

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS**

**ANÁLISE HEMOGASOMÉTRICA DO SANGUE VENOSO EQUINO PRÉ E PÓS-  
EXERCÍCIO**

**PORTO ALEGRE**

**2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS**

**ANÁLISE HEMOGASOMÉTRICA DO SANGUE VENOSO EQUINO PRÉ E PÓS-  
EXERCÍCIO**

Autora: Alice Giugno Gomes

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para a obtenção do título de Mestre em  
Medicina Animal: Equinos: na área de Clínica  
Médica

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Malschitzky

Coorientador: Prof. Dr. Cláudio Correa  
Natalini

**PORTO ALEGRE**

**2013**

### CIP - Catalogação na Publicação

Gomes, Alice Giugno  
Análise hemogasométrica do sangue venoso equino  
pré e pós-exercício / Alice Giugno Gomes. -- 2013.  
39 f.

Orientador: Eduardo Malschitzky.  
Coorientador: Cláudio Correa Natalini.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos,  
Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. Hemogasometria. 2. Sangue venoso. 3. Equinos. I.  
Malschitzky, Eduardo, orient. II. Natalini, Cláudio  
Correa, coorient. III. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

À amizade e orientação do Prof. Dr. Eduardo Malschitzky.

À orientação e disponibilidade do Prof. Dr. Cláudio Correa Natalini.

Ao médico veterinário Alexandre Shilella, pelo auxílio com os animais utilizados neste trabalho.

Aos queridos colegas e amigos Maurício Grillo, Vanessa Ruiz e Jennifer Luzardo Teixeira, pela amizade e pelo apoio incondicional.

Aos meus pais e ao meu avô, pelo amor incondicional.

## RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de verificar alterações do estado ácido-básico metabólico de equinos antes e após atividade física de intensidade máxima (corrida) através do exame hemogasométrico. Avaliou-se, ainda, a confiabilidade deste exame para o sangue armazenado a 4°C durante doze horas. Duas amostras de sangue venoso foram coletadas de quinze animais clinicamente saudáveis, sendo a primeira coleta realizada com o animal em repouso e a segunda após o término da prova, e as mesmas foram divididas em dois grupos: Grupo I (GI) – pré-corrida e Grupo II (GII) – pós-corrida. As amostras de sete animais foram avaliadas imediatamente após a coleta, enquanto as amostras de oito animais foram mantidas sob-refrigeração a 4°C (dentro do refrigerador) durante doze horas antes de serem analisadas. O sangue foi analisado para verificar os valores de pH, pCO<sub>2</sub>, TCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE, pO<sub>2</sub>, sO<sub>2</sub> e Lactato. Os resultados dos grupos foram comparados através da análise de variância. O Teste T de Student foi utilizado para uma comparação das médias das avaliações das amostras analisadas imediatamente ou doze horas após a coleta. Foram observadas diferenças estatísticas para todas as variáveis analisadas pré e pós-exercício, verificando-se valores significativamente menores para pH, pCO<sub>2</sub>, BE, HCO<sub>3</sub> e TCO<sub>2</sub>, e valores significativamente maiores para sO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> e lactato nas amostras coletadas após a corrida em relação aos valores obtidos para as mesmas variáveis com os animais em repouso. Verificou-se, também, diferença significativa entre os resultados obtidos imediatamente após a coleta em relação àqueles encontrados nas amostras refrigeradas para todas as variáveis analisadas, tanto com os animais em repouso como após o exercício, exceto para a pCO<sub>2</sub> após o exercício. Esses resultados indicam que o exercício físico, bem como o armazenamento das amostras de sangue, promovem alterações nos parâmetros avaliados no presente trabalho.

**Palavras-chave:** hemogasometria, exercício, parâmetros ácido-básicos, equinos

## ABSTRACT

*This study was carried out to verify changes in the metabolic acid-base status of equines before and after physical activity of maximum intensity (race) using blood gas analysis. We also evaluated the reliability of this test for the blood stored at 4 ° C for twelve hours. Two venous blood samples were collected from fifteen clinically healthy animals, the first collection with the animal at rest and the second after the race, and then divided into two groups: Group I (GI) - pre-race and group II (GII) - post-race. Samples of seven animals were evaluated immediately after collection, while samples from eight animals were kept under refrigeration at 4°C (in a refrigerator) for twelve hours before being analyzed. The blood was analyzed to check pH, pCO<sub>2</sub>, TCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE, pO<sub>2</sub>, sO<sub>2</sub> and lactate values. The results of the groups were compared by analysis of variance. Student's t test was used for comparison of the means of the evaluations of the samples analyzed immediately or twelve hours after collection. Statistical differences were observed for all variables analyzed before and after exercise, showing significantly lower values for pH, pCO<sub>2</sub>, BE, HCO<sub>3</sub> and TCO<sub>2</sub>, and significantly higher values for sO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> and lactate in the samples collected after the race compared to the values obtained for the same variables with the animals at rest. There was also a significant difference between the results obtained immediately after collection compared to those found in the refrigerated samples for all analyzed variables, both with the animals at rest and after exercise, except for pCO<sub>2</sub> after exercise. These results indicate that exercise and storage of blood samples promote changes in the parameters evaluated in this study.*

*Keywords: blood gas analysis, exercise, acid-base parameters, equines*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>9</b>
2.1	Fisiologia do Exercício.....	9
<b>2.1.1</b>	<b>Metabolismo Aeróbio X Metabolismo Anaeróbio .....</b>	<b>9</b>
2.2	Função Pulmonar e Resposta ao Exercício .....	11
2.3	Equilíbrio Ácido – Base .....	15
2.4	Hemogasometria.....	17
2.5	Lactato .....	18
<b>3</b>	<b>ARTIGO.....</b>	<b>19</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A análise hemogasométrica é de grande importância e utilidade na clínica médica de equinos, uma vez que permite a avaliação e a compreensão do estado do equilíbrio ácido-básico em que o animal se encontra, possuindo grande valor para o entendimento de distúrbios metabólicos. Juntamente com a mensuração do lactato sanguíneo, permite a avaliação do condicionamento físico do animal. LINDNER et al. (2006) e ERCK et al. (2007) afirmam que o emprego de testes para a avaliação do desempenho atlético realizados a campo (pista), juntamente com as respostas fisiológicas obtidas pela ação do exercício e do treinamento, pode ser uma valiosa ferramenta para maximização dos resultados obtidos nas competições e, dessa forma, o programa de treinamento deixa de ser realizado somente de maneira empírica, tornando-se um processo técnico, com embasamento clínico e fisiológico.

Os parâmetros mais importantes avaliados na hemogasometria são: pH, pressões parciais de oxigênio ( $pO_2$ ) e de dióxido de carbono ( $pCO_2$ ), nível de bicarbonato ( $HCO_3$ ), além dos teores de dióxido de carbono sanguíneo ( $TCO_2$ ) e do excesso ou déficit de bases (BE) (SUCUPIRA; ORTOLANI, 2003). Conforme citado por CARLSON (1997) e DAY (2002) para a avaliação da função pulmonar e das desordens respiratórias a hemogasometria arterial é a de eleição, enquanto o sangue venoso fornece informações acerca da perfusão tecidual e o estado ácido-básico metabólico.

A necessidade de processar a amostra no menor tempo possível, após a sua coleta (HASKINS, 1977; COLES, 1984), impõe-se, entretanto, como um sério fator de limitação na medicina veterinária, uma vez que sua realização imediatamente após a coleta do sangue torna-se pouco prática ou, até mesmo, inviável, particularmente para o profissional que trabalha a campo. Ainda, considerando-se a distância entre os centros de treinamento e corrida em relação aos hospitais veterinários e laboratórios, torna-se praticamente inviável a realização imediata do exame.

A possibilidade de manutenção das amostras de sangue sob conservação a baixas temperaturas tem sido objeto de interesse de investigações científicas nas espécies bovina (JAGOS et al., 1977; POULSEN e SURYNEK, 1977; SZENCI e BESSER, 1990; SZENCI et al., 1991), equina (ASSAL e POULSEN, 1978; SZENCI et al., 1991), canina (HASKINS, 1977; ASSAL et al., 1978) e suína (ASSAL, et al., 1980). As conclusões demonstram não haver, no entanto, um consenso a respeito do intervalo de tempo dentro do qual as amostras podem manter a sua viabilidade.

Considerando a grande eficácia da hemogasometria para a determinação das alterações do equilíbrio ácido-básico metabólico e a dificuldade encontrada pelos médicos veterinários que trabalham a campo para realizar o processamento das amostras de sangue em curtos períodos de tempo, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a viabilidade do exame hemogasométrico e da mensuração do lactato sanguíneo no sangue venoso de equinos pré e pós exercício, realizado imediatamente e doze horas após a coleta.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Fisiologia do Exercício**

#### **2.1.1 Metabolismo Aeróbio X Metabolismo Anaeróbio**

A pesquisa em fisiologia do exercício tem como objetivo avaliar o nível de condicionamento em que o animal se encontra, bem como sua adaptação em relação à atividade que desempenha e, frequentemente, envolve a avaliação da temperatura corporal, da frequência cardíaca, da concentração de ácido láctico sanguíneo e do consumo de oxigênio no cavalo em exercício (EVANS, 2000). Fatores como treinamento, dieta, períodos de repouso e características fisiológicas individuais podem promover diferentes respostas frente ao exercício.

O exercício físico é uma condição na qual ocorre aumento da demanda energética do organismo visando à manutenção da atividade muscular. A energia derivada dos nutrientes ingeridos na alimentação tem fundamental importância para o fornecimento de energia química, contribuindo com a manutenção do trabalho muscular a partir da geração de adenosina trifosfato (ATP) (WILMORE e COSTILL, 2001). As principais fontes energéticas utilizadas para a produção de ATP são os carboidratos (glicose ou glicogênio muscular e hepático) e as gorduras (ácidos graxos). A produção de ATP pode ocorrer na presença de oxigênio (via aeróbia) ou na sua ausência (via anaeróbia), sendo que a definição da via metabólica utilizada depende essencialmente da velocidade e da intensidade do gasto energético (MARLIN e NANKERVIS, 2002; BERGERO et al., 2005).

As vias aeróbias podem oxidar tanto carboidratos quanto lipídeos, sendo estes últimos utilizados em exercícios de média ou longa duração (MARLIN e NANKERVIS, 2002). Os ácidos graxos livres (AGL) têm origem primária na lipólise dos tecidos adiposos e, secundariamente, nos depósitos de triglicérides musculares (SNOW, 1975). A oxidação dos lipídeos aumenta em equinos à medida que aumenta a duração e a intensidade do exercício e enquanto este se mantém dentro da capacidade aeróbia (LINDHOLM et al., 1974), sendo fundamental para a manutenção do suprimento energético aos músculos durante provas de resistência (SLOETT VAN OLDRUITENBORGH-COSTERBAAN et al., 1991).

As vias anaeróbias possuem baixa oxidação de ATP por molécula de substrato e podem ser recrutadas mesmo havendo suprimento adequado de oxigênio ao músculo (MARLIN e NANKERVIS, 2002), uma vez que, no começo do exercício rápido, a

distribuição de oxigênio para a musculatura não alcança instantaneamente o nível requerido para suportar o metabolismo aeróbio (EVANS, 2000).

Existem duas vias anaeróbias em que não há participação da glicose, representadas pelas reservas de creatinafosfato (CP) e pela reação local da mioquinase, porém, essas vias permitem a manutenção do exercício apenas por alguns segundos. A via anaeróbia mais importante é a glicólise anaeróbia, que possui como subproduto o ácido láctico, rapidamente dissociado em íons hidrogênio e lactato (MARLIN e NANKERVIS, 2002).

Quando a intensidade do exercício começa a aumentar, a energia passa a ser provida principalmente pelo metabolismo anaeróbio, com consequente liberação de lactato das células musculares para o sangue, aumentando as concentrações de lactato e diminuindo o pH sanguíneo (HODGSON e ROSE, 1994).

Relativamente às provas, estas podem ser classificadas em dois grupos: as que exigem grande potência muscular e aquelas que requerem resistência (PRINCE et al., 2002). Certamente, as necessidades metabólicas destes dois tipos de provas são marcadamente distintas visto que, se de um lado, as provas de potência exigem rápida produção de energia pela fibra muscular (HINCHCLIFF et al., 2002), de outro, as provas de resistência têm como exigência uma estrita mobilização de sistemas neuroendócrinos de regulação da homeostasia e do sistema cardiovascular, dadas as grandes perdas hidro-eletrolíticas e o esgotamento das reservas de substratos energéticos (NAYLOR et al., 1993; SCHOTT II et al., 1993).

Nos exercícios de intensidade máxima, caracterizados por curta duração e alta intensidade, as respostas fisiológicas e bioquímicas ocorrem de forma muito rápida, ativando nos primeiros instantes diferentes sistemas orgânicos. Há aumento na taxa de glicólise, ocorre liberação de adrenalina pela medula adrenal, aumentando tanto a frequência cardíaca como o volume sistólico. Paralelamente ao aumento do débito cardíaco (Q), dilatam-se as artérias responsáveis pela irrigação dos músculos esqueléticos com objetivo de aumentar a perfusão muscular e há desvio do sangue de locais de pouca atividade durante o trabalho para os músculos em exercício. Concomitantemente ocorre, entre outras respostas, aumento na produção de CO<sub>2</sub> e os quimiorreceptores são estimulados, aumentando a frequência respiratória e a ventilação pulmonar. Como consequência desta atividade global, há elevação da taxa de perfusão das artérias pulmonares e ocorre passagem de CO<sub>2</sub> sanguíneo para os alvéolos (LACERDA-NETO, 2004). Nos cavalos Puro Sangue de Corrida e Quarto de Milha, entre o repouso e o exercício máximo, o consumo de oxigênio pode aumentar em 40 vezes, enquanto ocorre aumento aproximado de cinco vezes na absorção de oxigênio pelos tecidos (ERICKSON, 1996).

## 2.2 Função Pulmonar e Resposta ao Exercício

Todos os seres vivos extraem oxigênio ( $O_2$ ) do meio ambiente para a atividade oxidativa dos tecidos e eliminam o mesmo nos produtos metabólicos, como dióxido de carbono ( $CO_2$ ) e água. A pressão do  $O_2$  atmosférico não pode suprir as necessidades de todas as células do organismo, devido à distância entre a atmosfera e algumas células. Através do aparelho respiratório se realiza um processo osmótico e / ou químico indispensável para a vida: a respiração. São conhecidos dois tipos de respiração: uma propriamente dita, a qual está encarregada de transportar os gases desde a atmosfera até os tecidos, e uma respiração tecidual, encarregada de transportar e utilizar o  $O_2$  dentro da cadeia respiratória mitocondrial (BOFFI, 2006).

A função primordial da respiração é a hematose, ou seja, conservar a pressão parcial de  $O_2$  elevada e a pressão parcial de  $CO_2$  baixa, transportar o  $O_2$  dos pulmões aos capilares teciduais e, de forma inversa, o  $CO_2$  até os pulmões (BOFFI, 2006). A vida depende da realização contínua e eficiente desse processo, mesmo sob condições fisiológicas alteradas como nas enfermidades, condições ambientais desfavoráveis ou por aumento da atividade física (REGATIERI, 2003).

Os principais processos respiratórios envolvidos nas trocas gasosas são a ventilação (como o ar chega até o alvéolo), perfusão (como o gás é removido dos pulmões pelo sangue), relação ventilação / perfusão (como a combinação de ar e sangue no pulmão influencia a troca gasosa), difusão (como o ar atravessa a barreira ar-sangue), transporte dos gases (como os gases se movem dos pulmões para os tecidos) e controle da respiração (como o suprimento de trocas gasosas é ajustado à demanda) (LEKEUX, 1994).

A quantidade de ar inalada e exalada em repouso é denominada de volume corrente (VC) e, normalmente, varia de 10-12 ml/kg de peso (BOFFI, 2006). O exercício impõe um estresse potencial para a “bomba” ventilatória: conforme a velocidade aumenta, a ventilação por minuto aumenta quase linearmente e a ventilação expirada por minuto, a qual é, em média, 80 litros por minuto (L / min) em repouso, pode atingir valores próximos a 1800 L / min durante exercício intenso (Katz et al., 2005). A mudança na ventilação por minuto necessária para satisfazer os requerimentos das trocas gasosas pode ser alcançada pela alteração do volume corrente, da frequência respiratória, ou de ambos (LEKEUX, 1994).

Apenas uma porção do ar inspirado alcança a área pulmonar na qual as trocas gasosas ocorrem, sendo esta a ventilação alveolar. O restante da ventilação por minuto é perdido em regiões do pulmão onde não ocorrem trocas gasosas, o espaço morto fisiológico

da ventilação, o qual inclui as vias de condução (espaço morto anatômico) e os alvéolos que são ventilados, mas não perfundidos (espaço morto alveolar). O espaço morto para a relação do volume corrente é, em média, de 50% a 70% no cavalo em repouso (BOFFI, 2006), uma porcentagem duas vezes maior que as relatadas em outras espécies atléticas como o homem e o cão.

O consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) de um cavalo refere-se à taxa na qual o oxigênio é utilizado pela mitocôndria no músculo (HOLCOMBE, 2006) e, diante do início de um exercício, uma série de modificações orgânicas é desencadeada com o objetivo de induzir o seu aumento (BOFFI, 2006). Conforme citado por EVANS (2000), em cavalos em repouso o  $VO_2$  está em torno de 2 a 3 ml / min / kg.

O volume máximo de oxigênio utilizado pelo cavalo durante um exercício máximo é definido como consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2max}$ ) e pode ser obtido por meio do monitoramento constante do  $VO_2$  durante o teste padrão de exercício progressivo (DERMAN e NOAKES, 1994).

O oxigênio é fornecido pelo pulmão através das hemácias que, associadas à hemoglobina, são capazes de transportá-lo. O  $CO_2$ , um resíduo metabólico, deve ser removido das células para os músculos trabalharem perfeitamente. O  $CO_2$  então se liga à hemoglobina onde é removido através da corrente sanguínea e eliminado pelos pulmões (SILVA, 2005).

A capacidade da hemoglobina em fixar o oxigênio depende da presença de uma unidade não peptídica chamada de grupamento heme, o qual fornece cor à hemoglobina. Este grupamento é constituído de uma parte orgânica (protoporfirina) e um átomo de ferro, podendo este estar tanto no estado ferroso (+2) como no férrico (+3). As formas correspondentes de hemoglobina são a ferro-hemoglobina e a ferri-hemoglobina ou meta-hemoglobina respectivamente, sendo que, somente a ferro-hemoglobina é capaz de se ligar ao oxigênio (PERES, 2004). O principal fator que determina a extensão da ligação do  $O_2$  à hemoglobina é a pressão parcial de oxigênio (REGATIERI, 2003).

A afinidade da hemoglobina pelo oxigênio e a posição da curva de dissociação do mesmo são dependentes do pH, da temperatura, da concentração de 2,3- difosfoglicerato nas hemácias e da ligação do  $CO_2$  à molécula de hemoglobina – o chamado efeito Bohr (TERZY, 1992; REGATIERI, 2003). Queda no pH (acidose), elevação da pressão parcial de dióxido de carbono e da temperatura, deslocam a curva para a direita, ou seja, diminuem a afinidade da hemoglobina pelo  $O_2$ , e mais  $O_2$  será liberado. O contrário também é válido, a elevação do pH, a diminuição do  $CO_2$  e da temperatura deslocam a curva para a esquerda, aumentando a afinidade da hemoglobina pelo  $O_2$ , produzindo maior saturação da hemoglobina para uma

dada pressão parcial de  $O_2$ . Tal fenômeno ajuda a aumentar o carreamento de  $O_2$  nos capilares pulmonares (REGATIERY, 2003).

O conteúdo de  $O_2$  no sangue arterial é determinado, principalmente, pela concentração de hemoglobina e pela porcentagem de sítios de ligação desta para o  $O_2$ . A quantidade de  $O_2$  ligado à hemoglobina determina a saturação de oxigênio ( $sO_2$ ) (POOLE e ERICKSON, 2004). A pressão parcial de  $O_2$  representa a pressão relativa exercida pelo gás em uma mistura de gases (no ar ou em meio líquido). A saturação de hemoglobina depende da pressão parcial de  $O_2$ , a qual, por sua vez, está diretamente relacionada à quantidade de  $O_2$  dissolvido no plasma. Quando a pressão parcial de  $O_2$  está acima de 70 mm Hg, a hemoglobina está fortemente saturada e somente 3 a 5% dos sítios de ligação ainda estão disponíveis. Numa pressão parcial de  $O_2$  abaixo de 60 mm Hg a curva de saturação da oxihemoglobina apresenta inclinação decrescente (FENGER et al., 2000).

A difusão do  $CO_2$  depende dos mesmos fatores que a difusão do  $O_2$ , porém em sentido contrário. Quando a produção de  $CO_2$  aumenta o volume corrente deve aumentar para poder manter a pressão alveolar de  $CO_2$  ( $PACO_2$ ) dentro dos limites normais. Se o volume corrente não aumenta o suficiente a  $PACO_2$  se elevará, sendo que quando a produção de  $CO_2$  é constante e o volume corrente diminui pela metade a  $PACO_2$  duplica. Este aumento da  $PACO_2$  diminui a pressão alveolar de  $O_2$  e vice-versa. A hipoventilação alveolar se caracteriza por um aumento da  $PACO_2$  e uma diminuição da pressão alveolar de  $O_2$  ( $PAO_2$ ), sendo observada em situações que levem à depressão do SNC, hipotermia e obstrução das vias aéreas. Por outro lado, a hiperventilação alveolar se caracteriza por um aumento na  $PAO_2$  e uma diminuição da  $PACO_2$ , observada em hipertermia, acidose e hipóxia (BOFFI, 2006).

Humanos e equinos atletas experimentam respostas semelhantes ao exercício. O consumo de oxigênio e o débito cardíaco aumentam linearmente com o aumento da intensidade do exercício até atingir o consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2MAX}$ ). Adaptações no débito cardíaco, na ventilação pulmonar e na capacidade de difusão de oxigênio contribuem para a alta performance aeróbica dos equinos, além da presença de um grande baço e de uma vigorosa contração esplênica, a qual permite dobrar o valor do hematócrito durante o exercício, aumentando a distribuição de oxigênio (HOPKINS, 2005). Dadas essas altas taxas de transporte de oxigênio, é surpreendente que um atleta tão aeróbico possa ter limitações pulmonares para o desempenho do exercício (DEMPSEY, 2006).

A hipoxemia arterial induzida pelo exercício é caracterizada pela diminuição da pressão arterial de oxigênio ( $PaO_2$ ) o suficiente para prejudicar o transporte de oxigênio e por

um marcado aumento na diferença de pressão parcial alveolar-arterial de oxigênio ( $PAO_2 - PaO_2$ ), acompanhado por uma pequena hiperventilação alveolar (HOPKINS, 2005).

O impedimento da difusão de  $O_2$  do alvéolo para o sangue é relatado como a principal causa de ocorrência de hipoxemia nos exercícios de intensidade máxima (WAGNER et al., 1989). A diferença entre as pressões de  $O_2$  alveolar e arterial, cujo valor médio em repouso se mantém em torno de 4 mm Hg, se eleva durante o exercício podendo atingir 30 mm Hg, o que pode impedir a difusão de  $O_2$  dos alvéolos para o sangue (NYMAN et al., 1995). De acordo com DEMPSEY e WAGNER (2006), um resultado de  $PAO_2 - PaO_2$  maior que 25 mm Hg pode ser considerado como uma limitação média para as trocas gasosas, enquanto valores maiores que 35 mm Hg representam uma limitação severa.

Durante o exercício máximo, há aumento significativo do débito cardíaco, aumentando o volume de sangue presente nos capilares dos alvéolos (POOLE e ERICKSON, 2004). Além disso, ocorre aumento da velocidade do fluxo sanguíneo na artéria pulmonar, diminuindo consideravelmente o tempo de captação do  $O_2$  (WILKINS et al., 2001). Conseqüentemente, o tempo de trânsito dos eritrócitos pelos capilares diminui e alguns eritrócitos que passam pelos capilares alveolares não conseguem captar as moléculas de  $O_2$  sendo esta, também, causa importante no desenvolvimento da hipoxemia. Uma consequência da hipoxemia arterial induzida pelo exercício é que ela pode ter um efeito prejudicial significativo, limitando o transporte e a utilização do oxigênio durante exercício máximo (POWERS, 1989; HARMS, 2000).

Aproximadamente 5% do  $CO_2$  se encontram dissolvidos no plasma; esta fração representa a pressão parcial de  $CO_2$  ( $pCO_2$ ). O restante é transportado em combinação com a água ( $H_2O$ ), formando bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) e pela hemoglobina (LEKEUX e ART, 1994).



Com o exercício intenso, os músculos produzem grande quantidade de  $CO_2$ , porém, a ventilação alveolar não aumenta proporcionalmente em relação à produção de  $CO_2$  o suficiente para eliminá-lo, ocorrendo hipercapnia (LEKEUX e ART, 1994). Essa hipercapnia pode influenciar o desempenho de equinos durante o exercício, retardando a regulação do íon hidrogênio, particularmente aquele produzido nos músculos em atividade (ERICKSON, 1996).

### 2.3 Equilíbrio Ácido – Base

A manutenção dos constituintes físico-químicos do organismo dentro de uma estreita faixa de variação, mesmo quando ocorrem modificações acentuadas no ambiente externo, é denominada homeostasia. Eventualmente, os referidos constituintes sofrem alterações provocadas pelo calor, pelo frio, pelo jejum e, principalmente, pelo exercício (POWERS e HOWLEY, 2000).

O controle do equilíbrio ácido-base se refere à concentração do íon hidrogênio ( $H^+$ ) nos líquidos corporais. A concentração deste íon é melhor expressada pelo pH, cuja variação ocorre inversamente à concentração do íon hidrogênio. Quando a concentração de íons hidrogênio se eleva no sangue ocorre diminuição no pH e se desenvolve quadro de acidemia (CARLSON, 1997).

A regulação precisa do íon hidrogênio é essencial, uma vez que as atividades de quase todos os sistemas enzimáticos do organismo são influenciadas por sua concentração. A manutenção da homeostasia exige o equilíbrio entre a entrada ou a produção de íons hidrogênio e sua livre remoção do organismo. O controle preciso da concentração do íon hidrogênio no líquido extracelular, envolve mais que a simples eliminação deste pelos rins. Existem vários outros mecanismos de tamponamento ácido-base, sendo o sangue, as células e os pulmões essenciais na manutenção das concentrações normais do íon hidrogênio tanto no líquido intracelular como no extracelular (GUYTON e HALL, 2002).

O controle dos líquidos do organismo envolve a manutenção de concentrações adequadas de água e eletrólitos e a preservação da concentração de íons hidrogênio dentro de uma faixa estreita, adequada ao melhor funcionamento celular. A manutenção da quantidade ideal de íons hidrogênio nos líquidos intra e extracelular depende da homeostase ácido-básica, que se caracteriza pelo equilíbrio químico entre os ácidos e as bases existentes no organismo. Ambos são adicionados continuamente aos líquidos corporais, por meio da ingestão ou produção do metabolismo celular (REECE, 1996).

A alteração metabólica mais comumente encontrada que deve ser corrigida é a adição de excesso de ácido ou de íons hidrogênio aos líquidos corpóreos. Os ácidos são constantemente produzidos no organismo como subproduto do metabolismo oxidativo. A quantidade de ácido produzida está relacionada à dieta, à intensidade de exercício e a outros processos fisiológicos. Portanto, os sistemas destinados a manter a homeostasia ácido-base devem ser capazes de se adaptar, principalmente, às modificações na carga ácida. Menos

frequentemente, determinados distúrbios resultam em excesso de carga básica, que também precisa ser eliminada (CUNNINGHAM, 1999).

Para manter o pH em limites compatíveis com os processos vitais, o organismo utiliza três sistemas: tampão, respiratório e renal.

O sistema tampão é definido por GUYTON e HALL (2002) como uma solução que contém a associação de duas ou mais substâncias químicas capazes de impedir alterações acentuadas na concentração do íon hidrogênio quando um ácido ou uma base é adicionado à solução. Esse sistema é dividido em três grandes componentes: bicarbonato / ácido carbônico, proteínas e fosfatos. O tampão mais importante do sangue utiliza o bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), que se encontra em equilíbrio com o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) (ELIAS et al., 2006). À medida que mais ácido ingressa na corrente sanguínea, mais bicarbonato e menos dióxido de carbono são produzidos. Em contrapartida, se mais base entra na corrente sanguínea, mais dióxido de carbono e menos bicarbonato são produzidos (SUCUPIRA; ORTOLANI, 2003; ELIAS et al., 2006).

O mecanismo respiratório age rapidamente modificando a taxa de remoção do dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e, conseqüentemente, alterando a concentração do ácido carbônico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) no sangue sob ação catalisadora da enzima anidrase carbônica (AC) presente nas hemácias e em muitas outras células (CUNNINGHAM, 1999).

Apesar dos mecanismos tamponante e respiratório serem capazes de regular as alterações no pH sanguíneo, o principal responsável pela excreção real do excesso de  $\text{H}^+$  é o sistema renal (CUNNINGHAM, 1999). Os rins controlam a concentração de íons  $\text{H}^+$  do líquido extracelular (LEC) por três mecanismos básicos: secreção de íons  $\text{H}^+$ , reabsorção dos íons  $\text{HCO}_3^-$  filtrados e produção de novos íons  $\text{HCO}_3^-$ . A taxa de secreção do íon  $\text{H}^+$  pelas células tubulares renais é determinada por seu pH intracelular que se modifica a medida que o pH sanguíneo ou a pressão parcial do dióxido de carbono se alteram. Portanto, enquanto a acidemia e a hipercapnia aumentam a secreção de íons  $\text{H}^+$ , a alcalemia e a hipocapnia a diminuem (HOUPY, 2006).

O equilíbrio ácido-base é representado tradicionalmente pelas relações entre a pressão parcial de dióxido de carbono ( $\text{pCO}_2$ ), o pH e o íon bicarbonato no plasma sanguíneo. Segundo STEWART (1983), o equilíbrio ácido-base também é dependente da diferença entre íons fortes (SID), da concentração total de ácidos fracos e da pressão parcial de  $\text{CO}_2$  (CARLSON, 1997; CONSTABLE, 1997; LINDINGER, 2004). A SID é expressa em mmol/L e determinada principalmente pela diferença entre as concentrações dos cátions fortes (sódio [ $\text{Na}^+$ ]; potássio [ $\text{K}^+$ ] e magnésio [ $\text{Mg}^{2+}$ ]) e ânions fortes (cloro [ $\text{Cl}^-$ ], lactato [ $\text{Lac}^-$ ] e sulfato).

Como seus principais determinantes são o  $\text{Na}^+$ , o  $\text{K}^+$ , o  $\text{Cl}^-$  e o Lac, é possível representá-la pela equação:

$$\text{SID} = ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+] - [\text{Cl}^-] + [\text{Lac}])$$

A diminuição na SID ocorre tanto pela diminuição na concentração de cátions fortes como pelo aumento na concentração de ânions fortes. Em equinos, após exercício máximo, essa diminuição está relacionada, principalmente, ao aumento do lactato sanguíneo (ânion forte) ocasionando acidose. Por sua vez, o aumento na SID está relacionado às provas de enduro, nas quais, devido ao grande volume de suor eliminado, ocorrem grandes perdas de cloro, levando ao desenvolvimento de alcalose metabólica hipoclorêmica (CARLSON, 1997; CONSTABLE, 1997; LINDINGER, 2004).

#### 2.4 Hemogasometria

O método mais adequado e eficaz para a detecção das alterações do equilíbrio ácido-básico dos fluidos orgânicos consiste na hemogasometria (DAY, 2002; SILVERMAN e BIRKS, 2002; GOKCE et al., 2004), a qual se refere à análise dos gases sanguíneos (pressão parcial de oxigênio –  $\text{pO}_2$  e pressão parcial de dióxido de carbono –  $\text{pCO}_2$ ), assim como do bicarbonato e do pH. Para avaliação das desordens respiratórias primárias ou da função pulmonar, importantes tanto em atletas da espécie humana quanto da equina, o sangue arterial é o de eleição. Por sua vez, o sangue venoso fornece informações acerca da perfusão tecidual e do estado ácido-base metabólico (CARLSON, 1997; DAY, 2002).

A amostra colhida para exame hemogasométrico pode ser de origem venosa ou arterial. O sangue venoso é mais utilizado, principalmente por clínicos de campo, por ser mais facilmente colhido que o sangue arterial. São utilizadas veias de grosso calibre e fácil acesso, como as jugulares externas. O pH é inferior no sangue venoso, enquanto os teores de  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{TCO}_2$  e da  $\text{pCO}_2$  são inferiores no sangue arterial.. Na estimativa da  $\text{pO}_2$ , o sangue venoso é ineficaz, pois apresenta valores muito discrepantes, e por isso não deve ser utilizado. Contudo, o sangue venoso pode ser utilizado na clínica para distúrbios ácido-básicos, e, conforme citado por SUCUPIRA (2003), reflete precisamente o estado ácido-básico de bovinos hígidos.

## 2.5 Lactato

Algumas variáveis fisiológicas como a frequência cardíaca (OHMURA et al., 2002) e avaliações bioquímicas (associadas à determinação das concentrações de glicose e enzimas séricas) (TYLER-McGOWAN et al., 1999; HAMLIN et al., 2002) são utilizadas para determinar o grau de condicionamento físico e orientar a intensidade do exercício durante o treinamento. Entretanto, estas não oferecem a segurança necessária no estabelecimento da carga de trabalho (LINDNER, 1998). Sendo assim, o lactato merece destaque e tem sido o guia de inúmeros programas de treinamento tanto a campo (GOMIDE, 2006) quanto em esteiras rolantes sob condições controladas (FERRAZ, 2003; ETO et al., 2004).

A curva estabelecida pelas concentrações sanguíneas de lactato determinadas em velocidades crescentes é denominada velocidade - lactato. Em baixas velocidades, há predomínio do metabolismo aeróbio e as concentrações de lactato se mantêm quase inalteradas. Com o aumento da intensidade do exercício, a demanda de energia passa a ser provida principalmente pelo metabolismo anaeróbio com aumento marcante do lactato, caracterizado por uma inflexão repentina da curva para cima. Este ponto é denominado limiar anaeróbio e vem sendo extensivamente utilizado na clínica médica, na prescrição de intensidade de exercícios para o treinamento em humanos (HOLLMANN, 1985) e em pesquisas na área de fisiologia do exercício. De acordo com EVANS (2000), a concentração de lactato sanguíneo em cavalos em repouso é de, aproximadamente, 0.5 mmol / L. Pequenos aumentos nessa concentração ocorrem conforme a velocidade do exercício aumenta e, a altas velocidades, a concentração de lactato sanguíneo aumenta exponencialmente. As características desta relação típica têm sido utilizadas para monitorar a resposta ao treinamento e investigar fatores limitantes para o desempenho da corrida.

### 3 ARTIGO

## **Análise Hemogasométrica do Sangue Venoso Equino Refrigerado**

Hemogasometric Analysis of Refrigerated Equine Venous Blood

**Alice Giugno Gomes<sup>1</sup>, Eduardo Malshitsky<sup>2</sup>, Cláudio Correa Natalini<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9090, Porto Alegre, RS, Brasil. CEP 91.540-000. E-mail: [aliceg.gomes@terra.com.br](mailto:aliceg.gomes@terra.com.br) – Autora.

<sup>2</sup> Eduardo Malshitsky - Universidade Luterana do Brasil, Hospital Veterinário, Departamento de Clínica de Grandes Animais, Av. Farrroupilha 8001, São Luiz, Canoas, RS, CEP 92420208

<sup>3</sup> Laboratório de Farmacogenética Animal – LAFA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

### **RESUMO**

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de verificar alterações do estado ácido-básico metabólico de equinos antes e após atividade física de intensidade máxima (corrida) através do exame hemogasométrico. Avaliou-se, ainda, a confiabilidade deste exame para o sangue armazenado a 4°C durante doze horas. Duas amostras de sangue venoso foram coletadas de quinze animais clinicamente saudáveis, sendo a primeira coleta realizada com o animal em repouso e a segunda após o término da prova, e as mesmas foram divididas em dois grupos: Grupo I (GI) – pré-corrida e Grupo II (GII) – pós-corrida. As amostras de sete animais foram avaliadas imediatamente após a coleta, enquanto as amostras de oito animais foram mantidas sob-refrigeração a 4°C (dentro do refrigerador) durante doze horas antes de serem analisadas. O sangue foi analisado para verificar os valores de pH, pCO<sub>2</sub>, TCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE, pO<sub>2</sub>, sO<sub>2</sub> e Lactato. Os resultados dos grupos foram comparados através da análise de variância. O Teste T de Student foi utilizado para uma comparação das médias das avaliações das amostras analisadas imediatamente ou doze horas após a coleta. Foram observadas diferenças estatísticas para todas as variáveis analisadas pré e pós-exercício, verificando-se valores significativamente menores para pH, pCO<sub>2</sub>, BE, HCO<sub>3</sub> e TCO<sub>2</sub>, e valores significativamente maiores para sO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> e lactato nas amostras coletadas após a corrida em relação aos valores obtidos para as mesmas variáveis com os animais em repouso. Verificou-se, também, diferença significativa entre os resultados obtidos imediatamente após a coleta em relação àqueles encontrados nas amostras refrigeradas para todas as variáveis analisadas,

tanto com os animais em repouso como após o exercício, exceto para a  $p\text{CO}_2$  após o exercício. Esses resultados indicam que o exercício físico, bem como o armazenamento das amostras de sangue, promovem alterações nos parâmetros avaliados no presente trabalho.

**Palavras-chave:** hemogasometria, exercício, parâmetros ácido-básicos, equinos

### **ABSTRACT**

*This study was carried out to verify changes in the metabolic acid-base status of equines before and after physical activity of maximum intensity (race) using blood gas analysis. We also evaluated the reliability of this test for the blood stored at 4 ° C for twelve hours. Two venous blood samples were collected from fifteen clinically healthy animals, the first collection with the animal at rest and the second after the race, and then divided into two groups: Group I (GI) - pre-race and group II (GII) - post-race. Samples of seven animals were evaluated immediately after collection, while samples from eight animals were kept under refrigeration at 4°C (in a refrigerator) for twelve hours before being analyzed. The blood was analyzed to check pH,  $p\text{CO}_2$ ,  $\text{TCO}_2$ ,  $\text{HCO}_3$ , BE,  $p\text{O}_2$ ,  $s\text{O}_2$  and lactate values. The results of the groups were compared by analysis of variance. Student's *t* test was used for comparison of the means of the evaluations of the samples analyzed immediately or twelve hours after collection. Statistical differences were observed for all variables analyzed before and after exercise, showing significantly lower values for pH,  $p\text{CO}_2$ , BE,  $\text{HCO}_3$  and  $\text{TCO}_2$ , and significantly higher values for  $s\text{O}_2$ ,  $p\text{O}_2$  and lactate in the samples collected after the race compared to the values obtained for the same variables with the animals at rest. There was also a significant difference between the results obtained immediately after collection compared to those found in the refrigerated samples for all analyzed variables, both with the animals at rest and after exercise, except for  $p\text{CO}_2$  after exercise. These results indicate that exercise and storage of blood samples promote changes in the parameters evaluated in this study.*

*Keywords: blood gas analysis, exercise, acid-base parameters, equines*

## INTRODUÇÃO

A manutenção dos constituintes físico-químicos do organismo dentro de uma estreita faixa de variação, mesmo quando ocorrem modificações acentuadas no ambiente externo, é denominada homeostasia. Eventualmente, os referidos constituintes sofrem alterações provocadas pelo calor, pelo frio, pelo jejum e, principalmente, pelo exercício (POWERS e HOWLEY, 2000).

O exercício físico é uma condição na qual ocorre aumento da demanda energética do organismo visando à manutenção da atividade muscular (WILMORE e COSTILL, 2001). A produção de ATP pode ocorrer na presença (via aeróbia) ou na ausência (via anaeróbia) de oxigênio, sendo que a definição da via metabólica utilizada depende essencialmente da velocidade e da intensidade do gasto energético (MARLIN e NANKERVIS, 2002; BERGERO et al., 2005). Quando a intensidade do exercício começa a aumentar, a energia passa a ser provida principalmente pelo metabolismo anaeróbio, com conseqüente liberação de lactato das células musculares para o sangue, aumentando as concentrações de lactato e diminuindo o pH sanguíneo (HODGSON e ROSE, 1994).

A pesquisa em fisiologia do exercício tem como objetivo avaliar o nível de condicionamento em que o animal se encontra, bem como sua adaptação em relação à atividade que desempenha e, frequentemente, envolve a avaliação da temperatura corporal, da frequência cardíaca, da concentração de ácido láctico sanguíneo e do consumo de oxigênio no cavalo em exercício (EVANS, 2000). LINDNER et al. (2006) e ERCK et al. (2007) afirmam que o emprego de testes para a avaliação do desempenho atlético realizados a campo (pista), juntamente com as respostas fisiológicas obtidas pela ação do exercício e do treinamento, pode ser uma valiosa ferramenta para maximização dos resultados obtidos nas competições e, dessa forma, o programa de treinamento deixa de ser realizado somente de maneira empírica, tornando-se um processo técnico, com embasamento clínico e fisiológico.

A análise hemogasométrica é de grande importância e utilidade na clínica médica de equinos, uma vez que permite a avaliação e a compreensão do estado do equilíbrio ácido-básico em que o animal se encontra, possuindo grande valor para o entendimento de distúrbios metabólicos. Juntamente com a mensuração do lactato sanguíneo, permite a avaliação do condicionamento físico do animal.

A função primordial da respiração é a hematose, ou seja, conservar a pressão parcial de O<sub>2</sub> elevada e a pressão parcial de CO<sub>2</sub> baixa, transportar o O<sub>2</sub> dos pulmões aos capilares teciduais e, de forma inversa, o CO<sub>2</sub> até os pulmões (BOFFI, 2006). A vida depende da

realização contínua e eficiente desse processo, mesmo sob condições fisiológicas alteradas como nas enfermidades, condições ambientais desfavoráveis ou por aumento da atividade física (REGATIERI, 2003).

O controle do equilíbrio ácido-base se refere à concentração do íon hidrogênio ( $H^+$ ) nos líquidos corporais. A concentração deste íon é melhor expressada pelo pH, cuja variação ocorre inversamente à concentração do íon hidrogênio (CARLSON, 1997). Para manter o pH em limites compatíveis com os processos vitais, o organismo utiliza três sistemas: tampão, respiratório e renal.

O método mais adequado e eficaz para a detecção das alterações do equilíbrio ácido-básico dos fluidos orgânicos consiste na hemogasometria (DAY, 2002; SILVERMAN e BIRKS, 2002; GOKCE et al., 2004). Os parâmetros mais importantes avaliados por este exame são: pH, pressões parciais de oxigênio ( $pO_2$ ) e de dióxido de carbono ( $pCO_2$ ), nível de bicarbonato ( $HCO_3$ ), além dos teores de dióxido de carbono sanguíneo ( $TCO_2$ ) e do excesso ou déficit de bases (BE) (SUCUPIRA; ORTOLANI, 2003). Conforme citado por CARLSON (1997) e DAY (2002) para a avaliação da função pulmonar e das desordens respiratórias a hemogasometria arterial é a de eleição, enquanto o sangue venoso fornece informações acerca da perfusão tecidual e o estado ácido-básico metabólico.

A necessidade de processar a amostra no menor tempo possível, após a sua coleta (HASKINS, 1977; COLES, 1984), impõe-se, entretanto, como um sério fator de limitação na medicina veterinária, uma vez que sua realização imediatamente após a coleta do sangue torna-se pouco prática ou, até mesmo inviável, particularmente para o profissional que trabalha a campo. Ainda, considerando-se a distância entre os centros de treinamento e corrida em relação aos hospitais veterinários e laboratórios, torna-se praticamente inviável a realização imediata do exame.

A possibilidade de manutenção das amostras de sangue sob conservação a baixas temperaturas tem sido objeto de interesse de investigações científicas nas espécies bovina (JAGOS et al., 1977; POULSEN e SURYNEK, 1977; SZENCI e BESSER, 1990; SZENCI et al., 1991), equina (ASSAL e POULSEN, 1978; SZENCI et al., 1991), canina (HASKINS, 1977; ASSAL et al., 1978), suína (ASSAL, et al., 1980), ovina (LEAL, 2006) e caprina (LEAL, 2010). As conclusões demonstram não haver, no entanto, um consenso a respeito do intervalo de tempo dentro do qual as amostras podem manter a sua viabilidade.

Considerando a grande eficácia da hemogasometria para a determinação das alterações do equilíbrio ácido-básico metabólico, o presente trabalho teve como objetivo verificar alterações do estado ácido-básico metabólico de equinos antes e após atividade física

de intensidade máxima (corrida) através do exame hemogasométrico. Avaliou-se, ainda, a confiabilidade deste exame para o sangue armazenado a 4°C durante doze horas.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram utilizados quinze animais da raça Puro Sangue Inglês (onze machos e quatro fêmeas), clinicamente saudáveis, com idades entre dois e cinco anos, que participaram de provas com distâncias de 1.100 a 2.100 metros, no Jockey Club do Rio Grande do Sul.

De cada animal foram coletadas duas amostras de sangue venoso, mediante punção da veia jugular, através da coleta a vácuo, utilizando-se tubos plásticos contendo EDTA como anti-coagulante. As amostras foram divididas em dois grupos, Grupo I (GI) – pré-corrida e Grupo II (GII) – pós-corrida. As amostras de sete animais foram avaliadas imediatamente após a coleta, enquanto as amostras de oito animais foram mantidas sob-refrigeração a 4°C (dentro do refrigerador) durante doze horas antes de serem analisadas.

O sangue coletado foi analisado para verificar os valores de pH, pressões parciais de oxigênio ( $pO_2$ ) e de dióxido de carbono ( $pCO_2$ ), dióxido de carbono total ( $TCO_2$ ), bicarbonato ( $HCO_3$ ), excesso ou déficit de bases (BE), saturação de oxigênio ( $sO_2$ ) e lactato (Lac).

Foi utilizado um analisador automático de pH e gases sanguíneos (i-STAT®), que realiza testes para pH,  $pCO_2$ ,  $pO_2$  e Lac e, a partir da obtenção desses resultados, determina valores para  $HCO_3$ ,  $TCO_2$ , BE e  $sO_2$ .

Os resultados dos grupos foram comparados através da análise de variância. O Teste T de Student foi utilizado para uma comparação das médias das avaliações das amostras analisadas imediatamente ou doze horas após a coleta.

## **RESULTADOS**

Foram observadas diferenças estatísticas para todas as variáveis analisadas pré e pós-exercício, verificando-se valores significativamente menores para pH,  $pCO_2$ , BE,  $HCO_3$  e  $TCO_2$ , e valores significativamente maiores para  $sO_2$ ,  $pO_2$  e lactato nas amostras coletadas após a corrida em relação aos valores obtidos para as mesmas variáveis com os animais em repouso.

Verificou-se, também, diferença significativa entre os resultados obtidos imediatamente após a coleta em relação àqueles obtidos nas amostras refrigeradas para todas as variáveis analisadas, tanto com os animais em repouso como após o exercício, exceto para a  $p\text{CO}_2$  após o exercício. Os resultados estão expressos nas tabelas I e II.

Tabela 1: Médias dos valores encontrados para pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, BE, HCO<sub>3</sub>, TCO<sub>2</sub>, sO<sub>2</sub> e lactato no sangue coletado em repouso e após o exercício através da análise hemogasométrica

	Momento		p*
	Repouso	Pós-Exercício	
Ph	7,35	6,98	<0,01
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	53,13	34,17	<0,01
pO <sub>2</sub> (mmHg)	49,25	104,9	0,001
BE (mmol/L)	3,62	-23,26	<0,01
HCO <sub>3</sub> (mmol/L)	28,18	8,24	<0,01
TCO <sub>2</sub> (mmol/L)	30,75	9,26	<0,01
sO <sub>2</sub> (%)	79,31	88	0,013
Lactato (mmol/L)	0,694	24,24	<0,01

Fonte: Elaborado pelos autores.

\* nível mínimo de significância

Tabela 2: Médias ± Desvio-padrão dos valores encontrados para pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, BE, HCO<sub>3</sub>, TCO<sub>2</sub>, sO<sub>2</sub> e lactato no sangue coletado em repouso e após o exercício, verificados imediatamente após a coleta ou após 12 horas de refrigeração a 4°C

	Momento					
	Repouso		p*	Após exercício		p*
	Sem refrigeração	Com refrigeração		Sem refrigeração	Com refrigeração	
Ph	7,42 ± 0,01	7,28 ± 0,02	<0,001	7,03 ± 0,05	6,94 ± 0,05	0,006
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	46,40 ± 1,63	59,86 ± 2,39	<0,001	34,71 ± 3,03	33,7 ± 2,98	0,525
pO <sub>2</sub> (mmHg)	39,38 ± 6,35	59,13 ± 5,59	<0,001	65,86 ± 8,36	139,13 ± 70,54	0,022
BE (mmol/L)	6,00 ± 1,31	1,25 ± 1,28	<0,001	-21,57 ± 1,99	-24,75 ± 2,19	0,012
HCO <sub>3</sub> (mmol/L)	30,39 ± 1,15	27,98 ± 1,29	0,001	9,21 ± 1,19	7,39 ± 1,38	0,017
TCO <sub>2</sub> (mmol/L)	31,88 ± 1,13	29,63 ± 1,19	0,002	10,29 ± 1,11	8,38 ± 1,51	0,016
sO <sub>2</sub> (%)	73,38 ± 11,81	85,25 ± 3,11	0,016	81,00 ± 4,28	94,13 ± 3,94	<0,001
Lactato (mmol/L)	0,43 ± 0,22	0,96 ± 0,23	<0,001	27,46 ± 3,59	21,44 ± 4,99	0,020

Fonte: Elaborado pelos autores.

\* nível mínimo de significância do Teste T

## DISCUSSÃO

A diminuição do pH no exercício de intensidade máxima está relacionada, segundo VERVUERT et al (2002), SILVA (2006) e WATANABE et al (2006) ao aumento na concentração de  $H^+$  ocasionado pela predominância do metabolismo anaeróbio durante exercício de característica máxima.

Durante o exercício físico, uma vez superados 4 mmol/L de lactato no sangue, se atinge o limiar anaeróbico, definido como o maior  $VO_2$  que pode ser mantido durante um exercício prolongado sem acúmulo de ácido láctico no sangue (WASSERMAN,1990). Uma vez superado esse limiar, a principal fonte de fornecimento de fontes de alta energia (ATP) para a contração muscular é dependente, quase exclusivamente, do metabolismo anaeróbico. Simultaneamente ao aumento do lactato no sangue ocorre um aumento do  $CO_2$ , produto final, junto com a água, do metabolismo dos substratos energéticos, e uma redução das reservas de base, principalmente de  $HCO_3^-$ .

Conforme citado WASSERMAN (1990) o  $CO_2$  também aumenta como produto do acúmulo de ácido láctico produzido no músculo e neutralizado no sangue pelo  $HCO_3^-$ . Este último é transformado no sangue em lactato de sódio mais ácido carbônico, que é desdobrado a  $CO_2$ , água e hidrogênio. Para cada mmol de lactato acumulado são produzidos 22 mEq de  $CO_2$ . O aumento do  $CO_2$  estimula os neurônios dos quimiorreceptores centrais e periféricos, os quais produzem um aumento da ventilação para diminuir a concentração de  $CO_2$  no sangue arterial. Neste ponto, denominado limiar ventilatório, a ventilação deve aumentar de forma desproporcional em relação ao  $VO_2$ , permitindo a intervenção do aparelho respiratório na regulação do equilíbrio ácido-básico devido à sua rapidez na eliminação do  $CO_2$ , o que contribui para a manutenção do pH sanguíneo dentro de limites compatíveis com a vida.

Os maiores valores encontrados para  $pO_2$  e  $sO_2$  no sangue coletado após o exercício poderiam ser explicados pela presença da hipoxemia arterial induzida pelo exercício (HAIE). De acordo com BOFFI (2006), ainda não se conhece com exatidão qual a verdadeira causa desta condição. Alguns autores a atribuem à alta velocidade com a qual o eritrócito passa pelo capilar pulmonar equino, a qual não permitiria a realização da saturação completa da Hb pelo  $O_2$ , enquanto outros estudos sugerem que a principal causa da HAIE está associada a um aumento da diferença alvéolo-arterial de  $O_2$ , que pode passar de 4 mm Hg em repouso para valores superiores a 40 mm Hg durante um exercício intenso. Ainda, de acordo com o autor, o somatório de hipoxemia, hipercapnia e hipertermia, mais o incremento da acidose metabólica (lactato) e do 2,3 DPG (intraeritrocitário) produzem um desvio à direita da curva

de saturação da Hb, cursando com uma maior liberação de O<sub>2</sub> aos tecidos metabolicamente ativos.

Os processos metabólicos permanecem ativos durante o armazenamento *in vitro* e, portanto, uma queda nos valores do pH sanguíneo e do BE poderia ser atribuída à continuidade do metabolismo na forma de consumo de oxigênio com produção de dióxido de carbono no ciclo do ácido tricarboxílico (BOINK et al., 1991), ou ao acúmulo de ácido láctico como resultado da glicólise (SZENCI e BESSER, 1990). A velocidade na qual as reações *in vitro* se estabelecem no sangue venoso conservado varia de forma substancial entre as espécies obedecendo, em geral, a uma ordem decrescente para o cão, o equino, o suíno e o bovino (HASKINS, 1977; ASSAL et al., 1980; SZENCI et al., 1991), o que pode explicar a indicação de diferentes períodos de estocagem das amostras para diferentes espécies. Os leucócitos são os responsáveis pela maioria do metabolismo aeróbico no sangue (LISS e PAYNE, 1993; KEE et al., 2010), enquanto a glicólise anaeróbica é o processo metabólico predominante dos eritrócitos maduros (SZENCI e BESSER, 1990).

O efeito da temperatura e do armazenamento sobre as variáveis hemogasométricas e ácido-básicas foi avaliado durante 24 horas em bovinos (LISBOA, 2001; SZENCI, 1990;), ovinos (LEAL, 2006) e caprinos (LEAL, 2010), e durante 48 horas em ovinos (HUSSEIN, 2013) e bovinos (GOKCE, 2004), o que permitiu acompanhar diferentes modificações ao longo do tempo e a definir, de maneira mais precisa, os momentos a partir dos quais se estabelecem diferenças significativas dos resultados em relação a seus valores iniciais. No presente trabalho, em virtude da realização de uma única análise (após 12 horas) para as amostras refrigeradas, não foi possível estabelecer um “ponto de corte” a partir do qual os valores encontrados passam a ser significativamente diferentes dos iniciais, limitando sua aplicabilidade às amostras refrigeradas por doze horas.

Temperaturas mais altas de armazenamento resultam em alterações mais acentuadas e que ocorrem em intervalos menores de tempo, enquanto, conforme LISBOA (2001), a manutenção do material em temperaturas próximas a zero é capaz de retardar substancialmente as alterações ácido-básicas naturais esperadas, provavelmente em função da inibição do metabolismo eritrocitário.

Pesquisadores têm registrado que os valores da pCO<sub>2</sub> sanguínea *in vitro* variam dependendo do metabolismo aeróbico e anaeróbico (SZENCI e BESSER, 1990; BEAULIEU et al., 1999). Conforme descrito por BRITTO (2008), com o decorrer do tempo, os valores obtidos para pCO<sub>2</sub> e glicose no sangue refrigerado sofrem, respectivamente, aumento e

progressiva diminuição, corroborando com resultados obtidos por GOKCE (2004), YEN (1985) e LISBOA (2001).

O  $\text{HCO}_3$  representa o principal tampão do organismo e, diante da acidificação do meio, é consumido, o que poderia explicar a queda de suas concentrações no sangue refrigerado por 12 horas. O  $\text{HCO}_3$  representa aproximadamente 95% do  $\text{TCO}_2$  avaliado, enquanto o  $\text{CO}_2$  dissolvido no plasma (aproximadamente 5 %), representa a pressão parcial de  $\text{CO}_2$  ( $\text{pCO}_2$ ) (LEKEUX e ART, 1994). Uma vez que a estocagem do sangue a baixas temperaturas pode inativar a atividade da enzima anidrase carbônica, as reações das quais essa enzima participa não ocorrem, o que poderia, associado ao metabolismo aeróbico existente *in vitro*, explicar tanto um aumento nos valores da  $\text{pCO}_2$ , como uma queda nos valores do  $\text{TCO}_2$  nas amostras refrigeradas.

O provável consumo de oxigênio associado ao metabolismo aeróbico no sangue refrigerado não resultou em queda nos valores da  $\text{pO}_2$ , que apresentam um pequeno aumento durante a estocagem. Conforme descrito por SZENCI e BESSER (1991) o oxigênio liberado pela Hb como consequência da queda do pH (efeito Bohr) possivelmente neutraliza a perda de oxigênio associada ao metabolismo aeróbico, resultando em discretas alterações na  $\text{pO}_2$ .

No caso de amostras armazenadas ao longo do tempo, o tipo de seringa utilizada para coleta (MAHONEY et al., 1991; BEAULIEU et al., 1999) e o metabolismo aeróbico dos leucócitos (POULSEN e SURYNEK, 1977; HASKINS, 1977) no sangue têm sido determinantes para influenciar alterações nos valores da  $\text{pO}_2$ .

De acordo com NOËL et al. (2010), a coleta de sangue de equinos a vácuo em tubos plásticos heparinizados pode não ser um método de coleta ideal, devido à entrada de  $\text{O}_2$  atmosférico através da parede plástica permeável dos tubos e da perda de  $\text{CO}_2$  para a fase gasosa acima da amostra de sangue, aumentando a  $\text{pO}_2$  e diminuindo a  $\text{pCO}_2$ , respectivamente. Segundo o autor, os tubos para coleta a vácuo fornecem um método seguro para avaliação da concentração do bicarbonato plasmático, da concentração total de  $\text{CO}_2$  e do excesso de bases.

O método de pré-análise considerado ideal para avaliação dos gases sanguíneos é a coleta anaeróbica e o armazenamento do sangue em seringas de vidro colocadas na água gelada (ANON, 2009), uma vez que o armazenamento a baixas temperaturas diminui a taxa do metabolismo de leucócitos, trombócitos e eritrócitos, e devido ao vidro possuir uma permeabilidade muito baixa ao oxigênio e ao dióxido de carbono (MAHONEY et al., 1991; MULLER-PLATHE e HEYDUKC, 1992), diminuindo, dessa forma, possíveis alterações pós-coleta nos valores de pH,  $\text{pCO}_2$  e  $\text{pO}_2$ .

Apesar das vantagens da utilização das seringas de vidro, existe um contínuo interesse em desenvolver métodos alternativos para a coleta e o armazenamento das amostras sanguíneas, em virtude das seringas de vidro serem caras, precisarem de esterilização antes da utilização, quebrarem facilmente e não estarem amplamente disponíveis. Além disso, as seringas de vidro requerem revestimento interno com heparina líquida, o que pode diluir a amostra de sangue e alterar os valores encontrados para pH,  $p\text{CO}_2$  e  $p\text{O}_2$  alterando, assim, os valores calculados para  $\text{HCO}_3$ ,  $\text{TCO}_2$  e BE (HOPPER et al., 2005).

Conforme citado por KNOWLES et al. (2006) acredita-se que o resfriamento aumente o tamanho dos poros do plástico em uma escala nanomolar aumentando, dessa forma, a taxa de entrada de oxigênio baseada no seu gradiente de pressão parcial. Um menor aumento relativo na  $p\text{O}_2$  seria esperado quando amostras de sangue venoso são coletadas em tubos de plástico uma vez que a hemoglobina se liga ao oxigênio exógeno como oxihemoglobina (MAHONEY et al., 1991), o que poderia, nesse estudo, explicar os maiores valores obtidos para  $s\text{O}_2$  nas amostras refrigeradas.

Entre as vantagens da utilização de tubos vacutainer para a análise de gases sanguíneos estão a ampla distribuição dos tubos, seu baixo custo, a familiaridade com seu uso e a facilidade da coleta da amostra (HOPPER et al., 2005).

Os maiores valores encontrados para o lactato no sangue coletado com os animais em repouso mantido sob refrigeração poderiam ser explicados pelo metabolismo anaeróbico in vitro. No sangue coletado após o exercício, por sua vez, existe um aumento considerável do lactato sanguíneo como resultado da produção muscular, o qual foi observado em todas as amostras analisadas. Considerando a existência de permeabilidade da membrana eritrocitária ao lactato, uma possível justificativa para os menores valores verificados no sangue refrigerado, seria a difusão ativa por transportadores de parede celular como os transportadores de monocarboxilato (MCTs).

Os resultados verificados nesse trabalho sugerem que, devido à presença de diferença significativa entre os resultados obtidos imediatamente após a coleta em relação àqueles verificados após 12 horas de refrigeração para praticamente todas as variáveis analisadas, o exame hemogasométrico do sangue venoso de equinos realizado doze horas após a coleta não deve ser utilizado, por não representar uma maneira segura de avaliar os dados em questão. O exercício altera valores e não há referência quanto a estas diferenças disponíveis

## CONCLUSÃO

O exercício de intensidade máxima (corrida) cursa com alterações significativas para todos os parâmetros avaliados através da hemogasometria, refletindo a ocorrência de importantes reações metabólicas e fisiológicas desencadeadas por essa atividade.

O resfriamento de amostras de sangue venoso equino por doze horas resulta em diferenças significativas nos valores observados para a análise de pH, pCO<sub>2</sub>, TCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE, pO<sub>2</sub>, sO<sub>2</sub> e Lac em relação aos obtidos com a análise realizada imediatamente após a coleta.

## REFERÊNCIAS ARTIGO

ASSAL, A. N.; POUSEN, J. S. D. Acid-base status of equine blood during storage. **Nordisk Veterinaermedicin**, v.30, n.9, p.354-363, 1978.

ASSAL, A.N.; Christiansen, I. J.; POULSEN, J.S.D. Acid-base status of porcine blood during storage. **Nord. Vet. Med.**, v.32, n. 1, p. 9-16. 1980.

ASSAL, A.N.; ARNBJERB, J.; POULSEN, J.S.D. Acid-base status of canine blood during storage. **Nord. Vet. Med.**, v.30, n. 9, p. 345-353, 1978.

BRITTO et al., Efeitos da estocagem sanguínea em gelo na bioquímica e gasometria arterial de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, vol. 23 (5) 2008, p 462-468.

COLES, E.H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984, 566p.

DEMPSEY, J. A.; WAGNER, P. D. Exercise-induced arterial hypoxemia. **Journal of Applied Physiology**, v.87, p.1997-2006, 1999.

ERCK et al. Evaluation of oxygen consumption during field exercise tests in Standardbred trotters. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v.4, p. 43-49, 2007.

HARMS, C. A. et al. Effect of exercise-induced arterial O<sub>2</sub> desaturation on VO<sub>2</sub> max in women. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.32, p.1101-1108, 2000.

HASKINS, S. C. Sampling and storage of blood for pH and blood gas analysis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.170, n.4, p.429-433, 1977.

HOPKINS, S. R. The lung at maximal exercise and comparative physiology. **Clinics in Chest Medicine**, v.26, p.459-468, 2005.

JAGOS, P.; BOUDA, J.; PRIKRYLOVA. J. The dynamics of the acid-base changes of bovine venous blood in vitro, as depending on time. **Veterinární Medicina**, v. 22, n.5, p. 257-262, 1977.

KEE, J.L., PAULANKA, B.J. and POLEK, C. 2010. Handbook of fluid, electrolytes, and acid-base imbalances. 3<sup>rd</sup> ed., Delmar, Cengage Learning, USA, pp: 127-152.

KNOWLES, T.P., MULLIN, R., HUNTER, J., Effects of syringe material, sample storage time, and temperature on blood gases and oxygen saturation in arterialized human blood samples. **Respir. Care** , 51, 732-736, 2006.

LEAL, M. L. R. et al. Efeito da refrigeração sobre o exame hemogasométrico em sangue venoso de ovinos. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.43, p.80-85, 2006. Suplemento.

LEAL, M. L. R. et. al. Influence of refrigeration on blood gas analysis of caprine venous blood. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.47, n.2, p.105-110, 2010.

LINDNER, A.; SIGNORINI, R.; BRERO, L.; ARN. E.; MANCINI. R.; ENRIQUE, A. Effect of conditioning horses with short intervals at high speed on biochemical variables in blood. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, v. 36, p. 88-92, 2006.

LISBÔA, J. A. N. et al. Tempo de viabilidade de amostras de sangue venoso bovino destinadas ao exame hemogasométrico, quando mantidas em sob conservação em água gelada. **Ciência Rural**, v.31, n.2, p.271-276, 2001.

POWERS, S. K. et al. Effects of incomplete pulmonary gas exchange on VO<sub>2</sub> max. **Journal of Applied Physiology**, v.66, p.2491-2495, 1989.

SILVA, M. A. G. **Hemogasometria e variáveis do sangue venoso de equinos submetidos a exercício em esteira e a campo**. 2006. 65f. Dissertação (Mestrado Medicina Veterinária – Clínica Médica Veterinária) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Jaboticabal, 2006.

SUCUPIRA, M. C. A.; ORTOLANI, E. L. Uso do sangue arterial e venoso no exame do equilíbrio ácido-básico de novilhos normais ou com acidose metabólica. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.789-992, 2003.

SZENCI, O.; BESSER, T. Changes in blood gas and acid-base values of bovine venous blood during storage. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.197, p.471-474, 1990.

SZENCI, O.; BRYDL, E.; BAJCSY, C. A. Effect of storage on measurement of ionized calcium and acid-base variabls in equine, bovine, ovine, and canine venous blood. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.199, n.9, p.1167-1169, 1991.

VERVUERT, I.; COENEN, M.; WEDEMEYER, U.; CHROBOK, C.; HARMEYER, J.; SPORLEDER, H. P. Calcium homeostasis and intact plasma parathyroid hormone during exercise and training in young Standardbred horses. **Equine Veterinary Journal**, London, v.34, n. 7, p. 713-718, 2002.

WATANABE, M. J.; THOMASSIAN, A.; TEIXEIRA-NETO, F. J.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; NICOLETTI, J. L. M. Alterações do pH<sub>j</sub>, da pO<sub>2</sub> e da pCO<sub>2</sub> arteriais e da

concentração de lactato sanguíneo de cavalos da raça árabe durante exercício em esteira de alta velocidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecina**, Belo Horizonte, v. 58, p. 320-326, 2006.

## REFERÊNCIAS

- ANON. **Blood Gas and Ph Analysis and Related Measurements; Approved Guidelines**, 2. ed., CLSI document C46-A2. Clinical and Laboratory Standards, 2009.
- ASSAL, A. N.; POUSEN, J. S. D. Acid-base status of equine blood during storage. **Nordisk Veterinaermedicin**, v.30, n.9, p.354-363, 1978.
- ASSAL, A.N.; Christiansen, I. J.; POULSEN, J.S.D. Acid-base status of porcine blood during storage. **Nord. Vet. Med.**, v.32, n. 1, p. 9-16. 1980.
- ASSAL, A.N.; ARNBJERB, J.; POULSEN, J.S.D. Acid-base status of canine blood during storage. **Nord. Vet. Med.**, v.30, n. 9, p. 345-353, 1978.
- BEAULIEU, M., Lapointe, Y. and Vinet, B. 1999. Stability of pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub> and pH in fresh blood samples stored in a plastic syringe with low heparin in relation to various blood-gas and haematological parameters. *Clin. Biochem.* 32, 101-107.
- BERGERO, D.; ASSENZA, A.; CAOLA, G. Contribution to our knowledge of the physiology and metabolism of endurance horses. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.92, p.167-176, 2005.
- BOFFI, F. M. **Fisiologia del ejercicio equinos**. 1. ed. Buenos Aires: Inter-Médica editorial, 2006. 320 p.
- BOINK, A.B., Buckley, B.M., Christiansen, T.F., Covington, A.K., Mass, A.H., Muller-Plathe, O., Sachs, C. and Siggaard-Andersen, O.1991. Recommendation on sampling, transport and storage for the determination of the concentration of ionized calcium in whole blood, plasma and serum. **Ann. Biol. Clin.** 49, 434-438.
- CARLSON, G. P. Fluid, electrolyte, and acid-base balance. In: KANEKO, J. J.; HAENEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5. ed. San Diego : Academic Press, 1997. p.485-516.
- COLES, E.H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984, 566p.
- CONSTABLE, P. D. A simplified strong ion model for acid-base equilibrium: application to horse plasma. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.83, p.297-311, 1997.
- CUNNINGHAM, J. G. Equilíbrio ácido-básico. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.436-442.
- DAY, T. K. Blood gas analysis. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, Philadelphia, v.32, p.1031-1048, 2002.
- DEMPSEY, J. A.; WAGNER, P. D. Exercise-induced arterial hypoxemia. **Journal of Applied Physiology**, v.87, p.1997-1999, 2006.

DERMAN, K.D.; NOAKES, T.D. Comparative aspects of exercise physiology. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The Athletic Horse**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. p.15-25.

ELIAS, D.O.; FAGUNDES, F.; SOUZA, M.H.L. **Fundamentos do equilíbrio ácido-base**, 2006 Disponível em: <http://perflin.com/cursos/cursos/acbas/acbas.htm> (acesso em 25/10/2012)

ERCK et al. Evaluation of oxygen consumption during field exercise tests in Standardbred trotters. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v.4, p. 43-49, 2007.

ERICKSON, H. H. Respiração e exercício. In: SWENSON, M. J.; REECE, O. W. **Dukes Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.227-296.

ETO, D.; HADA, T.; KUSANO, K.; KAI, M.; KUSUNOSE, R. Effects of three kinds of severe repeated exercises on blood lactate concentrations in Thoroughbred horses in a treadmill. **Journal of Equine Science**, Tokyo, v.15, p.61-65, 2004.

EVANS, D. L. Training and Fitness in Athletic Horses. **Rural Industries Research and Development Corporation**, Sydney, p.1-64, 2000.

FENGER, C. K.; McKEEVER, K. H.; HINCHCLIFF, K. W.; KOHN, C. W. Determinants of oxygen delivery and hemoglobin saturation during incremental exercise in horses. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.61, p.1325-1332, 2000.

FERRAZ, G. C. **Avaliação da suplementação crônica com creatina sobre o desempenho atlético de equinos**. 2003. 65 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

GOKCE, G.; CITIL, M.; GUNES, V.; ATALAN, G. Effect of time delay and storage temperature on blood gas acid-base values of bovine venous blood. **Research in Veterinary Science**, London, v.76, p.121-127, 2004.

GOMIDE, L. M. W. **Desenvolvimento de um programa de treinamento para equinos de enduro com base na curva velocidade-lactato**. 2006. 58 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Os compartimentos líquidos corporais: líquido extracelular, intracelular e edema. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.250-264.

HAMLIN, M. J.; SHEARMON, J. P.; HOPKINS, W. G. Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**, London, v.34, (Suppl.), p.383-388, 2002.

HARMS, C. A. et al. Effect of exercise-induced arterial O<sub>2</sub> desaturation on VO<sub>2</sub> max in women. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.32, p.1101-1108, 2000.

HASKINS, S. C. Sampling and storage of blood for pH and blood gas analysis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.170, n.4, p.429-433, 1977.

HINCHCLIFF, K. W.; LAUDERDALE, M. A.; DUTSON, J.; GEOR, R. J.; LACOMBE, V. A.; TAYLOR, L. E. High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses. **Equine Veterinary Journal**, London, v.34 (Suppl.), p.09-16, 2002.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. 1. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994. p.245-258.

HOLCOMBE, S.J. Pulmonary function in Racehorses. In: **Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, 8., 2006, Rome. Proceedings... Rome, 2006. p.19-21.

HOLLMAN, W. Historical remarks on the development of the aerobic-anaerobic threshold up to 1966. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.6, p.109-116, 1985.

HOPKINS, S. R. The lung at maximal exercise and comparative physiology. **Clinics in Chest Medicine**, v.26, p.459-468, 2005.

HOPPER, K., REZENDE, M.L. AND HASKINS, S.C. Assessment of the effect of dilution of blood samples with sodium heparin on blood gas, electrolyte, and lactate measurements in dogs. **Am. J. vet. Res.** 66, 656-660, 2005.

HOUPT, T. R. Equilíbrio Ácido-básico. In: REECE, W. O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2006. c.9, p.147-160.

HUSSEIN, H. A.; AAMER, A. A. Influence of different storage times and temperatures on blood gas and acid-base balance in ovine venous blood. **Open Veterinary Journal**, v.3, p.1-7, 2013.

JAGOS, P.; BOUDA, J.; PRIKRYLOVA. J. The dynamics of the acid-base changes of bovine venous blood in vitro, as depending on time. **Veterinární Medicina**, v. 22, n.5, p. 257-262, 1977.

KATZ, L.M. et al. **Ventilatory responses of ponies and horses to exercise**. Equine and Comparative Exercise Physiology, Cambridge, v.2, n.4, p. 229-240, 2005.

KEE, J.L., PAULANKA, B.J. and POLEK, C. 2010. Handbook of fluid, electrolytes, and acid-base imbalances. 3<sup>rd</sup> ed., Delmar, Cengage Learning, USA, pp: 127-152.

KNOWLES, T.P., MULLIN, R., HUNTER, J., Effects of syringe material, sample storage time, and temperature on blood gases and oxygen saturation in arterialized human blood samples. **Respir. Care** , 51, 732-736, 2006.

LACERDA-NETO, J. C. Respostas orgânicas durante o exercício físico. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE EQUINOS, 1., 2004, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2004. p.45-62.

- LEAL, M. L. R. et al. Efeito da refrigeração sobre o exame hemogasométrico em sangue venoso de ovinos. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.43, p.80-85, 2006. Suplemento.
- LEAL, M. L. R. et. al. Influence of refrigeration on blood gas analysis of caprine venous blood. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.47, n.2, p.105-110, 2010.
- LEKEUX, P.; ART, T. The respiratory system: anatomy, physiology, and adaptations to exercise and training. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994. c.6, p.81-127.
- LINDHOLM, A.; SALTIN, B. The physiological and biochemical response of Standardbred horses to exercise of varying speed and duration. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v.15, p.310-324, 1974.
- LINDINGER, M. I. Acid-base physiology during exercise and in response to training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders, p.872-897, 2004.
- LINDNER, A. V4 allows distinguish better the performance level of Standardbred horses than V200. In: CONFERENCE OF EQUINE SPORTS MEDICINE SCIENCE, 1998, Cordoba. **Proceedings...** Cordoba: CESMAS, 1998, p.251-253.
- LINDNER, A.; SIGNORINI, R.; BRERO, L.; ARN. E.; MANCINI. R.; ENRIQUE, A. Effect of conditioning horses with short intervals at high speed on biochemical variables in blood. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, v. 36, p. 88-92, 2006.
- LISBÔA, J. A. N. et al. Tempo de viabilidade de amostras de sangue venoso bovino destinadas ao exame hemogasométrico, quando mantidas em sob conservação em água gelada. **Ciência Rural**, v.31, n.2, p.271-276, 2001.
- LISS, H.P. and Payne, C.P. 1993. Stability of blood gases in ice and at room temperature. *Chest* 103, 11120-1122.
- MAHONEY, J. J. et al. Changes in oxygen measurements when whole blood is stored in iced plastic or glass syringes. **Clin. Chem.**, v.37, p.1244-1248, 1991.
- MAHONEY, J.J., HARVEY, J. WONG, R. Changes in oxygen measurements when whole blood is stored in iced plastic or glass syringes. **Clin. Chem.** 37, 1991
- MARLIN, D.; NANKERVIS, K. **Equine exercise physiology**. 1. ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2002. 304 p.
- MULLER-PLATHE, O. AND HEYDUCK, S. Stability of blood gases, electrolytes and haemoglobin in heparinized whole blood samples: influence of the type of syringe. **Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.** 30, 349-355. 1992.

NAYLOR, J. R.; BAYLY, W. M.; SCHOTT II, H. C.; GOLLNICK, P. D.; HODGSON, D. R. Equine plasma and blood volumes decrease with dehydration but subsequently increase with exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.75, p.1002-1008, 1993.

NOËL, P. G. , COUËTIL L. , CONSTABLE, P. D. Effects of collecting blood into plastic heparinised vacutainer tubes and storage conditions on blood gas analysis values in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, s.38. 91-97, 2010.

NYMAN, G.; BJORK, M.; FUNKQUIST, P.; PERSSON, S. G. B.; WAGNER, P. D. Ventilation-perfusion relationship during graded exercise in the Standardbred trotter. **Equine Veterinary Journal**, London, v.18 (Suppl), p.63-69, 1995.

OHMURA, H.; HIRAGA, A.; MATSUI, A.; AINDA, H.; INOUE, Y.; SAKAMOTO, K.; TOMITA, M.; ASAI, Y. Changes in running velocity at heart rate 200 beats/min (V200) in young Thoroughbred horses undergoing conventional endurance training. **Equine Veterinary Journal**, London, v.34, p.634-635, 2002.

PERES, P. **Hemoglobina**: Proteína transportadora de oxigênio. 2004. Disponível em: <<http://www.biocristalografia.df.ibilce.unesp.br>> Acesso em: 25 jan. 2012.

POOLE, D. C.; ERICKSON, H. H. Heart and vessels: function during exercise and response to training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders, 2004. p.699-727.

POULSEN, J.S.D. and Surynek, J. 1977. Acid-basestatus of cattle blood. *Nord. Vet. Med.* 29, 271-283.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. Teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. In: \_\_\_\_\_. **Fisiologia do Exercício**. 3. ed. São Paulo: Editora Manole, 2000. 527 p.

POWERS, S. K. et al. Effects of incomplete pulmonary gas exchange on VO<sub>2</sub> max. **Journal of Applied Physiology**, v.66, p.2491-2495, 1989.

PRINCE, A.; GEOR, R.; HARRIS, A.; HOESKSTRA, K.; GARDNER, S.; HUDSON, C.; PAGAN, J. Comparison of the metabolic response of trained Arabians and Thoroughbreds during high-and-low-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal**, London, v.34, p.95-99, 2002.

REECE, W. O. Água e eletrólitos. In: SWENSON, M. J. REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.01-18.

REGATIERI, F. L. F. (2003). **Anestesiologia**. Disponível em: <[www.anestesiologia.com.br](http://www.anestesiologia.com.br)> Acesso em: 06 fev. 2012.

SCHOTT II, H. C.; HINCHCLIFF, K. W. Fluids, electrolytes, and bicarbonate. **The Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, Philadelphia, v.9, p.577-604, 1993.

SILVA, L.Q.P. **Fisiologia do exercício no cavalo atleta**. 50 f. Monografia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. 2005.

SILVA, M. A. G. **Hemogasometria e variáveis do sangue venoso de equinos submetidos a exercício em esteira e a campo**. 2006. 65f. Dissertação (Mestrado Medicina Veterinária – Clínica Médica Veterinária) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Jaboticabal, 2006.

SILVERMAN, S. C.; BIRKS, E. K. Evaluation of the i-STAT hand-held chemical analyser during treadmill and endurance exercise. **Equine Veterinary Journal**, Newmarket, v.34, p.551-554, 2002.

SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M. M.; WENSING, T.; BARNEVELD, A.; BREUKINK, H. J. Heart rate, blood biochemistry and performance of horses competing in a 100 km endurance ride. **Veterinary Record**, London, v.23, p.175-179, 1991.

SNOW, D. H.; HARRIS, R. C.; GASH, S. Metabolic response of equine muscle to intermittent maximal exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.58, p.1689-1693, 1975.

STEWART, P. A. Modern quantitative acid-base chemistry. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, v. 61, p. 1444-1461, 1983

SUCUPIRA, M. C. A.; ORTOLANI, L. P. Uso de sangue arterial e venoso no exame do equilíbrio ácido-básico de novilhos normais ou com acidose metabólica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, p.863-868, 2003.

SUCUPIRA, M. C. A.; ORTOLANI, E. L. Uso do sangue arterial e venoso no exame do equilíbrio ácido-básico de novilhos normais ou com acidose metabólica. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.789-992, 2003.

SZENCI, O.; BESSER, T. Changes in blood gas and acid–base values of bovine venous blood during storage. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.197, p.471-474, 1990.

SZENCI, O.; BRYDL, E.; BAJCSY, C. A. Effect of storage on measurement of ionized calcium and acid–base variables in equine, bovine, ovine, and canine venous blood. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.199, p.1167-1169, 1991.

TERZY, R. G. G. Transporte de oxigênio. In \_\_\_\_ **Equilíbrio Ácido-Básico e Transporte de Oxigênio**. São Paulo: Editora Manole Ltda., 1992. c.5, p.142-179.

TYLER-McGOWAN, C. M.; GOLLAND, L. C.; EVANS, D. L.; HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Haematological and biochemical responses to training and overtraining. **Equine Veterinary Journal**, London, v.30 (Suppl.), p.621-625, 1999.

VERVUERT, I.; COENEN, M.; WEDEMEYER, U.; CHROBOK, C.; HARMEYER, J.; SPORLEDER, H. P. Calcium homeostasis and intact plasma parathyroid hormone during

exercise and training in young Standardbred horses. **Equine Veterinary Journal**, London, v.34, n. 7, p. 713-718, 2002.

WAGNER, P. D.; GILLESPIE, J. R.; LANDSGRENN, G. L.; FEDDE, M. R.; JONES, B. W.; DeBOWES, M.; PIESCHL, R. L.; ERICKSON, H. H. Mechanism of exercise-induced hypoxemia in horses. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.66, p.1227-1233, 1989.

WATANABE, M. J.; THOMASSIAN, A.; TEIXEIRA-NETO, F. J.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; NICOLETTI, J. L. M. Alterações do pH<sub>j</sub>, da pO<sub>2</sub> e da pCO<sub>2</sub> arteriais e da concentração de lactato sanguíneo de cavalos da raça árabe durante exercício em esteira de alta velocidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecina**, Belo Horizonte, v. 58, p. 320-326, 2006.

WILKINS, P. A.; GLEED, R. D.; KRIVITSKI, N. M.; DOBSON, A. Extravascular lung water in the exercising horse. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.91, p.2442-2450, 2001.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. Metabolismo e sistema energéticos básicos. In: \_\_\_\_\_. **Fisiologia do esporte e do exercício**. São Paulo: Editora Manole Ltda., 2001. c.4, p.116-154.

YEN CC, Vragas FA, Cukier A, Terra FFilho M, Romeiro Neto M. Influênciada estocagem do sangue arterial nas dosagens gasométricas. *Rev Bras Clin Ter.* 1985; 14 (8): 271-4.

