Atividade sérica de enzimas musculares Ast, Ldh e Ck em equinos submetidos a diferentes tipos de esforço físico na região de Imperatriz-Ma.

Fernando Loiola Nunes¹, Manoel de Oliveira Dantas², Ingrid Karoline Alves de Queiroz³, Lôrrana Cortêz da Silva³, Luanna Cortêz da Silva³, Felipe Sousa e Sousa³, Murilo Barros Alves⁴

¹Acadêmico de Medicina Veterinária bolsista BIC – FAPEMA.

²Prof. Orientador pesquisador da FAPEMA-UEMA

³Acadêmicos de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA.

⁴Prof. MsC Estatística Experimental da UEMA.

*Autor para correspondência, E-mail: cardioequino@hotmail.com

RESUMO. Objetivou-se avaliar os níveis de AST, CK e LDH em equinos da região de Imperatriz – MA, submetidos a esforços físicos sendo quarenta e três animais (oito fêmeas e trinta e cinco machos), divididos em seis grupos. Recolheu-se 9 mL de sangue prévia desinfecção da veia jugular e por punção colheu-se em tubos de vacutainer amostras que foram imediatamente centrifugadas a 3000 rpm e o soro obtido armazenado em refrigeração até sua análise. Através de espectrofotômetro com comprimento de ondas de 340nm, determinou-se as enzimas Aspartato amino transferase (AST), Creatinoquinase (CK) e Lactato desidrogenase (LDH), com kits comerciais que eram preparados seguindo a metodologia do kit. A análise de variância e teste de média entre os grupos estudados não revelou variação entre os sexos ($P < 0,05$). Quanto ao fator idade os animais jovens os valores foram mais elevados. O grupo de animais do projeto Equoterapia apresentou valor médio mais elevado e significância entre os grupos estudados para a enzima LDH (média de $605,00 \text{ U/L} \pm 143,28 \text{ U/L}$ com valor de ($p < 0,01$) não revelando elevação da atividade das enzimas AST e CK.

Palavras chave: Aspartato Amino Transferase (AST), Creatinoquinase (CK), Lactato Desidrogenase (LDH), bioquímica sérica, enzimas musculares.

Activity evaluation of serum Astenzymes muscle, Ldhand Ck subject to horses in different types of physical effort in the region of Imperatriz –MA

ABSTRACT. The objective was to assess the levels of aspartate aminotransferase AST, Creatine Kinase CK and Lactate dehydrogenase LDH in equine region of Imperatriz – MA, being subjected to physical strain 43 animals 08 females and 35 males, divided into 06 groups. 9ml was collected blood prior disinfection jugular vein and collected by puncture into tubes vacutainer samples were immediately centrifuged at 3000 rpm in the under refrigeration until analysis. By means of a spectrophotometer at wavelength of 340nm, it was determined the enzymes aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) with commercial kits which were prepared following the methodology of kit. The analysis of variance and mean test between groups showed no variation between sexes ($P < 0.05$). As for the age factor in the young animals the values were higher. The group of animals of the project presented Hippotherapy highest average value and significance between groups for the enzyme LDH (mean $605.00 \text{ U/L} \pm 143.28 \text{ U/L}$ -valued ($p < 0.01$) elevation of not revealing activity of AST and CK.

Keywords: Aspartate Aminotransferase (AST), Creatine Kinase (CK) and Lactate dehydrogenase (LDH), muscle enzymes, serum biochemistry

Introdução

A utilização crescente de equino em várias atividades que envolvem desde o trabalho no

campo, esporte e lazer, tem propiciado o desenvolvimento da equinocultura e uma maior valorização destes animais. O desempenho do

animal é um reflexo de fatores genéticos, estágio de vida, nutrição, bem como de um programa de treinamento eficaz e adaptado às características fisiológicas do animal. Os sinais clínicos presentes nas alterações musculares que acometem os equinos são semelhantes e bastante inespecíficos. Neste sentido a hematologia e a bioquímica sanguínea podem ser utilizadas visando avaliar possíveis alterações patológicas que porventura possam afetar o desempenho e a saúde do animal (Thomassian, 1984).

As enzimas musculares mais utilizadas para um acompanhamento do nível de alteração que o exercício provoca no animal são aspartato aminotransferase (AST), creatinoquinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH). Tais enzimas possuem um mecanismo de ação complexo e seus valores de referência diferem de acordo com os autores citados, tendo em vista a importância das referidas enzimas aonde neste trabalho buscou-se identificar os níveis de AST, CK e LDH em equinos da região de Imperatriz – Ma submetidos a diferentes tipos de esforço físico e comparar os valores encontrados entre os grupos estudados (Thomassian et al., 2007).

Enzimologia

A automação dos testes enzimáticos, e a popularidade dos perfis bioquímicos séricos em medicina veterinária e sua utilização em um grande número de animais, tem permitido estudos retrospectivos, tendo em vista a avaliação crítica da eficiência diagnóstica de tais ensaios. Enzimas celulares normalmente apresentam baixos teores séricos que aumentam quando são liberadas a partir de tecidos lesados por alguma doença. Isso permite inferir a localização e a natureza das variações patológicas em alguns órgãos, tais como: fígado, pâncreas e miocárdio. A elevação da atividade sérica depende do conteúdo de enzimas do tecido envolvido, da extensão e do tipo de necrose registrada (Thomassian, 1984).

A utilidade diagnóstica da medida das enzimas plasmáticas reside no fato que as alterações em suas atividades fornecem indicadores sensíveis de lesão ou extensão do dano celular. Em alguns casos, tais modificações auxiliam a detectar a localização da lesão tecidual, progresso da doença e monitoramento do tratamento (Thomassian, 1984). As pesquisas laboratoriais das enzimas do metabolismo das células musculares, como AST, CK e LDH possam revelá-las aumentadas no soro sanguíneo,

sendo de grande importância para a confirmação do diagnóstico, e no acompanhamento da evolução clínica durante o tratamento de enfermidades como miosites, doença do músculo branco e azotúria (Thomassian et al., 2007).

Aspartato aminotransferase (AST)

A enzima Aspartato aminotransferase (AST), antes denominada transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), existe em maior concentração nos hepatócitos e nas células dos músculos esqueléticos cardíacos. Ela é encontrada tanto no citoplasma quanto nas organelas dessas células (Da Cás et al., 2011).

As atividades mais elevadas de AST encontram-se no miocárdio, fígado, músculos esqueléticos, com pequenas quantidades nos rins, pâncreas, baço, cérebro, pulmões e eritrócitos. É, portanto não específica para o tecido muscular (Thomassian, 1984).

Aumentos da AST está relacionado a doenças hepatobiliares, infarto do miocárdio, distrofia muscular progressiva, dermatomiosite, embolia pulmonar, pancreatite aguda e insuficiência cardíaca congestiva. A AST apresenta pequenos aumentos na gangrena, esmagamento muscular edistrofia muscular progressiva (Duncan et al., 1982).

O treinamento físico provoca aumento de atividade das aminotransferases de até 30% em comparação com animais não treinados (Bush, 2004). Os aumentos nos níveis de AST superiores a 100% pós-exercício devem ser considerados anormais independentemente do grau de treinamento do animal ou da intensidade do exercício (Da Cás et al., 2011).

Os níveis séricos de AST possuem valor diagnóstico por apresentar uma meia vida maior que a desidrogenase, sorbitol e a creatina quinase, e é estável por dias no soro em temperatura ambiente, refrigerado ou mesmo congelado (Duncan et al., 1982). A concentração sérica de AST apresenta seu pico após 24 horas e pode se manter elevada por cinco dias ou até algumas semanas (Falaschini & Trombetta, 2001). Robinson, 2003 trabalhando com equinos puro sangue Inglês estabelece os valores de referência para AST entre 141-330 U/L.

Creatinoquinase (CK)

A enzima creatinoquinase (CK) catalisa a fosforilação da adenosinadifosfato (ADP) do

fosfato de creatina, tornando o adenosina trifosfato (ATP) disponível para a contração muscular. A CK está associada com a geração de ATP nos sistemas contráteis ou de transporte. A função fisiológica predominante da enzima ocorre nas células musculares, onde esta envolvida no armazenamento de creatina fosfato (composto rico em energia, Motta, 2003).

Considera-se, portanto, que a creatinoquinase seja uma enzima de extravasamento específica de músculo. Embora exista CK no cérebro e nos nervos, não se verifica aumento da atividade no soro após lesão no sistema nervoso central, (Thrall, 2007) uma vez que, a mesma não consegue transpor-se a barreira hematoencefálica.

Existem duas subunidades distintas de CK, referido como o M (músculo) e B (cérebro) subunidades. Estes combinam aleatoriamente para formar três isoenzimas de CK: CK-MM, CK-BB e CK-MB. Duncan et al. (1982) afirmando ainda que, embora a análise das isoenzimas de CK seja de grande importância na medicina humana como indicador de infarto do miocárdio, a aplicação destas em medicina veterinária ainda necessita de mais estudos.

A magnitude do aumento de CK depende da intensidade do exercício, da duração e é influenciado primariamente pelo condicionamento físico do animal, pela idade, sexo e dieta (Gonzalez & Silva, 2003).

Supõe-se que o aumento fisiológico na atividade da CK após exercício se deva a alterações na permeabilidade da membrana celular, possivelmente causada por hipóxia, embora seja provável que haja outros fatores envolvidos. O pico de concentração sérica da CK se dá de 4 a 6 horas após a lesão, e os valores podem voltar ao normal com 24 até 96 horas depois de cessar a alteração de permeabilidade muscular (Falaschini & Troombetta, 2001). Taxas altas de CK sérica indicam doença muscular ativa ou de ocorrência recente e valores altos persistentes indicam continuidade da doença (Harris et al., 2011).

Os valores de referência para enzima CK são de 2-147 UI/l para equinos da raça Puro Sangue Inglês (PSI) e 18-217 UI/l para equinos de trote (Fayolle et al., 1992). Em todas as espécies, CK tem a vantagem sobre o soro de aspartato aminotransferase por ser específica para lesão muscular e não é afetado por uma lesão hepatocelular. A meia-vida curta da enzima pode

reduzir a sensibilidade diagnóstica do teste, mas também oferece um meio eficaz de monitoramento da resposta à terapia utilizada (Duncan et al., 1982).

Lactato desidrogenase (LDH)

Esta enzima compreende cinco isoenzimas, cada qual ocorrendo em grande variedade de tecidos, especialmente musculatura esquelética, cardíaca, fígado e hemácias, bem como nos rins, pâncreas, ossos e pulmões. LD1 é também conhecida como hidroxibutirato desidrogenase (HBD ou HBDH, Kaneko et al., 2008). A ocorrência de lesão na maioria dos tecidos resulta em extravasamento de LDH no espaço extracelular e no sangue; portanto a LDH é uma enzima altamente inespecífica (Benesi, 2006). Todavia, Harris et al. (2011) afirmam que o aumento da sua atividade sérica esta associado principalmente às lesões de musculatura esquelética, cardíaca e fígado.

A atividade máxima dessa enzima no soro é atingida em 48 a 72 horas e volta a valores normais mais lentamente que a AST e a CK após o término da lesão tecidual (Harris et al., 2011).

A enzima LDH possui alta sensibilidade, o que resulta em diminuição da especificidade e dos limites de precisão do diagnóstico de sua atividade no soro. Embora as isoenzimas possam ser utilizadas para melhorar a especificidade do teste, estes são relativamente demorados, caros, e ainda fornecem uma avaliação subjetiva da contribuição de cada órgão para a atividade sérica total, esse teste não oferece uma melhoria substancial em relação aos ensaios com outras enzimas, tais como alanina aminotransferase ou creatina quinase (Duncan et al., 1982).

As observações de Thomassian et al. (2007), revelam que casos elevados da atividade sérica das enzimas CK e AST esta associada à ausência de sinais físicos de miopatia não excluindo mesmo assim a existência da enfermidade (Lumsden et al., 1980). Embora o exercício possa resultar em alterações estatisticamente significativas na atividade de CK e da AST, essas alterações nem sempre podem ser de significância biológica ou clínica, sendo necessário realizar-se uma boa anamnese, bem como um exame clínico criterioso, no sentido de correlacionar alterações enzimáticas encontradas com afecções musculares presentes (Lumsden et al., 1980). O aumento dessas enzimas está relacionado ainda com a intensidade e

continuidade do exercício (Manual Merck de Veterinária, 2008).

O exercício prolongado em cavalos que participam de provas de enduro pode condicionar um aumento do estresse oxidativo resultando em lesão e fadiga muscular bem como diminuição do desempenho físico do mesmo. Em outro estudo Motta (2003) comprovou que as diferenças nos níveis de CK e AST ocorrem por influência da evolução do treinamento (distância e velocidade) e aptidão física não sofrendo influência da dieta fornecida ao animal. As enzimas musculares desidrogenase láctica (LDH), Aspartato amino transferase (AST) e creatinoquinase (CK) são usadas como índices de lesão muscular quando os equinos são submetidos ao exercício muscular intenso (Duncan et al., 1982).

A atividade das enzimas séricas AST, CK e LDH foram confirmadas com as observações de Da Cás et al. (2011) que utilizando 60 amostras de soro de animais da raça Crioula, pode comprovar que as enzimas AST e CK são mais importantes na atividade muscular intensa do que a LDH como indicativa da função muscular. A enzima LDH, embora menos específica que a AST e CK, tem a sua concentração elevada nas lesões musculares e que aumentos de maior magnitude de LDH são observados em equinos, durante prova de enduro e mostram que a duração e intensidade são importantes para determinar o aumento desta enzima durante o exercício.

Tadich et al. (2000) enfatiza que, a análise da AST em conjunto com a CK pode oferecer informações mais consistentes sobre o período em que se encontra a lesão. CK aumentada com baixa AST indica lesão recente, níveis

persistentemente altos indicam lesão continuada, enquanto que níveis baixos de CK e altos de AST indicam processo de recuperação de lesões musculares (Murakami & Takagi, 1974).

Material e Métodos

Descrição dos animais

Foram utilizados 43 animais com idades de 04 a quatorze anos, provenientes da Cavalaria da Polícia Militar, Haras com animais submetidos a provas de laço, projeto Equoterapia, animais de lida a campo, cavalos utilizados para tração animal dentro do perímetro urbano da cidade e animais sem atividades físicas. As atividades físicas envolviam desde um simples caminhar, puxar carroça, corrida, patrulhamento e combate a criminalidade, tendo dessa forma acesso aos mais difíceis locais e pistas equestres.

Manejo alimentar

O manejo alimentar foi definido pelos proprietários, que disponibilizavam em sua totalidade pasto, sal mineral e concentrado dos mais variados tipos. O fornecimento de água aos animais era feito *ad libitum*, na maioria dos casos excetuando-se os grupos dos animais de tração, onde o fornecimento de água era feito *ad libitum* na parte da noite e 2 a 3 vezes durante o dia entre os intervalos no trabalho.

Formação dos grupos

Os animais foram distribuídos em seis grupos (tabela 1) conforme atividade física realizada diariamente. Utilizou-se o número disponível de animais em cada grupo de acordo com as atividades realizadas e disponibilidade dos proprietários.

Tabela 1. Demonstrativo dos grupos trabalhados, quantidade de animais examinados, local e atividades desenvolvidas.

Grupos	Quantidade (animais)	Local	Atividade
I	10	Esquadrão de cavalaria da Polícia Militar	Passo e trote
II	08		Prova de laço
III	06	Projeto Equoterapia	Passo
IV	08		Tração animal
V	06	Fazendas	Lida no campo
VI	05	Haras	Sem atividade física

Protocolado com o número 029/2012-CEEA/CMV/UEMA.

Coleta de sangue e obtenção do soro sanguíneo

Realizou-se uma única coleta de sangue de cada animal, com prévio jejum alimentar de 12 horas e por venopunção na veia jugular

previamente desinfetada, sendo recolhido 9,0 mL de sangue total, utilizando-se agulhas 40x9mm e condicionado em tubos sem anticoagulante que eram imediatamente centrifugados no local de

coleta em macro centrífuga a 3.000 rpm. durante 10 min até retração do coágulo (Figuras 1 e 2). O soro obtido era transferido para tubets de 1,5 ml sendo o material conduzido em caixa térmica ao laboratório multidisciplinar de biologia animal,

Figura 1: Coleta de sangue.

da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA onde eram realizadas as análises bioquímicas de AST, CK e LDH, mediante espectrofotômetro Fenton (Figura 4).

Figura 2. Soragem das amostras.

Procedimentos laboratoriais

A determinação das análises de AST, CK e LDH foram realizadas utilizando-se reagentes específicos (Figura 3), seguindo rigorosamente as

instruções dos laboratórios e contidas nos mesmos, as leituras eram realizadas por meio de espectofotometria, com leitura óptica de 340nm (Figura 3).

Figura 3. Espectofotômetro Fento e reagentes Labtest -Fonte : Autor

Tratamento dos dados

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado adotando-se aos parâmetros séricos análise multifatorial e em seguida aplicando-se aos dados análise de variância e comparação pelo teste “F”, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey. Foram consideradas significativas as diferenças cuja probabilidade de erro α fosse menor do que ($P < 0,05$).

Resultados e Discussões

Observando-se a tabela 2, os valores médios de AST dos equinos estudados foram de 159,77 U/l para os machos e 162,4 U/l para as fêmeas,

com desvio padrão de 51,0 U/l e 37,8 U/l, respectivamente e valor de $F = 0,019^{**}$. Tais valores estão de acordo com as médias encontradas por Rose & Hodgson (1994); Raddostits (2002); Mullen et al. (1979) e Lumsden et al. (1980) em cavalos Puro Sangue Inglês (PSI). Toledo (2001), Thomassian et al. (2007) e Ribeiro et al. (2004) descrevem valores maiores em seus trabalhos. Para Ribeiro et al. (2004) que avaliaram os constituintes séricos em equinos e muare submetidos à prova de resistência de 76 km, no Pantanal do Mato Grosso descrevem que as lesões musculares ocasionadas durante o percurso desta prova são

provavelmente a causa dos valores mais elevados encontrados.

As concentrações séricas médias de CK (217,1 U/l para os machos e 234,3 U/l para as fêmeas) registradas nesse experimento estão de acordo com os valores citados por Rose & Hodgson (1994) e Thomassian et al. (2007) quando analisaram cavalos PSI. Todavia, tais valores estão acima daqueles citados por Ribeiro et al. (2004); Toledo et al. (2001) e Meyer et al. (1995) nos cavalos Árabes. Já Lumsden et al. (1980) quando analisaram cavalos PSI descreveram valores de $38,7 \pm 40$ U/l, que estão abaixo dos relatados neste trabalho.

Analisando o LDH registraram-se valores médios de 316,2 U/l para os machos e 358,7 U/l para as fêmeas, o que está dentro dos valores de referência citados por Manual Merck de Veterinária, (2008). Tais valores estão bem acima daqueles citados por Lumsden et al. (1980) e Toledo, 2001) que trabalharam com equinos PSI.

A tabela 2 confirma que não houve diferença significativa entre sexo, que pode ser justificada pelo fato de ter sofrido influência da disparidade entre a quantidade de machos e fêmeas

estudados, sendo neste trabalho a quantidade de machos superior ao de fêmeas.

O grupo dos animais jovens possui os maiores valores para AST, como demonstrado pelas médias da Tabela 3 e pelo teste de Tukey (Tabela 4), entre todos os grupos analisados o que está em conformidade com (Benesi, 2006), onde demonstram que animais jovens possuem valores séricos variáveis, para as enzimas AST, CK e LDH até os dois anos de idade e que os valores de referência de animais adultos não devem ser utilizados para animais abaixo dessa faixa etária, (Mac Leay, 2000). As enzimas CK e LDH deste grupo também se encontram acima da média registrada nesse trabalho (Tabela 3) e seus valores possuem significância com os grupos equoterapia, tração, laço e lida a campo, o que denota a necessidade de mais pesquisas nesta área, a fim de determinar valores séricos de referência para diferentes faixas etárias de animais jovens. Deste modo, o clínico pode basear melhor sua interpretação dos resultados, não atribuindo falsas alterações baseadas em valores não condizentes com a realidade do animal jovem.

Tabela 2. Média geral, desvio padrão, valor mínimo, valor máximo e ANOVA das enzimas séricas AST, CK e LDH em relação ao sexo, de equinos da cidade de Imperatriz – MA. Equoterapia, tração, laço, lida a campo, animal jovem e CPM.

		Nº Animais	Média	Valor Mínimo	Valor Máximo	Soma Quadrados	F
AST	Macho	35	159,77	89,92	334,82	44,76	0,019**
	Fêmea	8	162,37	96,90	229,60	106368,48	
	Total	43	160,23	89,92	334,82	106413,24	
CK	Macho	35	217,13	34,74	644,06	1936,55	0,171
	Fêmea	8	234,29	146,97	365,55	486922,05	
	Total	43	220,18	34,74	644,06	488858,60	
LDH	Macho	35	316,22	145,71	805,00	11931,45	0,548
	Fêmea	8	358,71	186,18	522,13	957372,23	
	Total	43	323,61	145,71	805,00	969303,68	

** P < 1% (0,01)

O grupo de animais do Programa Equoterapia apresentou valor médio mais elevado e significância com todos os demais grupos estudados na enzima LDH (Tabela 3 e 4), porém, com níveis normais para AST e CK. Neste sentido, os valores mais elevados da LDH podem estar relacionados ao grupo de animais utilizados e suas respectivas características que podem interferir na atividade das enzimas musculares devido à falta de atividades do grupo estudado.

Por outra visão, o LDH mensurado refere-se à soma de cinco isoenzimas localizadas no fígado, nos músculos, eritrócitos, células intestinais e tecido renal, sendo que alterações em quaisquer destes tecidos podem ter influenciado os níveis séricos elevados. Alia-se a isso a afirmação de (Oosterbaan, 1998) onde relata que estados não patológicos também podem causar elevações na atividade LDH e de AST, assim como os métodos de coleta das amostras, método de

processamento e equipamento utilizado para a determinação da atividade enzimática.

O grupo de animais do Comando da Polícia Militar (CPM) apresentou valores acima da média nas três enzimas estudadas (Tabela 3). Tal fato pode ter sofrido influência de lesões em decorrência do trabalho realizado por estes animais no policiamento da exposição agropecuária da cidade de Imperatriz-Ma, ocorrida antes da coleta das amostras.

A enzima CK, além de mensurar a atividade muscular, possui isoenzimas localizadas em musculatura esquelética, cardíaca e lisa, que pode estar aumentada em animais com dietas ricas em concentrado em comparação a animais que se alimentam com dietas de outro tipo (Lumsden et al., 1980). O grupo dos carroceiros que habitualmente tem uma dieta desbalanceada devido a custo financeiro abusa do excesso de milho e farelo de soja, ao passo que os cavalos de lida a campo e da equoterapia que possuem dietas a base de forragem, sal mineral e ração mais balanceada, demonstram, portanto valores séricos menores. Outra hipótese para a elevação nos

referidos grupos é que alguns equinos podem ter altas atividades enzimáticas fisiológicas da CK, ou que suas enzimas são removidas mais lentamente da circulação, ou até mesmo, alguns animais apresentaram maior sensibilidade quanto à permeabilidade da membrana da célula muscular frente a estímulo semelhante a outros animais (Da Cás et al., 2011).

Em estudos de metabolismo (Siliciamo et al., 1995) registraram que o treinamento diário diminui os efeitos provocados pelo exercício, incluindo a elevação das concentrações séricas das enzimas CK e AST. Tal observação confirma os resultados encontrados no grupo Laço, onde todos os parâmetros analisados estão dentro da faixa fisiológica para a espécie. Tais animais eram utilizados quatro vezes por semana durante duas horas, com prévio aquecimento e exigidas suas características de explosão muscular e velocidade. O treinamento torna as membranas celulares menos sensíveis às agressões promovidas durante o exercício ou reduz os malefícios produzidos no meio extracelular que são prejudiciais às membranas, (Robinson, 2003).

Tabela 3. Média, desvio padrão, valor mínimo máximo e ANOVA das enzimas séricas AST, CK e LDH entre os diferentes grupos estudados, de equinos da cidade de Imperatriz – MA. Equoterapia, tração, laço, vaquejada, lida a campo, animal jovem (sem atividade) e CPM.

		Nº de Animais	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Soma dos Quadrados	F
AST	Equoterapia	6	132,35	26,53	92,54	169,36	40198,4	4,652**
	Tração	8	135,56	28,50	96,90	169,36		
	Laço	8	154,30	13,71	131,82	167,62		
	Lida a campo	6	123,72	30,05	89,92	165,27	56164,51	
	Animal jovem	5	233,88	80,68	130,08	334,82	106413,24	
	Com	10	180,10	39,30	132,70	236,58		
	Total	43	160,23	48,63	89,92	334,82		
CK	Equoterapia	6	138,85	84,53	34,74	268,00	161274,01	4,850*
	Tração	8	251,02	74,26	156,78	365,55		
	Laço	8	164,03	60,38	55,49	235,65		
	Lida a campo	6	160,05	62,99	100,50	256,83	105862,60	
	Animal jovem	5	270,14	59,56	223,33	371,74	488858,596	
	Com	10	291,21	144,91	146,97	644,06		
	Total	43	220,18	105,41	34,74	644,06		
LDH	Equoterapia	6	605,00	143,28	420,00	805,00	645588,797	11572,4**
	Tração	8	273,49	44,75	186,18	323,80		
	Laço	8	236,27	64,90	145,71	331,89		
	Lida a campo	6	211,28	48,80	153,80	275,23	273556,805	
	Animal jovem	5	292,43	71,75	214,52	409,80	969303,684	
	Com	10	377,63	101,65	242,85	522,13		
	Total	43	323,61	146,76	145,71	805,00		

**P < 1% (0,01); *P < 5% (0,05).

Tabela 4. Teste de Tukey, para comparação das médias das enzimas séricas de AST e LDH entre as diferentes atividades desenvolvidas pelos animais estudados.

Enzima	(I) Atividade	(J) Atividade	Diferença Média (I-J)	Margem de Erro	Sig.
AST	Animal Jovem	Equoterapia	101,53167*	22,97917	,001**
		Tração	98,31875*	21,63418	,001**
		Laço	79,57875*	21,63418	,012*
		Lida A Campo	110,15833*	22,97917	,000**
		Com	53,78000	20,78544	,158
LDH	Equoterapia	Tração	331,51125*	45,23086	,000**
		Laço	368,72750*	45,23086	,000**
		Lida A Campo	393,72167*	48,35382	,000**
		Animal Jovem	312,57200*	50,71392	,000**
		Com	227,36900*	43,24898	,000**
	Com	Equoterapia	-227,36900*	43,24898	,000**
		Tração	104,14225	39,72672	,147
		Laço	141,35850*	39,72672	,016*
		Lida a campo	166,35267*	43,24898	,007*
		Animal Jovem	85,20300	45,87247	,519

** P < 1% (0,01); * P < 5% (0,05)

Conclusão

Com base na metodologia adotada e grau de treinamento utilizado pelos animais, se pode concluir que:

O fator sexo não revelou influência sobre a atividade sérica das enzimas AST, CK e LDH;

O grupo dos animais jovens (abaixo de dois anos e meio de idade) demonstrou valores mais elevados para as enzimas estudadas;

O grupo dos animais da Equoterapia apresentou valor médio mais elevado e significância com todos os demais grupos estudados na enzima LDH, que provavelmente sejam explicados pela pouca atividade física e alto grau de confinamento vivido sem elevação da atividade de AST e CK, confirmando a inespecificidade desta enzima frente ao AST e a CK, para avaliação de lesões musculares;

O grupo dos animais da CPM apresentou valores médios acima da média nas três enzimas estudadas, que pode esta relacionada a lesões em

decorrência do trabalho realizado por estes animais durante uma semana na exposição agropecuária da cidade de Imperatriz – Ma;

Animais submetidos a um programa de treinamento adequado, que se ajusta ao condicionamento físico dos mesmos, não ocasionam elevações nas concentrações séricas das enzimas AST, CK e LDH, como demonstrado pelo grupo Laço;

Sugerimos novas e maiores pesquisas para a determinação de valores de referência para às diferentes faixas etárias.

Referências Bibliográficas

- Benesi, F. J., Rodrigues, M. N. S., Howard, D. L., Noronha, T. A., Souza, P. M., Leal, M. L. R., Mirandola, R. M. S. & Fernandes, W. R. 2006. Influência do sexo e da idade nos valores séricos das bilirrubinas, AST e GGT de cavalos da raça Mangalarga. *ARS Veterinaria*, Jaboticabal, SP, 22, 103-111.

- Bush, B. M. 2004. *Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais*/ B. M. Bush; [tradução Angela Bacic de Araújo e Silva Rego, Samantha Ive Myashiro, Leonardo Pinto Brandão] – São Paulo: Roca.
- Da Cás, E. L., Rosauero, A. C., Silva, C. A. M. & Brass, K. E. 2000. Concentração sérica das enzimas creatinoquinase, aspartato aminotransferase e dehidrogenase láctica em equinos da raça Crioula. *Ciência Rural*, 30, 625-629.
- Duncan, R. J. E & Prasse, K. W. 1982. *Patologia clínica veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 85-88.
- Falaschini, A. & Trombetta, M. F. 2001. Modifications induced by training and diet in some exercise-related blood parameters in young trotters. *Journal of Equine Veterinary Science*, 21, 601-4.
- Fayolle, P.; Lefebvre, H. & Braun, J. P. 1992. Effects of incorrect venepuncture on plasma creatine Kinase activity in dogs and horses. *Brazilian Veterinary Journal*, 148, 161-162.
- González, F. H. D. & Silva, S. C. 2003. *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 198p.
- Harris, P. A.; Marlin, D. J. & Gray, Y. J. 1998. Plasma aspartate aminotransferase and creatine kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. *The Veterinary Journal*, 155, 295-304.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W. & Bruss, M. L. 2008. *Clinical Biochemistry of domestic animals*. 6ed. Elsevier.
- Lumsden, J. H.; Rowe, R. & Mullen, K. 1980. Hematology and biochemistry reference values for the light horse. *Canadian Journal Compendium Medical*, 44, 32-42.
- Macleay, J. M., Valberg, S. J., Pagan, J. D., Xue, J. L., De La Corte F. D. & Roberts F. 2000. Effect Of Ration And Exercise On Plasma Creatine Kinase activity and lactate concentration in Thoroughbred horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. *American Journal of Veterinary Research*, 61, 1390-1395.
- Cynthia M. Kahn. 2008. *Manual Merck de Veterinária*. 9 ed. São Paulo: Roca.
- Meyer, D. J., Coles, E. H. & Rich, L. J. 1995. Exames Laboratoriais e Enzimologia Clínica. In: *Medicina de laboratório veterinária*. São Paulo: Roca, p. 9.
- Motta, V. T. 2003. *Bioquímica clínica para o laboratório*. 4. ed. São Paulo: Robe, 419p.
- Mullen, P. A.; Hopes, R. & Sewell, J. 1979. The biochemistry, hematology, nutrition and racing performance of two-year-old Thorough breeds throughout their training and racing season. *Veterinary Record*, 3: 90-5.
- Mirakami, M. & TAakagi, S. 1974. Effects of continuous long distance running exercise on plasma enzyme levels in horses. *Experimental Reports of Equine Health Laboratory*, 11, 106-118.
- O-Oosterbaan, S. V. 1998. Appropriate blood variables helpful in diagnosing (sub)clinical disease in the horse. In: Lindner, A. *Conference on Equine Sports Medicine and Science* – Cordoba - Spain. WageningenPers: Wageningen, 14-3.
- Radostits, O. M. et al. 2002. *Clínica veterinária: um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1649p.
- Ribeiro, C. R.; Martins, E. A. N.; Ribas, J. A. S. & Germinaro, A. 2004. Avaliação de constituintes séricos em equinos e muarees submetidos à prova de resistência de 76km, no Pantanal do Mato Grosso, Brasil. *Ciência Rural, Santa Maria*, 34, 1081-1086.
- Robinson, E. N. 2003. *Current therapy in equine medicine*. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 960p.
- Rose, R. J. & Hodgson, D. R. 1994. An overview of performance and sport medicine. In: Hodgson, D. R. & Rose, R. J. *The athletic horse*. Philadelphia: W. B. Saunders, 5-11.
- Siciliano, P. D.; Lawrence, L. M.; Danielsen, K.; Powell, D. M. & Thompson, K. N. 1995. Effect of conditioning and exercise type on serum creatine kinase and aspartate aminotransferase activity. *Equine Veterinary Journal*, 18, 243-7.
- Tadich, N.; Gallo, C. & Alvarado, M. 2000. Efectos de 36 horas de transporte terrestre com y sin descanso sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés em bovinos.

- Arquivos de Medicina Veterinária*, 32, 171-183.
- Thrall, M. 2007. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 1 ed. Roca: São Paulo, p. 391-393.
- Thomassian, A. 1984. *Enfermidades dos cavalos*. Botucatu, J. M. Varela.
- Thomassian, A.; Carvalho, F.; Watanabe, M. J.; Silveira, V. F.; Alves, A. L. G.; Hussni, C. A. & Nicoletti, J. L. D. 2007. Atividades séricas da Aspartato amino transferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 44, 183-190.
- Toledo, P. S. et al. 2001. Atividade sérica de Aspartato amino transferase, creatina quinase, gama-glutamyltransferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça P.S.I. submetidos a exercícios de diferentes intensidades. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 8, 73-77.
- Recebido em Julho 22, 2015*
Aceito em Setembro 14, 2015
- License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited