CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE CORTISOL CAUSADA PELO ESTRESSE DECORRENTE DO EXERCÍCIO FÍSICO EM CAVALOS DE ENDURO

PLASMATIC CORTISOL CONCENTRATION CAUSED BY PHYSICAL EXERCISE STRESS IN ENDURANCE HORSES

P. MIYASHIRO1\*, L. E. S. MICHIMA1, C. C. M. BONOMO1, W. R. FERNANDES1

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi relacionar a intensidade do exercício físico e os níveis de cortisol plasmático em cavalos de enduro. Foram utilizados 30 equinos Puro Sangue Árabe e Cruza Árabe, machos ou fêmeas nessas competições. Esses animais foram divididos em três grupos de 10 animais: (G1): percorreram mais de 100km, (G2): percorreram menos de 100 km, e (G3): desqualificados por causa metabólica. Foi feita dosagem de cortisol plasmático em três momentos diferentes: (t1): dia anterior à competição, (t2): 30-60 minutos após o término da prova e, (t3): 90-120 minutos após o término da prova. Concluiu-se que o enduro leva ao aumento do cortisol plasmático; que os animais que percorreram maiores distâncias tiveram menor aumento do cortisol; que os animais desqualificados por causa metabólica, que passaram por situações de extremo esforço físico, tendem a valores de cortisol mais elevados e que os animais menos experientes apresentam valores de cortisol mais elevados mesmo tendo percorrido menores distâncias.

**Palavras chave:** Cavalo, Cortisol, Enduro, Estresse, Exercício

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1.Departamento de Clínica Médica Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo
Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 CEP 05508 270 - Cidade Universitária São Paulo/SP – Brasil

patricia.miyashiro@yahoo.com.br

**ABSTRACT**

The aim of this study was to make a relationship between exercise and plasma cortisol levels in endurance horses. Thirty horses Arabians and half blood Arabian horses, male or female were used in endurance competitions. They were divided into three groups of 10 animals each one: (G1): ran more than 100km, (G2): ran less than 100km, and (G3): disqualified because of metabolic problems. Plasma cortisol was quantified at three different moments: (t1): the day before the competition, (t2): 30-60 minutes after the end of the circuit, and (t3): 90-120 minutes after the end of the circuit. It was concluded that endurance exercise provides increase of plasmas cortisol level, that the animals who runned greater distances had a lower increase of this hormone; that the disqualified animals, who suffered great physical effort, tend to have high cortisol levels and that less experienced animals present higher cortisol levels even covering shorter distances.

**Key words:** Horse, Cortisol, Endurance, Stress, Exercise

INTRODUÇÃO

Uma grande variedade de parâmetros fisiológicos é alterada durante treinamentos e competições como o enduro equestre. Essa modalidade é regulamentada por rigorosas normas a fim de preservar a integridade física do animal, que é controlada sistematicamente em postos veterinários, onde vários parâmetros são avaliados, tais como: metabólicos (índice de recuperação cardíaca, grau de desidratação, hipertermia e miopatia), claudicações e lacerações. Outro parâmetro que pode auxiliar na avaliação do estado geral do cavalo é o nível de cortisol plasmático (FREESTONE et al., 1991; MARC et al., 2000, MEDICA et al., 2011).

A atividade física faz variar a resposta ao cortisol, na dependência da modalidade esportiva (DESMECHT et al., 1996), da intensidade e da duração do exercício (MCARDLE et al., 2002; MARQUES, 2002), do treinamento (CHICHARRO; VAQUERO, 1998; FERRAZ et al., 2010; FREESTONE et al., 1991; MARC et al., 2000; NOGUEIRA; BARNABE, 1997; SIGHIERI et al., 1996), do nível de aptidão, do estado nutricional, do ritmo circadiano (MCARDLE et al., 2002) e até do local de colheita da amostra (COVALESKY et al., 1992; SNOW; MACKENZIE, 1977).

O presente estudo objetivou relacionar a intensidade do exercício físico e os níveis de cortisol plasmático em cavalos de enduro. Além disso, relacionou se os animais desqualificados por causa metabólica, supostamente despreparados, com um nível de cortisol mais elevado, vinculando esse resultado com a resposta do organismo a um esforço excessivo.

**MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram colhidas amostras de sangue de 30 cavalos da raça Puro Sangue Árabe e Cruza Árabe, fêmeas ou machos adultos, em competições oficiais de enduro velocidade livre da Confederação Brasileira de Hipismo. Os animais foram divididos em três grupos de 10 animais: (G1): que percorreram mais de 100km, (G2): que percorreram menos de 100km, e (G3): animais desqualificados por causas metabólicas.

As amostras foram colhidas nos momentos: (t1): antes da prova, (t2): 30-60 minutos após a prova, e (t3): 90-120 minutos pós prova. Para este procedimento foi utilizado o sistema de colheita a vácuo (Vacutainer®) em tubos com anticoagulante heparina sódica.

As amostras foram centrifugadas, por 15 minutos a uma velocidade de 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, em duplicata, por radioimunoensaio em fase sólida, utilizando-se sistema comercial (DPC-Med Lab®). Foram utilizados 25ul das amostras colocadas em tubo 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 gama (Cobra Auto-Gama Packard®) para a mensuração da radioatividade remanescente.

Foi feita análise estatística através dos cálculos da média, mediana, erro-padrão da média e coeficiente de variação. Foi realizado o teste de ANOVA para comparação entre os diversos grupos e tempos, com posterior teste de correlação de Tukey de comparação dois a dois. 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 o pacote estatístico MINITAB v. 13.1.

 O delineamento experimental desse trabalho 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 E DISCUSSÃO**

A Tabela 1 compara os valores médios de cortisol entre os diferentes grupos e momentos. A Figura 1 ilustra o comportamento do cortisol nos diferentes grupos e momentos.

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 indicando que a atividade física leva a uma maior liberação de cortisol (SNOW; MACKENZIE, 1977; SNOW; ROSE, 1981).

Nas provas de velocidade livre, cavalo e cavaleiro são obrigados a realizar provas de menores distâncias para se qualificarem para as provas mais longas, sendo assim, somente animais experientes participarão de provas de maiores distâncias. Antes (T0) e após (T1 e T2) o exercício, o valor de cortisol do grupo 3 é maior que o do grupo 1. Isso pode ser justificado pela inexperiência desses animais em competições, ao menor tempo de treinamento e às causas da desclassificação (CHICHARRO; VAQUERO, 1998; COVALESKY et al., 1992; NOGUEIRA; BARNABE 1997; SIGHIERI et al., 1996; SNOW; MACKENZIE, 1977).

O alto nível de cortisol nos animais do grupo 3 teve a função de limitar as respostas adaptativas ao estresse, impedindo que elas se tornassem deletérias ao organismo (AIRES, 1999). Já os menores níveis de cortisol nos animais do grupo 1 pode ser justificado pela exposição repetitiva desses animais a fatores estressantes, que pode resultar em adaptação ou habituação, uma resposta que permite que o organismo lide melhor com essas situações (CHICHARRO; VAQUERO, 1998; VELLUCI, 1997).

Os animais do grupo 2 também tiveram um nível de cortisol maior que os do grupo 1, que também pode ser explicado pela menor tempo de experiência e treinamento. Apesar de esses animais terem percorrido menores distâncias (Quadro 2), apresentaram uma tendência a maiores valores de cortisol, em comparação aos animas do grupo 1, concordando com Sighieri et al. (1996), de que além da intensidade e duração do exercício deve-se levar em consideração o estágio de treinamento do animal.

Foi realizado o teste de correlação linear de Pearson para relacionar a distância percorrida e os níveis de cortisol pós-exercício com todos os grupos (ρ=-0,269), porém sem valor de significância (p=0,158) (figura 2). Excluindo-se o grupo 3 desse teste, a correlação foi significante (p=0,045), obtendo-se um valor de correlação linear negativa (ρ=-0,465) (figura 3). Ou seja, quanto mais preparado o animal para participação em provas de enduro, menor o nível de cortisol. 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.

**CONCLUSÕES**

Conclui-se que o exercício de longa duração e média intensidade leva a um aumento do cortisol plasmático; que os animais que percorreram maiores distâncias, os supostamente mais adaptados, tiveram um aumento menor do cortisol; que os animais desqualificados por causa metabólica, que passaram por situações de extremo esforço físico, tendem a valores de cortisol mais elevados e que os 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. p. 830-835, 1999.

CHICHARRO, J.L.; VAQUERO A.F. **Fisiologia del ejercicio**. 2 ed. Madri: Panamericana. p. 31-46, 234-236, 1998.

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.

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. 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. p. 343-344, 2002.

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. Cortisolo 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 Imune System**, London: Wiley. p. 64-65, 1997.

**Tabela 1 -** Comparação dos valores médios de cortisol plasmático (µg/dL) entre os diferentes grupos e momentos

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **T0** | **T1** | **T2** | **P(t)** |
| **G1** | 3,461Aa | 12,38Bc | 9,04Be | 0,006 |
| **G2** | 7,841Cb | 18,69Dcd | 12,56Cef | 0 |
| **G3** | 8,02Eb | 24,4Ed | 17,23Ef | 0,064 |
| **P(g)** | 0,009 | 0,04 | 0,056 |  |

P(g): nível de significância no grupo. P(t): nível de significância no tempo. Caracteres maiúsculos indicam comparação entre os tempos e caracteres minúsculos entre os grupos. Caracteres diferentes indicam diferença estatística significante (P<0,05).

**Figura 1 -** Representação gráfica dos valores médios de cortisol plasmático (µg/dL) nos diferentes grupos e momentos dos equinos participantes de provas de enduro

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

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Grupo** | **N** | **Média** | **Mediana** | **Erro padrão** | **Mínimo** | **Máximo** |
|  |  | **(km)** | **(km)** | **da média** | **(km)** | **(km)** |
| 1 | 9 | 130,56a | 123 | 7,83 | 101 | 160 |
| 2 | 10 | 71,1b | 65,5 | 3,75 | 60 | 88 |
| 3 | 10 | 57b | 50.5 | 7,49 | 28 | 100 |

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