

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL DO ESTRESSE OXIDATIVO E  
ELETROCARDIOGRAFIA DE CADELAS SUBMETIDAS A EXERCÍCIO**

**AMANDA POLIZEL**

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL DO ESTRESSE OXIDATIVO E  
ELETROCARDIOGRAFIA DE CADELAS SUBMETIDAS A EXERCÍCIO**

**AMANDA POLIZEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Fisiopatologia Animal

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cecília Braga Laposy

636.089 Polizel, Amanda.  
P769a Avaliação laboratorial do estresse oxidativo e eletrocardiografia de cadelas submetidas a exercício / Amanda Polizel. - Presidente Prudente, 2011.  
39f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE: Presidente Prudente – SP, 2011.  
Bibliografia.

1. Cães – Exercícios físicos. 2. Atividade enzimática. 3. Eletrocardiograma. I. Título

**AMANDA POLIZEL**

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL DO ESTRESSE OXIDATIVO E  
ELETROCARDIOGRAFIA DE CADELAS SUBMETIDAS A EXERCÍCIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Presidente Prudente, 01 de agosto de 2011

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cecília Braga Laposy  
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE  
Presidente Prudente - SP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Regina Stipp Balarin  
Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Londrina - PR

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Melchert  
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE  
Presidente Prudente - SP

## **AGRADECIMENTOS**

*Primeiramente à DEUS, que foi meu maior porto seguro. Com a ajuda Dele eu tive forças para chegar ao final dessa pequena jornada.*

*À minha Orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cecília Braga Laposy. Nunca tendo pena em dividir o conhecimento que tem, se preocupando até com pequenos problemas pessoais pelos quais passei durante esse período de trabalho. Obrigada por contribuir com tantos ensinamentos, tanto conhecimento, tantas palavras de força e ajuda. Carrego tudo isso comigo juntamente com seu exemplo de profissionalismo. Espero um dia conseguir chegar ao seu nível.*

*À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Melchert que participou desta minha jornada, não só como professora mas muitas vezes como amiga. E a todos os mestres que de alguma forma contribuíram para que este dia fosse possível.*

*Aos meus pais Nivaldo Polizel, Maria de Fátima B. Polizel e minha irmã Aline Polizel de Oliveira. Que serão responsáveis por cada sucesso obtido e cada degrau avançado pro resto da minha vida. Durante todos esses anos vocês foram pra mim um grande exemplo de força, de coragem, perseverança e energia infinita para nunca desistir diante do primeiro obstáculo encontrado. Vocês são e sempre serão meu maior porto seguro aqui embaixo, meu maior exemplo de vitória, meus heróis e simplesmente aqueles que mais amo. Obrigada por estarem sempre comigo. Vocês me ensinaram direta e indiretamente lições pra toda uma vida.*

*À Médica Veterinária Gisela Therezinha Aquilini Vilella e sua equipe por nos apoiar e ajudar durante o experimento, cedendo o espaço e equipamentos de sua clínica veterinária.*

*Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado.*

*Obrigada a todos!*

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico este trabalho aos meus pais, que nunca mediram esforços e estiveram sempre presentes em todos os momentos de sua realização.*

*A minha irmã, seu marido e meus sobrinhos pelo carinho e confiança.*

*As minhas amigas de infância que nunca me deixaram.*

*“Bom mesmo é ir à luta com determinação,  
Abraçar a vida e viver com paixão,  
Perder com classe e viver com ousadia.  
Pois o triunfo pertence a quem se atreve,  
E a vida é muito bela para ser insignificante.”*

*Charles Chaplin*

## **RESUMO**

### **Avaliação laboratorial do estresse oxidativo e eletrocardiografia de cadelas submetidas a exercício**

A falta ou ausência de atividade física de cães, aliada a uma alimentação de alto valor energético, têm afetado seriamente a saúde destes, levando-os ao desenvolvimento de vários problemas associados ao coração. O presente estudo teve como objetivo estudar a atividade das enzimas séricas creatino quinase (CK), creatino quinase fração MB (CK-MB), lactato desidrogenase (LDH) e glutathiona peroxidase (GSH-Px), antes e após a realização de exercício de curta duração, avaliando-os com os achados eletrocardiográficos tais como frequência cardíaca (batimentos/minuto), duração do intervalo PR (segundos), ritmo cardíaco e variação da amplitude de onda T em 8 cadelas hípidas. A frequência cardíaca, tamanho do segmento PR, ritmos cardíacos e percentuais de onda T, não se alteraram durante o exercício. Pode-se concluir que o exercício físico de curta duração realizado com treinamento prévio dos animais modificou os valores das enzimas CK, CK-MB e LDH, provavelmente pela lesão causada no músculo devido ao esforço físico intenso e o aumento da GSH-Px foi ocasionado pela maior produção de radicais livres em virtude do maior consumo de oxigênio pelo organismo durante o esforço físico.

Palavras-chave: Cães. Exercício físico. Atividade enzimática. Eletrocardiograma.

## **ABSTRACT**

### **Laboratory findings of oxidative stress and electrocardiography of dogs submitted to exercise**

The lack or absence of physical activity in dogs, combined with a diet high in energy has seriously affected the health of dogs, taking them to the development of various problems associated with the heart. This study aimed to study the activity of serum enzymes creatine kinase (CK), creatine kinase MB fraction (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH) and glutathione peroxidase (GSH-Px), before and after short duration exercise, evaluating them with electrocardiographic findings such as heart rate (beats / minute), duration of P-R interval (seconds), heart rate and variation of the T wave in 8 healthy dogs. Heart rate, P-R segment size, heart rates and percentage of T wave, did not change during exercise. It can be concluded that exercise of short duration conducted with prior training of animals modified values of CK, CK-MB and LDH, probably caused by muscle injury due to physical exertion and increased GSH-Px was caused by increased production of free radicals due to the higher oxygen consumption by the body during physical effort.

Key-words: Dogs. Exercise. Enzymatic activities. Electrocardiogram.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	10
1.1 Importância do Exercício Físico em Cães.....	10
1.2 Creatino Quinase e Creatino Quinase Fração MB.....	11
1.3 Lactato Desidrogenase.....	12
1.4 Glutaciona Peroxidase.....	13
1.5 Eletrocardiograma.....	16
REFERÊNCIAS.....	18
2 ARTIGO CIENTÍFICO.....	23

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Importância do Exercício Físico em Cães

Devido ao processo de verticalização das cidades, os cães têm sido submetidos a espaços progressivamente reduzidos, o que aliado ao fornecimento de alimento acima das necessidades energéticas e à falta de disponibilidade de tempo dos proprietários para realização de atividades físicas, tem levado ao aumento do número de casos de cães com problemas cardíacos, articulares e de obesidade. Dentre as alternativas para reverter ou prevenir esses problemas e garantir o bem-estar do animal, estão a prática de atividades físicas e de esportes caninos, para as quais é fundamental o condicionamento físico do cão (LORENZ, 1987).

O exercício físico intenso e contínuo é acompanhado pela produção de radicais livres, que provocam alterações das membranas celulares, o que causa lesão acompanhada por processo inflamatório ao nível das fibras musculares. Várias causas foram sugeridas para estas alterações, entre as quais o alto grau de estresse provocado pelo exercício, alterações da micro circulação, produção de metabólitos tóxicos e depleção intramuscular dos substratos energéticos (CÓRDOVA; NAVAS, 2000).

O rápido desenvolvimento da lesão das fibras musculares e do tecido conjuntivo é acompanhado por uma disfunção e migração de componentes intracelulares para os espaços intersticial e plasmático. O dano muscular está associado com aumentos dos níveis plasmáticos de creatino quinase (CK) e de lactato desidrogenase (LDH), o que serve como indicador do aumento da permeabilidade celular resultante (CÓRDOVA; NAVAS, 2000).

## 1.2 Creatino Quinase e Creatino Quinase Fração MB

A creatino quinase consiste de um grupo de isoenzimas com um papel central no metabolismo energético, principalmente para tecidos com alta demanda energética, como cérebro, músculo cardíaco e esquelético, onde funciona como um efetivo sistema de tampão para os níveis celulares de ATP (BESSMAN; CARPENTER, 1985; WALLIMAN et al., 1992). Quantidades menores são encontradas no rim, diafragma, tireóide, placenta, bexiga, útero, pulmão, próstata, baço, reto, cólon, estômago e pâncreas. O fígado e eritrócitos são essencialmente desprovidos desta enzima (MOTTA, 2000).

A creatino quinase catalisa a transfosforilação reversível entre ATP e creatino a ADP e fosfocreatina, ajudando a manter os níveis dos substratos fosforilados (BESSMAN; CARPENTER, 1985; WALLIMAN et al., 1992).

Está associada com a geração de ATP nos sistemas contráteis ou de transporte. A função fisiológica predominante desta enzima ocorre nas células musculares, onde está envolvida no armazenamento de creatino fosfato (composto rico em energia). Cada ciclo de contração muscular promove o consumo de ATP com formação de ADP (MOTTA, 2000).

A CK é uma enzima de alta especificidade para lesões musculares e o aumento da sua atividade reflete mais aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial do que lesão muscular, segundo Rose e Hodgson (1994). Para Spinha de Toledo et al. (2001) somente altas concentrações plasmáticas de CK refletiriam miólise significativa.

Entre as causas de aumento da concentração sérica de CK destaca-se o exercício de alta intensidade (ROSE; HOGDSON, 1994; STOCKHAM, 1995). Comparando exercícios de diferentes intensidades, Siciliano et al. (1995) observaram que as atividades de CK e AST foram mais intensas em resposta ao exercício moderado quando comparado com o exercício intenso.

As isoformas da creatino quinase estão localizadas em sítios de demanda e produção energética. A isoforma citosólica (CK-CI) consiste de dímeros e é expressa de uma maneira tecido específica, isto é, cérebro-específica (CK-BB),

músculo esquelético-específica (CK-MM) e um heterodímero músculo cardíaco-específico (CK-MB) (WALLIMANN et al., 1992; HAMMAN et al., 1995; O'GORMAN et al., 1996).

### **1.3 Lactato Desidrogenase**

A lactato desidrogenase (LDH) é uma enzima da classe das oxidoredutases que catalisa a oxidação reversível do lactato a piruvato, em presença da coenzima NAD<sup>+</sup> que atua como doador ou acceptor de hidrogênio. Está presente no citoplasma de todas as células do organismo. Sendo rica no miocárdio, fígado, músculo esquelético, rim e eritrócitos. Os níveis teciduais de LDH são, aproximadamente, 500 vezes maiores do que os encontrados no soro e lesões naqueles tecidos provocam elevações plasmáticas significantes desta enzima (MOTTA, 2000).

A LDH é uma enzima com atividade nos hepatócitos e fibras musculares que tem sido utilizada associada à creatino quinase (CK) para a avaliação das lesões musculares, entre elas, as provocadas pelo exercício (KANEKO et al., 2008).

Segundo Stockham (1995), o exercício pode liberar quantidades de enzimas suficientes para aumentar os valores séricos da enzima de LDH. Siciliano et al. (1995), Löfstedt e Collatos (1997) referiram que o treinamento diário diminui os efeitos provocados pelo exercício, incluindo a elevação das concentrações séricas da enzima de LDH. Embora menos específica que CK, tem a sua concentração elevada nas lesões musculares. Aumentos de maior magnitude foram observados em equinos, durante prova de enduro e mostraram que a duração e intensidade são importantes para determinar o aumento desta enzima durante o exercício (ROSE; HODGSON, 1994).

## 1.4 Glutathione Peroxidase

A glutathione é um tripeptídeo que existe no organismo em suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG), atuando direta ou indiretamente em muitos processos biológicos importantes, incluindo a síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular. Problemas na síntese e metabolismo da glutathione estão associados a doenças relacionadas ao estresse oxidativo (NAVARRO et al., 1999; ROVER JUNIOR et al., 2001).

A atividade da GSH-Px é um dos meios de controle do organismo dos níveis de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos, oriundos do ataque das espécies reativas de oxigênio (MEISTER; ANDERSON, 1983). Assim, um controle nos níveis de glutathione torna-se importante, uma vez que os níveis normais em células de mamíferos estão na faixa de 0,5 a 10mmol/L<sup>-1</sup> (DENADAI, 2000).

A GSH-Px é encontrada tanto na mitocôndria quanto no citosol, atuando como um importante protetor celular contra as espécies reativas de oxigênio (EROS) (POWERS; LENNON, 1999). No exercício sua ativação é decorrente do aumento no consumo de oxigênio, agindo na remoção do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e dos hidroperóxidos orgânicos da célula (WITT et al., 1992; TIIDUS et al., 1996).

O termo estresse oxidativo é utilizado em circunstâncias nas quais os radicais livres resultam em dano tecidual ou na produção de compostos tóxicos ou danosos aos tecidos. Pode-se dizer que um organismo encontra-se sob estresse oxidativo (EO) quando ocorre um desequilíbrio entre os sistemas pró oxidantes e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes. O EO pode gerar danos a proteínas e ao DNA, provocando diversas alterações na função celular e, portanto, tecidual (SIES, 1986).

Os radicais livres são moléculas instáveis ou fragmentos de moléculas sem um par de elétrons nas suas órbitas exteriores. Os radicais livres de oxigênio incluem o radical superóxido, o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila, estes são altamente reativos. A sua ativação pode causar processos traumáticos nos tecidos pelo desencadeamento de diversas cadeias de reações. Se um radical reage com um não-radical, é produzido um novo radical livre (CÓRDOVA; NAVAS, 2000)

Espécies reativas de oxigênio são formadas durante o metabolismo normal, por processos enzimáticos, e não enzimáticos, e, continuamente, causam danos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos celulares (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Como benefícios fisiológicos, participam da síntese de todos os componentes biologicamente essenciais para a regulação das funções celulares, tais como sinalização intracelular, transcrição, ativação, proliferação celular, inflamação e apoptose (ELSAYED, 2001; LACHANCE et al., 2001; MARLIN et al., 2002).

Durante o metabolismo celular, a maior parte do oxigênio molecular sofre completa redução à água. Contudo uma pequena parte do O<sub>2</sub> é convertida a produtos parcialmente reduzidos como o radical ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila. Essas espécies, radicalares ou não, são oxidantes potentes e podem causar danos teciduais, sendo coletivamente chamadas de espécies reativas de oxigênio - EROS (MOYER; TREPANIER, 2009).

Os antioxidantes são substâncias que ajudam a reduzir os efeitos do estresse e da falta de oxigênio, formando complexos que atenuam as reações produtoras de radicais livres. A capacidade de defesa do sistema antioxidante depende de uma dieta adequada em micronutrientes (vitaminas, minerais, aminoácidos) e a produção endógena de antioxidantes como o glutathiona (CÓRDOVA; NAVAS, 2000).

A composição das defesas antioxidantes difere entre tecidos e entre células de um mesmo tecido (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999). Para se protegerem contra oxidações os organismos dispõem de mecanismos químicos e enzimáticos. No primeiro caso, várias moléculas com propriedades antioxidantes consumidas na dieta como o tocoferol (vitamina E), beta-caroteno (pró-vitamina A), selênio, cobre, zinco, ácido ascórbico e vitamina E e glutathiona reduzida (GSR) diminuem a ação tóxica das EROS produzidas intra e extracelularmente (PRADA et al., 2004). O mecanismo enzimático é constituído principalmente pelas enzimas superóxido desmutase, catalase e glutathiona peroxidase. O perfeito equilíbrio entre estas enzimas é importante para a manutenção da integridade celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

O aumento do consumo de oxigênio, assim como a ativação das vias metabólicas específicas durante ou após o exercício, resulta na formação de radicais livres de oxigênio (MONCADA; HIGGS, 2001). Estas moléculas estão aumentadas nos exercícios de alta intensidade e extenuante foram relacionadas a um grande número de doenças (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004), como diabetes, doenças cardíacas, câncer e o envelhecimento (MARLIN et al., 2002). Por outro lado, sabe-se que a atividade física é uma conhecida forma de estresse e a exposição crônica a ela é capaz de disparar adaptações em resposta a uma maior produção destes radicais livres (McMICHAEL, 2007).

Para proteger os tecidos contra os danos causados pelas EROS produzidos durante o exercício físico as enzimas antioxidantes como superóxido desmutase, catalase e glutathione peroxidase parecem responder de maneira adaptativa, elevando suas atividades nos tecidos e órgãos de indivíduos treinados. Isso ocorre principalmente em treinamentos de esforço máximo (JENKINS; GOLDFARB, 1993; PEREIRA et al., 1994; AVULA; FERNANDES, 1999).

A produção de radicais livres durante o exercício depende de alguns fatores, tais como frequência, intensidade e duração do exercício e do tipo de exercício executado (aeróbico ou anaeróbico) (COOPER et al., 2002; CAZZOLA et al., 2003).

Em geral, os danos musculares causados pelo estresse oxidativo são mais acentuados em indivíduos menos treinados, que realizam exercícios com intensidade e duração além do estado de condicionamento físico (LAMPRECHT et al., 2004). Por outro lado, a adaptação ao treinamento físico pode ser em parte modulada pela geração de radicais livres (NIESS et al., 1999; McARDLE et al., 2001), já que foi observado que o estresse oxidativo provocado pelo exercício agudo intenso pode ser minimizado pela realização prévia de treinamento com sobrecargas progressivamente ajustadas, antes dos indivíduos serem submetidos ao estresse agudo de alta intensidade (MIYAZAKI et al., 2001).

As membranas celulares e intracelulares, que possuem grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados são um importante alvo para o ataque de radicais livres. Espécies radicalares provenientes do oxigênio podem estar associadas a exercícios físicos prolongados, causando um estresse oxidativo dos

fosfolipídeos, proteínas e ácido desoxirribonucléico (DNA) das membranas celulares (LEHMANN et al., 1998). Assim, segundo Mannervik (1985), um importante sistema de defesa enzimático contra o aumento de radicais livres envolve a enzima glutathiona peroxidase (GSH-Px).

## 1.5 Eletrocardiograma

O eletrocardiógrafo, por definição, é um aparelho (voltímetro) que capta o potencial elétrico gerado pela atividade cardíaca que se propaga até a superfície do corpo, convertendo-a num registro gráfico da amplitude em função do tempo, o qual denomina-se eletrocardiograma (FERREIRA et al., 1998).

A eletrocardiografia (ECG) é o mais importante método de diagnóstico das arritmias cardíacas, podendo determinar a origem do ritmo e a frequência de despolarização do coração, fornecendo informações do estado clínico do miocárdio, uma vez que as deflexões P-QRS-T do traçado podem ser alteradas por uma patologia ou fator fisiológico. As arritmias são comuns em cães, produzindo sinais clínicos como fadiga, intolerância ao exercício, perda de peso e em casos mais severos podem causar ataxia, colapso, coma e morte súbita. As informações obtidas por meio da ECG são essenciais para a determinação do tipo, origem e severidade das arritmias cardíacas, bem como no direcionamento terapêutico (EDWARDS, 1987; STEPIEN, 1994; ETTINGER, 1997).

A excitação e a condução dos impulsos elétricos no coração devem seguir um sincronismo ou uma sequência normal de eventos. Durante a sequência histológica normal, observa-se no ECG inicialmente uma onda P, que indica a despolarização dos átrios, um intervalo PR que indica o tempo utilizado pelo impulso elétrico desde o nodo sinusal (NSA) até chegar ao nó atrioventricular (NAV) e, posteriormente, o QRS que representa a despolarização ventricular (MENDES, 2008).

A duração do intervalo PR varia inversamente com a frequência cardíaca. As causas mais comuns de prolongamento do intervalo PR são intoxicação

digitállica e anormalidades no sistema de condução atrial. Um intervalo PR curto sugere frequência cardíaca rápida ou vias acessórias que ultrapassam a condução AV normal (ETTINGER; FELDMAN, 2008).

A onda T indica a repolarização ventricular e não deve ser maior que 25% da onda R, podendo ser positiva, negativa ou bifásica e sempre negativa em V10; T altas podem acontecer nos casos de hipóxia; T pontiagudas relacionam-se com casos de hipercalemia; T pequenas e bifásicas, nos casos de hipocalemia; mudanças não específicas, nos casos de hipoglicemia, anemia, febre, choque, intoxicação digitállica e enfermidades neurológicas (MENDES, 2008).

Os ritmos cardíacos observados em cães incluem a arritmia sinusal, onde ocorre variação normal do ritmo cardíaco em cães, apresentando aumento da FC com a inspiração e diminuição durante a expiração. Nos cães, este é um fenômeno fisiológico normal, que não requer tratamento (ETTINGER; FELDMAN, 2008). Ritmo sinusal normal a FC está dentro dos parâmetros normais, ritmo cardíaco regular, variação do intervalo RR pode ser de até 10%, cada onda P tem um QRS correspondente (MENDES, 2008). Arritmias cardíacas são distúrbios na formação e/ou na condução dos impulsos elétricos cardíacos (ETTINGER; FELDAMN, 2008).

Na maioria dos cães normais, a frequência cardíaca média está entre 70 e 160 batimentos por minuto. As frequências acima destes limites são classificadas como taquicardias, e as inferiores a 70bpm, como bradicardias (ETTINGER; FELDMAN, 2008). A taquicardia sinusal é o ritmo sinusal com aumento da FC acima dos parâmetros normais. As causas mais frequentes são: excitação, medo, estresse, exercício, terapia com atropina ou broncodilatadores, febre, anemia, hipertireoidismo e ICC (MENDES, 2008).

O presente trabalho teve como objetivo determinar os valores de creatino quinase, creatino quinase fração MB, lactato desidrogenase e glutationala peroxidase, com os animais em repouso e após o exercício de curta duração, bem como os efeitos dos achados eletrocardiográficos em cadelas clinicamente normais.

## REFERÊNCIAS

AVULA, R. C. P.; FERNANDES, G. Modulation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in salivary gland and other tissue in mice by moderate treadmill exercise. **Aging**, v. 11, p. 246-252, 1999.

BESSMAN, S. P.; CARPENTER, C. L. The creatine-creatine phosphate energy shuttle. **Annual Review of Biochemistry**, p. 831-862, 1985.

CAZZOLA, R. et al. Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 33, n. 10, p. 924-930, 2003.

COOPER, C. E. et al. Exercise, free radicals and oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, v. 30, n. 2, p. 280-285, 2002.

CÓRDOVA, A.; NAVAS, F. J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. Departamento de Fisiologia e Bioquímica. E.U. Fisioterapia da Universidade de Soria – Espanha. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 6, p. 208, 2000.

DENADAI, B. S. **Avaliação aeróbica: determinação indireta da resposta ao lactato sanguíneo**. Rio Claro: Motrix, 2000. 153 p.

ELSAYED, N. M. Antioxidant mobilization in response to oxidative stress: a dynamic environmental-nutritional interaction. **Nutrition**, v. 17, p. 828-834, 2001.

EDWARDS, N. J. **Bolton's handbook of canine and feline electrocardiography**. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1987. 381 p.

ETTINGER, S. J. Cardiac arrhythmias diagnosis and treatment. In: ETTINGER, E. BONAGURA, E. **Os recentes avanços da cardiologia veterinária**. São Paulo: Anais Ettinger e Bonagura, 1997.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kooganp, 2008. p. 846-857, cap. 14.

FERREIRA, W. L., SOUZA, R. C. A., CAMACHO, A. A. Eletrocardiografia na medicina veterinária. **Revista de Educação Continuada**, v. 1, p. 54-57, 1998.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C **Free radicals in biology and medicine**. 2.ed. Oxford: Clarendon Press, 1989. 525 p.

HAMMAN, B. L. et al. Inhibition of creatine kinase reaction decrease the contractile reserve of isolated rat hearts. **The American Journal of Physiology**, p. 1030–1036, 1995.

JENKINS, R. R.; GOLDFARB, A. Intoduction: oxidant stress, aging and exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 25, p. 210-212, 1993.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916 p.

LACHANCE, P.A.; NAKAT, Z.; JEONG, W. Antioxidants: an integrative approach. **Nutition**. v. 17, p. 835-838, 2001.

LEHMANN, C. et al. Bioelectrocatalysis by a selenoenzyme. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.455, p.259-263, 1998.

LÖFSTEDT, J.; COLLATOS, C. Creatine kinase and aspartate aminotransfaerase concentrations. **The Veterinary Clinics of North American - Equine Practice**, Philadelphia, v. 13, p. 145-168, 1997.

LORENZ, K. **E o homem encontrou o cão**. Lisboa: Ed. Relógio D'água, 1987. 262 p.

MANNERVIK, B. **Methods in Enzymology**: Gluthatione peroxidase. New York: Academic Press, 1985. v. 113, 490 p.

MARLIN, D. J. et al. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 1622S-1627S, 2002.

McARDLE, A. et al. Contractile activity-induced oxidative stress: cellular origin and adaptive responses. **American Journal of Physiology Cell Physiology**, v. 280, n. 3, p. 621-627, 2001.

McMICHAEL, M. A. Oxidative stress, antioxidants and assesment of oxidative stress in dogs and cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 231, n. 5, p. 714-720, 2007.

MEISTER, A.; ANDERSON, M. E. Gluthatione. **Annual Review of Biochemistry**, v. 52, p. 711-760, 1983.

MENDES, D. N. Semiologia do sistema circulatório de equinos e ruminantes. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2.d. São Paulo. Editora Roca LTDA. Cap. 6, p. 258-268, 2008.

MIYAZAKI, H. et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 84, n. 1-2, p. 1-6, 2001.

MONCADA, S.; HIGGS, A. Nitric oxide: role in human disease. Encyclopedia of Life Sciences, 2001. Disponível em: <<http://www.els.net>>. Acesso em: 20 de abril de 2009.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para laboratório**: principios e interpretações. 5.ed. Porto Alegre: ed. Médica Bissau, 2000. v. 9, p. 90-120.

MOYER, K. L.; TREPANIER, L. A. Erythrocyte gluthatione and plasma cysteine concentrations in young versus old dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 234, n. 1, p. 95-99, 2009.

NAVARRO, J. et al. Changes in gluthatione status and the antioxidant system in blood and in cancer cells associate with tumor growth in vivo. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 410-418, 1999.

NIESS, A. M. et al. Free radicals and oxidative stress in exercise-immunological aspects. **Exercise Immunology Review**, v. 5, p. 22-56, 1999.

O'GORMAN, E. et al. Differential effects of creatine depletion on the regulation of enzyme activities and on creatine stimulated mitochondrial respiration in skeletal muscle. **Biochimica et Biophysica Acta**, p. 161-170, 1996.

PEREIRA, B. et al. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. **Physiology and Behavior**, v. 56, p. 1095-1099, 1994.

POWERS, S. K.; LENNON, S. L. Analysis of cellular response to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, p. 1025-1033, 1999.

PRADA, F. J. A. et al. Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 12, n. 2, p. 29-34, 2004.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. Hematology and biochemistry. In: **THE ATHLETIC horse**. , Philadelphia: Saunders, 1994. p. 63-78.

ROVER JUNIOR, L. et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-1129, 2001.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

SICILIANO, P. D. et al. Effect of conditioning and exercise type on serum creatinekinase and aspartate aminotransferase activity. **Equine Veterinary Journal**, London, p. 243-247, 1995.

SPINHA DE TOLEDO, P. et al. Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gamaglutamil transeferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça PSI submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 8, n. 2, p. 73-77, 2001.

STIEPIEN, R.L. Therapy of common cardiac arrhythmias. In: WALTHAM/OSU SYMPOSIUM, 1994, Ohio. **Proceedings...** Ohio: Waltham, p. 68-77. 1994.

STOCKHAM, S. L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 393-408, 1995.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 25, p. 1058-1071, 1986.

TIIDUS, P. M.; PUSHKARENKO, J.; HOUSTON, M. E. Lack of antioxidante adaptation to short-term aerobic training in human muscle. **American Journal of Physiology**, v. 271, p. R832-R836, 1996.

WALLIMANN, T. et al. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the phosphocreatine circuit for cellular energy homeostasis. **The Biochemical Journal**, p. 21-40, 1992.

WITT, E. H. et al. Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. **Journal of Nutrition**, v. 122, p. 766-773, 1992.

1 **2 ARTIGO CIENTÍFICO\***

2

3 **Avaliação laboratorial do estresse oxidativo e eletrocardiografia de cadelas submetidas a**  
4 **exercício**

5 **Laboratory findings of oxidative stress and electrocardiography of dogs submitted to**  
6 **exercise**

7 Amanda Polizel<sup>I</sup>, Cecília Braga Laposy<sup>II\*</sup>, Alessandra Melchert<sup>II</sup>, Rogério Giuffrida<sup>II</sup>, Gisela  
8 Therezinha Aquilini Vilella<sup>III</sup>.

9

10 **Resumo**

11 A falta ou ausência de atividade física de cães, aliada a uma alimentação de alto valor  
12 energético, têm afetado seriamente a saúde dos cães, levando-os ao desenvolvimento de  
13 vários problemas associados ao coração. O presente estudo teve como objetivo estudar a  
14 atividade das enzimas séricas creatino quinase (CK), creatino quinase fração MB (CK-MB),  
15 lactato desidrogenase (LDH) e glutatona peroxidase (GSH-Px), antes e após a realização de  
16 exercício de curta duração, avaliando-os com os achados eletrocardiográficos tais como  
17 frequência cardíaca (batimentos/minuto), duração do intervalo P-R (segundos), ritmo cardíaco  
18 e variação da amplitude de onda T em 8 cadelas híginas. Para as variáveis que foram

---

\* Normas da Revista Ciência Rural

<sup>I</sup> Discente do Mestrado em Ciência Animal-Universidade do Oeste Paulista.

<sup>II</sup> Professores dos cursos de Mestrado em Ciência Animal e Graduação em Medicina Veterinária – Universidade do Oeste Paulista (Unoeste).

\*Endereço para correspondência: Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Unoeste. Rod. Raposo Tavares Km 572, Bairro Limoeiro. 19075-175, Presidente Prudente, SP. Tel.: 55183229-2066. e-mail:claposity@unoeste.br.

<sup>III</sup> Médica Veterinária autônoma.

1 consideradas paramétricas, empregou-se o teste t-pareado e o teste de Wilcoxon foi utilizado  
2 para as variáveis consideradas não paramétricas, com nível de significância de 5%. Observou-  
3 se que após o exercício físico, os níveis séricos de CK, CK-MB, LDH e GSH-Px aumentaram  
4 significativamente ( $P < 0,05$ ). A frequência cardíaca, tamanho do segmento PR, ritmos  
5 cardíacos e percentuais de onda T, não se alteraram durante o exercício ( $P > 0,05$ ). Pode-se  
6 concluir que o exercício físico de curta duração realizado com treinamento prévio dos animais  
7 modificou os valores das enzimas CK, CK-MB e LDH, provavelmente pela lesão causada no  
8 músculo devido ao esforço físico intenso e o aumento da GSH-Px foi ocasionado pela maior  
9 produção de radicais livres em virtude do maior consumo de oxigênio pelo organismo durante  
10 o esforço físico.

11 **Palavras-chave:** cães; exercício físico, atividade enzimática, eletrocardiograma.

## 12 **Abstract**

13 The lack or absence of physical activity in dogs, combined with a diet high in energy has  
14 seriously affected the health of dogs, taking them to the development of various problems  
15 associated with the heart. This study aimed to study the activity of serum enzymes creatine  
16 kinase (CK), creatine kinase MB fraction (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH) and  
17 glutathione peroxidase (GSH-Px), before and after short duration exercise, evaluating them  
18 with electrocardiographic findings such as heart rate (beats / minute), duration of P-R interval  
19 (seconds), heart rate and variation of the T wave in 8 healthy dogs. For variables that were  
20 considered parametric, we used the paired t test and Wilcoxon test was used for  
21 nonparametric variables considered, with a significance level of 5%. It was observed that after  
22 exercise, serum CK, CK-MB, LDH and GSH-Px increased significantly ( $P < 0.05$ ). Heart rate,  
23 PR segment size, heart rates and percentage of T wave, did not change during exercise ( $P >$   
24 0.5). It can be concluded that exercise of short duration conducted with prior training of

1 animals modified values of CK, CK-MB and LDH, probably caused by muscle injury due to  
2 physical exertion and increased GSH-Px was caused by increased production of free radicals  
3 due to the higher oxygen consumption by the body during physical effort.

4 **Key-words:** dogs, exercise, enzymatic activities, electrocardiogram

## 5 **Introdução**

6 O aumento do consumo de oxigênio, assim como a ativação das vias metabólicas  
7 específicas durante ou após o exercício, resulta na formação de substâncias conhecidas como  
8 radicais livres, que são produzidos naturalmente em nosso organismo através de processos  
9 metabólicos oxidativos (MONCADA & HIGGS, 2001).

10 Durante o metabolismo celular, a maior parte do oxigênio molecular sofre completa  
11 redução à água. Contudo uma pequena parte do O<sub>2</sub> é convertida a produtos parcialmente  
12 reduzidos como o radical ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila. Essas  
13 espécies, radicalares ou não, são oxidantes potentes e podem causar danos teciduais, sendo  
14 coletivamente chamadas de espécies reativas de oxigênio (EROS) (MOYER & TREPANIER,  
15 2009).

16 Para proteção contra oxidações, o organismo dispõe de mecanismos químicos e  
17 enzimáticos. No primeiro caso, várias moléculas com propriedades antioxidantes consumidas  
18 na dieta como o tocoferol (vitamina E), beta-caroteno (pró-vitamina A), selênio, cobre, zinco,  
19 ácido ascórbico, vitamina E e glutathiona reduzida (GSR) diminuem a ação tóxica das EROS  
20 produzidas intra e extracelularmente (PRADA et al., 2004). O mecanismo enzimático é  
21 constituído principalmente pelas enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathiona  
22 peroxidase. O perfeito equilíbrio entre estas enzimas é importante para a manutenção da  
23 integridade celular (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

1 O exercício físico intenso e contínuo é acompanhado pela produção de radicais livres,  
2 que provocam uma alteração das membranas celulares, o que causa uma lesão acompanhada  
3 por um processo inflamatório ao nível das fibras musculares. Várias causas foram sugeridas  
4 para estas alterações, entre as quais o alto grau de estresse provocado pelo exercício,  
5 alterações da microcirculação, produção de metabólitos tóxicos e depleção intramuscular dos  
6 substratos energéticos (CÓRDOVA & NAVAS, 2000).

7 O rápido desenvolvimento da lesão das fibras musculares e do tecido conjuntivo é  
8 acompanhado por uma disfunção e migração de componentes intracelulares para os espaços  
9 intersticial e plasmático. O dano muscular está associado com aumentos dos níveis  
10 plasmáticos de creatino quinase (CK) e de lactato desidrogenase (LDH), o que serve como  
11 indicador do aumento da permeabilidade celular resultante (CÓRDOVA & NAVAS, 2000).

12 A creatino quinase é uma enzima que está amplamente distribuída nos tecidos, com  
13 atividades mais elevadas no músculo esquelético, cérebro e tecido cardíaco. Como uma das  
14 principais localizações é o músculo esquelético, os níveis séricos estão frequentemente  
15 elevados nas lesões destes tecidos (MOTTA, 2000).

16 A atividade física também é uma condição que exerce influência sobre o balanço entre  
17 ataque oxidativo e mecanismo de defesa antioxidante. Durante o exercício físico ocorrem  
18 várias reações químicas que implicam na formação dos EROS. Para proteger os tecidos contra  
19 possíveis danos causados pelos EROS, as enzimas antioxidantes como superóxido desmutase  
20 (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GSH-Px), parecem responder de maneira  
21 adaptativa, elevando suas atividades nos tecidos e órgãos de indivíduos treinados (AVULA &  
22 FERNANDES, 1999) embora haja contradições (PRADA et al., 2004).

23 As membranas celulares e intracelulares, que possuem grandes quantidades de ácidos  
24 graxos poliinsaturados, são um importante alvo para o ataque de radicais livres. Espécies

1 radicalares provenientes do oxigênio podem estar associadas a exercícios físicos prolongados,  
2 causando um estresse oxidativo dos fosfolipídeos, proteínas e ácido desoxirribonucléico  
3 (DNA) das membranas celulares (LEHMANN et al., 1998). Assim, segundo Mannervik  
4 (1985), um importante sistema de defesa enzimático contra o aumento de radicais livres  
5 envolve a enzima glutathiona peroxidase (GSH-Px).

6 A glutathiona é um tripeptídeo que existe no organismo em suas formas reduzida  
7 (GSH) e oxidada (GSSG), atuando direta ou indiretamente em muitos processos biológicos  
8 importantes, incluindo a síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular. Problemas na  
9 síntese e metabolismo da glutathiona estão associados a doenças relacionadas ao estresse  
10 oxidativo (NAVARRO et al., 1999; ROVER JUNIOR et al., 2001). A atividade da GSH-Px é  
11 um dos meios de controle do organismo dos níveis de peróxido de hidrogênio e  
12 hidroperóxidos lipídicos, oriundos do ataque das espécies reativas de oxigênio (MEISTER &  
13 ANDERSON, 1983). No exercício sua ativação é decorrente do aumento no consumo de  
14 oxigênio, agindo na remoção do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e dos hidroperóxidos orgânicos da célula (WITT et al.,  
15 1992; TIIDUS et al., 1996).

16 Modelos animais fornecem condições apropriadas para a obtenção de resultados  
17 referentes a mecanismos celulares e moleculares envolvidos nas adaptações metabólicas ao  
18 exercício, que não seriam possíveis de outra forma.

19 O presente trabalho teve como objetivo determinar os valores de creatino quinase,  
20 creatino quinase fração MB, lactato desidrogenase e glutathiona peroxidase, com os animais  
21 em repouso e após o exercício de curta duração, bem como os efeitos dos achados  
22 eletrocardiográficos em cadelas clinicamente normais.

## 23 **Materiais e Métodos**

1           Foram selecionadas oito cadelas adultas, hípidas, pesando entre 3kg e 10kg (média 6,5  
2 kg), provenientes do canil da Instituição de origem, atestados por exames clínicos (aferição da  
3 frequência cardíaca, respiratória e temperatura retal), laboratoriais (hemograma, pesquisa de  
4 hematozoários e contagem de plaquetas), eletrocardiográficos (Eletrocardiógrafo ECG PC -  
5 TEB<sup>®</sup>) e capacidade de adaptação à esteira. Todos os animais receberam ração comercial  
6 controlada e água *ad libitum*, durante o período experimental.

7           Inicialmente, as cadelas foram adaptadas a andar e correr em esteira eletrônica  
8 (Training dog<sup>®</sup>), durante 15 minutos, 3 vezes por semana, durante 4 semanas, seguindo a  
9 metodologia proposta por Proscurshim et al., (1989). Após os animais se adaptarem a esteira,  
10 permaneceram 7 dias em repouso. Após o período de descanso, os animais foram submetidos  
11 a exercício em esteira com velocidade de 1,5 Km/h no minuto zero; 2,6 Km/h no primeiro  
12 minuto para um aquecimento. No minuto três, o teste teve início aumentando-se gradualmente  
13 a velocidade 1,0 km/h a cada minuto até a exaustão voluntária do animal, aferida pela  
14 incapacidade de acompanhar a velocidade da esteira (modificado de BARNARD et al., 1977).

15           Foram coletadas amostras de sangue dos animais em repouso e imediatamente após o  
16 término do exercício, por venopunção, utilizando-se tubos a vácuo heparinizados a fim de  
17 dosar os níveis séricos da glutatona peroxidase (método enzimático) e sem anticoagulantes,  
18 para a determinação das enzimas CK, CK-MB e LDH (método cinético UV). Além disso,  
19 foram aferidas a frequência cardíaca (batimentos/minuto), duração do intervalo P-R  
20 (segundos), escores dos ritmos cardíacos e amplitude de onda T.

21           Previamente à análise estatística, a normalidade dos dados foi averiguada pelo método  
22 de Kolmogorov-Smirnov, que constatou distribuição gaussiana para todos os grupos de dados.  
23 Posteriormente, estudou-se a presença de valores influentes (*outliers*) nos grupos de variáveis  
24 por meio do cálculo dos escores Z estandardizados, sendo considerados como *outliers*

1 univariados, os valores com escore superior a 2,5 (HAIR JUNIOR et al., 2005). Por este  
2 método constatou-se a inexistência de *outliers* nos dados amostrados.

3 Para comparar variáveis consideradas paramétricas recorreu-se ao teste t-pareado. Para  
4 realizar a mesma avaliação entre variáveis consideradas como não paramétricas ou cujos  
5 resultados foram expressos em escores empregou-se o teste de Wilcoxon (PAGANO &  
6 GAUVREAU, 2004). Para a comparação entre variáveis binomais pareadas empregou-se o  
7 teste de MacNemar. Todas as análises foram realizadas utilizando o pacote computacional  
8 Bioestat (AYRES et al., 2007), com nível de significância de 5%.

## 9 **Resultados e Discussão**

10 Todas as variáveis estudadas relativas às dosagens enzimáticas séricas, frequência  
11 cardíaca e duração do intervalo P-R observado no eletrocardiograma foram consideradas  
12 como paramétricas. Os escores de ritmo cardíaco e amplitude de onda T>25% foram  
13 considerados como não-paramétricos. Não foram detectados valores influentes que alterassem  
14 significativamente o modelo estatístico adotado. As comparações das variáveis observadas  
15 nos exames das dosagens séricas de enzimas estão descritas na tabela 1. Na figura 1, estão  
16 representados os valores referentes às enzimas séricas CK, CK-MB, LDH e GSH-Px dosadas  
17 com os animais em repouso e após os exercícios.

18 Os valores médios da enzima CK antes do exercício foram de 139,38 (U/L) $\pm$ 74,04 e  
19 de 359,88 (U/L) $\pm$ 167,60 logo após o treinamento (Tabela 1). Observou-se um aumento  
20 significativo ( $P<0,05$ ) dos níveis séricos após o exercício. Segundo Frappe (1998), há uma  
21 grande variação individual na atividade sérica normal desta enzima, salientando que,  
22 concentrações séricas de enzimas musculares aumentam ligeiramente após exercícios e que  
23 também estão elevadas nas desordens musculares ou miosites.

1 O exercício físico induz uma variedade de alterações fisiológicas e laboratoriais que  
2 dependem da característica desta atividade, duração, intensidade, bem como o nível de  
3 treinamento em que o animal se encontra (ROVIRA et al., 2008). Os animais deste  
4 experimento andaram entre 5 e 9,2 minutos (média de 6,5 minutos) a uma velocidade entre 4  
5 e 8,2 Km/h (média de 6,0 Km/h).

6 A atividade enzimática da CK em cães tem uma especificidade de 98% na detecção de  
7 doenças do músculo esquelético. No entanto, deve-se levar em conta que os níveis  
8 plasmáticos da CK modificam-se com o exercício, provavelmente como consequência do  
9 aumento do metabolismo muscular e alterações transitórias na permeabilidade do músculo  
10 com ou sem uma significativa ruptura de suas fibras (MUNOZ et al., 2005).

11 A mesma situação foi verificada com relação à enzima CK-MB, onde ocorreu um  
12 significativo aumento ( $P < 0,05$ ), passando de 30,7 (U/L)  $\pm$  6,00 antes do exercício para 121,6  
13 (U/L)  $\pm$  54,22 após a atividade física. Como a CK-MB é uma fração da CK, este aumento já era  
14 esperado. Para Frederick e colaboradores (2001), tanto a CK como sua fração MB são pobres  
15 marcadores de danos no miocárdio em cães.

16 Observou-se um aumento significativo ( $P < 0,05$ ) dos níveis séricos de LDH após o  
17 exercício onde seus níveis iniciais foram de 282,62 (U/L)  $\pm$  143,89 passando a 848,75 (U/L)  $\pm$   
18 239,17 (Tabela 1). A enzima LDH indica a existência de severidade aguda ou danos teciduais  
19 crônicos, como também monitora doenças progressivas, sendo usada em diagnósticos  
20 diferenciais para ajudar na detecção de órgãos afetados. Pode se apresentar de 5 maneiras  
21 como isoenzimas, diferenciando-se em suas estruturas. As isoenzimas importantes para  
22 diagnóstico de doenças cardíacas são LDH-1 e LDH-2, com função no miocárdio e músculo  
23 cardíaco respectivamente (KRISHNA, 2008). Sozinha, esta enzima está associada a exames  
24 hepáticos ou para verificação de danos musculares. Em conjunto com outras enzimas, a LDH

1 fornece informações que podem explicar atividades de enzimas específicas como a CK e sua  
2 fração MB (STOCKHAM & SCOTT, 2008).

3 Os valores médios da enzima glutathiona peroxidase se alteraram significativamente  
4 após o exercício ( $P < 0,0001$ ), encontrando-se valores de  $96,98 \pm 4,65$  antes e  $250,75 \pm 66,63$   
5 após, respectivamente (Figura 1). A formação de radicais livres e o início da peroxidação são  
6 fatores que contribuem para as alterações que levam ao dano muscular (MAXWELL et al.,  
7 1993). Embora o papel do exercício físico na produção de radicais livres não esteja ainda bem  
8 estabelecido em animais, sugere-se que o aumento do consumo de oxigênio durante o  
9 exercício intenso induz a produção de radicais livres e substâncias oxidantes (ALESSIO,  
10 1993). Em um estudo realizado por Rush e Sandiford (2003) foi observado que as populações  
11 jovens, saudáveis, mas sedentárias, femininas apresentaram concentrações plasmáticas de  
12 glutathiona peroxidase, ligeiramente maiores que a população masculina, mas o significado  
13 funcional disso não foi estabelecido.

14 Com relação aos ritmos cardíacos, das oito fêmeas, seis apresentaram arritmia sinusal  
15 antes do exercício e três continuaram após o treinamento. Nos dois animais restantes,  
16 observou-se o ritmo sinusal e os mesmos evoluíram para uma arritmia sinusal após o  
17 exercício. Segundo Ettinger et al., 2008, a taquicardia sinusal é um tipo de ritmo sinusal que  
18 apresenta a frequência cardíaca acelerada, podendo ser um fenômeno fisiológico e adequado  
19 durante o exercício, não sendo considerado uma alteração.

20 Com relação à onda T, somente um animal apresentou valores superiores a 25% antes  
21 do exercício e que não modificou após o treinamento. Dos sete cães restantes, apenas dois  
22 tiveram os resultados superiores a 25% após a atividade física. Uma causa provável desta  
23 elevação seria a hipóxia do miocárdio, uma vez que ondas T maiores podem ser vistas nesta

1 situação bem como distúrbios de condução intraventricular, dilatação ventricular e hipotermia  
2 e em animais com doenças cardíacas e bradicardia (SMITH et al., 2008).

3 PODE-SE CONCLUIR QUE O EXERCÍCIO FÍSICO EM UMA ÚNICA SESSÃO EM ESTEIRA COM UMA  
4 VELOCIDADE CONTROLADA, PROMOVEU UM AUMENTO DOS MARCADORES CARDÍACOS E MUSCULARES, BEM  
5 COMO ALTEROU O SISTEMA ANTIOXIDANTE DOS ANIMAIS. A CAUSA MAIS PROVÁVEL PARA O AUMENTO DAS  
6 ENZIMAS SÉRICAS CK, LDH E CK-MB É A LESÃO CAUSADA NO MÚSCULO DEVIDO AO ESFORÇO FÍSICO  
7 INTENSO E PARA O AUMENTO DA GSH-Px É A MAIOR PRODUÇÃO DE RADICAIS LIVRES PRODUZIDOS DEVIDO  
8 AO MAIOR CONSUMO DE OXIGÊNIO PELO ORGANISMO DURANTE O ESFORÇO FÍSICO.

### 9 **Comissão de Ética e Biossegurança**

10 O presente experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição  
11 de origem, protocolada sob o número 16/OL/09.

### 12 **Referências Bibliográficas**

13 ALESSIO, H.M. Exercise-induced oxidative stress. **Medicine Science Sports Exercise**, v.25,  
14 p.218-224, 1993.

15 AVULA, R.C.P.; FERNANDES, G. Modulation of antioxidant and lipid peroxidation in  
16 salivary gland and other tissues in mice by moderate treadmill exercise. **Aging**, Washington,  
17 v.11, n.4, p.246-52, 1999.

18 AYRES, M. et al. **BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**.  
19 Ong Mamiraua. Belém, PA, 2007.

20 BARNARD, R.J. et al. Coronary vasodilatador reserve and flow distribution during near-  
21 maximal exercise in dogs. **Journal of Applied Physiology**, v.43, n.6, p.988-992,1977.

22 CAMACHO, A.A.; MUCHA, C.J. Semiologia do Sistema Circulatório de Cães e Gatos In.:  
23 \_\_\_FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico: cães, gatos, equinos,**  
24 **ruminantes e silvestres**. 2ªed., São Paulo: Roca, p.246-273, 2008.

- 1 CÓRDOVA, A.; NAVAS, F.J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício:  
2 papel dos antioxidantes. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, n.5, vol. 6, p.204-208,  
3 2000.
- 4 ETTINGER, S. J.; BOBINNEC, G. L.; CÔTÉ, E. Eletrocardiografia. In: \_\_ ETTINGER, S.J.;  
5 FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato**.  
6 5ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.846-857, 2008.
- 7 FRAPE, D. **Equine nutrition & feeding**.2 ed., Oxford: Blackwell Science,1998,564p.
- 8 FREDERICK, S. et al. Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in  
9 commom laboratory animals. **Clinica Chimica Acta**, v.304, n.1-2, p.65-74, 2001.
- 10 HALLIWELL, B.; GUTTERIGDE, J.M. **Free radicals in biology and medicine**.3ed. New  
11 York, Oxford: Clarendon Press, 1989, 543 p.
- 12 HAIR JUNIOR, J.F. et al. **Análise multivariada de dados**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman,  
13 2005.
- 14 KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals.  
15 6ª ed. San Diego: Academic Press, 2008. p.932.
- 16 KRISHNA, N. **Interpretação de exames laboratoriais**. Lactato desidrogenase – LDH, 2008.  
17 Disponível em: [www.fisfar.ufc.br/petmedicina/imagens/stories/ lactato \\_ desidrogenase.pdf](http://www.fisfar.ufc.br/petmedicina/imagens/stories/lactato_desidrogenase.pdf).  
18 Acesso em junho 2010.
- 19 LEHMANN, C.; et al. Bioelectrocatalysis by a selenoenzyme. **Journal of Electroanalytical**  
20 **Chemistry**, v.455, p.259-263, 1998.
- 21 MANNERVIK, B. **Methods in Enzymology: Gluthatione peroxidase**. Academic Press:  
22 New York, v.113, p. 490, 1985.

- 1 MAXWELL, S.R.J. et al. Changes in plasma antioxidant status during eccentric exercise and  
2 the effect of vitamin supplementation. **Free Radical Research Communication**, v.19, p.191-  
3 210, 1993.
- 4 MEISTER, A.; ANDERSON, M.E. Gluthatione. **Annual Review of Biochemistry.**, v.52,  
5 p.711-760, 1983.
- 6 MONCADA, S.; HIGGS, A. Nitric oxide: role in human disease. *Encyclopedia of Life*  
7 *Sciences*, 2001. Disponível em <http://www.els.net> acesso em 20 de abril de 2009.
- 8 MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para laboratório: princípios e interpretações.** 5ª ed.  
9 Porto Alegre: ed. Médica Bissau, v. 9, p. 90-120, 2000.
- 10 MOYER, K.L.; TREPANIER, L.A. Erythrocyte glutathione and plasma cysteine  
11 concentrations in young versus old dogs. **Journal of American Veterinary Medical**  
12 **Association**, v.234, n.1, p.95-99, 2009.
- 13 MUNOZ, A. et al. Effect of training duration and exercise on blood-borne substratus, plasma  
14 lactate and enzyme concentration in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabia breeds. **Equine**  
15 **Veterinary Journal**, v.34, p.116-122, 2005.
- 16 NAVARRO, J. et al. Changes in glutathione status and the antioxidant system in blood and in  
17 cancer cells associate with tumor growth in vivo. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26,  
18 p.410-418, 1999.
- 19 PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística.** 2 ed. São Paulo: Pioneira  
20 Thomson Learning, p.506, 2004.
- 21 PRADA, F.J.A. et al. Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por  
22 natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **Revista Brasileira de Ciência e**  
23 **Movimento**, v.12, n.2, p.29-34, 2004.

- 1 PROSCURSHIM, P. et al. Aerobic training effects on maximum oxygen consumption, lactate  
2 threshold and lactate disappearance during exercise recovery of dogs. **Comparative**  
3 **Biochemistry and Physiology**, v.94, p.743-747, 1989.
- 4 ROVER JUNIOR, L. et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathiona  
5 associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v.24,  
6 n.1, p.112-1129, 2001.
- 7 ROVIRA, S.; MUNOZ, A.; BENITO, M. Effect of exercise on physiological blood and  
8 endocrine parameters in search and rescue-trained dogs. **Veterinary Medicine**, v.53, p.33-  
9 346, 2008.
- 10 RUSH, J.W.E.; SANDIFORD, S.D. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults:  
11 influence of gender and physical activity. **Clinical Biochemistry**, Toronto, v.30, p.345-351,  
12 2003.
- 13 SMITH JR., F.W.K.; TILLEY, L.P.; MILLER, M.S. Eletrocardiograma. In.: \_\_\_BIRCHARD,  
14 S.J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**. 3ªed.,São Paulo:  
15 Roca, p.1470-1501, 2008.
- 16 STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology**, 2 ed.,  
17 Iowa: Blackwell Publishing, 2008, 908p.
- 18 TIIDUS, P.M.; PUSHKARENKO, J.; HOUSTON, M.E. Lack of antioxidant adaptation to  
19 short-term aerobic training in human muscle. **American Journal of Physiology**, v.271,  
20 p.R832-R836, 1996.
- 21 WITT, E.H. et al. Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation.  
22 **Journal of Nutrition**, v.122, p.766-773, 1992.
- 23  
24

1 Tabela 1 - Médias e desvios-padrões dos resultados das dosagens séricas das enzimas CK,  
2 CK-MB, LDH e GSH-Px de cães antes e após exercício.

3

Parâmetro	Antes	Após	<i>P</i>	Valores normais
CK (U/L)	139,38±74,04	359,87±167,60	0,0043	24-170
CK-MB (U/L)	30,7±6,00	121,6±54,22	0,0003	11-39
LDH (U/L)	282,62±143,89	848,75±239,17	<0,0001	45-233
GSH-Px (U/gHb)	96,98±4,65	250,7±66,63	<0,0001	87-99

4

Fonte: Kaneko et al., 2008.

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1

2

3

4

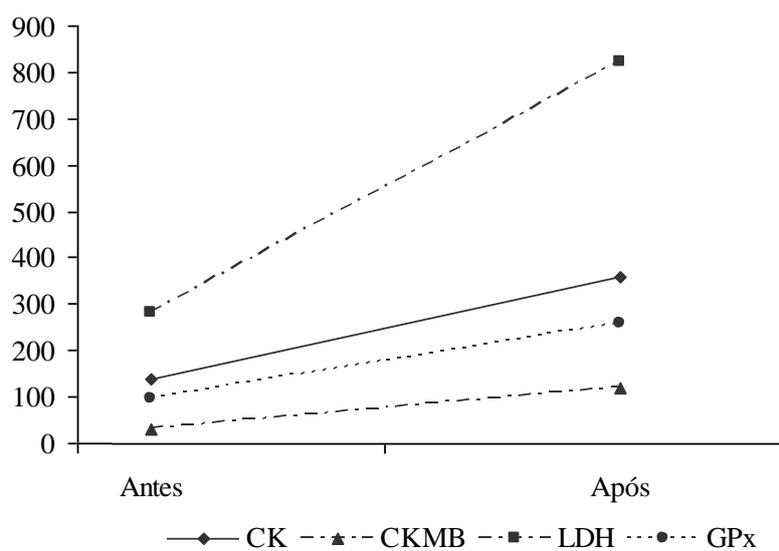
5

6

7

8

9



10

11 Figura 1 - Dosagens séricas (U/L) das enzimas CK; CK-MB; LDH e GSH-Px (U/gHb) em  
12 cães antes e após exercícios.

13

14

15

16

17

1 Tabela 2 - Médias e desvios padrões da frequência cardíaca em batimentos por minuto (FC) e  
 2 do tamanho do segmento P-R em segundos observados no exame eletrocardiográfico de cães  
 3 antes e após exercícios.

4

Parâmetro	Antes	Após	<i>P</i>	Valores normais
FC	103,70 ± 14,09	135,0 ± 17,32	> 0,9999	70-220
Segmento P-R	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,01	> 0,9999	0,06-0,13

5

Fonte: Camacho & Mucha, 2008.

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

1 **ANEXO**

2

3 Anexo A: Níveis de garantia ração Perdigão® 15 Kg

4

5

---

Umidade (máxima)	12,0%
Proteína bruta (mínima)	19,0%
Extrato Etéreo (mínimo)	0,7%
Matéria Fibrosa (máxima)	0,5%
Matéria Mineral (máxima)	0,9%
Cálcio (máximo)	2,2%
Fósforo (mínimo)	0,7%

---

6

7