

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

ANA ISABELA ALVES DINIZ

**BIOMARCADORES LIPÍDICOS E MINERAIS NO PLASMA DE EQUINOS
SUPLEMENTADOS COM UMA MISTURA DE ÓLEOS ESSENCIAIS**

RECIFE - PE

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ANA ISABELA ALVES DINIZ

BIOMARCADORES LIPÍDICOS E MINERAIS NO PLASMA DE EQUINOS
SUPLEMENTADOS COM UMA MISTURA DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Campus Recife, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição e Produção de Não-Ruminantes

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso

Co-Orientador: Prof. Dr. Hélio Cordeiro Manso Filho

RECIFE - PE

2015

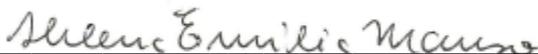
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

BIOMARCADORES LIPÍDICOS E MINERAIS NO PLASMA DE EQUINOS
SUPLEMENTADOS COM UMA MISTURA DE ÓLEOS ESSENCIAS

Dissertação de mestrado elaborada por
ANA ISABELA ALVES DINIZ

Aprovada em: 11 / 02 / 2015

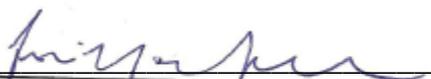
BANCA EXAMINADORA:



Prof^a. Dr^a. Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE



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



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



Prof. Dr. Fernando Leandro dos Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Ficha Catalográfica

D585b Diniz, Ana Isabela Alves
 Biomarcadores lipídicos e minerais no plasma de equinos
 suplementados com uma mistura de óleos essenciais / Ana
 Isabela Alves Diniz. -- Recife, 2015.
 53 f.: il.

 Orientador (a): Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro
 Manso.
 Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal
 Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia, Recife, 2015.
 Inclui apêndice(s) e referências.

 1. Equino 2. Nutrição animal 3. Bioquímica I. Manso, Helena
 Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro, orientadora II. Título

CDD 636.0852

Aos meus guias espirituais.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Aos amigos ocultos que têm me motivado, zelado e vigiado para que esta etapa pudesse ser concluída.

Aos meus queridos e amados pais (Margarita e Ailton) e irmãos, em especial Hayrton que tem idealizado muito esse momento: A PRIMEIRA MESTRE NA FAMÍLIA!!!! (esse título também é seu!!!!).

A você futuro esposo (Valtermarques) que com toda sua paciência compreendeu os momentos de ausência, e que sua força e motivação me fizeram ter, ainda mais, vontade de ir mais longe. Te amo, obrigada!

As meninas do Biopa essenciais na realização das análises: Érika, Telga, Stephania, Simone, Gisele; e em especial pela amizade: Monica e Bethe. Valeu meninas!!!

A minha orientadora Helena Manso e Co-orientador Hélio Manso, por ter mostrado um modo diferente de lidar com cada situação e críticas. E, juntamente, a UFRPE por manter as portas abertas para continuidade da minha formação.

Professora Lúcia Maia, sempre trazendo equilíbrio para o ambiente. Suas palavras brandas e sábias confortavam e alegravam meu coração. Obrigada pela ótima companhia.

E a senhorita, Dona Edjane, não pense que a deixaria de fora dessa!!! Obrigada, pela companhia durante essa caminhada, terei a ti sempre como uma grande amiga, que apareceu na minha vida de forma repentina, alegre e extrovertida. Conte sempre comigo.

Ao funcionário Tavares pelo auxílio no manejo das éguas do DZ. Assim como os estagiários: João, Bruno, Valdelira, Taísa e Karol.

Ao Haras Cascatinha pela concessão dos animais.

A Integralmix pela concessão do óleo utilizado no experimento.

A CAPES pelo financiamento da pesquisa.

Obrigada por tudo meu Deus!

“Quando eu nasci minha mãe me cobriu de oração e Deus me abençoou. Meu corpo é fechado, só entra o bem, o que é amor.”

“Nóis acredita na força do criador. Nóis faz tudo com amor. Não desiste, corre atrás. Nóis é parada dura, nóis vai com gosto de gás. Nóis trinca, mas não quebra. Nóis balança, mas não cai.”

Vicente Nery & Cheiro de Menina

BIOGRAFIA

ANA ISABELA ALVES DINIZ, filha de Ailton Gomes Diniz e de Margarita Alves Mariano Diniz, natural de Floresta-PE, nascida em 25 de julho de 1988. Concluiu o ensino médio no Colégio Contato, na cidade de Recife (PE) em 2005 e ingressou, em agosto de 2006, no curso de Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco - Campus Sede, Recife (PE), na qual, em agosto de 2012, obteve o título de Médica Veterinária. Em março de 2013, na mesma casa, iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Não Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2015, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG – Ácido graxo

AST – Aspartato Aminotransferase

ATP – Adenina Trifosfato

Ca – Cálcio

Cal/g – Caloria por grama

Cl – Cloreto

CK – Creatina Quinase

CT – Colesterol total

EE – Extrato etéreo

GC – Glicerol

Kcal – Quilocaloria

Kg - Quilograma

HDL – Lipoproteína de alta densidade

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

LP - Lipase

Mg - Magnésio

AGNEs - Ácidos graxos não esterificados

P – Fósforo

PB – Proteína bruta

TG – Triglicerídeos

UFRPE – Universidade Federal Rural de Pernambuco

m/s – Metros por segundo

mg/dL – Miligrama por decilitro

mmol/L – Milimol por litro

mg/L – Miligrama por litro

mg/dL – Miligrama por decilitro

U/L – Unidades por litro

G1 – grupo 1 (animais em manutenção)

G2 – grupo 2 (animais em exercício)

% - Porcentagem

' – Minutos

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1. Níveis de garantia dos concentrados e óleo utilizados durante o experimento..... Pg 24.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão dos biomarcadores lipídicos de equinos em manutenção consumindo 100 ml de óleo..... Pg 26.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão dos biomarcadores lipídicos de equinos em exercício consumindo 300 ml da mistura de óleos..... Pg 26.

Capítulo 3

Tabela 1. Níveis de garantia dos concentrados e óleo utilizados durante o experimento..... Pg 40.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão dos biomarcadores minerais de equinos em manutenção consumindo 100 ml de óleo..... Pg 41.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão dos biomarcadores minerais de equinos em exercício consumindo 300 ml da mistura de óleos..... Pg 41.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	13
Referências	17
CAPÍTULO 2 – PERFIL DOS BIOMARCADORES LIPÍDICOS EM EQUINOS SUPLEMENTADOS COM UMA MISTURA DE ÓLEOS	19
Resumo	19
Abstract	20
Introdução	21
Material e Métodos	22
Animais	22
Suplemento	23
Delineamento Experimental	23
Amostras e Análises Laboratoriais	23
Análise Estatística	24
Resultados	25
Discussão	27
Discussão sobre Colesterol Total e suas frações	27
Discussão sobre Triglicerídeos, Agne e Glicerol	28
Conclusão	32
Referências	33
CAPÍTULO 3 – PERFIL DOS BIOMARCADORES MINERAIS EM EQUINOS SUPLEMENTADOS COM UMA MISTURA DE ÓLEOS	35
Resumo	35
Abstract	36
Introdução	37
Material e Métodos	38
Animais	38
Suplemento	39
Delineamento Experimental	39
Amostras e Análises Laboratoriais	39
Análise Estatística	40

Resultados e Discussão	40
Conclusão	45
Referências	46
APÊNDICES	48

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

O Brasil possui o terceiro maior rebanho de equinos do mundo. A região nordeste está classificada como a segunda no país em população de equinos, e como a que possui o maior registro de asininos e muares (BRASIL, 2014).

O equino, desde os primórdios, é um animal herbívoro altamente seletivo, capaz de selecionar seu próprio alimento mantendo-se em condições saudáveis quando solto na natureza (DITTRICH et al., 2010). Segundo Meyer (1995) e Vilela (2009) em uma região há possibilidade de crescer mais de 100 espécies vegetativas que servem de pasto para os equinos, permitindo a escolha alimentar.

O volumoso, sempre foi a base alimentar do cavalo por conter grandes quantidades de fibra bruta em sua composição, o que proporciona o bom funcionamento do trato gastrointestinal. O uso exclusivo não supre as exigências energéticas dos animais atletas, necessitando estes de suplementação alimentar. Por esse motivo, entre outros, os concentrados, em sua maioria grãos de cereais, ganharam espaço na dieta dos equinos, e estão sendo vastamente utilizados como fonte energética (BRANDI E FURTADO, 2009; TARAN, 2011).

Porém, a ingestão excessiva de concentrado tem ocasionado distúrbios gastrointestinais e metabólicos nos equinos, promovendo desequilíbrio na microbiota ao atingir o ceco, resultando em cólicas. A ocorrência dessa síndrome, além de levar a prejuízos econômicos pode resultar em óbito.

Pesquisas publicadas em revistas especializadas mostram que a redução da quantidade de concentrado na dieta reduz a ocorrência de cólica nos animais, porém, deixam em déficit energético aqueles que realizam atividade física. Para sanar o déficit energético e retardar a fadiga muscular, estudos vêm sendo desenvolvidos com a inclusão diferentes fontes de óleo na dieta.

A cada dia busca-se aperfeiçoar o sistema alimentar dos equinos, a fim de que as necessidades energéticas sejam supridas garantindo o máximo desempenho produtivo. Para isso, o balanceamento da dieta e escolha do alimento é essencial.

Em 1973 a introdução de gordura na alimentação foi estudada em cães de corrida com objetivo de prevenir a rabdomiólise, lesão da musculatura esquelética, com perda da integridade da membrana muscular. Em equinos os primeiros estudos também foram relacionados a esta patologia, mas com o crescente uso desses

animais em atividades competitivas têm-se buscado a redução da fadiga muscular para potencializar o desempenho físico do animal (MATTOS et al., 2006).

O uso de gorduras e óleos em rações animais nos Estados Unidos da América e Europa é quase que obrigatório devido ao custo e benefícios que proporcionam. Esses têm 2,25 vezes mais energia que os carboidratos, aumentando desta forma a densidade energética das rações, elevando sua palatabilidade, fornecendo ácidos graxos essenciais, veículo das vitaminas lipossolúveis. Também atuam na redução da pulverulência das rações, estabilizam a mistura de alimentos, além de promover economia calórica pela perda reduzida de energia no processo de digestão e metabolismo, permitindo uma maior disponibilidade para os processos produtivos animal (MONZANO et al., 1995).

Segundo Meyer et al. (1989), a gordura na dieta de cavalos atletas pode resultar na manutenção da velocidade por maior período ou no aumento da velocidade do exercício. Cunha (1991) afirmou que o uso de gordura como fonte de energia tem sido mais eficiente quando o animal treina. Animais que ingerem gordura por meio de dieta são menos propícios a episódios de cólica e laminite (FRAPE, 1994). Em Konh et al. (1996), equinos de regiões de clima quente e que se exercitam são favorecidos com a inclusão de gordura na dieta, pois esta reduz o incremento calórico, onde 3% a menos de calor é produzido, quando comparada a oxidação dos ácidos graxos com a oxidação da glicose.

Mattos et al. (2006), demonstraram que a adição de dois níveis de inclusão de óleo de soja na dieta de equinos, 250 e 500 g, submetidos a exercício de média intensidade, resulta em melhoras no desempenho hematofisiológico, que pode resultar em melhor desempenho atlético. Constataram ainda que a recuperação pós prova dos animais que consumiram 500g de óleo foi melhor. Resende Júnior et al. (2004) avaliaram a inclusão de diferentes níveis de óleo de milho na dieta de equinos, e afirmam ser possível adicionar até 750 ml de óleo de milho no concentrado diário dos equinos por um período de até 23 dias, visando elevar o nível energético da dieta sem o correspondente aumento no fornecimento da matéria seca.

Oliveira et al. (2010), ao estudarem os efeitos da suplementação com óleo de arroz na dieta equina, concluíram que a suplementação foi determinante para impedir o aumento do lactato em equinos submetidos ao exercício, o que é relevante no desempenho atlético.

Fornecer uma suplementação de fonte lipídica elevará o nível de energia da dieta sem que haja sobrecarga alimentar (GODOI et al., 2009).

Segundo Lewis (1995) até 20% de gorduras podem ser adicionadas na dieta dos equinos, sem provocar qualquer disfunção digestiva ou metabólica. Colesterol, fosfolipídios e triglicerídeos são os três grandes grupos lipídicos encontrados em quantidade no plasma sanguíneo e se elevam, dentre outras circunstâncias, após alimentação com gordura (GONZÁLEZ E SCHEFFER, 2003; HENDRIX, 2005).

Reece (2005) menciona que a presença de lipídeos no plasma sanguíneo provém da absorção das gorduras da dieta, da mobilização dos lipídeos da estocagem no tecido adiposo ou processos metabólicos. Wanderley (2009) relatou que, frente às necessidades, as gorduras serão utilizadas a partir das reservas contidas no tecido adiposo o que, resultará em ácidos graxos não esterificados (AGNEs) e glicerol.

O colesterol tende a ser relativamente constante numa determinada espécie, mas as concentrações plasmáticas de triglicerídeos podem variar bastante, dependendo, em grande parte, da ingestão, estocagem e mobilização da gordura, como também sua síntese no fígado (REECE, 2005). Em relação aos animais domésticos, os estudos sobre colesterol e triglicerídeos mostram-se com bastante variação entre as espécies (WANDERLEY, 2009).

Animais que apresentam condições metabólicas normais, os ácidos graxos livres encontram-se consideravelmente abaixo das concentrações dos demais lipídeos (REECE, 2005). Segundo o autor, eles ligam-se a albumina e são carreados para o coração, músculos esqueléticos, fígado e outros tecidos, representando a principal fonte de energia para alguns tecidos quando há baixas de glicose.

Segundo Wanderley (2009) os ácidos graxos de cadeia longa e o glicerol na corrente sanguínea mobilizam-se lentamente permanecendo em grandes quantidades no organismo. Em exercícios de média a longa duração os lipídeos são a fonte energética utilizada por estar lentamente disponível. Enquanto que nos de curta duração usa-se a glicose como combustível por estar rapidamente disponível.

Nelson e Cox (2006) comentaram que como resultado da oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa tem-se o acetil Co-A, liberando energia em diversos organismos e tecidos. Nessa oxidação os elétrons removidos passam pela cadeia respiratória e a energia liberada será utilizada para síntese de Adenosina Trifostato (ATP); como resultado tem-se o acetil Co-A, que se totalmente oxidado até co₂ pelo

ciclo do ácido cítrico, resulta em mais energia. No fígado, o acetil Co-A pode dar origem a corpos cetônicos, que servem de combustíveis para o cérebro na ausência da glicose.

Os Colesteróis LDL (lipoproteína de baixa densidade) e HDL (lipoproteína de alta densidade) são de extrema importância, pois por meio de sua ligação com a albumina, eles direcionam as gorduras aos diferentes tecidos do corpo. O LDL carrega gordura para os tecidos extra-hepáticos e o HDL carrega os lipídeos dos tecidos extra-hepáticos para o fígado. Modificar a dieta reduzindo o consumo de gorduras totais e gorduras saturadas, ingerir mais ácidos graxos saturados e poli-insaturados e reduzir a ingestão de colesterol, pode resultar em queda do LDL e Colesterol total no plasma, afirma Reece (2005).

Os triglicerídeos ou gorduras neutras funcionam como combustíveis de armazenagem. Depois de ingeridos, eles precisam ser emulsificados para que possam ser digeridos pelas enzimas intestinais hidrossolúveis permitindo, assim, sua absorção ou mobilização para os tecidos de reserva; e para seu transporte no sangue precisam estar unidos a estruturas que permitam seu transporte no meio aquoso (NELSON E COX, 2006).

O National Institute of Health (NIH) define biomarcadores como características biológicas que podem ser mensuráveis e avaliadas como indicadores de processos biológicos normais, patológicos ou farmacológicos (MAMAS et al., 2011). A partir da composição bioquímica do plasma sanguíneo tem-se parâmetros que refletem as condições metabólicas dos tecidos animais (biomarcadores), permitindo avaliar desequilíbrios metabólicos específicos, adaptações do animal perante desafios nutricionais e fisiológicos a eles impostos, como também desequilíbrios de origem nutricional (GONZÁLEZ E SCHEFFER, 2003).

Assim, conforme mostrado, tem-se elevado o número de pesquisas referentes ao perfil dos biomarcadores sanguíneos, dentre eles os relacionados ao metabolismo lipídico dos equinos, devido à evolução e aperfeiçoamento desses animais no esporte e a busca da nutrição adequada e eficaz para esses animais.

REFERÊNCIAS

BRANDI, R.A, FURTADO C.E.; Importância nutricional e metabólica da fibra na dieta de equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, p.246-258, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento. <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>. 2014. Acesso em: 03 de Dezembro de 2014.

CUNHA, T. J. Horse feeding and nutrition. 2 ed. San diego, Academic press, 1991. 445 p.

DITTRICH, J. R; MELO, H. A.; AFONSO, A. M. C. DA F., DITTRICH R.L.; Comportamento ingestivo de equinos e a relação com o aproveitamento das forragens e bem-estar dos animais; *Revista Brasileira de Zootecnia*; v.39, p.130-137, 2010.

FRAPE, D.L. Diet and exercise performance in the horse. *Proceeding... of the Nutrition Society. Journals Cambridge*. v.53, p. 189-206, 1994.

GOBESSO, A. A. O. et. al; Efeitos do processamento de alfafa e da adição de óleo de soja sobre a digestibilidade total da dieta de equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, n.4, p.713-717, 2009.

GODOI, F. N.; ALMEIDA, F. Q; SALIBA, E. O. S. et. al; Consumo, cinética digestiva e digestibilidade de nutrientes em equinos atletas alimentados com dietas contendo óleo de soja; *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, n. 10, p. 1928-1937, 2009.

GONZÁLEZ, F. H. D; SCHEFFER, J. S; Perfil Sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica veterinária da região Sul do Brasil*. Porto Alegre, universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 73-79, 2003.

HENDRIX, C. M; Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários. Ed. 4ª, ROCA Ed., São Paulo, 2005.

KOHN, C.; ALLEN, A. K.; HARIS, P. et al. Nutrition for the equine athlete. *The Equine Athlete*. v. 9. n. 4, p 12-17, 1996.

LEWIS, L.D; *Equine Clinical Nutrition*. 1 ed.; Philadelphia: Willians & Wilkins Ed.; 1995.

MAMAS, M; DUNN, W.B; NEYSES, L; GOODACRE, R. The role metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. *Arch Toxicol*, v.85, p. 5-17, 2011.

MATTOS, F; ARAÚJO, K. V; LEITE, G. G. et al; Uso de óleo na dieta de equinos submetidos ao exercício. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n.4, p. 1373-1380, 2006.

MEYER, H; Alimentação de cavalos. VARELA LTDA Ed., São Paulo, 1995.

MEYER, M.C.; POTTER, G.D.; EVANS, J.W. et al. Physiologic and metabolic response of exercise horse fed added dietary fat. *Journal equine veterinary science*. v.9, n.4, p 218-223, 1989.

MONZANO, A.; WANDERLEY, R. C.; ESTEVES, S. N. Óleo de soja e gordura animal na alimentação de equinos. *R. Soc. Bras. Zootec.* Vol. 24, N. 5, 1995.

NELSON, D.L; COX M.M. *Lehinger Princípio de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 4ª Ed., 2006.

NRC. National Research Council (2007). *Nutrient requirements of horse*. Washington, DC, National Academy Press.

OLIVEIRA, R. N; MARQUES JÚNIOR, A. P; XAVIER, P. R; ALVES, G. E. S; PAES, P. R. O; GOBESSO, A. A. O. Avaliação hematológica e bioquímica de equinos suplementados com óleo de arroz semirrefinado, rico em gamaorizanol. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*;62(5):1043-1047, out. 2010.

REECE, W. O. *Fisiologia dos animais domésticos*. ROCA: São Paulo, 2005.

RESENDE JÚNIOR, T; REZENDE, A. S. C; LACERDA JÚNIOR, O. V; BRETAS, M; LANA, A; MOURA, R. S; RESENDE, H. C. Efeito do nível de óleo de milho adicionado à dieta de eqüinos sobre a digestibilidade dos nutrientes. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*;56(1):69-73, fev. 2004.

SILVA, A. E. L; ADAMI, F; NAKAMURA, F. Y; OLIVEIRA, F. R; GEVAERD, M. F; Metabolismo de gordura durante o exercício físico: mecanismos de regulação. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano*, v.8, n.4, p. 106-114, 2006.

TARAN, F.M.P. Efeito da inclusão de levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para equinos. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2011, 79 p.

TISSERAND, J. L; *A alimentação prática do cavalo*. São Paulo: LTDA. 1983.

VILELA, H.; Alimentação de equinos com volumosos (artigo, 2009); Disponível em:<http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_alimentacao_equinos_volumosos.htm>. Acesso em 12 de Maio de 2012.

WANDERLEY, E. K; Metabolismo energético em cavalos durante simulação de prova de marcha. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) p.80. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

CAPÍTULO 2 - BIOMARCADORES LIPÍDICOS NO PLASMA DE EQUINOS SUPLEMENTADOS COM UMA MISTURA DE ÓLEOS

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil dos biomarcadores lipídicos colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL), triglicerídeos (TG), glicerol (GC), ácido graxo não esterificado (AGNE) e lipase (LP) em dois grupos de equinos (G1= animais em manutenção; G2= animais em exercício) que receberam diariamente suplementação com óleo (Mega Energy[®]) via oral por um período de 60 dias. Foram realizadas coletas de sangue em três fases: antes da suplementação (T0 = controle), com 30 (T1) e 60 dias (T2) de suplementação, para determinação dos valores dos biomarcadores lipídicos. As amostras de plasma foram analisadas em espectrofotômetro semiautomático (Doles 500, Doles[®]) e leitora de Elisa (Biolisa Reader, Bioclin[®]) com kits comerciais (Doles e Genese, respectivamente). Como resultados, nos dois grupos houve variação significativa para alguns biomarcadores. No G1 houve variação significativa para ($p < 0,05$) [LDL], [TG], [AGNE], [GC] e [LP], não variando ($p > 0,05$) as concentrações plasmáticas para os demais biomarcadores. Já no G2, houve variação significativa para ($p < 0,05$) [CT], [AGNE] e [LP], os demais não variaram significativamente ($p > 0,05$). Os resultados demonstram que houve modificações significativas no perfil de alguns biomarcadores lipídicos no plasma dos equinos em manutenção e também nos atletas após suplementação com óleo por 60 dias.

PALAVRAS CHAVE: Exercício, Equinos, Energia, Bioquímica

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the profile of lipid biomarkers total cholesterol (TC), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), triglycerides (TG), glycerol (GC), fatty acid unesterified (NEFA) and lipase (LP) in two groups of horses (animals in Maintenance G1 = G2 = exercise animals) received daily supplementation oil (Mega Energy®) orally for a period of 60 days. Blood samples were collected in three phases: before supplementation (T0 = control), 30 (T1) and 60 days (T2) supplementation to determine the values of lipid biomarkers. Plasma samples were analyzed in semi-automatic spectrophotometer (500 Doles, Doles®) and Elisa reader (Biolisa Reader, Bioclin®) with commercial kits (Doles and Genese, respectively). As a result, in both groups there was a significant change for some biomarkers. In G1 there was significant variation in ($p < 0.05$) [LDL], [TG], [NEFA], [GC] and [LP] does not vary ($p > 0.05$) plasma concentrations for other biomarkers. In the G2, there was significant variation in ($p < 0.05$) [CT], [NEFA] and [LP], the other did not vary significantly ($p > 0.05$). The results demonstrate that there were significant changes in the lipid profile of some biomarkers in plasma of horses as well as in maintenance athletes oil after supplementation for 60 days.

KEYWORDS: Exercise, Horses, Energy, Biochemistry

INTRODUÇÃO

O uso de fontes de óleo na dieta dos equinos tem demonstrado vantagens para os praticantes de exercício. As respostas à suplementação têm sido avaliadas, principalmente, a partir de testes hematológicos, bioquímicos, ensaios de digestibilidade e testes de simulação do exercício.

Os carboidratos e lipídios são as fontes primárias de energia para os equinos, por isso as mais estudadas. A energia é o principal nutriente para equinos atletas e suas necessidades dependem do tipo, tempo e velocidade do exercício praticado, bem como do peso do animal e do cavaleiro (J. FILHO, 2012). O metabolismo utilizado pelo animal, aeróbico ou anaeróbico, auxilia na composição da dieta.

O músculo utiliza para síntese de energia o glicogênio muscular e hepático, triglicérides intramusculares e dos adipócitos, além da glicose e lipídeos dietéticos (J. FILHO, 2012). Dietas com óleo elevam o metabolismo lipídico intramuscular e hepático, poupando e acumulando glicogênio, e também auxilia na prevenção de transtornos que provocam danos musculares como a rabdomiólise (BRANDI et al., 2008). Isso por que a utilização da reserva de glicogênio é o principal fator que desencadeia a fadiga (DITRICCH et al., 2000).

Para equinos que realizam atividade anaeróbia ou esta é predominante na atividade física, os ingredientes energéticos, como os óleos, estão sendo cada vez mais utilizados por disponibilizarem energia lentamente para o organismo (J. FILHO, 2012). No entanto deve-se respeitar a base alimentar do equino, que é a forragem, não disponibilizando uma proporção forragem X concentrado inferior a 50:50.

Brandi et al. (2009) estudaram o desempenho de cavalos de enduro alimentados com diferentes níveis de óleo de soja (0, 6, 12, 18 e 24%), quando verificaram que a inclusão de óleo é benéfica para o desempenho. Em 2008 e 2010 Brandi et al., estudando o efeito de dietas com adição de óleo e do treinamento sobre a atividade muscular de equinos submetidos á prova de resistência, constataram que concentrado com níveis superiores a 6% de óleo atuaram benéficamente no desempenho muscular, após avaliarem a ação das enzimas CK e AST. Verificaram a diminuição na atividade de ambas e sugeriram que as fontes lipídicas da dieta estavam sendo melhor aproveitadas, o que possibilitou menor desgaste e maior recuperação do animal.

Já Marqueze et al. (2001) concluíram que adicionar óleo de soja na dieta de equinos submetidos a atividade física de intensidade moderada eleva as concentrações de glicogênio muscular antes do exercício. E que, nos animais treinados, a adição de níveis elevados de óleo na dieta pode trazer benefícios no trabalho muscular, pois esses animais teriam maior suprimento energético para executar a atividade.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil dos biomarcadores lipídicos de dois grupos de equinos (manutenção e atleta) em três fases: controle, 30 de suplementação e 60 dias de suplementação com a mistura de óleos.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os métodos utilizados nesse experimento foram aprovados pelo comitê de ética na pesquisa na UFRPE, sob registro N° 23082.007851/2007.

ANIMAIS

GRUPO 1 (G1)

Foram utilizadas 06 éguas, hípidas, adultas (~ 14 anos), peso médio 370 Kg, raça Puro Sangue Árabe, não gestantes, em manutenção, pertencentes ao Núcleo de Pesquisa Equina/UFRPE, suplementadas pela manhã com 100 ml do óleo via oral durante 60 dias. Os animais eram mantidos em pastagem nativa, dispendo de água e sal mineral *ad libitum*, consumiam feno Tifton 85 (*Cynodon spp*) e concentrado comercial (Nutricol Alimentos[®] LTDA.), obtendo a energia diária necessária para animais em manutenção, conforme o NRC 2007. Todo experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da UFRPE/ Campus Recife.

GRUPO 2 (G2)

Foram utilizados 10 equinos, adultos (~ 7 anos), ambos os sexos, peso médio 300 Kg, da raça Mangalarga Marchador treinados 3 vezes por semana, em dias alternados (40% passo, 60% marcha em 3,5 m/s, 60') recebendo em duas porções (6h e 16h) o total de 300 ml de óleo via oral por 60 dias. Os animais eram mantidos

em baias individuais com bebedouros automáticos, sal mineral *ad libitum*, e consumiam capim elefante picado (*Pennisetum purpureum*) e concentrado comercial (Durancho[®]), três vezes ao dia para obtenção da energia necessária para animais em exercício de média duração e baixa intensidade, conforme o NRC 2007. Todo experimento foi conduzido no Haras Cascatinha/Camaragibe – PE.

SUPLEMENTO

Foi utilizado o produto comercial Mega Energy[®] (Integral Mix), um suplemento energético para equinos composto pela combinação de óleos. Em sua composição encontram-se os óleos de linhaça, arroz, salmão e soja.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo, com 1 tratamento e 6 repetições para os animais em manutenção (G1); e 1 tratamento e 10 repetições para os animais em exercício (G2). Os animais foram considerados como parcelas, e o tempo de suplementação (0, 30 e 60 dias de suplementação) como subparcela (BRANDI, 2007; MÉLO et al., 2014).

AMOSTRAS E ANÁLISES LABORATORIAIS

Os concentrados ofertados aos dois grupos de animais, durante o experimento, passaram por análise bromatológica para avaliação dos teores nutricionais. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza-CE, cujos resultados encontram-se na tabela 1.

Para avaliação plasmática dos biomarcadores lipídicos amostras de sangue foram coletadas, de ambos os grupos, em três tempos: antes da suplementação dia 0 (T0), com 30 dias (T1) e 60 dias (T2) de suplementação (MÉLO et al., 2014), pela manhã, com os animais em jejum e antes do exercício, por meio da venopunção da jugular utilizando tubos tipo “Vacutainers[®]”, contendo heparina sódica. Posteriormente foram centrifugadas (3000 rotações por minuto durante 5 minutos)

para obtenção do plasma. As amostras de plasma eram mantidas congeladas até a obtenção das amostras referentes aos três períodos experimentais. Posteriormente foram analisadas em aparelho de bioquímica semiautomático (DOLES D 250, DOLES[®]) utilizando kits comerciais (DOLES[®] Reagente), e obtido os níveis de colesterol total, LDL, HDL, triglicerídeos, AGNE e lipase. Os níveis de glicerol foram obtidos a partir da análise do plasma na Leitora de Elisa (Biolisa Reader, Bioclin[®]) utilizando Kits comerciais da GENESE[®]. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal – BIOPA, localizado no departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Tabela 1. Resultados da análise bromatológica dos concentrados utilizados durante o experimento.

Item	Concentrado do G1	Concentrado do G2
Matéria seca (%)*	88,39	87,66
Proteína bruta (%)*	16,24	18,22
Extrato etéreo (%)*	1,13	3,37
Fibra em detergente neutro (%)*	50,32	31,56
Fibra em detergente ácido (%)*	21,94	10,24
Energia bruta (cal/g)*	3640,41	4066,03

Fonte: Dados da Pesquisa

G1= grupo de animais em manutenção; G2= grupo de animais em exercício; *Resultados expressos na matéria seca.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises laboratoriais (Apêndice C) foram submetidos à análise da variância (*one-way* - ANOVA) para medidas repetidas com um fator. Havendo diferença significativa entre os períodos suplementados, utilizou-se o teste de Tukey para comparação múltipla entre as médias. Utilizou-se o programa SigmaStat[®] 3.0 para Windows[®] com nível de significância para ambos estabelecido em 5% ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Avaliando os resultados estatísticos das concentrações plasmáticas dos biomarcadores lipídicos nas diferentes fases experimentais, foram observadas variações significativas ($p < 0,05$) no perfil de alguns biomarcadores nos animais em manutenção (tabela 2) como também nos animais em exercício de marcha (Tabela 3), suplementados com óleo por um período de 60 dias.

No grupo de animais em manutenção (G1) foram observadas diferenças significativas para as concentrações plasmáticas de LDL, TG, AGNE, LP e GC. A [LDL] plasmática elevou-se significativamente ($p < 0,05$) em T1 comparada a T0, já entre T0 e T2 as concentrações foram semelhantes; A [TG] reduziu significativamente ($p < 0,05$) em T1 em relação a T0, não variando entre T1 e T2; A [AGNE] diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre os três tempos, elevando-se em T1 e T2 em relação a T0, e reduzindo em T2 em relação a T1. A [LP] foi semelhante entre T1 e T2, reduzindo significativamente ($p < 0,05$) em relação à T0; e a [GC] elevou-se significativamente ($p < 0,05$) em T1 em relação à T0, já T2 e T1 foram semelhantes. Os demais biomarcadores não variaram significativamente ($p > 0,05$) entre os períodos de suplementação (Tabela 2).

Nos animais que realizavam exercício de marcha (G2), foram observadas diferenças significativas para as concentrações plasmáticas do CT, AGNE e LP. A [CT] elevou-se significativamente ($P < 0,05$) em T1 em relação a T0, em T2 o valor foi semelhante a T0 e T1. A [AGNE] em T1 e T2 foram semelhantes, mas elevaram-se significativamente em relação a T0. A [LP] reduziu significativamente em T2 quando comparado a T0, já T1 manteve os níveis semelhantes a T0 e T2. Os demais biomarcadores não demonstraram variação significativa ($P > 0,05$) entre os períodos de suplementação (Tabela 3).

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão dos biomarcadores lipídicos de equinos em manutenção consumindo 100 ml do suplemento.

Biomarcador	Fases de avaliação		
	T0	T1	T2
CT (mg/dL)	67,17 ± 3,90 ^A	75,22 ± 10,05 ^A	60,48 ± 10,58 ^A
LDL (mg/dL)	25,17 ± 6,31 ^B	49,00 ± 5,65 ^A	22,03 ± 3,00 ^B
HDL (mg/dL)	156,04 ± 69,33 ^A	104,81 ± 32,75 ^A	300,08 ± 108,22 ^A
TG (mg/dL)	99,35 ± 3,68 ^A	62,63 ± 4,04 ^B	51,61 ± 4,30 ^B
AGNE (mmol/L)	0,04 ± 0,01 ^B	0,5 ± 0,07 ^A	0,24 ± 0,05 ^C
LP (U/L)	196,34 ± 11,20 ^A	137,57 ± 13,13 ^B	130,02 ± 22,26 ^B
GC (mg/L)	4,12 ± 0,64 ^B	8,37 ± 0,88 ^A	6,7 ± 0,67 ^{AB}

Fonte: Dados da Pesquisa

Diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. T0= dia 0, sem suplementação; T1= após 30 dias de suplementação; T2= após 60 dias de suplementação. CT= colesterol total, LDL= lipoproteína de baixa densidade, HDL= lipoproteína de alta densidade, TG= triglicerídeos, AGNE= ácido graxo não esterificado, LP= lipase, GC= glicerol.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão dos biomarcadores lipídicos de equinos em exercício consumindo 300 ml do suplemento.

Biomarcador	Fases de avaliação		
	T0	T1	T2
CT (mg/dL)	41,50 ± 2,80 ^B	69,85 ± 7,23 ^A	63,16 ± 8,08 ^{AB}
LDL (mg/dL)	25,32 ± 4,33 ^A	34,42 ± 4,11 ^A	35,74 ± 5,44 ^A
HDL (mg/dL)	103,87 ± 17,80 ^A	100,09 ± 21,36 ^A	138,40 ± 30,16 ^A
TG (mg/dL)	53,80 ± 2,62 ^A	54,54 ± 3,27 ^A	49,58 ± 1,99 ^A
AGNE (mmol/L)	0,05 ± 0,01 ^B	0,26 ± 0,06 ^A	0,27 ± 0,08 ^A
LP (U/L)	240,74 ± 25,90 ^A	189,97 ± 15,87 ^{AB}	163,93 ± 17,39 ^B
GC (mg/L)	3,06 ± 0,40 ^A	4,34 ± 0,48 ^A	4,38 ± 0,50 ^A

Fonte: Dados da Pesquisa

Diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. T0= dia 0, sem suplementação; T1= após 30 dias de suplementação; T2= após 60 dias de suplementação. CT= colesterol total, LDL= lipoproteína de baixa densidade, HDL= lipoproteína de alta densidade, TG= triglicerídeos, AGNE= ácido graxo não esterificado, LP= lipase, GC= glicerol.

DISCUSSÃO

COLESTEROL TOTAL E SUAS FRAÇÕES

Não houve variação significativa para os níveis de colesterol total nos animais em manutenção, no entanto seus níveis elevaram-se após 30 dias de suplementados, decaindo com 60 dias de suplementação. Este achado pode estar relacionado ao período de adaptação metabólica dos animais a ingestão do óleo, que se dá, normalmente, 21 dias após início da suplementação. Godoi et al. (2009), suplementaram cavalos com dietas hiperlipidêmicas, e não observaram variação significativa para os níveis séricos de colesterol, mas também relataram aumento nos níveis séricos.

Nos animais em exercício a suplementação por 60 dias com 300 ml de óleo diário resultou na elevação significativa do colesterol total com 30 dias de suplementação. A ingestão exógena de gorduras contribui para elevação dos níveis de colesterol no organismo (RIBEIRO et al., 2009), porém, os resultados encontrados neste estudo podem estar relacionados ao período de adaptação da ingestão do suplemento, já que com 60 dias de suplementados os níveis permanecem sem alterações. Howard et al. (2007) demonstraram que animais consumindo dieta rica em lipídeos, o colesterol tende a elevar seu nível sérico. Sloet Van Olddruitenborgh-oosterbaan et al. (2002), observaram que animais com dieta com alto teor de gordura, o colesterol total elevou-se significativamente, assim como o HDL. Gobesso et al. (2011) e Ribeiro et al. (2009) trabalhando com diferentes fontes de óleo não observaram diferenças significativas para as concentrações de colesterol plasmático.

Os níveis de HDL não variaram significativamente em nenhum dos grupos estudados. No entanto, elevaram-se numericamente após 60 dias de suplementação em ambos os grupos. Sloet Van Olddruitenborgh-oosterbaan et al. (2002), observaram em estudo que animais com dieta com alto teor de gordura, o HDL elevou-se significativamente quando comparado a animais com dieta com baixa inclusão de gordura.

A maior quantidade de lipídios na dieta e maior atividade da lipoproteína lipase contribuem para o aumento do colesterol total e HDL (RIBEIRO et al., 2009).

A diferença no nível plasmático do colesterol em T0 entre o G1 (67,17 mg/dL) e o G2 (41,50 mg/dL), cujo valor do G2 é inferior ao G1, pode estar relacionada ao exercício de marcha realizado pelos animais do G2 ao qual já eram condicionados, devendo esses estarem mobilizando lipídeos mesmo antes da suplementação. Ainda, aos 30 dias de suplementação, os níveis no G2 foram ligeiramente menores, o que também pode estar relacionado à mobilização lipídica para realização do trabalho muscular.

O LDL elevou-se significativamente no grupo de animais em manutenção, com 30 dias de suplementação, reduzindo significativamente com 60 dias. Os níveis de LDL aumentam quando a dieta contém ácidos graxos saturados e diminuem quando há ácidos graxos insaturados (RIBEIRO et al., 2009).

O suplemento utilizado neste estudo contém óleos vegetais e de peixe, que segundo Nelson e Cox (2006) óleos vegetais são ricos em ácidos graxos insaturados. Os óleos de peixe e de vegetais comestíveis são ricos em ácidos graxos poli-insaturados essenciais como o linoléico e linolênico, o que pode ter auxiliado na redução [LDL] após 60 dias de suplementação.

A elevação com 30 dias de suplementação pode ser resultante do período adaptativo a inclusão do óleo na dieta, como também indica que neste período adaptativo houve maior mobilização de colesterol para os tecidos extra-hepáticos.

Para os animais atletas não houve variação significativa para [LDL] entre as fases experimentais. Ribeiro et al. (2009), utilizando diferentes fontes lipídicas para animais em exercício, não encontraram diferenças significativa para [LDL].

TRIGLICERÍDEOS, AGNE E GLICEROL

Os triglicerídeos são a principal fonte energética entre os lipídeos. Ao serem solubilizados e sofrerem ações da lipase dão origem a dois compostos que também podem ser utilizados para obtenção de energia: os ácidos graxos não esterificados e o glicerol.

A [TG] variou significativamente ($p < 0,05$) no G1, reduzindo seus níveis ao longo das fases experimentais. Sloet Van Olddruijtenborgh-Oosterbaan et al. (2002) relataram que queda nas concentrações séricas de TG podem ter relação com o exercício. Embora o G1 não realizasse nenhum tipo de atividade física, os lipídeos podem estar sendo mobilizados para uso metabólico, que segundo Mélo et al.

(2012), os triglicerídeos quando utilizados metabolicamente retardam uso da glicose como fonte de energia. Assim, essa queda nos níveis plasmáticos dos TG nos animais em manutenção sugere que o biomarcador está sendo utilizado como fonte energética.

Nos animais em exercício de marcha não houve variação significativa nos níveis de triglicerídeos durante o período de suplementação, todavia houve redução aos 60 dias de suplementação.

Ribeiro et al. (2009) e Gobesso et al. (2011), não encontraram diferença significativa para [TG] em animais em exercício, consumindo diferentes fontes lipídicas. Mélo et al. (2012), demonstraram em experimento com equinos recebendo concentrado rico em óleo que as concentrações plasmáticas de TG não variaram significativamente, após 60 dias de suplementação.

As concentrações plasmáticas de colesterol total, assim como de triglicerídeos, estão relacionadas a fatores como mobilização, utilização energética e absorção a partir da dieta (HOWARD et al., 2007). Durante o exercício anaeróbico os níveis de TG caem, por haver maior requerimento energético muscular, resultando na liberação de ácidos graxos que também podem ser oxidados para liberação do Acetil-Co-A (HOWARD et al., 2007).

Os animais do G2 apresentaram níveis menores de TG em relação aos do G1, isso pode ser resultante da atividade física que realizam o que indica estar presente a mobilização lipídica nessa categoria.

Ramalho et al. (2012), afirmaram que a [TG] sérica pode ser influenciada pelo exercício.

Os valores encontrados no G1 são próximos aos apresentados por Mélo et al. (2012) que obtiveram valores plasmáticos entre 66 mg/dL e 79,8 mg/dL. Já os valores do G2 estão dentro do intervalo de Godoi et al. (2009), que apresentaram valores entre 39,5 e 57 mg/dL. Há grande divergência quanto aos valores referências não só nas concentrações dos TGs, como para os demais biomarcadores lipídicos. Isso interfere na atuação clínica dos veterinários de equinos e realização de pesquisas, pois, fatores como dieta, idade, sexo, raça, condições ambientais e experimentais, são influenciáveis nas concentrações plasmáticas dos lipídeos.

A padronização e caracterização de valores hematofisiológicos e bioquímicos de acordo com as diferentes variáveis, pode ser uma ótima ferramenta para

desenvolvimento de mais pesquisas. Assim como, a padronização e caracterização dos parâmetros de equinos que realizam exercício de longa duração com média ou alta intensidade e recebem suplementação com óleo.

As concentrações de AGNE representam o equilíbrio entre a mobilização dos lipídeos do tecido adiposo para uso muscular. Níveis mais baixos estão relacionados à queda na mobilização ou aumento da utilização do AGNE para produção de energia (O'CNNOOR et al., 2004). Para os dois grupos estudados neste experimento houve variação significativa ($p < 0,05$) para [AGNE], aos 30 dias de suplementação, no G1, e aos 60 dias de suplementação no G2, a concentração plasmática de AGNE atingiu os maiores valores. O ácido graxo não esterificado juntamente com o glicerol são produtos da hidrólise do triglicerídeo pela ação da enzima lipoproteica lipase. Howard et al. (2007), afirmam que necessitando mobilizar gordura, o glicerol e ácidos graxos não esterificados são liberados na circulação. Os AGNEs são transportados via albumina até o fígado e/ou para demais tecidos metabolicamente ativos, os quais serão utilizados para produção de energia, colesterol, triglicerídeos, dentre outros compostos. O destino vai depender da demanda metabólica (HOWARD et al., 2007). Assim, O aumento deste biomarcador era esperado, assim como o do glicerol, devido à [TG] apresentar redução durante as fases experimentais. A elevação nos níveis plasmáticos do AGNE pode estar relacionada a estimulação da lipomobilização, como também sugere a ocorrência de lipólise dos triglicerídeos. Os animais bem condicionados tem facilidade em mobilizar e utilizar os ácidos graxos eficazmente.

O perfil do biomarcador lipídico AGNE sofreu alterações neste estudo e pode indicar que os equinos em manutenção e exercício mobilizaram lipídeos. Miller-Graber et al. (1991), avaliaram cavalos consumindo dieta rica em proteína e o metabolismo energético durante exercício, e obtiveram para os animais controle e suplementados valores semelhantes de 0,13 mmol/L. Valores estes superiores aos encontrados no atual estudo quando relacionada a fase inicial, T0, desse experimento. O'cnnor et al. (2004), suplementaram cavalos em exercício de esteira com óleo de peixe, e observaram que a [AGNE] foi menor aqueles que consumiram óleo de milho.

A lipase é uma lipoproteína capaz de reduzir as moléculas lipídicas a micropartículas facilitando assim a digestão e absorção (REECE, 2005). Neste estudo os níveis plasmáticos [LP] reduziram significativamente ($p < 0,05$) nos dois

grupos de equinos. No G1 os níveis reduziram significativamente ($p < 0,05$) após 30 dias de suplementação não mais variando ao se prolongar o período de consumo da mistura de óleos. No G2 houve redução significativa ($p < 0,05$) aos 60 dias de suplementação.

A enzima, possivelmente, foi mobilizada a atuar na quebra das gorduras em detrimento do exercício anaeróbico e mobilização lipídica, visto que sua ação é imprescindível para quebra lipídica e liberação dos ácidos graxos, fonte de energia (NELSON E COX, 2006). Era esperado um aumento na atividade da lipase e com isso, seu redirecionamento aos locais de ação, revelando no plasma níveis reduzidos.

O aumento da atividade da lipase é perceptível por os níveis plasmáticos de AGNE e glicerol estarem elevados e para tal é necessária atuação da lipase.

O glicerol, assim como os ácidos graxos não esterificados, é obtido a partir da oxidação dos triglicerídeos. No G1 a [GC] elevou-se significativamente ($p < 0,05$) aos 30 dias de suplementação. No G2 não houve variação significativa para [GC], porém tendeu ao aumento durante todas as fases experimentais. O aumento nos níveis de glicerol pode também indicar mobilização de lipídeos. O'Connor et al. (2004), afirmam que o glicerol pode ser utilizado como marcador da mobilização de ácido graxo e baixas na [GC] sérica está relacionada a baixa mobilização do ácido graxo, enquanto altas concentrações refletem alta mobilização. Cunilleras et al. (2002), constataram que o glicerol eleva-se constantemente durante o exercício e que o tipo de alimentação anterior ao exercício altera as concentrações plasmáticas tanto do glicerol quanto do AGNE.

Sloet Van Olddruijtenborgh-Oosterbaan et al. (2002), suplementando cavalos em exercício com dietas com alto e baixo teor de gorduras, observaram que o glicerol foi significativamente menor nos animais que consumiram dieta com alto teor de gordura em comparação com a dieta de baixo teor. Dados estes que divergem dos resultados deste estudo.

Durante o período de estudo não foi observado ocorrência de diarreias ou cólicas, que segundo Godoi et al. (2009), indica adaptação do trato digestivo aos níveis e fornecimento do óleo. A ausência de alterações negativas propicia queda no consumo de carboidratos rapidamente fermentáveis e menor peso do trato digestório durante exercícios físicos, o que pode auxiliar no melhor desempenho atlético.

Gobesso et al. (2011), afirmam ainda que diferenças no perfil plasmático dos lipídeos podem ser observadas quando se trabalha com níveis diferentes de óleo e não com fontes diferentes, mesmo possuindo perfis de ácidos graxos diferentes.

CONCLUSÃO

Conclui-se com este estudo que houve modificações significativas no perfil de biomarcadores lipídicos no plasma dos equinos em manutenção (LDL, TG, AGNE, GC e LP) e também non de equinos em exercício de marcha (CT, AGNE e LP) após suplementação com os níveis de 100 e 300 ml de óleo, respectivamente, durante 60 dias. Também se observou que essas variações, resultantes da suplementação com óleo, contribuem para aumento das reservas de glicogênio ao poupar o uso da glicose durante exercícios anaeróbicos, proporcionando ainda boa recuperação pós prova, devido à mobilização e utilização de lipídeos como fonte energética lentamente disponível durante atividade.

Embora o G1 não estivesse realizando atividades físicas observou-se que também foram capazes de utilizar as gorduras como fonte de energia para manutenção, a partir dos indícios de lipomobilização retratadas pela elevação dos AGNEs e glicerol, bem com a redução dos triglicerídeos.

REFERÊNCIAS

BRANDI, R.A. Efeito de dietas com a adição de níveis crescentes de óleo de soja sobre a atividade enzimática e a digestibilidade aparente em equinos submetidos a enduro de 80 km. Tese (Doutorado em Zootecnia) p.107. Universidade Estadual de Maringá, Maringá - PR, 2007.

BRANDI, R.A; FURTADO,C.E; MARTINS, E.N; FREITAS, E.V.V; LACERDA NETO, J.C; QUEIROZ NETO, A. Efeito de dietas com adição de óleo e do treinamento sobre a atividade muscular de equinos submetidos à prova de resistência. *Acta Sci. Anim. Sci. Maringá*, v. 30, n. 3, p. 307-315, 2008.

BRANDI, R.A; FURTADO,C.E; MARTINS, E.N; FREITAS, E.V.V; LACERDA NETO, J.C; QUEIROZ NETO, A; RIBEIRO, L.B. Desempenho de equinos submetidos a enduro alimentados com níveis de óleo de soja na dieta. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, v.10, n.2, p.311-321, abr/jun, 2009.

CUNILLERAS, E.J; HINCHCLIFF, K.W; SAMS, R.A; DEVOR, S.T; LINDERMAN, J.K. Glycemic index of a meal fed before exercise alters substrate use and glucose flux in exercising horses. *Journal of Applied Physiology* 92:117-128, 2002.

DITTRICH, R.L; DITTRICH, J.R; FLENUNG, J.S. valores bioquímicos séricos em potros da raça puro sangue inglês suplementados com diferentes tipos de gordura. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 30, n.4, p.631-634. 2000

FILHO, D.L.J. Nutrição do cavalo de enduro: particularidades. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.6, n.3, p.160-164, 2012.

GOBESSO, A.A.O; MOREIRA, A.M.F.O; TAMAS, W.T; RIBEIRO, R.M; REZOTTO, L.D; GONZAGA, I.V.F; ETCHICHURY, M; BRANDI, R.A. Digestibilidade aparente e concentrações plasmáticas de triglicérides e colesterol em equinos alimentados com fontes de óleo vegetal. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, Salvador, v.12, n.1, p.254-263 jan/mar, 2011.

GODOI, F.N; ALMEIDA, F.Q; GUARIENTIL, G.A; SANTIAGO, J.M; GUEDES JÊNIO, D; NOGUEIRA, Y.C; BRASILEIRO, L. S. Perfil hematológico e características das fezes de equinos consumindo dietas hiperlipidêmicas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.9, p.2571-2577, dez, 2009.

HOWARD, D.L; BENESI, F.J; GACEK, F; COELO, C.S; FERNANDES, W.R. Determinações plasmáticas de glicose, colesterol e triglicérides em potras sadias, da raça Brasileiro de Hipismo. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v. 44, n. 6, p. 454-458, 2007.

MARQUEZE, A; KASSLER, A.M; BERNARDI, M.L. Aumento do nível de óleo em dietas isoenergéticas para Cavalos submetidos a exercício. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n.3, p.491-496, 2001.

MÉLO, S.K; VAZ, S.G; MANSO, E.C.C; MARTINS, I.D.S.L; HUNKA, M.M; MANSO, H.E.C.C.C; MANSO FILHO, H.C. Influência da suplementação com concentrado extrusado, rico em óleo, nos parâmetros hematológicos, biométricos e biomarcadores na digestão de potros. *Medicina Veterinária –UFRPE- ISSN 1809-4678*, 2012.

MÉLO, S; WANDERLEY, E; DINIZ, I; MANSO, H; MANSO FILHO, H. Oil supplementation produces an increase in antioxidant biomarkers in four-beat gaited horses. *Equine Veterinary Journal, Supplement 46:32–33*, 2014.

MILER-GRABER, P. A.; LAWRENCE, L.M; FOREMAN, J.H;BUMP, K.D; FISHER, M.G.; KURCZ, E.V. Dietary Protein Level and Energy Metabolism During Treadmill Exercise in Horses.*The Journal of Nutrition*, 1991.

NELSON, D.L; COX M.M. Lehinger Princípio de Bioquímica. São Paulo: Sarvier, 4ª Ed., 2006.

O'CONNOR, C. I; LAWRENCE, L. M; LAWRENCE, A. C. St; JANICKI, K. M; WARREN, L. K; HAYES, S. The effect of dietary fish oil supplementation on exercising horses. *J. Anim. Sci.* 2004. 82:2978–2984.

RAMALHO, L.O.; CAIADO, J.C.C.; SOUZA, V.R; COELHO, C.S. Glicemia e concentrações séricas de insulina, triglicérides e cortisol em equinos da raça Quarto de Milha e mestiços usados em provas de laço em dupla. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 49, n. 4, p. 318-324, 2012.

REECE, W. O. Fisiologia dos animais domésticos. ROCA: São Paulo, 2005.

RIBEIRO, R.M; PASTORI, W.T; FAGUNDES, M.H.R; PREZOTTO, L.D; GOBESSO, A.A.O. Efeito da inclusão de diferentes fontes lipídicas e óleo mineral na dieta sobre a digestibilidade dos nutrientes e os níveis plasmáticos de gordura em equinos. *R. Bras. Zootec.*, v.38, n.10, p.1989-1994, 2009.

SLOET VAN OLDDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M.M.; ANNEE, M.P.; VERDEGAAL, J.M.M.; LEMMENS, A.G.; BEYNEN, A.C. Exercise- and metabolism-associated blood variables in Standardbred fed either a low- or a high-fat diet. *Equine Veterinary Journal, Supplement*, 34: 29-32, 2002.

CAPÍTULO 3 - BIOMARCADORES MINERAIS NO PLASMA DE EQUINOS SUPLEMENTADOS COM UMA MISTURA DE ÓLEOS

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil dos biomarcadores minerais: cálcio, fósforo, magnésio e cloreto, em dois grupos de equinos (G1= animais em manutenção; G2= animais em exercício) suplementados com uma mistura de óleo (Mega Energy[®]) via oral por um período de 60 dias. Foram realizadas coletas de sangue em três fases: antes da suplementação (T0 = controle), com 30 (T1) e 60 dias (T2) de suplementação, para determinação dos valores dos biomarcadores minerais. As amostras de plasma foram analisadas em espectrofotômetro semiautomático (Doles 500, Doles[®]) com kits comerciais (Doles[®]). Os resultados mostraram que houve variação significativa ($p < 0,05$) para [P] e [Cl]. No G2 houve variação significativa para as [Ca] e [Cl]. Isso demonstra que houve modificações significativas no perfil de alguns biomarcadores minerais no plasma dos equinos em manutenção e também nos atletas após suplementação com óleo por 60 dias.

Palavras chave: Cálcio, Fósforo, Magnésio, Cloreto, Cavalos.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the profile of biomarkers minerals: calcium, phosphorus, magnesium and chloride, in two groups of horses (G1 = animals in maintenance, G2 = animals acting) supplemented with a mixture of oil (Mega Energy®) via orally for a period of 60 days. Blood samples were collected in three phases: before supplementation (T0 = control), 30 (T1) and 60 days (T2) supplementation to determine the values of minerals biomarkers. Plasma samples were analyzed in semi-automatic spectrophotometer (500 Doles, DOLES®) with commercial kits (DOLES®). The results showed that there was a significant change ($p < 0.05$) [P] and [Cl]. In G2 there was significant variation in the [Ca] and [Cl]. The results demonstrate that there were significant changes in profile of some of the minerals in the plasma biomarkers maintenance equine athletes as well as in oil after supplementation for 60 days.

Keywords: Calcium, Phosphorus, Magnesium, Chloride, Horses.

INTRODUÇÃO

A suplementação com óleos tem se tornado um meio de promover uma densa fonte de energia de alta digestibilidade para equinos. As vantagens da suplementação com óleos em equinos incluem a diminuição no uso de energia para produção de calor, aumento da performance, alteração no metabolismo com exercícios, diminuição da exigência de alimentos e água, um temperamento mais calmo, além de aumento da condição corporal (MORGADO E GALZERANO, 2006).

Os equinos têm sido cada vez mais solicitados fisicamente nas atividades esportivas, sendo expostos a longos períodos de treinamento com intensidades variadas e pequenos intervalos de repouso (JACKSON, 1997). De acordo com Lewis (1995), o desempenho desses animais pode ser prejudicado pela deficiência ou excesso de biomarcadores minerais.

Os macrominerais cálcio, fósforo, cloro e magnésio são necessários em quantidades relativamente altas na dieta do animal, pois estão envolvidos com a estrutura do animal e são perdidos diariamente durante a execução das atividades físicas (KOBLOCK et al., 1995; LEWIS, 1995; JACKSON, 1997).

Esses macrominerais estão envolvidos na capacidade de oxigenação pulmonar, no trabalho cardíaco, no metabolismo energético, na função neuromuscular e na proteção celular, sofrendo alterações decorrentes da atividade física, com evidentes reflexos no desempenho do animal (CUNHA, 1991; KOBLOCK et al., 1995). A absorção e o metabolismo dos minerais podem ser influenciados por diversos fatores: fonte utilizada na dieta, quantidade do mineral na dieta, pH do trato gastrointestinal, idade, intensidade do exercício e equilíbrio entre minerais (QUADROS, 2006).

O conhecimento das alterações dos biomarcadores minerais de equinos suplementados com mistura de óleos e suas consequências devem ser estudados já que poucos são os relatos sobre o assunto, no entanto, de grande importância para o aprimoramento do desempenho e a exteriorização da total capacidade genética dos equinos. Isso porque o equilíbrio eletrolítico é fundamental para a manutenção das condições adequadas de saúde, o que permite a continuidade das atividades físicas e o desenvolvimento de uma performance com menos estresse e menos riscos de lesões, evitando, fadiga e diminuindo, assim, o tempo de recuperação.

Desta forma, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do uso de uma mistura de óleos (Mega Energy[®]) sobre o perfil plasmático dos biomarcadores minerais em um grupo de equinos em manutenção e outro em exercício.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os métodos utilizados nesse experimento foram aprovados pelo comitê de ética na pesquisa na UFRPE, sob registro N° 23082.007851/2007.

ANIMAIS

GRUPO 1 (G1)

Foram utilizadas 06 éguas, hípidas, adultas (~ 14 anos), peso médio 370 Kg, raça Puro Sangue Árabe, não gestantes, em manutenção, pertencentes ao Núcleo de Pesquisa Equina/UFRPE, suplementadas pela manhã com 100 ml do óleo via oral durante 60 dias. Os animais eram mantidos em pastagem nativa, dispendo de água e sal mineral *ad libitum*, consumiam feno Tifton 85 (*Cynodon spp*) e concentrado comercial (Nutricol Alimentos[®] LTDA.), obtendo a energia diária necessária para animais em manutenção, conforme o NRC 2007. Todo experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da UFRPE/ Campus Recife.

GRUPO 2 (G2)

Foram utilizados 10 equinos, adultos (~ 7 anos), ambos os sexos, peso médio 300 Kg, da raça Mangalarga Marchador treinados 3 vezes por semana, em dias alternados (40% passo, 60% marcha em 3,5 m/s, 60') recebendo em duas porções (6h e 16h) o total de 300 ml de óleo via oral por 60 dias. Os animais eram mantidos em baias individuais com bebedouros automáticos, sal mineral *ad libitum*, e consumiam capim elefante picado (*Pennisetum purpureum*) e concentrado comercial (Durancho[®]), três vezes ao dia para obtenção da energia necessária para animais

em exercício de média duração e baixa intensidade, conforme o NRC 2007. Todo experimento foi conduzido no Haras Cascatinha/Camaragibe – PE.

SUPLEMENTO

Foi utilizado o produto comercial Mega Energy (Integral Mix[®]), um suplemento energético para equinos composto pela combinação de óleos. Em sua composição encontram-se os óleos de linhaça, arroz, salmão e soja.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo, com 1 tratamento e 6 repetições para os animais em manutenção (G1); e 1 tratamento e 10 repetições para os animais em exercício (G2). Os animais foram considerados como parcelas, e o tempo de suplementação (0, 30 e 60 dias de suplementação) como subparcela (BRANDI, 2007; MÉLO et al., 2014).

AMOSTRAS E ANÁLISES LABORATORIAIS

Os concentrados ofertados aos dois grupos de animais, durante o experimento, passaram por análise bromatológica para avaliação dos teores nutricionais. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza-CE, cujos resultados encontram-se na tabela 1.

Para avaliação plasmática dos biomarcadores lipídicos amostras de sangue foram coletadas, de ambos os grupos, em três tempos: antes da suplementação dia 0 (T0), com 30 dias (T1) e 60 dias (T2) de suplementação (Mélo et al., 2014), pela manhã, com os animais em jejum e antes do exercício, através da venopunção da jugular utilizando tubos tipo “Vacutainers[®]” contendo heparina sódica. Posteriormente foram centrifugadas (3000 rotações por minuto durante 5 minutos) para obtenção do plasma. Em seguida foram analisadas em aparelho de bioquímica semiautomático (DOLES D 250, DOLES[®]) utilizando kits comerciais (DOLES[®] Reagente) obtendo os níveis de Cálcio, Fósforo, Magnésio e Cloreto. As análises

laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal – BIOPA, localizado no departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Tabela 1. Resultados da análise bromatológica dos concentrados utilizados durante o experimento.

Item	Concentrado do G1	Concentrado do G2
Matéria seca (%)*	88,39	87,66
Proteína bruta (%)*	16,24	18,22
Extrato etéreo (%)*	1,13	3,37
Fibra em detergente neutro (%)*	50,32	31,56
Fibra em detergente ácido (%)*	21,94	10,24
Energia bruta (cal/g)*	3640,41	4066,03

Fonte: Dados da Pesquisa

G1= grupo de animais em manutenção; G2= grupo de animais em exercício; *Resultados expressos na matéria seca.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises laboratoriais foram submetidos à análise da variância (*one-way* - ANOVA) para medidas repetidas com um fator. Havendo diferença significativa entre os períodos suplementados, utilizou-se o teste de Tukey para comparação múltipla entre as médias. Utilizou-se o programa SigmaStat[®] 3.0 para Windows[®] com nível de significância para ambos estabelecido em 5% ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que a suplementação com mistura de óleos pode modificar a concentração do fósforo e cloretos no sangue de equinos em manutenção (Tabela 2) e de cálcio e cloretos em equinos atletas (Tabela 3).

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão dos biomarcadores minerais dos equinos em manutenção consumindo 100 ml da mistura de óleos.

Biomarcador	Suplementação em dias		
	T0	T1	T2
Cálcio (mg/dl)	10,17 ± 0,05 ^A	10,01 ± 0,11 ^A	9,93 ± 0,14 ^A
Fósforo (mg/dl)	4,65 ± 0,05 ^A	4,42 ± 0,05 ^B	4,38 ± 0,07 ^B
Magnésio (mg/dl)	1,14 ± 0,01 ^A	1,14 ± 0,01 ^A	1,13 ± 0,004 ^A
Cloreto (mg/dl)	98,17 ± 1,19 ^{AB}	94,71 ± 1,02 ^B	100,93 ± 1,28 ^A

Fonte: Dados da Pesquisa

Diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão dos biomarcadores minerais dos equinos em exercício consumindo 300 ml da mistura de óleos.

Biomarcador	Suplementação em dias		
	T0	T1	T2
Cálcio (mg/dl)	10,36 ± 0,07 ^a	10,31 ± 0,17 ^a	9,90 ± 0,06 ^b
Fósforo (mg/dl)	4,64 ± 0,08 ^a	4,52 ± 0,05 ^a	4,57 ± 0,07 ^a
Magnésio (mg/dl)	1,14 ± 0,01 ^a	1,15 ± 0,01 ^a	1,13 ± 0,01 ^a
Cloreto (mg/dl)	97,45 ± 1,02 ^b	97,63 ± 0,64 ^b	107,08 ± 0,70 ^a

Fonte: Dados da Pesquisa

Diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

No G1, a [P] foi reduzida após 30 e 60 dias de suplementação. A [Cl] reduziu 30 dias após suplementação com posterior elevação aos 60 dias ($P < 0,05$). Entretanto, todos os valores se encontravam dentro dos padrões de normalidade para espécie. Não houve variação para cálcio e magnésio ($P > 0,05$). No G2, a [Ca] foi reduzida significativamente ($P < 0,05$) 60 dias após suplementação, enquanto a [Cl] foi elevada ($P < 0,05$). Entretanto, todos os valores foram mantidos dentro dos padrões de normalidade para espécie. Fósforo e magnésio não apresentaram variação ($P > 0,05$).

O cálcio é um mineral de grande importância no organismo e participa de várias funções metabólicas e modificações significativas na sua concentração

podem provocar enfermidades. Comparando os grupos experimentais, a [Ca] variou apenas no G2. Esta redução pode estar ligada a maior quantidade de óleos adicionada à dieta, uma vez que as gorduras em excesso levam a precipitação de cálcio, formando sais insolúveis, e diminuindo a absorção intestinal de cálcio (CORMAN, 1993). Entretanto, em revisão recente (DUNNET, 2002) verificou que a absorção aparente do cálcio não foi afetada pela adição óleo ou gordura na dieta, contrapondo com estudos com outras espécies, em que foi justificado pelo aumento da digestibilidade do fósforo.

A quantidade de eletrólitos e fluido, perdida por meio da sudorese durante a atividade física, pode levar a alterações transitórias na constituição plasmática. No entanto, a intensidade e duração do exercício ao qual o animal é submetido e as condições ambientais como temperatura e umidade relativa influenciam diretamente os resultados obtidos. Nestes animais a atividade desenvolvida não foi responsável pela redução na [Ca], uma vez que a quantidade de cálcio perdida por meio do suor, num exercício intenso de curta duração, é pequena com relação à quantidade de fluido perdido (TITTO et al., 2009).

O fósforo (P) é o sexto elemento mais abundante no organismo e, dentre suas inúmeras funções, pode ser destacado o fornecimento de energia para as atividades celulares. A [P] apresentou variação no G1, sem alterações no G2. Em estudos anteriores, foi relatado aumento da digestibilidade aparente do fósforo em resposta a suplementação com óleos, o que sugere melhor absorção de fósforo no intestino delgado (HOLLANDS E CUDDEFORD, 1992).

Entretanto, neste estudo a suplementação com 100 ml de óleos a [P] foi reduzida. Quadros (2006) relata que pode haver queda nos níveis plasmáticos de fósforo, resultante de dietas deficientes no mineral, visto que as pastagens brasileiras, no geral, apresentam níveis reduzidos do elemento e que são muito menores que os requerimentos mínimos para os equinos. Isto leva a um redirecionamento das reservas de fósforo e cálcio dos ossos. A redução das concentrações pode estar relacionada ao citado, pois os animais consumiam pastagem nativa. Porém, os valores mantêm-se dentro da normalidade. Cymbaluck (1990), estudando os efeitos da temperatura ambiente sobre a digestibilidade verdadeira do fósforo em potros em crescimento com 8, 10 e 12 meses, constatou que a temperatura interferiu significativamente na digestibilidade do mineral nas três faixas etária.

Mélo et al. (2012) estudando influência da suplementação com concentrado extrusado, rico em óleo, nos parâmetros hematológicos, biométricos e biomarcadores da digestão de potros, observaram que a ingestão de quantidades elevadas de óleo tende a elevar a [P] no sangue. A elevação do fósforo, porém, dentro da normalidade, é importante não somente para a formação estrutural do organismo como também para manutenção do desempenho funcional como cofator intermediário do metabolismo (LOPES et al., 2003).

Estudos com frangos de corte, autores como Atteh e Lesson (1984) relatam que a adição de gorduras à ração interfere no metabolismo mineral, reduzindo a retenção e absorção intestinal do cálcio e os teores de cinzas e do cálcio nos ossos. Isso é atribuído à formação de sabões insolúveis de ácidos graxos com o cálcio e fósforo no intestino delgado das aves. Em outro estudo constatou-se maior retenção de cálcio e fósforo nos ossos dos frangos alimentados com dietas sem adição de óleo, independentemente do nível de cálcio presente na ração.

Segundo os mesmos autores, a deposição de fósforo nos ossos acompanha a deposição de cálcio, o que caracteriza a interdependência entre esses minerais, formando sais insolúveis que interferem na absorção de ambos pela ave (DELL'ISOLA et al., 2003). No atual experimento não foi avaliado a concentração desses minerais nos ossos, porém, estudos semelhantes com equinos adultos podem ser realizados para melhor identificar os efeitos causados nas concentrações minerais no referido tecido quando houver suplementação com óleo.

O magnésio é um importante macromineral, indispensável para o funcionamento do organismo, sendo um componente ativo de várias enzimas, agindo no metabolismo de proteínas, carboidratos e gorduras. A gordura em excesso e níveis elevados de P na dieta podem causar redução na absorção de magnésio, acarretando baixa concentração do elemento no plasma. No entanto, os animais estudados não apresentaram variação na [Mg] em nenhum dos grupos suplementados.

Em relação à sudorese para nos animais atletas, não há interferência, uma vez que a composição do suor equino possui pequenas quantidades de magnésio (FRAPE, 2004). O cálcio e o magnésio participam no equilíbrio da pressão osmótica, balanço ácido-base, permeabilidade da membrana e irritabilidade tecidual (UNDERWOOD E SUTLE, 1999).

Mélo (2013) afirma que o magnésio participa ativamente do metabolismo de outros minerais, assim como na homeostasia intracelular. Quando relacionado à musculatura, a ausência do mesmo provoca reações adversas no organismo como elevação do cálcio intracelular, o que leva a ocorrência de câibras e hipertensão (COZZOLINO, 2005). A concentração sanguínea deste íon reflete diretamente seu nível presente na dieta (GONZÁLES E SILVA, 2008).

A dosagem de cloreto é usada na investigação do equilíbrio ácido-base, balanço hídrico e cetoacidose. Nos fluidos digestivos é responsável pela formação do ácido clorídrico. O sódio, juntamente o cloreto e o potássio são responsáveis pelo equilíbrio osmótico e, dessa forma, alterações nas concentrações séricas de tais eletrólitos influenciam a concentração de água no meio extra e intracelular (MCDOWELL, 1999).

Silva et al. (2009) estudaram as alterações nos eletrólitos e em outros parâmetros no sangue venoso de cavalos da raça Puro Sangue Árabe, destreinados e submetidos a exercício máximo e submáximo em esteira rolante. Constataram que não houve diferença significativa para o cloreto (Cl^-) no exercício submáximo, por os esforços realizados nesta atividade não causarem modificações significativas na dinâmica desse íon. No exercício de intensidade máxima, notou-se diminuição significativa apenas 30 minutos após o término do exercício.

Comparando os dois exercícios, os autores notaram que as $[\text{Cl}^-]$ são mais elevadas no exercício de intensidade máxima devido à menor sudorese, resultando na menor perda. No presente experimento a $[\text{Cl}^-]$ variou em ambos os grupos estudados, com elevação significativa nos 60 dias de suplementação ($P < 0,05$). Apesar da elevada perda de íons cloreto por meio da sudorese durante exercícios, a suplementação com óleos promoveu elevação também no grupo de animais atletas. Gonzáles e Silva (2008) relataram que uma hiperclorémia pode se instalar no processo de desidratação e alcalose respiratória, pela perda de CO_2 e HCO_3^- resultando na elevação compensatória do Cloreto.

CONCLUSÃO

A suplementação com óleo por um período de 60 dias promoveu alterações no perfil dos biomarcadores minerais fósforo e cloreto no plasma de equinos em manutenção, e cálcio e cloreto dos animais em exercício de marcha. Embora as coletas para dosagem mineral tenham sido realizadas com intervalos de 30 dias, não foram observadas alterações clínicas nos animais dos grupos em estudo durante o período de suplementação.

A utilização do suplemento por igual período na alimentação de equinos em manutenção e marchadores torna-se segura.

É importante que outras pesquisas sejam desenvolvidas relacionadas ao metabolismo mineral de equinos que têm óleo presente na dieta, e que os intervalos de coleta para dosagem sejam mais reduzidos.

REFERÊNCIAS

- ATTEH, J.O; LESSON, S. Effects of dietary saturated or unsaturated fatty acids and calcium levels on performance and mineral metabolism of broiler chicks. *Poult. Sci.*, v.63, p.2252-2260, 1984.
- CORMAN, L.C. Nutrição clínica. *Clin. Med. Am. Norte* 4: 958-969, 1993.
- COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. Barueri: Ed. Manole, cap. 22., 2005, 459p.
- CUNHA, T. J. Feeding and Nutrition. New York: Academic press, 2^a ed., 1991, 445p.
- CYMBALUCK, N.F. Cold housing effects on growth and nutrient demand of young horses. *Journal of Animal Science*, v.68, n.11, p.3152-3162, 1990.
- DELL'ISOLA, A.T.P; VELOSO, J.A.F; BAIÃO, N.C; MEDEIROS, S.L. Efeito do óleo de soja em dietas com diferentes níveis de cálcio sobre a absorção e retenção óssea de cálcio e de fósforo em frangos de corte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2003; 55(4):461-6.
- DUNNETT, C, E. Dietary lipid form and function In: Recent advances in equine nutrition, 2002. Kentucky. Proceedings.... Kentucky: Kentucky Equine Research, 2002. p.1-17
- FRAPE, D.L. Equine nutrition and feeding. 3^a ed. Victoria: Blackwell Publ., 2004. 650 p.
- GONZÁLEZ, F. H. D; SILVA, S. C. Patologia clínica veterinária: texto introdutório. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. 342 p.
- HOLLANDS, T.; CUDDEFORD, D. Effect of supplementary soya oil on the digestibility of nutrients contained in a 40:60 roughage/concentrate diet fed to horses. *Europaische Konferenz uber die Ernährung des Pferdes*.8:128-132, 1992.
- JACKSON, S.G. Trace minerals for the performance horse know biochemical roles and estimates of requirements. *Continuing Education*, v.50, p.668-674, 1997.
- KOBLUCK, C.N.; AMES, T.R.; GEOR, R.J. The horse: diseases & clinical management. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1995.1336p
- LEWIS, L.D. Minerals for horses. In.: LEWIS, L.D. Equine clinical nutrition: feeding and care. Philadelphia: Saunders Company, 1995 p.25-60.
- LOPES, J.B.; FURTADO, C.E.; VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L.; TOSE, H.; HADDAD, M.L. Metabolismo do fósforo em equinos: avaliação dietética de diferentes fontes de fósforo. *Revista Brasileira Zootecnia*, Viçosa, v. 32, p.1339-47, 2003.

MÉLO, S. K; VAZ, S.G; MANSO, E.C.C; HUNKA, M. M; MANSO, H.E.C.C.C; MANSO FILHO, H.C. Influência da suplementação com concentrado extrusado, rico em óleo, nos parâmetros hematológicos, biométricos e biomarcadores da digestão em potros. Medicina Veterinária. Recife, v. 6, 2012.

MÉLO, S. K; Biomarcadores da digestão e índice glicêmico após uso de omeprazol em equinos sadios. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE.

MÉLO, S; WANDERLEY, E; DINIZ, I; MANSO, H; MANSO FILHO, H. Oil supplementation produces an increase in antioxidant biomarkers in four-beat gaited horses. Equine Veterinary Journal, Supplement 46:32–33, 2014.

McDOWELL, L.R. Mineral in animal and human nutrition. San Diego: Academic Press, 1999. 524p.

MORGADO, E; GALZERANO, L. Utilização de óleo em dietas para equinos. Revista Eletrônica de Veterinária. REDVET. v. VII, n. 10, p.14, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of horses. 5 Rev. , ed. 2007. 341p.

QUADROS, J. B. S. Metabolismo do cálcio e do fósforo em equinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio utilizando a técnica de diluição isotópica ou radionuclídeos (^{45}Ca e ^{32}P). 2006. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Agrárias, Maringá – Paraná.

SILVA, M. A. G; MARTINS, C. B; GOMIDE, L. M. W; ALBERNAZ, R. N; QUEIROZ NETO, A; LACERDA NETO, J. C. Determinação de eletrólitos, gases sanguíneos, osmolaridade, hematócrito, hemoglobina, base titulável e *anion gap* no sangue venoso de equinos destreinados submetidos a exercício máximo e submáximo em esteira rolante. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.61, n.5, p.1021-1027, 2009.

TITTO, E.A.L.; PEREIRA, A.M. F.; TOLEDO, L. R. A.; PASSINI, R.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; GOBESSO, A. A. O; ETCHICHURY, M.; TITTO, C. G. Concentração de eletrólitos em equinos submetidos a diferentes temperaturas. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. v.10, n.1, 2009, 236-244 p.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. The mineral nutrition of livestock. 3.ed. Wallingford: CAB, 1999. 614p.

APÊNDICES

A- TABELAS

Tabela 1. Níveis de garantia dos concentrados dos animais em manutenção e em exercício.

Item	Concentrado 1*	Concentrado 2**
Umidade (máx)	130g	130g
Proteína bruta (mín)	150g	120g
Extrato etéreo (mín.)	80g	30g
Matéria fibrosa (máx.)	140g	100g
Fibra em detergente ácido (máx.)	250g	120g
Material mineral (máx.)	100g	110g

Fonte: Dados da Pesquisa

*Concentrado consumidoos animais em manutenção (Nutricol Alimentos): Resultados expressos na matéria seca. **Concentrado consumido pelos animais em manutenção (Nutricol Alimentos): VIT. A (MÍN.)15.000 U.I, VIT. D3(MÍN.)21.000 U.I, VIT. E (MÍN.)11 U.I, VIT. K3 (MÍN.)3 mg, VIT. B1 (MÍN.) 2 mg, VIT. B2 (MÍN.) 6 mg, VIT. B6 (MÍN.) 1 mg, VIT. B12 (MÍN.) 16 mg, LISINA (MÍN.) 5.000 mg, METIONINA (MÍN.) 2.000 mg, ÁC. PANTOTÊNICO (MÍN.) 10 mg, ÁC. NICOTÍNICO (MÍN.) 36 mg, ÁC. FÓLICO (MÍN.) 0,4 mg, FERRO (MÍN.) 110 mg, COBRE (MÍN.) 20 mg, ZINCO (MÍN.) 100 mg, MANGANÊS (MÍN.) 140 mg, SELÊNIO (MÍN.) 0,6 mg, IODO (MÍN.) 2 mg, CALCIO (MÍN./ MÁX) 10/20 g, FÓSFORO (MÍN.) 5.000 mg, UMIDADE (MÁX) 130 g, MATÉRIA MINERAL (MÁX) 100 g. **Concentrado consumido pelos animais em exercício de marcha (Durancho 12 MA LTDA): VIT. A (MÍN.) 8.000 U.I, VIT. D3(MÍN.) 2.000 U.I, VIT. E (MÍN.) 80 U.I, METIONINA (MÍN.) 2.900 mg, FERRO (MÍN.) 12 mg, COBRE (MÍN.) 13,5 mg, ZINCO (MÍN.) 56 mg, MANGANÊS (MÍN.) 43 mg, CALCIO (MÍN./ MÁX) 16/20 g, FÓSFORO (MÍN.) 6.000 mg, LISINA (MÍN.) 10.000 mg.

Tabela 2. Níveis de garantia do suplemento (Mega Energy)/Kg

Item	Nível
Umidade(máx.)	10,0g
Energia Digestível(mín.)	8500,0kcal
Extrato Etéreo(mín.)	980,0g
Ácidos Graxos Polinsaturados(mín.)	520,0g
Ômega 3(mín.)	300,0g
Ácido Graxo Linolênico(mín.)	80,0g
Gama Orizanol(mín.)	500,0 mg
Índice de Peróxido(máx.)	20 meq
Acidez Livre em Ácido Oleico(máx.)	20,0g
Vitamina E(mín.)	300,0UI

B- FIGURAS

Figura 1. Concentração plasmática de colesterol total (mg/dL) de equinos em exercício de marcha consumindo 300 ml de óleo.



Figura 2. Concentração plasmática de lipoproteína de baixa densidade (LDL) (mg/dL) de equinos em manutenção consumindo 100 ml de óleo.

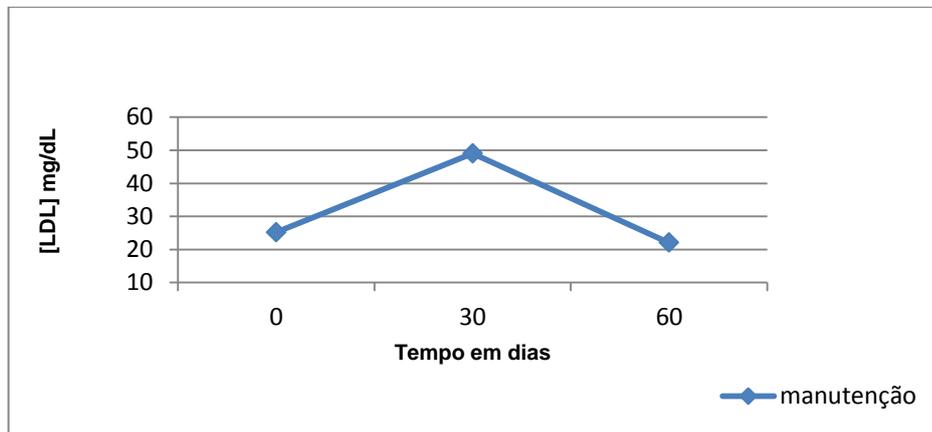


Figura 3. Concentração plasmática de triglicerídeos (mg/dL) de equinos em manutenção consumindo 100 ml de óleo.

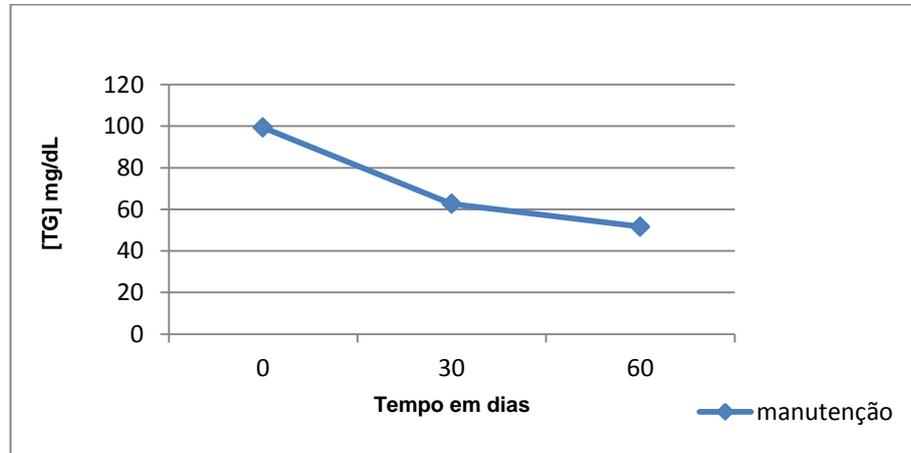


Figura 4. Concentração de ácidos graxos não esterificados (mmol/dL) de equinos em manutenção consumindo 100 ml de óleo e equinos em exercício consumindo 300 ml de óleo.

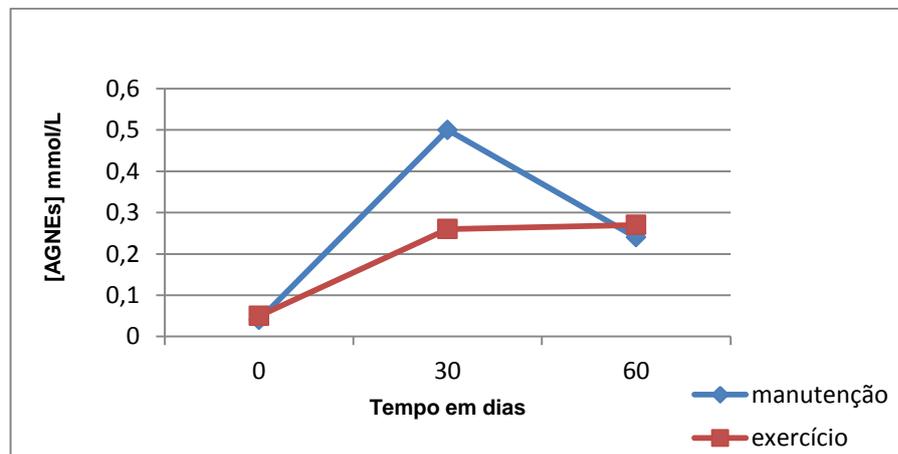
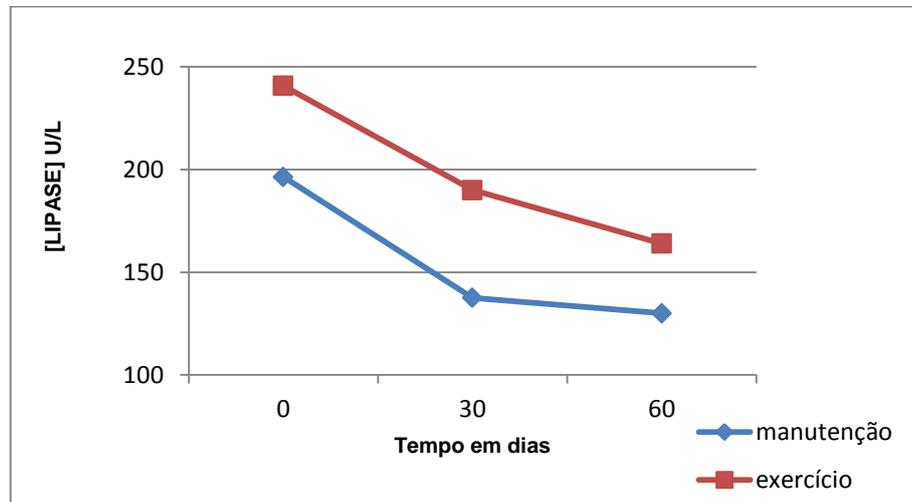


Figura 5. Concentração plasmática de lipase (U/L) de equinos em manutenção consumindo 100 ml de óleo e equinos em exercício consumindo 300 ml de óleo.



C- BANCO DE DADOS

ANIMAIS EM MANUTENÇÃO

ANIMAL	#	FASE	Cálcio mg/dL	Fósforo mg/dL	Magnésio mg/dL	Cloretos mg/dL	Colesterol mg/dL	Triglicerides mg/dL	AGNE mmol/L	LDL mg/dL	HDL mg/dL	LIPASE U/L	Glicerol mmol/L
AF Lessa	1	1	10.17	4.56	1.12	102.3	66.49	89.15	0.061	36.6	466.40	159.44	0.045
Dolores	2	1	10.21	4.73	1.15	96.97	79.28	104.1	0.026	47.1	237.15	239.2	0.05
Lessinha	3	1	9.98	4.66	1.13	95.87	77.51	114.7	0.054	17.1	33.21	175.5	0.05
Barbie	4	1	10.12	4.52	1.13	100.8	58.15	95.77	0.193	30.2	30.92	197.8	0.244
Isoleucina	5	1	10.3	4.85	1.14	98.31	65.28	98.53	0.181	14.1	73.16	198.7	0.071
Valina	6	1	10.25	4.58	1.19	94.78	56.29	93.82	0.051	5.9	95.39	207.4	0.026
AF Lessa	1	2	9.83	4.49	1.17	94.82	85.53	57.23	0.444	28.1	185.17	177.79	0.066
Dolores	2	2	9.91	4.42	1.13	98.7	30.14	53.75	0.355	45.4	63.32	108.6	0.087
Lessinha	3	2	10.02	4.55	1.13	91.77	103.6	59.92	0.303	54.9	36.26	98.8	0.133
Barbie	4	2	10.54	4.31	1.14	96.36	81.61	79.37	0.372	48.2	73.59	122.7	0.100
Isoleucina	5	2	9.88	4.45	1.14	93.52	79.84	69.59	0.765	46.8	44.54	151.9	0.077
Valina	6	2	9.90	4.29	1.14	93.13	70.58	55.94	0.593	70.6	225.99	165.6	0.083
AF Lessa	1	3	9.82	4.24	1.14	96.69	32.18	40.8	0.1	16	171.71	169.2	0.077
Dolores	2	3	9.9	4.25	1.12	99.33	91.33	61.31	0.24	22.4	336.98	136.9	0.101
Lessinha	3	3	9.92	4.5	1.13	98.65	31.02	37.85	0.34	28.2	62.85	66.67	0.059
Barbie	4	3	10.52	4.26	1.13	102.8	73.93	51.63	0.399	32.4	8.64	93.02	0.066
Isoleucina	5	3	9.97	4.31	1.15	104.7	82.51	63.63	0.056	12.8	613.37	184.32	0.052
Valina	6	3	9.45	4.64	1.13	103.4	51.93	54.42	0.273	20.4	606.94	202.3	0.042

ANEMAIS EM EXERCÍCIO DE MARCHA

ANIMAL	#	FASE	Cálcio mg/dL	Fósforo mg/dL	Magnésio mg/dL	Cloretos mg/dL	Colesterol mg/dL	Triglicerides mg/dL	AGNE mmol/L	LDL mg/dL	LDL mg/dL	LIPASE (U/L)	GLICEROL mmol/L
Lundum	1	1	10.16	4.85	1.13	100.8	59.39	34.86	0.051	27.6	101.79	285.5	0.038
Hipie	2	1	10.32	4.36	1.12	95.73	35.64	70.49	0.066	32.6	79.19	134	0.032
Flor	3	1	10.5	4.34	1.13	98.9	49.7	44.01	0.063	4.8	100.66	116.4	0.006
Hora	4	1	10.77	4.7	1.15	104.4	43.00	60.38	0.035	19.6	73.70	320.8	0.102
Imagem	5	1	9.97	4.91	1.15	92.95	60.87	44.37	0.095	21.4	74.08	152.3	0.054
Euforia	6	1	10.19	4.83	1.12	94.09	69.88	48.55	0.072	24.9	112.43	229.9	0.047
Habilitação	7	1	10.25	4.40	1.14	99.23	53.67	57.00	0.05	7.7	52.18	322.2	0.032
Eureka	8	1	10.29	4.97	1.18	95.87	80.30	63.53	0.023	48.8	257.68	279	0.033
Xingu	9	1	10.42	4.34	1.12	97.76	67.94	44.57	0.197	34.4	36.85	327.8	0.028
Uniforme	10	1	10.21	4.71	1.13	99.07	65.16	50.31	0.027	45.2	140.90	153.9	0.042
Jogo	11	1	10.65	4.81	1.13	96.5	66.63	54.71	0.028	11.5	113.05	326.3	0.044
Lundum	1	2	11.76	4.41	1.1	96.5	82.31	45.43	0.117	28.3	43.19	254.4	0.024
Hipie	2	2	9.9	4.52	1.13	95.22	63.44	46.2	0.348	38.1	262.34	153	0.029
Flor	3	2	10.12	4.35	1.17	97.5	37.88	52.79	0.061	10.3	20.50	148.8	0.047
Hora	4	2	10.05	4.66	1.15	99.67	32.01	52.86	0.315	36.3	137.45	299.6	0.059
Imagem	5	2	10.34	4.58	1.22	100.7	73.81	53.39	0.484	38.7	132.54	184.87	0.062
Euforia	6	2	10.27	4.25	1.14	94.19	90.62	55.48	0.2	44.9	86.83	188.87	0.037
Habilitação	7	2	10.04	4.66	1.13	99.13	93.53	75.99	0.662	52.2	60.75	170	0.078
Eureka	8	2	9.9	4.74	1.13	98.43	92.46	69.16	0.123	48.5	92.63	151.29	0.041
Xingu	9	2											
Uniforme	10	2	10.17	4.35	1.16	98.84	50.30	49.94	0.23	24.5	94.40	151.8	0.057
Jogo	11	2	10.51	4.65	1.13	95.43	81.97	44.14	0.068	22.4	70.27	197.1	0.038
Lundum	1	3	9.57	4.48	1.12	108.1	118.6	58.53	0.422	18.1	100.44	262.4	0.032

Hipie	2	3	9.88	4.41	1.13	103.6	55.32	52.99	0.085	58.3	270.82	198.6	0.058
Flor	3	3	9.56	4.08	1.11	109.4	60.41	41.26	0.077	16.8	125	140.2	0.023
Hora	4	3											
Imagem	5	3	10.06	4.78	1.14	105.1	70.54	50.21	0.395	47.2	193.80	102.8	0.067
Euforia	6	3	9.98	4.68	1.13	104.7	46,93	42.32	0.162	34.6	23.58	100.1	0.063
Habilitação	7	3	9.77	4.28	1.1	106.9	63.94	47.09	0.783	41.2	114.80	255.2	0.053
Eureka	8	3	9.97	4.7	1.18	109.0	83.23	49.05	0.038	57.9	44.38	146.3	0.056
Xingu	9	3											
Uniforme	10	3	9.88	4.69	1.13	110.8	69.11	46.3	0.069	26	96.64	217.2	0.051
Jogo	11	3	10.21	4.76	1.12	108.8	30.34	60.65	0.483	21.6	276.09	210	0.026

Fase 1: refere-se a T0

Fase 2: refere-se a T1

Fase 3: refere-se a T2