

AVALIAÇÃO DE CK, AST e LACTATO DE EQUINOS SUBMETIDOS À PROVA DE LAÇO COMPRIDO

Lucas Grolli¹; Emanuel Luis Werner Kerkhoff²; Jordana Leonhardt Diel³; Tatiane Camacho Mendes⁴; Ramiro Martins Bonotto⁵.

RESUMO: O presente trabalho tem por objetivo, avaliar lesões da musculatura esquelética que são frequentemente encontradas na clínica de equinos. Os sinais clínicos presentes em distintas alterações musculares são semelhantes e bastante inespecíficos. A melhor forma de avaliar estas alterações, é por meio da bioquímica sanguínea, principalmente pela dosagem das enzimas musculares, como CK, AST e Lactato podemos avaliar se a lesão é recente, contínua ou está em recuperação. Ressalta-se também o estresse ocasionado pelo transporte desses animais. Os níveis de depleção/ausência de oxigênio, Para que essa contração seja realizada a geração de ATP aerobiamente é necessária, o fornecimento de oxigênio é promovido pela mioglobina. Durante o exercício a demanda de oxigênio aumenta significativamente. Foram coletadas 3 amostras de sangue de 18 equinos, com intervalos de 12 horas, submetidos a prova de laço comprido, com um percurso de 90 metros de explosão. Dos animais avaliados 96% tiveram CK, AST e Lactato, elevados indicando lesão muscular, levam-se em conta os fatores climáticos, pois nos dias das coletas havia precipitações de chuva e temperaturas amenas. A partir desses valores concluiu-se que os níveis de CK, AST e Lactato se encontraram elevadas desde a primeira coleta, sendo por fatores de estresse de transporte, e o esforço físico gerado pelo exercício que os animais foram submetidos.

Palavras chave: Equinos, Enzimas, Exercício.

INTRODUÇÃO

O cavalo é considerado o principal atleta entre os mamíferos, em função da máxima captação de oxigênio relativo à massa corpórea seus músculos possuem alta força de contração que é transmitida por cada fibra muscular, tendões e para finalizar nos ossos do esqueleto por isso são atletas extremamente exigidos na parte física em atividades esportivas, sendo submetidos em longos períodos de treino com a ideia de variar em atividades de alta exigência, moderada e leve. São animais que participam de competições onde a velocidade e resistência

¹Acadêmico do curso de Medicina Veterinária da UCEFF. Email lucasdgrolli@hotmail.com

²Acadêmico do curso de Medicina Veterinária da UCEFF. Email emanuelkerkhoff01@gmail.com

³Acadêmico do curso de Medicina Veterinária da UCEFF. Email jordanaldiel@gmail.com

⁴Docente do curso de Medicina Veterinária da UCEFF. Email tatiane@uceff.edu.br

⁵Docente do curso de Medicina Veterinária da UCEFF. Email ramiro@uceff.edu.br

são fatores que contam muito para sua performance, onde se exige muito de um animal fisiologicamente por consequência geram um desgaste físico exacerbado gerando lesões (JACKSON, 1997).

Nem todos os exercícios que o animal é submetido desencadeia alguma lesão muscular, fato este que ocorre quando o animal é submetido a exercícios intensos, porém não possuem um preparo físico adequado, animal colocado em provas violentas, passado por situações de estresse, onde até mesmo a temperatura e níveis de umidade podem influenciar no desgaste do animal / GALVÃO, J; GUSMÃO, L; POSSANTE, 2003).

As lesões da musculatura esquelética são frequentemente encontradas na clínica de equinos. Os sinais clínicos presentes em distintas alterações musculares são semelhantes e bastante inespecíficos; por isso, quando isolados, têm limitado valor diagnóstico, requerendo, frequentemente, o uso de exames laboratoriais complementares (CAMARA e SILVA, DIAS & SOTO-BLANCO, 2007).

A melhor forma de avaliar estas alterações é por meio da bioquímica sanguínea, principalmente pela dosagem das enzimas musculares, como a Creatina Quinase (CK), Lactato Desidrogenase (LDH) e Aspartato Aminotransferase (AST), que terão seus níveis sanguíneos alterados quando houver algum tipo de lesão muscular, causado pela depleção/ausência de oxigênio, fazendo com que haja a produção de energia pela via anaeróbica, tendo a produção e acúmulo de ácido láctico (MIRANDA, 2009).

Portanto, objetivou-se a avaliação de parâmetros fisiológicos e também enzimas musculares para avaliar como vem sido preparados os animais no extremo Oeste Catarinense para provas de laço comprido.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para realização do experimento será seguido o seguinte protocolo de modo que os 20 cavalos selecionados aleatoriamente, sem preferência por sexo, idade, raça ou condicionamento físico, onde estes passarão pelos mesmos experimentos de avaliação sendo que estes estavam em iguais condições. As amostras foram coletadas de equinos que participaram do rodeio interestadual do município de Itapiranga no período de 10, 11 e 12 de fevereiro de 2017.

Primeiramente foram coletadas as informações na ficha para cadastro, confecção de uma resenha do animal, em seguida aferidas as frequências cardíaca e respiratória, temperatura da muralha dos cascos, se mediu a altura e o peso corporal do animal com a fita de pesagem. Logo após os animais foram levados ao cocho para beberem água a vontade.

Como os animais que foram coletados para as avaliações haviam sido transportados até o local do evento objetivou-se um período de descanso, igual a todos os animais, visando amenizar possíveis efeitos colaterais de estresse causados pelo transporte, foram feitas novas medições como frequências cardíaca e respiratória, temperatura da muralha dos 4 cascos juntamente com a coleta de material biológico (sangue). As amostras foram coletadas por venopunção da jugular, o sangue coletado nos tubos com o ativador de coagulo e com o fluoreto de sódio passam pela centrifugação para separação do soro/plasma, a 1000 rpm por 10 minutos imediatamente após a centrifugação, o soro, foi armazenado em tubos tipo eppendorf, para posterior realização das provas bioquímicas de lesão muscular como a AST, CK, Lactato, LDH.

As análises bioquímicas foram realizadas conforme a especificação do kit e fabricante em analisador bioquímico semi-automático (Bioplus 2000). Para preservação do analito o soro foi congelado após armazenamento nos tubos tipo *eppendorf*.

A segunda coleta foi realizada após o exercício intenso destes animais para demonstrar as possíveis alterações, a terceira coleta foi feita aproximadamente 24 horas após a primeira coleta, sendo estes mantidos em repouso após a segunda coleta com o objetivo de ver se o animal apresentava ainda alterações ou se tinha se recuperado de um quadro sugestivo pela intensidade de exercício.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A musculatura esquelética compreende a maior parte de massa corpórea nos animais. Suas fibras podem se estender ao decorrer de todo o músculo em questão, sua classificação é de extensores, flexores, adutores, abdutores e estes compreendem o poder de tração, força e desempenho. Em alguns animais são mais desenvolvidos, pois são utilizados para explosão e precisão dos movimentos (THOMASSIAN, 2005).

Os componentes do músculo esquelético são as fibras. Estas, formadas por tecido conjuntivo denso modelado compreendidas dentro de um sarcolema sendo uma cobertura

celular até o endomísio que dá continuidade aos feixes musculares envolvidos pelo perimísio. Onde ligam se ao epimísio para formação de feixes que se ligam aos tendões (REECE, 1996).

Dentro de cada fibra muscular se tem miofibrilas que são partes internas da fibra. Estas, são separadas por sarcômeros que são miofilamentos proteicos que contém actina e miosina em seu contexto formando estrias. Todas fibras musculares contém estrias que dão alinhamento aos sarcômeros, tendo também um sistema sarcotubular com túbulos T que são ligados aos sarcômeros responsáveis pela passagem do comando de contração pela junção neuromuscular. Todo sistema muscular para funcionar recebe um estímulo de Ach (acetilcolina), que é liberada por um impulso nervoso que passa por cada terminal de fibra muscular. A entrada de Ach aumenta a concentração de Ca intracelular, que aumenta sua permeabilidade, começando um processo de despolarização, sendo que cada despolarização precisa de um impulso nervoso que aguarda o novo comando (GALVÃO, J; GUSMÃO, L; POSSANTE, M., 2003).

Para cada contração se tem interação entre os filamentos de miosina e actina, que tem uma atração natural entre si, quando a fibra está em repouso os sítios de ligação estão encobertos. Aumentando a concentração de cálcio os sítios são descobertos para que as miosinas se nos sítios alvos que fazem com que ocorra o deslizamento da actina em direção ao centro molecular da miosina (REECE, 1996).

O filamento de actina tem 3 componentes: a actina, a tropomiosina e a troponina. A actina se entrelaça com a tropomiosina. A troponina que tem afinidade com o Ca mantém a actina e a tropomiosina entrelaçadas, os sítios de ligação estão encobertos pela tropomiosina, o Ca ligado a troponina libera os sítios de ligação e deslizam as cabeças de actina, tendo se assim a ação de 1 ATP (adenosina trifosfato). Para o seu relaxamento é necessário que o ATP seja hidrolisado e desfororilado em ADP (difosfato de adenosina), ou seja, ocorra assim o desligamento da cabeça de miosina e os sítios de ligação são. A energia da contração é toda derivada do ATP (adenisina trifosfatase) (REECE, 1996).

Deve se levar em conta que este é o funcionamento fisiológico do organismo, tendo assim que ter boas reservas de ATP e O₂, além de um preparo físico e aquecimento adequado (GOMIDE, 2006).

Para que essa contração seja realizada a geração de ATP aerobiamente é necessária, o fornecimento de oxigênio é promovido pela mioglobina. Durante o exercício a demanda de oxigênio aumenta significativamente, pois como as células musculares elas estarão em

movimentação constantes elas irão requerer um nível maior de ATP e oxigênio para atender esta nova demanda, como normalmente os animais não são pré aquecidos para exercício intenso a produção de ácido lático é quase que imediata ao exercício (RECEE, 1996).

A Rabdomiólise compreende um processo inflamatório que acomete o tecido muscular dos equinos podendo ser de origem traumática direta e indireta ou por processo secundário (THOMASSIAN, 2007).

Na maioria das vezes ocorre uma ação traumática indireta onde os animais excedem a capacidade de suas fibras musculares por excesso de contração e relaxamento. No caso destes animais serem submetidos a esforços físicos, depois de um período de descanso prolongado, estes animais não possuem o preparado adequado para realizar o exercício proposto com o máximo de desempenho (THOMASSIAN, 2005).

Dietas ricas em carboidratos também podem influenciar, pois esses carboidratos acabam sendo armazenados influenciando assim o ECC (escore de condição corporal) que na maioria das vezes está acima do indicado. Em equinos que tem dieta exclusiva de pastagem se observa a enfermidade quando são submetidos a esforços prolongados (RESENDE, 2005).

Inicialmente o animal irá desempenhar seu exercício aerobicamente, onde ocorre o consumo de glicose de forma fisiológica. Com o aumento do exercício, o oxigênio não chega ao músculo, que mantém a produção de energia mas sem oxigenação, neste caso temos a formação de energia por anaerobiose que leva a formação de ácido lático. Este por sua vez acaba lesionando os músculos (RESENDE, 2005).

A rabdomiólise se inicia com o animal apresentando discreta incoordenação motora e relutância ao passo, observada mais nos membros posteriores. Os principais músculos afetados são os M. psoas, M. longuíssimo, M. toracolombar, M. glúteo, M. semitendinoso e M. semimembranoso, tais músculos quando palpados apresentarão reflexo de dor. O animal adota uma posição de coluna arqueada pela dor próxima a região renal (THOMASSIAN, 2005).

Os sinais clínicos presentes em distintas alterações musculares são semelhantes e bastante inespecíficos, podendo não desempenhar um diagnóstico preciso. A melhor forma segundo RIBEIRO, 2004 de avaliar estas alterações é por meio da bioquímica sanguínea, principalmente pela dosagem das enzimas musculares, como CK, LDH, Lactato e AST, podemos avaliar se a lesão é recente, contínua ou está em recuperação. Ressalta-se também o

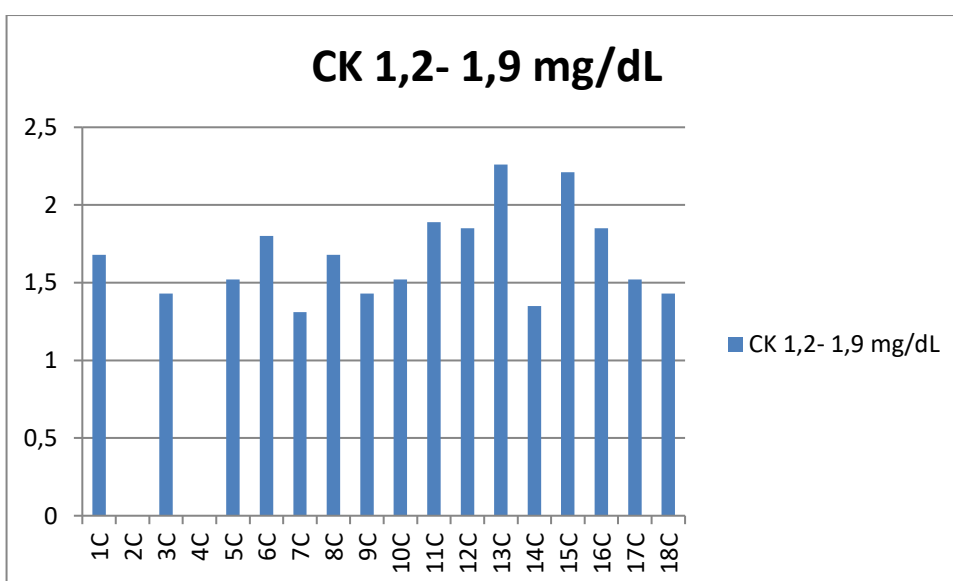
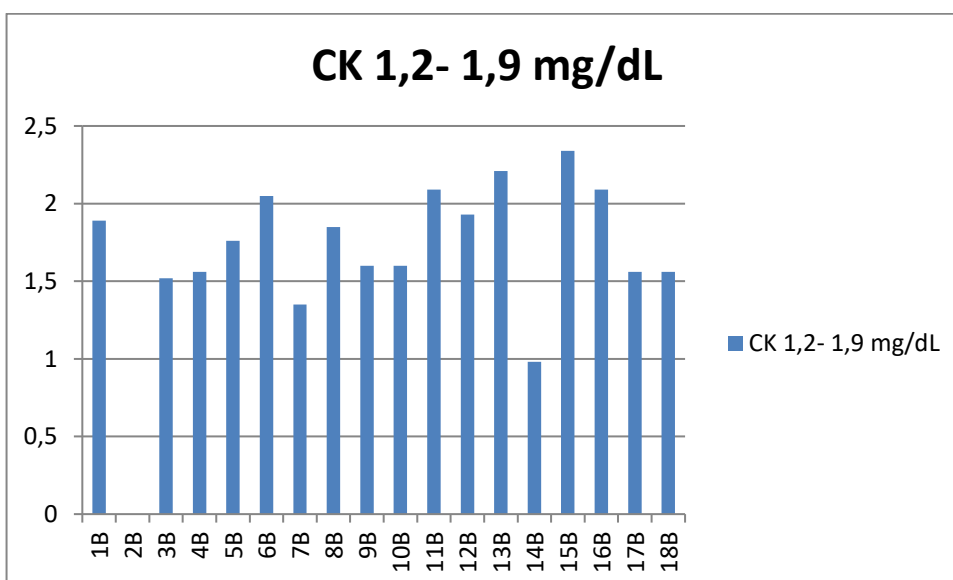
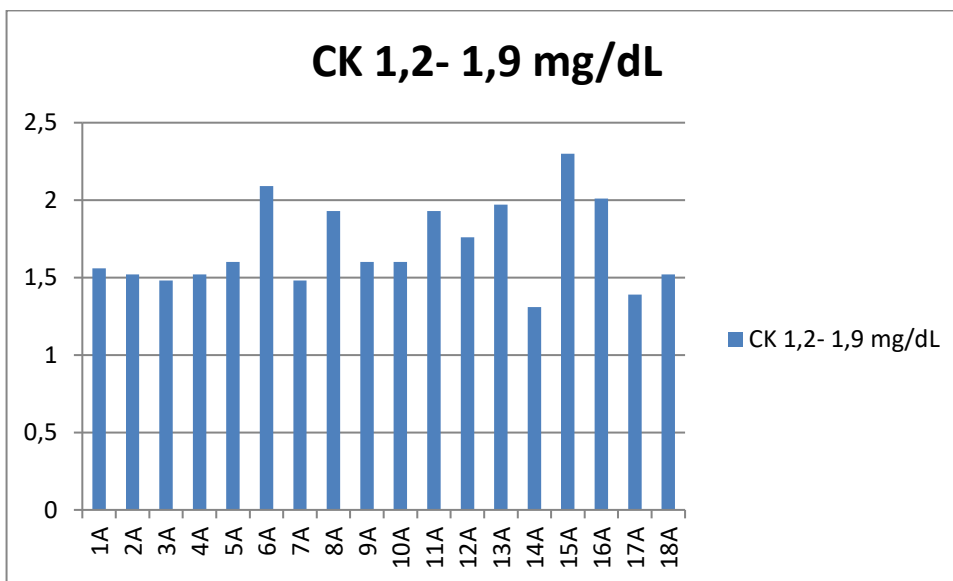
estresse ocasionado pelo transporte desses animais. Os níveis de depleção/ausência de oxigênio (BAPTISTELLA, 2009).

O animal se encontrando em um quadro de rabdomiólise apresentara como sinal clínico característico à urina em cor “coca-cola”, que é uma referência a coloração escura que a mesma apresenta. Isto se deve ao fato de que o ácido láctico lesionando a célula muscular ocasiona a liberação de mioglobina (pigmento muscular) que é filtrado pelos rins e eliminada na urina. Lembrando que a mioglobina é lesiva as células renais e por isso pode causar lesão glomerular (THOMASSIAN, 2005).

Foram coletadas 3 amostras de sangue de 18 equinos, com intervalos de 12 horas, submetidos a prova de laço comprido, com um percurso de 90 metros de explosão. Dos animais avaliados grande parte teve alguma alteração nas enzimas CK, AST e LDH, estando elevados indicando lesão muscular, levam-se em conta os fatores climáticos, pois nos dias das coletas havia precipitações de chuva e temperaturas amenas, não expondo os animais a certas dificuldades onde teriam se as temperaturas fossem mais elevadas. A partir desses valores concluiu-se que os níveis de CK, AST e LDH se encontraram elevadas desde a primeira coleta, sendo por fatores de estresse de transporte, e o esforço físico gerado pelo exercício que os animais foram submetidos.

A Creatinocinase é uma enzima que está presente nos músculos esquelético, cardíaco, liso, cérebro e nervos. Se encontra livre no citoplasma das células musculares, portanto quando as mesmas são lesadas (por exercícios vigorosos ou por traumas), mesmo que superficialmente, se tem o extravasamento desta enzima. Esta é muito utilizada para o auxílio no diagnóstico de lesões musculares.

O tempo de atividade sérica em que a CK pode ser mensurada é de 6 a 12 horas após uma lesão aguda, e se reestabelece de 2 a 48h após atividade e/ou resolução da lesão. Quando se trata de equinos, esta atividade é inferior de 2 a 4h, por isso é de grande importância que a análise seja o mais breve possível ou o plasma sanguíneo seja separado e congelado para posterior análise (LANSSEN, 2007).



Na primeira coleta se observou que 27% dos animais apresentaram os níveis de Creatinoquinase acima dos valores fisiológicos, onde estes animais poderiam estar influenciados por algum estresse por transporte ou até mesmo no momento da coleta como cita LANSSEN (2007) que se deve ter cuidado ao se realizar a venopunção para que a amostra não sofra hemólise para que não interfira nos resultados. Na segunda avaliação os mesmo animais tiveram um considerado aumento de enzima em sua concentração aumentando para 33% dos animais.

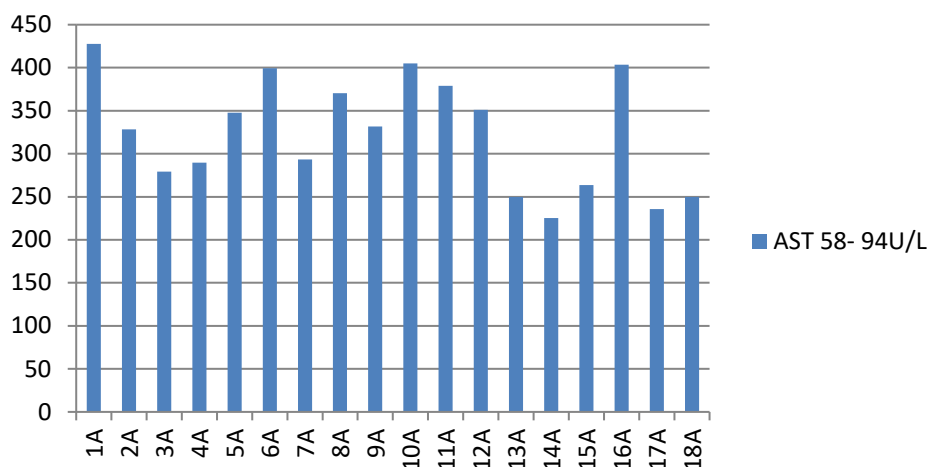
Segundo Toledo (2015) em cavalos submetidos a diferentes níveis de exercício observou-se o mesmo fator, onde a indução ao exercício elevou a enzima. Quando os animais se apresentavam em repouso os dados medidos não fugiam do fisiológico, e posterior indução ao exercício se teve os resultados que elevou a enzima colabora com Valberg, Haggendal e Lindholm (1996) que observou um pico de CK posterior ao exercício dos animais.

Tais resultados se diferem dos de FERNANDES (1994) onde não encontrou alteração nos exames medindo a enzima CK.

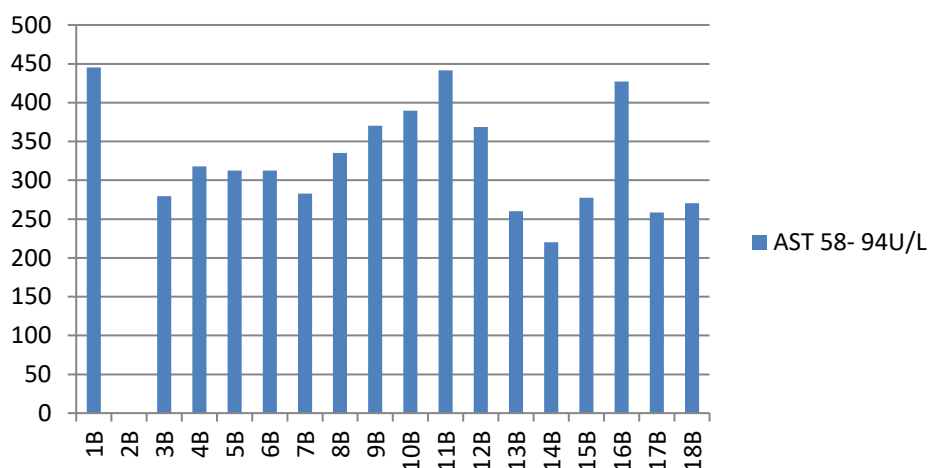
Na terceira coleta após um repouso de aproximadamente 12 horas 11% dos animais se mantiveram em elevação perante esta enzima, o restante se restabeleceu ao fisiológico. Onde LANSSEN (2007) demonstra o mesmo resultado onde a atividade da enzima CK fica ativa em média de 2h a 4h em equinos.

A enzima AST se encontra concentrada nos hepatócitos, células musculares e cardíacas. Ela está presente no citoplasma e organelas das células. Seu aumento de concentração ocorre de forma mais lenta comparado ao CK, sua atividade sérica aumenta em torno de 24 a 36h após a lesão muscular aguda, sua diminuição também é mais lenta, em torno de 12 horas (LANSSEN, 2007).

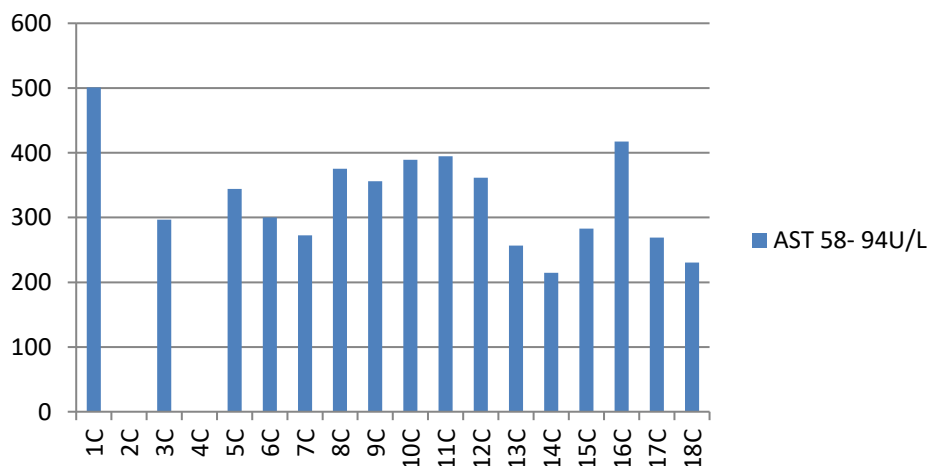
AST 58- 94U/L



AST 58- 94U/L

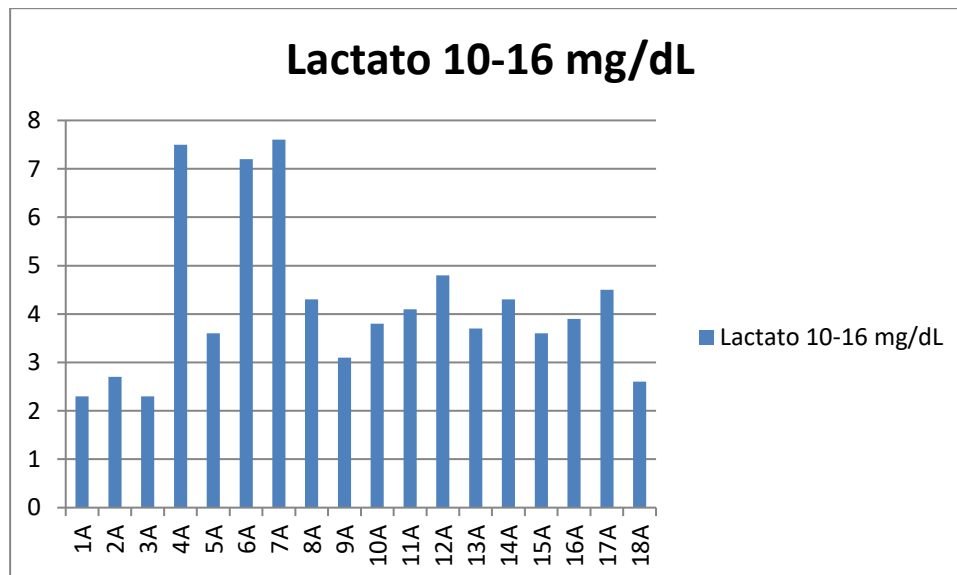


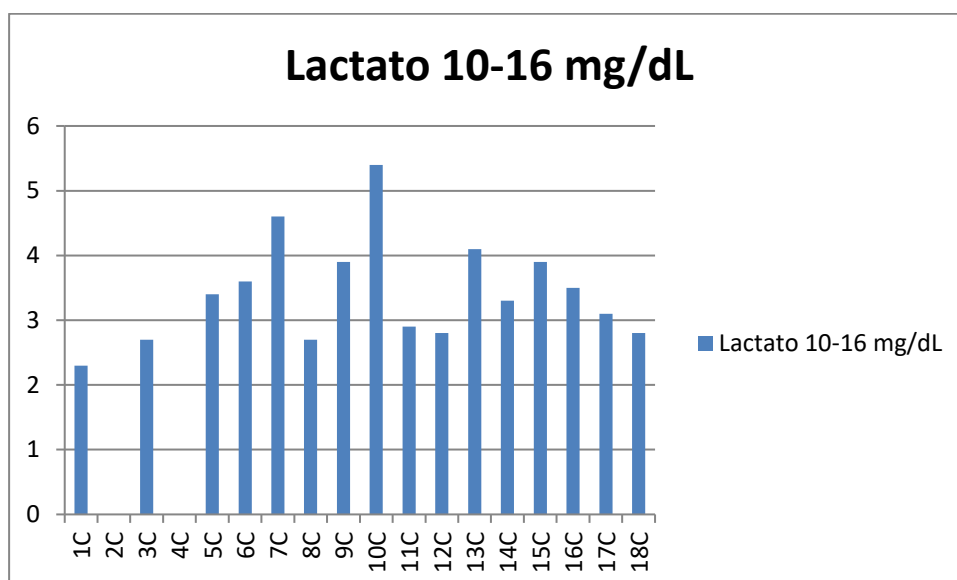
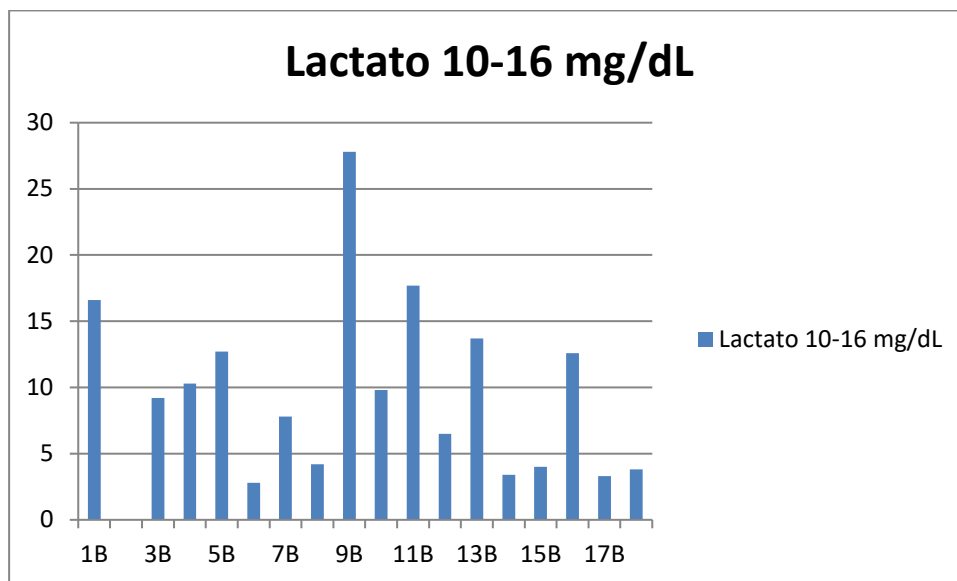
AST 58- 94U/L



O presente estudo da enzima Aspartato aminotransferase se obteve de que ao decorrer de todo o processo de colheita dos dados está se apresentou acima do valor fisiológico.

Isso pode ser explicado pelo fato de os animais serem continuamente usados em provas de laço, e também que não tem um preparo físico adequado. Segundo LANSSEN (2007) os animais demoram em média 2 dias para sua recuperação, demonstrando que os animais vem se recuperando de possíveis lesões passadas. Maiores alterações foram demonstradas na segunda colheita. Quando se tem atividade de CK e AST combinadas pode-se estimar o período que ocorreu a lesão. O aumento exclusivo de CK sugere uma lesão muscular muito aguda, o aumento de ambas mostra uma lesão mais recente que ainda está ocorrendo e o aumento exclusivo de AST indica que a lesão cessou a mais de dois dias pela baixa de CK que já se restabeleceu.





A enzima Lactato é encontrada no citoplasma de grande parte de células do organismo animal. O seu extravasamento é bastante inespecífico, por estar presente em vários tecidos (LANSSEN, 2007).

Na primeira mensuração de os resultados permaneceram abaixo do fisiológico, na segunda 16,5% dos animais tiveram elevação, que estabelece um nível de lesão muscular a ser considerada. Se restabelecendo na terceira coleta pelos animais estarem em repouso e num intervalo de 12h pós-exercício.

Destaco que os animais 2 e 4 não foram mais avaliados pela questão de estresse na coleta de sangue e por lesão desenvolvida ao decorrer das provas.

CONCLUSÃO

A partir desses valores concluiu-se que os níveis de CK, AST e Lactato se encontraram elevadas desde a primeira coleta, sendo por fatores de estresse de transporte, e o esforço físico gerado pelo exercício que os animais foram submetidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BABTISTELLA, M. F. Atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase, creatinoquinase e lactato desidrogenase em equinos submetidos a diferentes intensidades de exercícios. Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente. Vol. XII, n.13, p.33-42, 2009.

CÂMARA E SILVA, I.A.; DIAS, R.V.C.; SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em eqüinos de diferentes categorias de atividade. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, vol.59 no.1 Belo Horizonte Feb. 2007.

FERNANDES, W. R. Alterações dos Parâmetros do Eletrocardiograma e da Crase Sangüínea em Eqüinos das Raças Árabe e Mangalarga, bem como de Mestiços, submetidos à Prova de Enduro. São Paulo, 1994. 73 p. Dissertação (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

GALVÃO, J; GUSMÃO, L; POSSANTE, M. Insuficiência renal e Rabdomiólise induzidas por exercício. Revista Port Nefrol Hipert. p. 189-197, 2003.

GOMIDE, L.M.W et al. Concentrações sanguíneas de lactato em equinos durante a prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural**, v.36, p.509-513, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782006000200022&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 12/03/2018

JACKSON, S.G. Trace minerals for the performance horse know biochemical roles and estimates of requirements. Continuing Education, v.50, p.668- 674, 1997.

MIRANDA, Renata Lima de. Perfil bioquímico sérico e hematológico de equinos submetidos à prova de team penning. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

RESENDE, A.R. Miosites do cavalo atleta. In: Anais do II Simpósio Internacional do Cavalo Atleta. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2005.

REECE, O. William. Músculos. In: **Fisiologia de animais domésticos**. Ed. 1. São Paulo: ROCA, 1996. Cap 3, pag 63 – 79.

LANSEN, D. E. Diagnóstico Laboratorial da Lesão Muscular. In: THRALL, M. A. et al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. Ed. 1. São Paulo: ROCA, 2007. Cap. 27, pag. 391-393.

RIBEIRO, C.A. Avaliação de constituintes séricos em equinos e muarees submetidos á prova de resistência de 76 km, no Pantanal do Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**. Vol. 34 n.4 Pág 1081-1086, 2004.

ROSE, R.J.; ILKIM, J.E.; ARNOLD, K.S. Plasma biochemistry in the horse during 3-day event competition. *Equine Veterinary Journal*, v.12, n.3, p.132-136, 1980b.

THOMASSIAN, A. Afecções dos músculos. In: **Enfermidades dos cavalos**. Ed 4. Botucatu, SP: Varela, 2005. Cap.3, Pag 53 – 55.

THOMASSIAN, A. et al. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. *Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, São Paulo*, v. 44, n.3, p. 183-190, 2007.

VALBERG, S. J. Muscular Causes of Exercise Intolerance in Horses. In: **The Veterinary Clinics of North America**, v. 12, n. 3, p. 495-515, 1996.