/dl; PPT (proteína plasmática total): 7000-8000mg/dl; transferrina: 230-550mg/dl; proteína de 23 kDa: não foram estabelecidos valores de referência para espécie.

Na Tab.2 estão apresentados os valores médios, erros-padrão e diferenças percentuais nas concentrações proteicas de haptoglobina, glicoproteína ácida, ceruloplasmina, imunoglobulina A, imunoglobulina G, albumina, proteína plasmática total, transferrina e uma proteína não identificada com peso molecular de 23 kDa.

Tabela 2. Valores médios (\pm erro padrão da média) e diferenças percentuais nas concentrações proteicas entre os momentos antes (D0) e após a competição (D15).

Proteínas (mg/dl)	XD0 \pmSD0	XD15\pmSE D15	Porcentagem
Haptoglobina	50,5 \pm 5 ^a	82,9 \pm 5,6 ^b	64,2%
Glicoproteína ác.	5,1 \pm 0,6 ^a	14,7 \pm 1,9 ^b	188,2%
Ceruloplasmina	2,7 \pm 0,4 ^a	4,8 \pm 0,5 ^b	77,8%
IgA	153,9 \pm 6,6 ^a	89,7 \pm 8,6 ^b	-41,7%
IgG	1384,3 \pm 42,2 ^a	1470,2 \pm 51,2 ^a	6,2%
Albumina	4132,3 \pm 86,8 ^a	4008 \pm 180,5 ^a	-3%
PPT	7400 \pm 100 ^a	7700 \pm 100 ^b	4,1%
Transferrina	427,3 \pm 10,2 ^a	436,3 \pm 12,1 ^a	2,1%
Proteína 23 kDa	426,6 \pm 10,9 ^a	517,5 \pm 15,7 ^b	21,3%

A significância entre os valores das colunas estão indicadas por letras minúsculas. Valores de referência segundo Jacobsen (2007) para haptoglobina: 20-100mg/dl; glicoproteína ác.: 7-9mg/dl; ceruloplasmina: 30-40mg/dl; IgA: 60-350mg/dl; IgG: 500-2000mg/dl; albumina: 3000-4000mg/dl; PPT (proteína plasmática total): 7000-8000mg/dl; transferrina:230-550mg/dl; proteína de 23kDa: não foram estabelecidos valores de referência para espécie.

Na avaliação dos resultados obtidos na tab. 2, foi possível observar que o exercício físico imposto influenciou de forma significativa ($p < 0,0001$) as concentrações séricas das proteínas avaliadas, exceto a transferrina, imunoglobulina G e albumina.

Discussão

A marcha de resistência da raça Crioula, foi caracterizada por Amaral *et al.* (2013) como uma prova de elevada exigência física associada a intensa lesão muscular e catabolismo proteico.

Os resultados demonstraram que o exercício físico imposto influenciou de forma significativa as concentrações séricas de haptoglobina, ceruloplasmina, imunoglobulina A, glicoproteína ácida e proteína de peso molecular de 23 kDa quando avaliadas as médias gerais dos participantes.

Foi observado um aumento significativo de 64,2% na concentração sérica de haptoglobina sérica entre o início e o final da competição. Essa proteína é produzida principalmente pelos hepatócitos e seu papel é impedir a perda de ferro pela formação de complexos estáveis com a hemoglobina livre no sangue (Murata *et al.*, 2004). Sua elevação pode estar relacionada a qualquer processo inflamatório e seu aumento em equinos foi

observado após procedimentos cirúrgicos (Kent, 1992), artrite não infecciosa (Hulten *et al.*, 2002) e laminite induzida por carboidratos (Fagliari *et al.*, 1997). Sua diminuição está relacionada a quadros de hemólise induzida pelo exercício conforme descrito por Masini *et al.* (2003). Gondin *et al.* (2013) avaliando cavalos em uma competição de polo observaram uma sutil elevação dos valores de haptoglobina porém não caracterizaram o quadro como reação de fase aguda. Quando comparadas as concentrações séricas de haptoglobina dos dois grupos de cavalos avaliados foi observado que ao final da competição, o grupo 2, composto por animais com baixo desempenho, apresentaram valores dessa proteína mais elevados que os que as concentrações séricas observadas no grupo 1. Esse dado pode corroborar com a hipótese de que a reação de fase aguda que ocorre durante o exercício prolongado influencia de forma negativa o desempenho final dos animais em competição. Ainda pode sinalizar a intensidade do processo inflamatório gerado assim como ocorre com outros insultos ao organismo.

Da mesma forma como a haptoglobina, as concentrações séricas gerais de glicoproteína ácida e ceruloplasmina elevaram-se 188,2% e 77,8% respectivamente. A glicoproteína ácida tem sua elevação associada a processos inflamatórios de caráter crônico principalmente envolvendo dano endotelial (Fournier *et al.*, 2000). Em equinos, sua dosagem ainda tem pouca descrição, porém no presente estudo essa proteína obteve a elevação mais expressiva quando comparada às demais proteínas avaliadas. A ceruloplasmina tem importante papel no metabolismo e transporte do cobre, e tem sua elevação relacionada ao aumento de radicais livres do oxigênio produzidos durante a inflamação (Gruys *et al.*, 1994; Hirvonen, 2000). Gondin *et al.* (2013) descreveram seu aumento após um jogo-treino com cavalos de polo, porém justifica sua elevação à condição de estresse causada pelo exercício.

As concentrações séricas de imunoglobulina G (IgG) não se alteraram após a competição e não apresentaram diferença quando comparados os dois grupos de animais avaliados. A IgG tem importante papel no sistema imunológico do animal e seu aumento está descrito durante exercícios de alta intensidade em seres humanos bem condicionados (Mackinnon *et al.*, 1987).

A imunoglobulina A (IgA) apresentou diminuição de 41,7% de seu valor inicial após a competição. Os estudos relacionando IgA e exercício demonstram um comportamento diferente em relação às outras imunoglobulinas. É vista diminuição de até 50% dos valores basais em atletas de elite após esforço intenso. Esta queda está relacionada principalmente a imunossupressão causada pelo cortisol e reflete ao achado de maior incidência de infecções de vias aéreas superiores em atletas submetidos a grandes esforços (Mackinnon *et al.*, 1987).

As concentrações séricas de albumina e transferrina não apresentaram alteração em seus valores após a competição e quando comparados os dois grupos. A transferrina é classificada, assim como a albumina, como proteína de fase aguda negativa, cujos teores séricos tendem a decrescer na presença de condição inflamatória (Kaneco *et al.*, 1997; Thomas, 2006). Em equinos sua relevância na avaliação do processo inflamatório ainda não foi determinada, porém em bovinos já foi demonstrado diminuição na concentração sérica durante processos inflamatórios crônicos (Thomas, 2006).

Foi constatado o aumento de 21,3% de uma proteína de peso molecular de 23 kDa ainda não identificada. Gondin *et al.* (2013) também observaram sua elevação após um jogotreinamento de cavalos de polo e sugerem que mais estudos sejam direcionados para o esclarecimento do papel fisiológico dessa proteína organismo de equinos atletas.

Observou-se também aumento da proteína plasmática total após a competição. Essa elevação pode ser consequência da redistribuição de fluidos do compartimento vascular para o espaço extracelular dos tecidos, ocasionado principalmente pela perda de líquidos através da sudorese dos animais durante o exercício (Kingston, 2008). Acredita-se que essa redistribuição não influencie de forma relevante nas concentrações séricas das demais proteínas avaliadas, visto que as alterações observadas apresentaram caráter heterogêneo.

Por definição, a reação de fase aguda é caracterizada pela alteração maior que 25% nas concentrações de proteínas de fase aguda (Eckersall *et al.*, 2010), portanto esse estudo forneceu evidências que apoiam a hipótese de que a resposta de fase aguda durante o exercício prolongado intenso é equivalente àquela observada quando o organismo sofre desafios inflamatórios e infecciosos. E ainda, as concentrações séricas de haptoglobina podem ser utilizadas como um sinalizador de baixo desempenho nos animais submetidos a esse tipo de exercício.

Conclusão

O exercício de longa duração provocou reação de fase aguda, caracterizada por elevação superior a 25% nas concentrações séricas de haptoglobina, ceruloplasmina e glicoproteína ácida e diminuição nas concentrações séricas de IgA. As concentrações séricas de haptoglobina foram superiores nos animais com baixo desempenho podendo ser utilizado como uma ferramenta de avaliação em competições de longa duração.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio técnico e financeiro da Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC) e a colaboração dos ginetes e proprietários dos animais avaliados nesse estudo.

Referencias bibliográficas

- AMARAL, L.A.; MARCHIORI, M.; MARTINS, C.F. *et al.* Metabolic evaluation of Crioulo horses participating in competitions of 750km. *Pesq.Vet. Bras.*, v.33, n.12, p.1471-1477, 2013.
- CECILIANE, F; GIORDANO, A; SPAGNOLO, V. The systemic reaction during inflammation: the acute-phase proteins. *Protein Pept. Lett.*, v.9, n.2 p. 11-23, 2002.
- CERÓN, L.L.; ECKERSALL, P.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet. Clin. Pathol.*, v. 34, n. 2, p. 85-99, 2005.
- CYWINSKA, A.; GORECKA, R.; SZARSKA, E. *et al.* Serum amyloid A level as a potential indicator of the status of endurance horses. *Equine Vet. J.*, v.42 p. 7-23, 2010.
- ECKERSALL, P.D. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet. J.*, v.185, p. 7-23, 2010.
- FAGLIARI, J.J.; McCLENAHAN, D., EVANSON, O.A. *et al.* Changes in plasma proteína concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. *Am. J. Vet. Res.*, v.59, p.1234-1237, 1997.
- FALLON, K.E. The acute phase response and exercise: the ultramarathon as prototype exercise. *Clin. J. Sport Med.*, v.11, p.38-43, 2001.
- FOURNIER, T.; MEDJOUBI, N.N.; PORQUET, D. Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim. Biophys. Acta*, n.482 p.71-157, 2000.
- GONDIN, M.R.; FOZ, N.S.B.; PEREIRA, M.C.; *et al.* Acute Phase Responses of Different Positions of High-Goal (Elite) Polo Ponies. *J. Eq.Vet. Scin.*, v. 33, n.11, p.956-961, 2013.
- GRUYS, E.; OBWOLO, M.J.; TOUSSAINT, M.J.M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary chemistry: a review. *Vet. Bull.*, Stuttgart, v.64, p.1009-1018, 1994.
- HIRVONEN, J. Acute phase response in dairy cattle. 2000. 79 f. Thesis-Faculty of Medicine Veterinary University of Helsinki, Helsinki, 2000.
- HULTEN, C.; GRONLUND, U.; HIRVONEN, J., *et al.* Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alpha2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. *Equine Vet. J.*, v. 34, p.699-704, 2002.
- JACOBSEN, S. Review of equine acute-phase proteins. In: Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 53°, 2007, Orlando, Flórida. Proceedings... Orlando: University of Florida. v. 53, p.230-235, 2007.

- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed) clinical biochemistry of domestic animals. San Diego: Academic Press, 932p, 1997.
- KENT, J. Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis. *Br. Vet. J.*, v.148, p.279-282, 1992.
- KINGSTON, J. D. Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training In: HINCHCLIFF, GEOR, KANEPS (eds.). *Equine Exercise Physiology – The science of exercise in the athletic horse* 1º ed. London:Saunders, p.397-409, 2008.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*,v.227, p.680-685, 1970
- MACKINNON, L.T.; CHICK, T.W.; VAN AS, A. *et al.* The effect of exercise on secretory and natural immunity. *Adv. Exp. Med. Biol.*, n. 216 p. 62-76, 1987.
- MASINI, P.A.; TEDESCHI, D.; BARAGLI, C. *et al.* Exercise-induced intravascular haemolysis in standardbred horses. *Comp. Clin. Path.*, v.12 p. 45–48, 2003.
- MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Vet. J.*, v. 168, p. 28-40, 2004.
- THOMAS, J.S. Overview of plasma proteins. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. (Ed) *Schalm's veterinary hematology*. Ames: Blackwell Publising, p.1344, 2006.
- TIZARD, I. *Imunologia Veterinária*, 2 ed. São Paulo: Roca, p.329, 1985.

3 ARTIGOS

3.2 Artigo 2

RELAÇÃO ENTRE ADIPOSIDADE, PERFIL ENERGÉTICO, PROTEÍNAS INFLAMATÓRIAS E LESÕES OSTEOARTICULARES EM EQUINOS JOVENS SOBRE DIFERENTES SISTEMAS DE CRIAÇÃO

Amaral, L. A; Marchiori, M.; Moraes, B.S.; Finger, I; Santos, R. S.; Nogueira, C.
E. W

Submetido à revista *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Qualis A2

Relação entre adiposidade, perfil energético, proteínas inflamatórias e lesões osteoarticulares em equinos jovens sobre diferentes sistemas de criação¹

ABSTRACT.- Amaral L.A., 2014. [Relationship between adiposity, energy profile, inflammatory proteins and osteoarticular lesions in young horses on different rearing systems] Relação entre adiposidade, perfil energético, proteínas inflamatórias e lesões osteoarticulares em equinos jovens sobre diferentes sistemas de criação. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Clínicas, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n, Pelotas, RS 96010-900, Brasil. E-mail: lo1amaral@gmail.com

The current breeding horse systems are associated with high carbohydrate diets that result in weight and accumulation of fat in very young animals. In these animals with overweight undergo intense physical exercise there is increased incidence of juvenile osteoarthritis and other inflammatory conditions. The aim of this study was to associate the adiposity and the type of farming foals with blood energy profile, blood concentrations of inflammatory proteins and osteoarticular lesions in the tarsus, comparing animals raised in intensive or extensive regimes. Were evaluated 40 Crioulo foals at 18 months old, 23 females and 17 males, 20 animals raised exclusively on extensive and 20 animals raised in intensive system. Blood samples for biochemical analyzes and protein electrophoresis were performed. Were made through ultrasonografia the measurement of fat in the crest of the neck, retroperitoneal area and base of tail. In 17 animals in the intensive group and 9 animals in the extensive group, radiographic study of the left tarsal region was performed. Higher levels of total cholesterol and LDL, blood glucose, serum amyloid A, transferrin, haptoglobin, acidic glycoprotein and unidentified protein 23Kda was observed in animals in the intensive group compared to the extensive group. The intensive group also showed greater deposit of fat in the crest of the neck, retroperitoneal area and base of the tail region. In 100% of the animals in the intensive group were observed lesions compatible with juvenile osteoarthritis, while only 23% of the animals in extensive group showed such changes. In Fisher's exact test was observed that the animals in the intensive group had 105% more likely to develop osteoarthritis of the extensive group animals. Still, the Pearson test positive correlation between fat on the crest of the neck with the degree of joint involvement of foals was observed. The fat on the crest of the neck showed a positive correlation with the osteoarticular abnormalities, with serum levels of LDL cholesterol, serum glucose levels of acid glycoprotein, haptoglobin, transferrin and serum amyloid A. The serum amyloid A correlated with the thickness of retroperitoneal fat. It is concluded that the deposit of fat in the crest of the neck correlates with alterations in energy, and inflammatory profile in osteoarticular of animals evaluated. Glucose levels, LDL cholesterol, acid glycoprotein, haptoglobin, transferrin and serum amyloid A were correlated to fatty deposits on the crest of the neck. Foals in intensive system presented 105 times more likely to experience chronic degenerative joint lesions consistent with juvenile osteoarthritis from those in extensive system .

INDEX TERMS: Obesity, protein acute phase, osteoarthritis, foals.

Resumo.- Os atuais sistemas de criação de equinos estão associados às dietas ricas em carboidratos que resultam em sobre peso e acúmulo de gordura em animais ainda muito jovens. Nesses animais com sobre peso submetidos exercício físico intenso há aumento na incidência de osteoartrite juvenil e outras afecções inflamatórias. O objetivo deste estudo foi associar a adiposidade corporal e a forma de criação de potros com o perfil energético sanguíneo, as concentrações sanguíneas de proteínas inflamatórias e lesões osteoarticulares no tarso comparando animais criados em regimes intensivo ou extensivo. Foram avaliados 40 potros com 18 meses de idade da raça crioula, 23 fêmeas e 17 machos, sendo 20 animais criados exclusivamente em sistema extensivo e 20 animais criados em sistema intensivo. Foram efetuadas coletas de sangue para avaliação bioquímica e eletroforese proteica. Foram efetuadas através de ultrassonografia a mensuração da gordura na crista do pescoço, região retroperitoneal e na base da cauda. Em 17 animais do grupo intensivo e 9 animais do grupo extensivo foi efetuado o estudo radio gráfico da região do tarso esquerdo. Foi observado maiores níveis de de colesterol total e LDL, glicemia, amiloide A sérica, transferina, haptoglobina, glicoproteína ácida e proteína de 23Kda não identificada no animais do grupo intensivo com relação aos do grupo extensivo. O grupo intensivo também apresentou maior depósito de gordura na região da crista do pescoço, região retroperitoneal e base da cauda. Em 100% dos animais do grupo intensivo foram observados lesões compatíveis com osteoartrite juvenil enquanto apenas 23% dos animais do grupo extensivo apresentaram tais alterações.

¹ Recebido em.....

Aceito para publicação em.....

No teste exato de Fisher foi observado que os animais do grupo intensivo apresentaram 105% mais chance de desenvolver osteoartrite que os animais do grupo extensivo. Ainda, no teste de Pearson foi observada correlação positiva entre a gordura na crista do pescoço com o grau de comprometimento articular dos potros. A gordura na crista do pescoço apresentou correlação positiva com as alterações osteoarticulares, com os níveis séricos de colesterol LDL, níveis séricos de glicose, níveis de glicoproteína ácida, haptoglobina, transferrina e amilóide A sérica. A amilóide A sérica apresentou correlação com a espessura de gordura retroperitoneal. Conclui-se que o depósito de gordura na crista do pescoço apresenta correlação com as alterações no perfil energético, inflamatório e no comprometimento osteoarticular dos animais avaliados. Os níveis de glicose, colesterol LDL, glicoproteína ácida, haptoglobina, transferrina e amilóide A sérica estiveram correlacionados ao depósito de gordura na crista do pescoço. Potros em sistema intensivo apresentam, em relação aos criados em sistema extensivo, 105 vezes mais chance de apresentarem lesões articulares degenerativas crônicas compatíveis com osteoartrite juvenil.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Obesidade, proteínas de fase aguda, osteoartrite juvenil, potros.

Introdução

A pressão da indústria do cavalo sobre a criação e a profissionalização tem feito com que animais cada vez mais jovens sejam preparados para competições morfológicas, para a doma e treinamento. Da mesma forma a busca por padrões morfológicos resultou em animais jovens, com excesso de peso, confinados e sendo submetidos a exercício físico intenso.

As dietas ricas em carboidratos ofertadas a esses animais resultam em sobre peso e acúmulo de gordura. Esse acúmulo de gordura gera um processo inflamatório crônico que afeta todo o organismo do animal incluindo como articulações, músculos, cascos, útero, testículos, fígado e pâncreas e, conseqüentemente, predispõe a inúmeros problemas clínico-metabólicos (Frank 2009).

Os adipócitos possuem propriedades inflamatórias intrínsecas significativas igualmente sensíveis a agentes infecciosos e a sinais inflamatórios mediados por citocinas que induzem a expressão e secreção de diversas proteínas de fase aguda e mediadores da inflamação (Berg et al. 2005).

O aumento do tecido adiposo na obesidade contribui diretamente para aumento da inflamação sistêmica. As primeiras observações deste fato datam de 1985, quando foi estabelecida uma relação entre a taxa de gordura corpórea e o número de leucócitos circulantes (Berg et al. 2005).

A expressão, produção e liberação de citocinas, principalmente TNF- α , IL-1, IL-6, PAI- 1, haptoglobina e leptina, encontram-se aumentadas em indivíduos obesos (Wu et al.2006). Algumas exceções são a adiponectina e a IL-10 cuja produção e níveis circulantes se encontram diminuídos em indivíduos obesos (Choi et al. 2007)

O excesso de peso associado ao exercício também apresenta uma estreita ligação com alterações musculoesqueléticas, principalmente em animais jovens, já que a maturação óssea está incompleta e existe uma menor resistência às forças de compressão. Além disso, existe a hipótese de que o aumento na adiposidade seja capaz de alterar fatores hormonais e fatores de crescimento, interferindo no metabolismo da cartilagem articular e osso subcondral (Powel, et al, 2005). Além da cartilagem, a obesidade parece ter efeito sobre outros tecidos moles, como tendão e fáscia (Wearing et al, 2006).

Garcia et al. (2009) determinaram um elevado índice de osteoartrite társica juvenil em potros da raça Mangalarga e atribuíram este fato ao treinamento precoce e excessivo associado à sobrecarga mecânica da cartilagem articular imatura. Gallio et al. (2014) também observaram uma alta incidência alterações articulares em potros crioulos preparados para exposições morfológicas e ainda determinou correlação com o depósito de gordura na crista do pescoços dos animais avaliados.

Considerando esses dados, acredita-se que o acúmulo de gordura associado a alterações nos perfis energético e inflamatório pode estar relacionado à incidência de lesões osteoarticulares em animais jovens em sistema de criação intensivo.

O objetivo deste estudo foi associar a adiposidade corporal e a forma de criação de potros com o perfil energético sanguíneo, as concentrações sanguíneas de proteínas inflamatórias e lesões osteoarticulares no tarso comparando animais criados em regimes intensivo ou extensivo.

Metodologia

O estudo foi desenvolvido durante duas exposições morfológicas na cidade de Pelotas/RS e em dois criatórios de equinos da raça Crioula localizados na cidade de Bagé/RS. Foram avaliados 40 potros divididos em dois grupos: o grupo intensivo foi composto por 20 animais com 18 meses de idade,

mantidos em condição de confinamento (sistema intensivo), que foram preparados para competição morfológica e que apresentavam condição corporal entre 7-8 (escala de 1-9) conforme descrito por Henneke et al. (1983). O grupo extensivo foi composto por 20 animais com 18 meses de idade, que sempre foram mantidos soltos em campo nativo, sem suplementação alimentar e que apresentavam condição corporal de 5-6 (escala de 1-9).

Os animais alocados no grupo intensivo eram submetidos ao sistema de criação intensivo e tinham sua alimentação baseada em fornecimento de 1,5% de P.V. de ração comercial balanceada composta por: 18% de proteína bruta, 12% de fibra bruta, 3,5% de extrato etéreo, 1,2% de cálcio e 3500Kcal/kg. Já os animais pertencentes ao grupo extensivo estavam em manejo de criação extensiva e sua alimentação tinha base em pasto nativo da região *ad libitum*.

Em ambos os grupos foram efetuadas mensurações da gordura subcutânea por meio de um aparelho ultrassonográfico munido de sonda linear com frequência variando entre 5.0 a 7.5MHz. Foram realizadas as medidas com a sonda posicionada transversalmente na região da garupa, 7,6 cm cranial e 5 cm lateral à base da cauda (Gentry et al, 2004). Também foi avaliada a gordura retroperitoneal com a sonda numa posição paralela a linha média ventral na porção imediatamente caudal ao apêndice xifóide, lateral à linha média (Dugdale et al, 2011). Ainda foi medida a espessura do depósito de gordura na região da crista do pescoço por meio da identificação do ligamento nugal, o qual serviu como limite ventral da medida. A altura da crista do pescoço foi medida na porção média do comprimento total do pescoço (medida aferida da base da orelha até a porção mais alta da cernelha), estando este em posição relaxada a um ângulo de aproximadamente de 45° (Carter et al, 2009).

Para identificação de possíveis alterações radiográficas indicativas de osteoartrite procedeu-se o estudo radiológico da articulação társica esquerda nas projeções dorso-plantar, latero-medial, dorsolateral -plantaromedial oblíqua, dorsomedial-plantarolateral oblíqua. O exame radiológico foi efetuado de forma aleatória em 17 animais do grupo intensivo e em 9 animais do grupo extensivo.

Para classificação do comprometimento osteoarticular, foi adotado o escore proposto por Maranhão et al. (2006), conforme Tabela 1.

Tabela 1- Escores de lesões radiográficas sugestivas de osteoartrite juvenil

Grau	Descrição
0	Nenhuma alteração radiográfica identificável
1	Presença de osteófitos intra ou periarticular
2	Presença de osteófitos, estreitamento do espaço articular, alterações na densidade do osso subcondral
3	Presença de osteófitos, estreitamento do espaço articular, alterações da densidade subcondral, anquilose parcial
4	Anquilose total

Com intuito de se verificar o perfil energético sanguíneo e as concentrações sanguíneas de proteínas inflamatórias, foram efetuadas coletas de sangue em tubo sem anticoagulante, cujas amostras foram centrifugadas à 3000 rpm e a alíquota de soro armazenada à -80C°.

Posteriormente foram efetuadas mensurações de amilóide A sérica, leptina, adiponectina e ácidos graxos livres (AGL) pelo método de radioimunoensaio (ELISA). Análises de triglicérides, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL foram realizadas por espectrofotometria. A dosagem de glicose sérica foi realizada imediatamente após a coleta por meio de equipamento portátil de dosagem por fitas reagentes (Glicosímetro Portátil- Accutrend Plus, Roche®, Alemanha).

A concentração sérica de proteína total foi determinada pelo método colorimétrico, por reação com o biureto, utilizando-se kit comercial (Labtest), e a leitura realizada por espectrofotômetro. Para obtenção da concentração das frações proteicas, utilizou-se eletroforese em gel de acrilaminada contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme técnica descrita por Laemmli (1970). Após o fracionamento, o gel foi corado durante 10min em solução de azul de coomassie e, em seguida, colocado em solução de ácido acético a 7% para retirar o excesso de corante, até que as frações proteicas se apresentassem nítidas. As concentrações dessas proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado(Shimadzu CS 9301 - Tokio, Japan.). Como referência, utilizou-se uma solução marcadora (Sigma - Saint Louis, EUA) com pesos moleculares 29.000, 45.000, 66.000, 97.400, 116.000 e 205.000 dáltons (Da), além de proteínas purificadas - albumina, IgG, haptoglobina e transferrina.

A análise dos resultados foi realizada utilizando o programa STATISTIX^a (2008). Para todas as comparações foi utilizado o teste t de Student ao nível de 5%. O teste de Pearson foi realizado para

determinar possíveis correlações entre as variáveis analisadas. Para comparar incidências de osteoartrite em os dois grupos utilizou-se o teste exato de Fisher seguido de *odds ratio*.

Resultados

Na Tab.2 estão apresentados os valores médios séricos de leptina, ácidos graxos livres (NEFA), adiponectina, glicose, triglicérides, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, ceruloplasmina, transferrina, haptoglobina, glicoproteína ácida, proteína desconhecida com peso molecular de 23KDa e amiloide A nos grupos de potros criados em sistema intensivo e extensivo.

Tabela 2- Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de indicadores de metabolismo e inflamação em potros Crioulos criados em sistemas intensivo e extensivo.

Variáveis Metabólicas	Intensivo	Extensivo
Leptina (ng/ml)	0,017 ^a	0,057 ^a
Nefa (mg/dl)	10,9 ^a	31,7 ^b
Adiponectina (ng/dl)	359,7 ^a	299,9 ^a
Glicemia (mg/dl)	105,3 ^a	88,4 ^b
Triglicérides (mg/dl)	27,9 ^a	40 ^b
Colesterol Total (mg/dl)	141,9 ^a	110,5 ^b
Colesterol HDL (mg/dl)	57,4 ^a	54,8 ^a
Colesterol LDL (mg/dl)	78,8 ^a	47,7 ^b
Ceruloplasmina (mg/dl)	16,7 ^a	16,2 ^a
Transferrina (mg/dl)	660,1 ^a	414,9 ^b
Albumina (mg/dl)	3865,4 ^a	3590,5 ^a
Antitripsina (mg/dl)	556,6 ^a	614,1 ^a
Haptoglobina (mg/dl)	102,3 ^a	70,1 ^b
Glicoproteína ác. (mg/dl)	8,5 ^a	3,5 ^b
23 kDa (mg/dl)	387,5 ^a	348,7 ^a
Amilóide A sérica (ng/ml)	5293,9 ^a	4199,0 ^b

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (P<0,05).

Na tab. 3 foram demonstrados os indicadores de adiposidade através da mensuração por ultrassonográfica da espessura da gordura na crista do pescoço, na região retroperitoneal e na base da cauda dos potros das duas categorias estudadas.

Tabela 3 – Espessura da gordura acumulada na crista do pescoço, região retroperitoneal e na base da cauda nos animais criados em sistema intensivo e extensivo.

Biometria Adiposa	Sistema intensivo	Sistema extensivo
Espessura de Gordura Crista (cm)	5,96 ^a	3,41 ^b
Espessura de Gordura Abdominal (cm)	8,85 ^a	4,12 ^b
Espessura de Gordura Cauda (cm)	10,5 ^a	3,7 ^b

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (P<0,05).

Na Tab. 4 estão apresentados os resultados das ocorrências de osteoartrite conforme as lesões osteoarticulares descritas por Maranhão et al (2006), nos animais criados em sistema intensivo e extensivo.

Tabela 4 - Incidência de graus radiográficos indicativos de osteoartrite nos animais criados em sistema intensivo e extensivo.

Grau	Intensivo	Extensivo
0	0% (0/17)	71,5% (5/9)
1	23,5% (4/17)	28,5% (2/9)
2	35,3% (6/17)	0% (0/9)
3	41,2% (7/17)	0% (0/9)
4	0% (0/17)	0% (0/9)

No teste exato de Fisher foi observada diferença entre a ocorrência de osteoartrite em potros criados em sistema intensivo e extensivo, ainda foi demonstrado *odds ratio* (OR) de 105,1 (IC 95% 4,476 to 2463), ou seja, documentou-se cerca de 105 vezes mais possibilidade da ocorrência de osteoartrite tarsica em potros do sistema intensivo.



Figura 1 - Imagem radiológica da região do tarso esquerdo de um potro em criação extensivo. Sem alteração articular.



Figura 2 - Imagem radiológica da região do tarso esquerdo de um potro em criação intensiva. Presença de osteófito caracterizando osteoartrite juvenil.

No teste de Pearson foi observada correlação positiva entre o acúmulo de gordura na crista do pescoço com o grau de comprometimento articular dos potros avaliados ($p=0,0002$, $r=0,72$). O depósito de gordura na crista do pescoço apresentou correlação positiva com os níveis séricos de colesterol LDL ($p=$, níveis séricos de glicose ($p=0,0003$, $r=0,71$), níveis de glicoproteína ácida ($p=0,007$, $r=0,56$), haptoglobina ($p=0,009$, $r=0,54$), transferrina ($p=0,0009$, $r=0,66$) e amilóide A sérica ($p=0,005$, $r=0,58$). Das proteínas inflamatórias avaliadas, apenas a amilóide A sérica apresentou correlação com a espessura de gordura retroperitoneal ($p=0,02$, $r=0,49$). A espessura de gordura na base da cauda não apresentou correlação com as proteínas inflamatórias.

Os níveis de colesterol LDL apresentaram correlação com o acúmulo de gordura na crista do pescoço ($p=0,01$, $r=0,53$), na região retroperitoneal ($p=0,03$, $r=0,42$) e na base da cauda ($p=0,02$, $r=0,48$).

Discussão

Os animais do sistema intensivo não diferiram dos animais do sistema extensivo nas análises de adiponectina, leptina e colesterol HDL. A leptina é uma adipocina considerada pró-inflamatória e

responsável por promover a saciedade nos animais. Na obesidade suas concentrações encontram-se alteradas e nessa situação os níveis de leptina são proporcionais a taxa de gordura dos animais. Em estudo com equinos, Kearns et al (2006) observaram que os níveis de adiponectina, adipocina com propriedades anti-inflamatórias, foi inversamente proporcional à taxa de gordura dos animais. Esse comportamento metabólico das adipocinas é comum em quadros de síndrome metabólica, porém acredita-se que não houve diferença entre os grupos por tratarem-se de animais muito jovens e o quadro de síndrome metabólica não tenha se estabelecido.

Apesar dos níveis de leptina e adiponectina não diferirem entre os grupos, foi observada diferença nos níveis séricos de glicemia, sendo que o grupo de animais em sistema intensivo apresentou níveis mais elevados de glicose quando comparado aos animais em sistema extensivo. Esse fato pode ser considerado como um sinalizador de risco para o futuro desenvolvimento de resistência insulínica, já que esta é caracterizada pela elevação permanente nos níveis de glicose sanguínea.

Os potros em sistema extensivo demonstraram maior mobilização lipídica, caracterizada por maiores níveis de triglicerídeos e ácidos graxos livres. Este fato pode estar relacionado com o período do ano no qual foram efetuadas as coletas, que correspondeu aos períodos de maior necessidade energética, o inverno, quando as temperaturas são baixas e há diminuição da qualidade do pasto nativo. Segundo Mackenzie et al (2011) as concentrações elevadas de lipídeos no sangue estão normalmente associadas com períodos de balanço energético negativo e estresse fisiológico.

Na avaliação das proteínas de fase aguda foi observado que o grupo de animais em sistema intensivo apresentou concentrações sanguíneas mais elevadas de haptoglobina, glicoproteína ácida, transferrina e amilóide A. Os adipócitos secretam proteínas de fase aguda que, direta ou indiretamente, elevam a produção e circulação de fatores relacionados com a inflamação (Bullo, 2003). Existem evidências demonstrando que o estado inflamatório pode ser devido à resistência à ação da insulina e outras desordens associadas à obesidade, como hiperlipidemia e síndrome metabólica (Yudkin et al. 1999). Em equinos, a elevação nos níveis sanguíneos de haptoglobina e glicoproteína ácida está descrita em situação de exercício físico (Gondin et al. 2013), laminite (Fagliari et al. 1997), cólica e pós operatório (Fagliari et al, 2008). Seus valores ainda não haviam sido descritos relacionados ao acúmulo de gordura e o aumento nos níveis dessas proteínas pode ser considerado um sinalizador do processo inflamatório relacionado aos depósitos de gordura dos potros em sistema intensivo, visto que foi demonstrada correlação positiva entre essas proteínas e o depósito de gordura na crista do pescoço.

No contexto de inflamação associada à obesidade, a amiloide A sérica parece promover a inflamação local e o acúmulo inapropriado de lipídeos (Berg, 2005). Em equinos essa proteína apresenta estreita relação com processos inflamatórios e é utilizada com sucesso no estabelecimento de prognósticos na rotina clínica. Os animais mantidos em sistema intensivo apresentaram níveis superiores de amilóide A com relação aos potros em sistema extensivo. Em humanos tem sido demonstrado que os adipócitos expressam amilóide A e que existe uma proporcionalidade entre a concentração sérica dessa proteína e o índice de massa corpórea (IMC). Estudos têm determinado que a amilóide A, além de ser uma sinalizadora do processo inflamatório, teria a capacidade de atuar sobre células do sistema imune e induzir a expressão e liberação de uma gama de citocinas, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio (Sandri et al. 2008). Dessa forma, os animais em sistema intensivo, além de apresentarem indícios do processo inflamatório crônico, poderiam ter esse quadro potencializado pela ação da amilóide A.

Quanto avaliados os níveis de colesterol total e colesterol LDL foi observado que esses foram superiores nos potros em sistema intensivo. Frank et al (2006), determinando marcadores metabólicos em equinos obesos com resistência insulínica e equinos normais, observaram valores de colesterol total 30% superiores nos animais obesos. Contudo, em nosso experimento, apesar dos potros em sistema intensivo apresentarem valores superiores de colesterol total e LDL, conforme discutido anteriormente, eles ainda não apresentavam alterações nos níveis de leptina, adiponectina e ácidos graxos livres, marcadores importantes na caracterização da resistência insulínica e síndrome metabólica. Sendo assim, tais dados reforçam o fato que esses animais apresentaram fatores de risco associados à obesidade, mas ainda não desenvolveram o quadro clínico.

Os potros em sistema intensivo apresentaram maior espessura de gordura na região retroperitoneal, na crista do pescoço e base da cauda, caracterizando maior adiposidade nesses animais. Segundo Gentry et al, (2004), a avaliação de pontos anatômicos específicos por ultrassonografia é um método bastante viável de ser utilizado, além de ser uma técnica de mensuração extremamente confiável e de baixo custo. Em outro estudo, o mesmo autor constatou que a espessura da gordura subcutânea na base da cauda, é a medida que mais se correlaciona com as alterações no padrão corporal. Dugdale et al, (2011) aferiram, dentre outras, a espessura da gordura retroperitoneal ventral e verificaram uma forte

associação entre essa medida e o aumento do peso corporal. Carter et al, em 2009, correlacionaram a altura da crista do pescoço a mudanças no padrão corporal e a distúrbios metabólicos.

Na avaliação radiológica foram observadas alterações compatíveis com osteoartrite (Fig.1) em 100% (n=17) dos potros em sistema intensivo e em 23% (n=2) dos potros em sistema extensivo (Fig.2). Dos potros em sistema intensivo, quatro animais apresentaram lesões GI, seis animais apresentaram lesões GII e sete apresentaram lesões GIII. Nos animais em sistema extensivo, dois potros apresentaram grau inicial de osteoartrite (GI). Não foram observadas lesões com característica de anquilose articular (GIV) em ambos os grupos. Conforme Sullins (2002), a osteoartrite tem tendência à anquilose, principalmente nos casos mais avançados da doença, porém a baixa frequência se justifica pelo fato de esses animais ainda serem jovens não apresentarem os quadros mais avançados da doença.

Esses índices de alterações corroboram o estudo conduzido por Maranhão et al. (2006), no qual foi observado que 96,6% dos animais avaliados apresentavam osteoartrite társica. Garcia et al, (2009) constatou que dos trinta potros Mangalarga Marchador avaliados, 86,6% (25/30) apresentaram osteoartrite társica juvenil. Gallio et al (2014) avaliando potros de semelhante faixa etária, da raça Crioula e também preparados para exposição morfológica, determinou a ocorrência de alterações radiológicas em 79,2% dos animais avaliados.

Sugere-se que a elevada incidência de lesões osteoarticulares observadas nos potros avaliados seja consequência das dietas ricas em carboidratos e do exercício físico associados ao sobrepeso. Reiterando essa hipótese, foi observada uma correlação positiva entre o acúmulo de gordura na crista do pescoço com o grau de comprometimento articular dos potros avaliados. Dado semelhante foi observado por Gallio et al (2014) que conclui que o fator predisponente para as lesões articulares mais observado foi a excessiva deposição de gordura, traduzida pelo aumento no escore corporal e de deposição de gordura na crista do pescoço dos animais. Segundo Lewis (2000), planos nutricionais objetivando taxas elevadas de crescimento podem resultar em altas taxas de ganho de peso diárias. Consequentemente, o excesso de peso pode levar a uma sobrecarga mecânica da articulação társica que, em conjunto com exercício físico em excesso, resulta no desenvolvimento da osteoartrite társica juvenil. Dado que justifica o resultado obtido pelo teste exato de Fisher que determinou que os potros criados em sistema intensivo apresentam 105 vezes mais chance de desenvolver osteoartrite que os animais criados em sistema extensivo.

Quando analisadas as correlações entre as variáveis avaliadas foi observada correlação positiva entre o acúmulo de gordura na crista do pescoço com o grau de comprometimento articular dos potros avaliados. O depósito de gordura na crista do pescoço apresentou correlação positiva com os níveis séricos de colesterol LDL, níveis séricos de glicose, níveis de glicoproteína ácida, haptoglobina, transferrina e amilóide A sérica. Das proteínas inflamatórias avaliadas, apenas a amilóide A sérica apresentou correlação com a espessura de gordura retroperitoneal. A espessura de gordura na base da cauda não apresentou correlação com as proteínas inflamatórias. Esses dados corroboram os resultados obtidos por Dugdale et al. (2010), pelo qual a circunferência do pescoço ou o escore da crista pode fornecer estimativas indiretas de resistência à insulina e adiposidade corporal. E ainda permitem concluir, nesse modelo experimental, que a gordura depositada na crista do pescoço pode ser uma referência para alterações no metabolismo energético, inflamatório, sendo proporcional ao grau de lesão articular em animais jovens sobre o manejo descrito.

Os níveis de colesterol LDL apresentaram correlação com o acúmulo de gordura nas três regiões avaliadas, sendo que a maior correlação foi observada entre a concentração de colesterol com a espessura da gordura na crista do pescoço. Segundo Carter et al (2009), a adiposidade regional em cavalos, especialmente depositado ao longo da crista do pescoço, tem sido associada a estados metabólicos alterados, incluindo resistência à insulina, e um risco aumentado de laminite.

Conclusão

O depósito de gordura na crista do pescoço apresenta correlação com as alterações no perfil energético, inflamatório e no comprometimento osteoarticular dos animais avaliados. Os níveis de glicose, colesterol LDL, glicoproteína ácida, haptoglobina, transferrina e amilóide A sérica estiveram correlacionados ao depósito de gordura na crista do pescoço.

Potros em sistema intensivo apresentam, em relação aos criados em sistema extensivo, 105 vezes mais chance de apresentarem lesões articulares degenerativas crônicas compatíveis com osteoartrite juvenil, que poderão comprometer seu futuro atlético.

Referencias Bibliográficas

BERG, A.H, SCHERER, P.E. Adipose Tissue, Inflammation, and Cardiovascular Disease. *Circ Res.*, 96, p.939-949, 2005.

- BULLO M, GARCIA-LORDA P, MEGIAS I, SALAS-SALVADO J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. **Obesity Res.**, 11:525-31, 2003.
- CARTER, R.A., GEOR, R.J., STANIAR, W.B., CUBITT, T.A. & HARRIS, P.A. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. **The Veterinary Journal**; 179, p. 204–210, 2009.
- CHOI, K.M., RYU, O.H., LEE, K.W., KIM, H.Y., SEO, J.A., KIM, S.G., et al. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. **Diabetes Res Clin Pract.** 75, p.235-40, 2007.
- DUGDALE, A.H.A., CURTIS, G.C., HARRIS, P.A., ARGO & C. MCG. Assessment of body fat in the pony: I. Relationships between the anatomical definition of adipose tissue, body composition and body condition. **Equine Veterinary Journal** 43, 552–561, 2011
- FAGLIARI, J.J.; McCLENAHAN, D., EVANSON, O.A. et al. Changes in plasma proteina concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. **Am. J. Vet. Res.**, v.59, p.1234-1237, 1997.
- FAGLIARI, J.J.; SILVA, S.L.; SILVA, P.C. PEREIRA, G.T.. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de equinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, vol.60, n.2, pp. 322-328, 2008.
- FONTANA, L., EAGON, J.C., TRUJILLO, M.E., SCHERER, P.E., KLEIN, S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. **Diabetes.** 56, p.1010–1013, 2007.
- FRANK, N. Equine Metabolic Syndrome. **Journal of Equine Veterinary Science**, 29:5, p. 259-267, 2009.
- GALLIO, M.; AZEVEDO, M.S.; BRASS, K.E.; DE LA CORTE, F.D.; LOPES, L.F.D. Prevalência de alterações ósseas no tarso de potros Crioulos de até vinte e seis meses de idade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.8, p.1442-1447, 2014
- GARCIA, R.S.; MELO, U.P.; FERREIRA, C.; TOSCANO, F.S.; CRUZ, G.M. Estudo clínico e radiográfico da osteoartrite társica juvenil em potros da raça mangalarga marchador. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 254-260, 2009.
- GENTRY, L.R; PHD, DONALD L. THOMPSON, JR, PHD, GLEN T. GENTRY, JR, MS, RONALD P. DEL VECCHIO, PHD, KEITH A. DAVIS, AND PAMELA M. DEL VECCHIO. **The Relationship Between Body Condition Score and Ultrasonic Fat Measurements in Mares of High Versus Low Body Condition.** J Equine Vet Sci, 24:198-203, 2004 .
- HENNEKE, D.R., POTTER, G.D., KRIEDER, J.L & YEATES, B.F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal** 15, 371–372, 1983.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**,v.227, p.680-685, 1970.
- MARANHÃO, R. P. A.; PALHARES, M. S.; MELO, U. P.; RESENDE, H.H.C.; FERREIRA, C. Utilização de um escore na avaliação radiográfica das lesões osteoartíticas em equídeos de tração em Belo Horizonte. In: CONGRESSO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 7., 2006, Santos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte: FEP-MVZ Editora, 58, p. 132-134, 2006.
- POWEL A, TEICHTAHL AJ, WLUKA AE, CICUTTINI FM. Obesity: a preventable risk factor for large joint osteoarthritis wich may act through biomechanical factors. **Br J Sports Med.**39(1):4-5, 2005.
- SANDRI S, HATANAKA E, FRANCO A, PEDROSA A, MONTEIRO H, CAMPA A. Serum amyloid A induces CCL20 secretion in mononuclear cells through MAPK (p38 and ERK1/2) signaling pathways. **Immunol Lett** 121 : 22-26, 2008.
- VICK, M.M; ADAMS A.A.; MURPHY, B.; HOROHOV, D.W.; COOK, R.F.; SHELTON, B.J.; FITZGERALD, B.P. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. **J Anim Sci**, 85:1144-1155, 2007.
- WEARING SC, HENNING EM, BYRNE NM, STEELE JR, HILLS AP. Musculoskeletal disorders associated with obesity: a biomechanical perspective. **Obes Rev.** 7(3):239-50, 2006.
- YUDKIN JS, STEHOUWER CD, EMEIS JJ, COPPACK SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, 19:972-8, 1999.

4 CONCLUSÃO GERAL

- O exercício físico de longa duração foi responsável pelo aumento de proteínas inflamatórias caracterizando uma reação de fase aguda, e durante a competição a haptoglobina apresentou relação com o desempenho dos animais.

- A adiposidade na região da crista do pescoço de potros jovens apresentou correlação positiva com níveis de glicose, colesterol LDL, glicoproteína ácida, haptoglobina, transferrina, amilóide A sérica e grau de comprometimento articular dos animais estudados. Foi constatado que Potros em sistema intensivo apresentam, em relação aos criados em sistema extensivo, 105 vezes mais chance de apresentarem lesões articulares degenerativas crônicas compatíveis com osteoartrite juvenil.

5 REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALOS CRIoulos. ABCCC. Regulamento da Marcha de Resistência. Disponível em : <<http://marcha.racacrioula.com.br/regulamentos/>>. Acesso em 15 de março de 2013

BERG, A.H, SCHERER, P.E. Adipose Tissue, Inflammation, and Cardiovascular Disease. *Circ Res.*, 96, p.939-949, 2005.

BULLO M, GARCIA-LORDA P, MEGIAS I, SALAS-SALVADO J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. *Obesity Res.*, 11:525-31, 2003.

CARTER, R.A., GEOR, R.J., STANIAR, W.B., CUBITT, T.A. & HARRIS, P.A. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *The Veterinary Journal*; 179, p. 204–210, 2009.

CECILIANE, F; GIORDANO, A; SPAGNOLO, V. The systemic reaction during inflammation: the acute-phase proteins. *Protein Pept. Lett.*, v.9, n.2 p. 11-23, 2002.

CERÓN, L.L.; ECKERSALL, P.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet. Clin. Pathol.*, v. 34, n. 2, p. 85-99, 2005.

CHOI, K.M., RYU, O.H., LEE, K.W., KIM, H.Y., SEO, J.A., KIM, S.G., et al. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract.* 75, p.235-40, 2007.

CYWINSKA, A.; GORECKA, R.; SZARSKA, E. et al. Serum amyloid A level as a potential indicator of the status of endurance horses. *Equine Vet. J.*, v.42 p. 7-23, 2010.

DUGDALE, A.H.A., CURTIS, G.C., HARRIS, P.A., ARGO & C. MCG. Assessment of body fat in the pony: I. Relationships between the anatomical definition of adipose

tissue, body composition and body condition. *Equine Veterinary Journal* 43, 552–561, 2011

ECKERSALL, P.D. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet. J.*, v.185, p. 7-23, 2010.

FAGLIARI, J.J.; McCLENAHAN, D., EVANSON, O.A. et al. Changes in plasma proteina concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. *Am. J. Vet. Res.*, v.59, p.1234-1237, 1997.

FAGLIARI, J.J.; SILVA, S.L.; SILVA, P.C. PEREIRA, G.T. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de equinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, vol.60, n.2, pp. 322-328, 2008.

FALLON, K.E. The acute phase response and exercise: the ultramarathon as prototype exercise. *Clin. J. Sport Med.*, v.11, p.38–43, 2001.

FONTANA, L., EAGON, J.C., TRUJILLO, M.E., SCHERER, P.E., KLEIN, S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes*. 56, p.1010–1013, 2007.

FOURNIER, T.; MEDJOUBI, N.N.; PORQUET, D. Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim. Biophys. Acta*, n.482 p.71-157 , 2000.

FRANK, N. Equine Metabolic Syndrome. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29:5, p. 259-267, 2009.

FREEMAN, D. Managing young horses for sound growth. Oklahoma, USA. Oklahoma Cooperative Extension Service, 2005. (ANSI, 3977).

GABAY C, KUSHNER I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340:448 54.

GALLIO, M.; AZEVEDO, M.S.; BRASS, K.E.; DE LA CORTE, F.D.; LOPES, L.F.D. Prevalência de alterações ósseas no tarso de potros Crioulos de até vinte e seis meses de idade. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.44, n.8, p.1442-1447, 2014.

GARCIA, R.S.; MELO, U.P.; FERREIRA, C.; TOSCANO, F.S.; CRUZ, G.M. Estudo clínico e radiográfico da osteoartrite társica juvenil em potros da raça mangalarga marchador. *Ciência Animal Brasileira*, v. 10, n. 1, p. 254-260, 2009.

GENTRY, L.R; PHD, DONALD L. THOMPSON, JR, PHD, GLEN T. GENTRY, JR, MS, RONALD P. DEL VECCHIO, PHD, KEITH A. DAVIS, AND PAMELA M. DEL VECCHIO. The Relationship Between Body Condition Score and Ultrasonic Fat Measurements in Mares of High Versus Low Body Condition. *J Equine Vet Sci* , 24:198-203, 2004 .

GONDIN, M.R.; FOZ, N.S.B.; PEREIRA, M.C.; et al. Acute Phase Responses of Different Positions of High-Goal (Elite) Polo Ponies. *J. Eq.Vet. Scin.*, v. 33, n.11, p.956–961, 2013.

GRUYS, E.; OBWOLO, M.J.; TOUSSAINT, M.J.M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary chemistry: a review. *Vet. Bull., Stuttgart*, v.64, p.1009-1018, 1994.

HENNEKE, D.R., POTTER, G.D., KRIEDER, J.L & YEATES, B.F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal*, 15, 371–372, 1983.

HIRVONEN, J. Acute phase response in dairy cattle. 2000. 79 f. Thesis-Faculty of Medicine Veterinary University of Helsinki, Helsinki, 2000.

HULTEN, C.; GRONLUND, U.; HIRVONEN, J., et al. Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alpha2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. *Equine Vet. J.*, v. 34, p.699–704, 2002.

JACOBSEN, S. Review of equine acute-phase proteins. In: Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 53°, 2007, Orlando, Flórida. Proceedings... Orlando: University of Florida. v. 53, p.230-235, 2007.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed) clinical biochemistry of domestic animals. San Diego: Academic Press, 932p, 1997.

KENT, J. Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis. *Br. Vet. J.*, v.148, p.279- 282, 1992.

KINGSTON, J. D. Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training In: HINCHCLIFF, GEOR, KANEPS (eds.). *Equine Exercise Physiology – The science of exercise in the athletic horse* 1^o ed. London:Saunders, p.397-409, 2008.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*,v.227, p.680-685, 1970

MACKINNON, L.T.; CHICK, T.W.; VAN AS, A. et al. The effect of exercise on secretory and natural immunity. *Adv. Exp. Med. Biol.*, n. 216 p. 62-76, 1987.

MARANHÃO, R. P. A.; PALHARES, M. S.; MELO, U. P.; RESENDE, H.H.C.; FERREIRA, C. Utilização de um escore na avaliação radiográfica das lesões osteoartriticas em eqüídeos de tração em Belo Horizonte. In: CONGRESSO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 7., 2006, Santos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte: FEP-MVZ Editora, 58, p. 132-134, 2006.

MASINI, P.A.; TEDESCHI, D.; BARAGLI, C. et al. Exercise-induced intravascular haemolysis in standardbred horses. *Comp. Clin. Path.*, v.12 p. 45–48, 2003.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Vet. J.*, v. 168, p. 28-40, 2004.

PEPYS, M.B. C-reactive protein fifty years on. *Lancet* 1981;1(8221):653–7.

POWEL, A., TEICHTAHL, A.J., WLUKA, A.E, CICUTTINI, F.M. Obesity: a preventable risk factor for large joint osteoarthritis wich may act through biomechanical factors. *Br J Sports Med*.39(1):4-5, 2005.

SANDRI S, HATANAKA E, FRANCO A, PEDROSA A, MONTEIRO H, CAMPA A. Serum amyloid A induces CCL20 secretion in mononuclear cells through MAPK (p38 and ERK1/2) signaling pathways. *Immunol Lett* 121 : 22-26, 2008.

THOMAS, J.S. Overview of plasma proteins. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. (Ed) *Schalm's veterinary hematology*. Ames: Blackwell Publising, p.1344, 2006.

TIZARD, I. *Imunologia Veterinária*, 2 ed. São Paulo: Roca, p.329, 1985.

TRAYHURN, P.; WOOD, I.S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr.* 2004;92(3):347-55

VICK, M.M; ADAMS A.A.; MURPHY, B.; HOROHOV, D.W.; COOK, R.F.; SHELTON, B.J.; FITZGERALD, B.P. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *J Anim Sci*, 85:1144-1155, 2007.

WEARING, S.C.; HENNING, E.M.; BYRNE, N.M.; STEELE, J.R.; HILLS, A.P. Musculoskeletal disorders associated with obesity: a biomechanical perspective. *Obes Rev.* 7(3):239-50, 2006.

YUDKIN, J.S.; STEHOUWER, C.D.; EMEIS, J.J.; COPPACK, S.W. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 19:972-8, 1999.