

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE CORTISOL DECORRENTE DO EXERCÍCIO FÍSICO EM CAVALOS DE ENDURO

PLASMA CORTISOL LEVEL ATTRIBUTABLE TO PHYSICAL EXERCISE IN ENDURANCE HORSES

P. MIYASHIRO^{1*}, L. E. S. MICHIMA, C. C. M. BONOMO, W. R. FERNANDES

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi relacionar a intensidade do exercício físico e as concentrações de cortisol plasmático em cavalos de enduro, uma competição em que somente animais experientes podem competir nas provas mais longas. Foram utilizados 30 equinos Puro Sangue Árabe e mestiços Árabe, machos ou fêmeas participantes de provas de enduro. Foram divididos em três grupos de 10 animais: (G1): percorreram mais de 100km, (G2): percorreram menos de 100km, e (G3): desqualificados por causa metabólica. Foram realizadas dosagens de cortisol plasmático em três momentos diferentes: (t0): dia anterior à competição, (t1): 30 a 60 minutos após o término da prova e, (t2): 90 a 120 minutos após o término da prova. Concluiu-se que o enduro leva ao aumento do cortisol plasmático; animais que percorrem maiores distâncias apresentam menor aumento das concentrações de cortisol; animais desqualificados por causa metabólica, que passam por situações de extremo esforço físico, tendem a valores de cortisol mais elevados e animais menos experientes apresentam valores de cortisol mais elevados mesmo tendo percorrido menores distâncias.

PALAVRAS-CHAVE: Equino. Cortisol. Enduro. Estresse. Esforço.

SUMMARY

The objective of this study was to establish a relationship between exercise and plasma cortisol levels in endurance horses. A race in which only experienced animals may run longer distances. Thirty male and female, Arabians and crossbred Arabian horses that compete in endurance races were used. They were divided into three groups of 10 animals each: G1, ran more than 100km; G2, ran less than 100km; and G3, disqualified due to metabolic problems. Plasma cortisol was quantified at three different moments: t0, the day before the competition; t1, 30 to 60 minutes after the end of the circuit; and t2, 90 to 120 minutes after the end of the circuit. It was concluded that endurance exercise led to an increase of plasma cortisol levels; animals that run longer distances have lower cortisol increase; disqualified animals, who suffered great physical effort, tend to have high cortisol levels and less experienced animals have higher cortisol levels despite running shorter distances.

KEY-WORDS: Equine. Cortisol. Endurance. Stress. Effort.

^{1*} Universidade de São Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87. CEP 05508 270, São Paulo/SP – Brasil.
patricia.miyashiro@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Uma grande variedade de parâmetros fisiológicos como índice de recuperação cardíaca, grau de desidratação e hipertermia é alterada durante treinamentos e competições como o enduro equestre. O enduro equestre é uma modalidade esportiva em que o animal realiza um exercício aeróbio de longa duração e média intensidade, num percurso de 40 a 160 km de extensão, no qual os cavalos com sintomas de instabilidade locomotora ou enfermidade metabólica (claudicação, dores, frequência cardíaca aumentada, e outros) são eliminados das provas. Essa modalidade é regulamentada por rigorosas normas, a fim de preservar a integridade física do animal, que é controlada sistematicamente em postos veterinários, onde esses parâmetros são avaliados (FÉDÉRATION EQUESTRE INTERNATIONALE, 2009). Além desses parâmetros já conhecidos, se faz necessário o estudo de outros padrões fisiológicos dos cavalos atletas para que acidentes sejam evitados e para que seus desempenhos sejam melhorados.

Um parâmetro fisiológico que pode auxiliar na avaliação do estado geral do cavalo é a concentração de cortisol plasmático (FREESTONE et al., 1991; MARC et al., 2000; FERRAZ et al., 2010; MEDICA et al., 2011), uma vez que o cortisol, ou hidrocortisona, é o principal glicocorticóide do córtex suprarrenal em equinos (FARREL et al., 1983; MCARDLE et al., 2002). O estudo do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é importante, também, para avaliar o condicionamento físico do animal, uma vez que esse sistema está diretamente envolvido com a adaptação ao exercício (MARC et al., 2000).

O cortisol, por um lado, aumenta a resistência do organismo ao estresse, porém quando em doses elevadas, exerce ações antiinflamatórias e supressoras da imunidade mediada por células, ou seja, age no sentido de inibir respostas necessárias para o combate a diversos tipos de lesões celulares e infecções. Os níveis normais do hormônio teriam a função de permitir as respostas metabólicas, circulatórias e outras, necessárias para adaptação aos diversos tipos de estresse. Em contraposição, níveis mais elevados de cortisol teriam a função de limitar as respostas adaptativas, impedindo que elas se tornem exageradas, deletérias para o organismo (AIRES, 1999). Exposições repetitivas a fatores estressantes frequentemente resultam em adaptação ou habituação. Essa resposta é crucial para o bem-estar do organismo, pois permite que o mesmo lide melhor com o estresse. A rapidez com que a adaptação ocorre depende da severidade, duração e tipo de estresse (VELLUCI, 1997).

A atividade física faz variar a resposta ao cortisol, sendo dependente da modalidade esportiva (DESMECHT et al., 1996), da intensidade e da duração do exercício (SNOW e ROSE, 1981; MARQUES, 2002), do treinamento (FREESTONE et al., 1991; SIGHIERI et al., 1996; NOGUEIRA; BARNABE, 1997; CHICHARRO; VAQUERO, 1998; MARC et al., 2000; FERRAZ et al., 2010), do nível de

aptidão, do estado nutricional e do local de colheita da amostra (SNOW; MACKENZIE, 1977; COVALESKY et al., 1992).

Desmecht et al. (1996) compararam as concentrações plasmáticas de cortisol em animais competindo em diferentes modalidades (hipismo clássico, concurso completo de equitação, corrida de trote, turfe e enduro). O tipo de evento afetou tanto os valores de cortisol plasmático pré-exercício, quanto pós-exercício. O aumento de cortisol estava diretamente relacionado com a intensidade e a duração do esforço físico. Todos os tipos de competição estudados induziram aumento na concentração plasmática de cortisol sendo que o maior aumento ocorreu nos animais submetidos a provas de enduro. Snow e Rose (1981) observaram, em um estudo com cavalos de enduro, que após um percurso de 80km de extensão, todos os cavalos estudados apresentaram um aumento marcante das concentrações plasmáticas de cortisol (0,176 $\mu\text{mol/L}$ no repouso, para 0,343 $\mu\text{mol/L}$, 30 minutos após o término do exercício).

Marques (2002) estudando cavalos de corrida submeteu-os a dois tipos de exercício físico: de baixa intensidade e curta duração e de alta intensidade e curta duração. No primeiro grupo, o valor médio dos animais em repouso foi de 0,1515 $\mu\text{mol/L}$ e 0,1270 $\mu\text{mol/L}$ após o exercício. Já no segundo grupo, esse aumento foi maior; em repouso, a média foi de 0,1397 $\mu\text{mol/L}$ e após o exercício de 0,1605 $\mu\text{mol/L}$.

O estudo de Freestone et al. (1991) avaliou os níveis de cortisol sérico em 9 cavalos submetidos a um programa de condicionamento de 10 semanas de duração. Na primeira semana, a média de concentração de cortisol foi de 0,144 $\mu\text{mol/L}$, aumentando gradualmente até a quinta semana quando a média foi de 0,187 $\mu\text{mol/L}$, momento em que a média começou a diminuir. Após o período de condicionamento, a concentração de cortisol de animais em repouso foi maior quando comparada com as amostras coletadas na mesma situação no início do treinamento.

Outro estudo feito em cavalos de enduro no início e em estágio mais avançado de treinamento, esses foram submetidos a um exercício padrão submáximo realizado em esteira. O exercício induziu aumentos menores nos cavalos treinados quando comparado aos que estavam em fase inicial de treinamento (SIGHIERI et al., 1996). Outro estudo brasileiro com cavalos de corrida (NOGUEIRA e BARNABE, 1997) determinou a diferença na concentração de cortisol em animais em diferentes estágios de treinamento. A média da concentração de cortisol dos cavalos com maior tempo de treinamento (0,101 $\mu\text{mol/L}$) era menor do que a de cavalos novos, no início do treinamento (0,149 $\mu\text{mol/L}$).

Marc et al. (2000) realizaram um estudo no qual verificaram que animais submetidos a 24 semanas de treinamento tiveram os níveis de cortisol mais baixos que os animais sem treinamento, após aplicação exógena de ACTH.

Já o estudo realizado por Ferraz et al. (2010) mostra que após teste ergométrico, a concentração de cortisol é menor antes do treinamento do que após 90 dias de

exercício constante. Esse fato é justificado pelos autores pela não adaptação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ao exercício.

Nas provas de enduro, cavalo e cavaleiro são obrigados a realizar uma prova de 65 a 80 km para se qualificarem para as provas de 80 a 120 km e uma prova de 80 a 120 km para se qualificarem para as provas acima de 120 km (FÉDÉRATION EQUESTRE INTERNATIONALE, 2009). Sendo assim, somente animais experientes e adequadamente condicionados participarão de provas de maiores distâncias.

O objetivo deste estudo foi relacionar a intensidade do exercício físico e os níveis de cortisol plasmático em cavalos de enduro. Além de relacionar a desqualificação dos animais por causas metabólicas com os níveis de cortisol.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas amostras de sangue de 30 cavalos da raça Puro Sangue Árabe e mestiços Árabe, fêmeas ou machos adultos, em competições oficiais de enduro velocidade livre (40 a 160km de extensão) da Confederação Brasileira de Hipismo. Os animais foram divididos em três grupos de 10 animais: (G1): que percorreram mais de 100 km ($130,56 \pm 7,83$ km), (G2): que percorreram menos de 100 km ($71,1 \pm 3,75$ km), e (G3): animais desqualificados por causas metabólicas, que percorreram $57 \pm 7,49$ km.

As amostras foram colhidas nos momentos: (t0): antes da prova, (t1): 30 a 60 minutos após o término da prova, e (t2): 90 a 120 minutos após o término da prova. O sangue foi colhido usando tubos Vacutainer® com anticoagulante heparina sódica. As amostras de t0 foram colhidas na tarde do dia anterior. As amostras de t1 e t2 foram colhidas na tarde do dia da competição.

As amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 1150G, sendo em seguida o plasma separado, aliquotado e armazenado a -20°C até o momento de execução das análises.

As concentrações de cortisol foram determinadas no Laboratório de Dosagens Hormonais (LDH), do Departamento de Reprodução Animal da FMVZ-USP, em duplicata, por radioimunoensaio em fase sólida, utilizando-se sistema comercial². Foram utilizados 25µl das amostras colocadas em tubos com anticorpos aderidos à sua parede aos quais o cortisol contido no plasma se liga. Após a adição do cortisol marcado com ¹²⁵I, que é usado como competidor, os tubos foram incubados em banho-maria a 37°C por 45 minutos e, a seguir, o sobrenadante foi removido por decantação. Os tubos foram levados ao contador de radiação gama³ para a mensuração da radioatividade remanescente. A dose mínima detectada foi de $0,5 \mu\text{g/dL}$ e o coeficiente de variação inter e intra-ensaios foi de 4% e 5,3%, respectivamente.

Foi feita análise estatística através dos cálculos da média, mediana, erro-padrão da média e coeficiente de variação. Foi realizada análise de variância para

comparação entre os diversos grupos e tempos, com posterior teste de Tukey. Foi realizado teste de correlação de Pearson entre as variáveis cortisol e distância percorrida. O nível de significância utilizado em todos os testes foi de 5%. Para a realização dos testes foi utilizado um programa estatístico⁴.

O delineamento experimental está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo sob protocolo no. 650/2009.

RESULTADOS

Conforme pode ser visto no Quadro 1, o G1 apresentou as menores concentrações de cortisol em repouso ($3,46 \pm 0,68 \mu\text{g/dL}$), em comparação com G2 ($7,84 \pm 0,81 \mu\text{g/dL}$) e G3 ($8,02 \pm 2,41 \mu\text{g/dL}$).

Em t1 e t2, as concentrações do hormônio de G1 (t1: $12,38 \pm 2,07 \mu\text{g/dl}$ e t2: $9,04 \pm 1,89 \mu\text{g/dL}$) foram semelhantes às de G2 (t1: $18,69 \pm 2,42 \mu\text{g/dL}$ e t2: $12,56 \pm 1,47 \mu\text{g/dL}$) e menores que de G3 (t1: $24,40 \pm 4,43 \mu\text{g/dL}$ e t2: $17,23 \pm 3,07 \mu\text{g/dL}$). O G3 apresentou concentrações elevadas do hormônio nos três momentos, desde o repouso até após o término do exercício (Quadro 1).

O teste de correlação linear de Pearson relacionou a distância percorrida e os níveis de cortisol pós-exercício com todos os grupos ($\rho = -0,269$), porém sem valor de significância ($p = 0,158$). Excluindo-se G3 desse teste, a correlação foi significante ($p = 0,045$), obtendo-se um valor de correlação linear negativa ($\rho = -0,465$). Os animais desqualificados apresentam valores de cortisol elevados, sem correlação com a distância percorrida.

O Quadro 2 mostra como o G1 percorreu maior distância ($130,56 \pm 7,83$ km) em comparação ao G2 ($71,10 \pm 3,75$ km) e ao G3 ($57,00 \pm 7,49$ km).

DISCUSSÃO

Avaliando-se os valores médios de cortisol nos diferentes momentos dos grupos 1 e 2, é possível verificar que o exercício levou ao aumento significativo desse hormônio na circulação, confirmando resultados que indicam que a atividade física leva a uma maior liberação de cortisol. De acordo com o estudo de Snow e Rose (1981), em que, após um exercício de enduro de 80km de extensão, foi verificado um aumento marcante dos níveis plasmáticos de cortisol em todos os cavalos estudados.

Antes do exercício (t0), o valor de cortisol de G3 mostrou-se comparativamente maior que o de G1. Essa diferença pode ser justificada pela inexperiência dos animais do G3 em competições, viagens, ao menor tempo de treinamento ou às causas da desclassificação. O simples fato de as amostras terem sido coletadas nos locais de competição aumenta os níveis plasmáticos desse hormônio, como apresentou Covalesky et al.

² DPC-Med Lab Coat a Count® Cortisol

³ Cobra Auto-Gama Packard®

⁴ MINITAB v. 13.1.

Quadro 1 - Média, erro padrão da média (EP) do cortisol plasmático ($\mu\text{g/dL}$) e nível de significância do teste de comparação entre os diferentes grupos e momentos.

Grupos	Tempos						P(t)
	t0		t1		t2		
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	
G1	3,46 ^{Aa}	0,68	12,38 ^{Bc}	2,07	9,04 ^{Bc}	1,89	0,006
G2	7,84 ^{Cb}	0,81	18,69 ^{Dcd}	2,42	12,56 ^{Cef}	1,47	0,00
G3	8,02 ^{Eb}	2,41	24,40 ^{Ed}	4,43	17,23 ^{Ef}	3,07	0,064
P(G)	0,009		0,04		0,056		

P(G): nível de significância entre os grupos. P(t): nível de significância entre os tempos. Caracteres maiúsculos indicam comparação entre os tempos e caracteres minúsculos entre os grupos. Caracteres diferentes indicam diferença estatística significante ($P < 0,05$).

Quadro 2 - Número amostral, média, mediana, erro padrão da média, mínimo e máximo das distâncias percorridas dos diferentes grupos.

Grupo	N	Média	Mediana	EP	Mínimo	Máximo
		(km)	(km)		(km)	(km)
1	9	130,56 ^a	123,0	7,83	101	160
2	10	71,10 ^b	65,5	3,75	60	88
3	10	57,00 ^b	50,50	7,49	28	100

Caracteres diferentes indicam diferença estatística significante ($P < 0,05$).

(1992) em um estudo no qual animais experientes apresentaram valores de cortisol menores que o de cavalos iniciantes. O tempo de treinamento influencia o comportamento desse hormônio, Nogueira e Barnabe (1997) realizaram um estudo no qual os animais com maior tempo de treinamento apresentaram média de concentração de cortisol menor do que a de cavalos no início do treinamento. Em outro estudo, realizado por Sighieri (1996), cavalos de enduro no início e em estágio mais avançado de treinamento foram submetidos a um exercício padrão submáximo em esteira. O exercício induziu aumentos menores nos cavalos treinados quando comparado aos que estavam em fase inicial de treinamento.

Uma vez que os animais devem passar por fases classificatórias para participarem de provas mais longas (FÉDÉRATION EQUESTRE INTERNATIONALE, 2009), passam por um período de adaptação ao ambiente de competição, e às viagens. Os animais de G2 também apresentaram uma concentração de cortisol maior que os de G1, o que,

também, pode ser explicado pelo menor tempo de experiência. Seria esperado que os animais de G1, por terem percorrido maiores distâncias, apresentassem maiores valores de cortisol, porém como postulado por Sighieri et al. (1996), além da intensidade e duração do exercício, deve-se levar em consideração o estágio de treinamento do animal. Sendo assim, apesar de G2 ter percorrido menores distâncias (Quadro 2), apresentou uma tendência a maiores valores de cortisol, em comparação a G1.

O teste de correlação linear de Pearson mostrou que quanto mais quilômetros percorridos, menor o nível de cortisol. Isso se justifica pela regra da Fédération Equestre Internationale, que os animais devem passar por etapas classificatórias para poderem participar de provas mais longas, que serve como um período preparatório às exigências das provas. Os animais desqualificados apresentam valores de cortisol elevados, sem correlação com a distância percorrida. Um animal pode ser eliminado da competição tendo

percorrido maiores ou menores distâncias, mas mesmo assim, seus níveis de cortisol estarão mais aumentados.

CONCLUSÃO

O presente estudo confirma que exercício de longa duração e média intensidade leva a um aumento da concentração do cortisol plasmático sendo que animais mais adaptados apresentam menor aumento do cortisol. Animais desqualificados por causa metabólica, que passam por situações de extremo esforço físico, tendem a valores de cortisol mais elevados e animais menos experientes apresentam valores de cortisol mais elevados mesmo tendo percorrido menores distâncias.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.830-835.
- CHICHARRO, J. L.; VAQUERO A. F. **Fisiología del ejercicio**. 2. ed. Madri: Panamericana, 1998. p.31-46, 234-236.
- COVALESKY, M. E.; RUSSONIELLO, C. R.; MALINOWSKY, K. Effects of show-jumping performance stress on plasma cortisol and lactate concentrations and heart rate and behavior in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.12, n.4, p.315-327, 1995.
- DESMECHT, D.; LINDEN, A.; AMORY, H.; ART, T.; LEKEUX, P. Relationship of plasma lactate production to cortisol release following completion of different types of sporting events in horses. **Veterinary Research Communications**, v.20, n.4, p.371-379, 1996.
- FARREL, P. A.; GARTHWAITE, T. L.; GUSTAFSON, A. B. Plasma adrenocorticotropin and cortisol responses to submaximal and exhaustive exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.55, n. 5, p. 1441-1444, 1983.
- FÉDÉRATION EQUESTRE INTERNATIONALE. **Regulamento de enduro equestre**, 7. ed., 2009.
- FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; PEREIRA, M. C.; LINARDI, R. L.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Influência do treinamento aeróbio sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos, **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.1, p.23-29, 2010.
- FREESTONE, J. F.; WOLFSHEIMER, K. J.; KAMERLING, S. G.; CHURCH, G.; HAMRA, J.; BAGWELL, C. Exercise induced hormonal and metabolic changes in Thoroughbred horses: effects of conditioning and acepromazine. **Equine Veterinary Journal**, v.23, n.3, p.219-223, 1991.
- MARC, M.; PARVIZI, N.; ELLENDORFF, F.; KALLWEIT, E.; ELSAESSER, F. Plasma cortisol and ACTH concentrations in the warmblood horse in response to a standardized treadmill exercise test and physiological markers for evaluation of training status. **Journal of Animal Science**, v.78, n.7, p.1936-1946, 2000.
- MARQUES, M. S. **Influência do exercício físico sobre os níveis de lactato plasmático e cortisol sérico em cavalos de corrida**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2002. 70p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002.
- MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fundamentos de Fisiologia do Exercício**, 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.343-344.
- MEDICA, P., CRAVANA, C., FAZIO, E., FERLAZZO, A. Hormonal responses of Quarter Horses to a 6-week conventional Western-riding training programme, **Livestock Science**, v.140, p.262-267, 2011.
- NOGUEIRA, G. P.; BARNABE, R. C. Is the Thoroughbred race-horse under chronic stress? Short Communication, **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.30, p.1237-1239, 1997.
- SIGHIERI, C.; BARAGLI, P.; VILLANI, C.; MARTELLI, F.; GATTA, D.; CIATTINI, F. Cortisol ed insulina plasmatici nel cavallo da endurance durante test submassimale standadizzato al treadmill. **Annali della Facolta di Medicina Veterinária di Pisa**, v.49, p.335-343, 1996.
- SNOW, D. H.; MACKENZIE, G. Some metabolic effects of maximal exercise in the horse and adaptations with training. **Equine Veterinary Journal**, v.9, p.134-140, 1977.
- SNOW, D. H.; ROSE, R. J. Hormonal changes associated with long distance exercise. **Equine Veterinary Journal**, v.13, n.3, p.195-197, 1981.
- VELLUCI, S. V. The autonomic and behavioral responses to stress. **Stress, Stress Hormones and the Immune System**, London: Wiley, 1997. p.64-65.