

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**BÁRBARA RIBEIRO DUARTE**

**INFLUÊNCIA DO JEJUM SOBRE PARÂMETROS  
HEMATOLOGICOS, BIOQUIMICOS E MARCADORES DE  
ESTRESSE EM EQUINOS**

**Campos dos Goytacazes**

**Abril– 2019**

**BÁRBARA RIBEIRO DUARTE**

**INFLUÊNCIA DO JEJUM SOBRE PARÂMETROS  
HEMATOLOGICOS, BIOQUIMICOS E MARCADORES DE  
ESTRESSE EM EQUINOS**

**Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Ciência Animal, na área de concentração de Produção, Reprodução e Saúde Animal.**

**Campos dos Goytacazes**

**Abril de 2019**

**BÁRBARA RIBEIRO DUARTE**

**INFLUÊNCIA DO JEJUM SOBRE PARÂMETROS  
HEMATOLOGICOS, BIOQUIMICOS E MARCADORES DE  
ESTRESSE EM EQUINOS**

**Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Ciência Animal, na área de concentração de Produção, Reprodução e Saúde Animal.**

**Aprovada em 1 de Abril de 2019**

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. José Dantas Ribeiro Filho (Doutor Ciência Animal) - UFV

---

Prof. Antonio Peixoto Albernaz (Doutor Produção Animal)- UENF

---

Prof. Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho (Doutor Patologia) – UENF

---

Prof<sup>a</sup>. Paula Alessandra Di Filippo (Doutora Cirurgia Veterinária)- UENF

---

(Orientadora)

## AGREDECIMENTOS

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Paula Alessandra Di Filippo pela orientação para a execução deste trabalho. Que possibilitou aprendizagem e crescimento científico.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Célia Raquel Quirino por toda contribuição científica e paciência.

Ao professor Antonio Peixoto Albernaz, pela total disponibilização do laboratório de Patologia Clínica, e confiança em mim depositada.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) e ao programa de pós-graduação, em especial à Jovana Ferraz Cerqueira Campos, por toda a dedicação e conselhos.

À equipe que auxiliaram no desenvolvimento desta pesquisa: Laura Ney, Luiza Feitosa, Larissa Carvalho, Raiany Resende Natália Méscolin, Verônica Mendes, Roberto Gonçalves e Gabriel Carvalho. Obrigada pela amizade, disponibilidade, comprometimento, dedicação e seriedade.

À minha família e amigos por todo apoio.

Ao meu filho Eduardo pelo amor!

O presente trabalho foi realizado com apoio de coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

Com o objetivo de avaliar e comparar as alterações clínicas e hematológicas de equinos submetidos à restrição alimentar máxima de 48 horas, 32 animais foram distribuídos em dois grupos, controle (CONT) e restrição alimentar (RA). Foi realizada avaliação dos parâmetros clínicos antes do início do jejum (M0) e a cada seis horas de jejum (M1- 6 horas; M2- 12 horas; M3- 18 horas; M4- 24 horas; M5- 30 horas; M6- 36 horas; M7- 42 horas e M8- 48 horas). Amostras de sangue foram colhidas por venopunção jugular nos mesmos momentos para realização do hemograma, bioquímica e proteinograma sérico. Foi utilizado o programa estatístico (Proc UNIVARIATE, PROC MEANS, SAS, 2016) para verificação do nível de significância entre grupos e entre momentos para  $P < 0,05$ . Na avaliação física a motilidade intestinal (MI) e a temperatura retal (TR) do grupo RA apresentaram diminuição de média em relação ao momento basal e em relação ao grupo CONT. A hematimetria não sofreu efeito do tratamento. Porém a contagem global e diferencial de leucócitos (eosinófilos, linfócitos, neutrófilos e monócitos), foram influenciados pela restrição alimentar. As variáveis bioquímicas: ureia, triglicerídeos, colesterol total e albumina apresentaram elevação em relação ao momento basal no grupo RA, enquanto a creatinina sofreu redução na concentração. O Aspartato aminotransferase (AST) do grupo RA aumentou em relação ao grupo CONT. As concentrações de proteína total (PT), gama glutamil transferase (GGT) e das proteínas de fase aguda não sofreram efeito do tratamento. Parâmetros físicos hematológicos e bioquímicos de equinos são influenciados pela restrição alimentar associados às adequações metabólicas adaptativas. Valores de triglicerídeos e colesterol podem estar acima do intervalo de referência para a espécie equina em resposta à restrição alimentar, destacando a importância de correlacionar os resultados de tais variáveis ao estado nutricional.

**Palavras-chave:** cavalo, jejum, patologia clínica

## ABSTRACT

In order to evaluate and compare the clinical and hematological alterations of equines submitted to the maximum feed deprivation of 48 hours, 32 animals were distributed in two groups, control (CONT) and feed deprivation (FD). The clinical parameters were evaluated before the start of fasting (M0) and every six hours of fasting (M1-6 hours, M2-12 hours, M3-18 hours, M4-24 hours, M5-30 hours, M6- 36 hours, M7-42 hours and M8-48 hours). Blood samples were collected by jugular venipuncture at the same time points for blood counts, biochemistry and serum proteinogram. The statistical program (Proc UNIVARIATE, PROC MEANS, SAS, 2016) was used to verify the level of significance between groups and between moments for  $P < 0.05$ . In the physical evaluation, the intestinal motility (IM) and the rectal temperature (RT) of the FD group decrease in average to the baseline and in relation to the CONT group. Hematimetry was not affected by the treatment. However, global and differential counts of leukocytes (eosinophils, lymphocytes, neutrophils and monocytes) were influenced by dietary restriction. The biochemical variables: urea, triglycerides, total cholesterol and albumin increased relative to the basal moment in the RA group, while the creatinine decreased in concentration. Aspartate aminotransferase (AST) from the RA group increased compared to the CONT group. The concentrations of total protein (PT), gamma glutamyl transferase (GGT) and of the acute phase proteins did not undergo treatment effect. Hematological and biochemical physical parameters of equines are influenced by dietary restriction associated with metabolic adaptations. Triglyceride and cholesterol values may be above the reference range for the equine species in response to dietary restriction, emphasizing the importance of correlating the results of such variables to nutritional status.

**Key words:** horse, fasting, clinical pathology

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	12
2.	OBJETIVOS .....	13
2.1.	Objetivos gerais .....	13
2.2.	Objetivos específicos .....	13
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1.	Comportamento alimentar .....	14
3.2.	Manejo Alimentar .....	15
3.3.	Jejum .....	16
3.4.	Estresse.....	19
3.5.	Parâmetros Físicos .....	20
3.6.	Hemograma .....	21
3.6.1.	Eritrograma.....	22
3.6.2.	Leucograma .....	23
3.7.	Dosagens Bioquímicas.....	24
3.7.1.	<i>Glicose</i> .....	24
3.7.2.	<i>Ureia</i> .....	25
3.7.3.	<i>Creatinina</i> .....	25
3.7.4.	<i>Enzimas Hepáticas</i> .....	25
3.7.5-	Lipidograma .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.7.6-	Proteína Total e Albumina.....	27
4.9	Proteínas de Fase Aguda (PFA) .....	28
	REFERÊNCIAS .....	29
	CAPITULO 1 – EFEITO DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE PARÂMETROS, FÍSICOS, HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE EQUINOS. ....	37

1.1.	INTRODUÇÃO .....	39
1.2.	MATERIAL E MÉTODOS .....	40
1.2.1.	Comissão de Ética .....	40
1.2.2.	Amostragem.....	40
1.2.3.	Delineamento experimental.....	40
1.2.4.	Coleta de Amostras e Dados .....	41
1.2.5.	Processamento das amostras.....	42
1.2.6.	Análise Estatística.....	43
1.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	44
1.3.1.	Parâmetros físicos .....	44
1.3.2.	Hemograma .....	47
1.3.3.	Análises Bioquímicas .....	52
1.4.	CONCLUSÃO.....	63
	REFERÊNCIAS .....	64
	CAPÍTULO 2 – RESPOSTA DE FASE AGUDA À RESTRIÇÃO ALIMENTAR EM EQUINOS.....	68
	2.1 – INTRODUÇÃO .....	70
2.2.	MATERIAL E METODOS .....	71
2.2.1.	Comissão de Ética .....	71
2.2.2.	Amostragem.....	71
2.2.3.	Delineamento experimental.....	71
2.2.4.	Coleta de Amostras.....	72
2.2.5.	Processamento das amostras.....	73
2.2.6.	Análise Estatística.....	73
2.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
2.4-	CONCLUSÃO.....	78
	REFEFÊNCIAS .....	79

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Médias da pontuação de escore da Motilidade Intestinal, no grupo Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT), em diferentes momentos de avaliação. .... 46
- Figura 2:** Histograma e valores de média das concentrações séricas de Triglicerídeos em mg/dl de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação. .... 55
- Figura 3:** Histograma contendo valores de média das concentrações séricas de Ureia em mg/dl de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação. .... 58
- Figura 4:** Médias e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de  $\alpha$ 1 antitripsina de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT). .... 76

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Médias e respectivos desvios-padrão da avaliação física de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) incluindo: Frequência Cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR), Temperatura Retal (TR), Tempo de Preenchimento Capilar (TPC) e Motilidade Intestinal (MI) em diferentes momentos de avaliação..... 44

**Tabela 3:** Médias e respectivos desvios-padrão da contagem de Hemácias (RBC), Volume Gobular (HCT), Hemoglobina (HGB), Volume Corpuscular Médio (VCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação. .... 48

**Tabela 4:** Médias e respectivos desvios-padrão da contagem de leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ), eosinófilos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), linfócitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) e monócitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação. .... 50

**Tabela 5:** Médias e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de triglicerídeos, colesterol total e glicose em mg/dl de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação. .... 53

**Tabela 6:** Médias e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de Ureia e Creatinina expressas em mg/dl de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação..... 57

**Tabela 7:** Médias e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de Proteína Total e Albumina expressas em mg/dl de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação..... 60

**Tabela 8:** Médias e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de AST e GGT expressas em UI/L de equinos no grupo com Restrição

Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação..... 61

**Tabela 9:** Médias e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de  $\alpha$ 2- macroglobulina ( $\alpha$ 2-MG), ceruloplasmina (CP), transferrina (TF),  $\alpha$ 1-antitripsina ( $\alpha$ 1-AT), IGG de cadeia pesada (IGG-CP), haptoglobina (HG), glicoproteína ácida (GA), IGG de cadeia leve (IGG-CL) e apolipoproteína (APP) de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação..... 74

## 1. INTRODUÇÃO

Os cavalos sob condições naturais despendem entre 12 a 18 horas por dia pastando, com pequeno intervalo de tempo entre uma refeição e outra, que não duram mais que três horas (HILLEBRANT; DITTRICH, 2015). Considerando o padrão de alimentação contínuo dos cavalos, qualquer período de restrição alimentar, por mais breve que seja já representa mudança em sua fisiologia (DITTRICH *et al.*, 2010). Os equinos rotineiramente durante o manejo são expostos à tempos variados de restrição alimentar, seja como conduta pré-operatória, durante o transporte, competições e também por inapetência. Além do jejum, as rotineiras adequações na alimentação, como trocas repentinas de rações e forrageiras, acarretam estresse nos equinos e podem contribuir para variações hematológicas e bioquímicas existentes no decorrer do dia (SATUÉ *et al.*, 2012).

Recentemente alguns estudos com equinos demonstram o efeito do estresse, principalmente o desencadeado por atividades físicas extenuantes e transportes prolongados (HAYDARDEDEOĞLU *et al.*, 2017, DEDAR *et al.*, 2017). O transporte já foi identificado como um estressor potencial que pode comprometer o desempenho dos equinos (PICCIONE, 2008). Entretanto, vale ressaltar que durante o transporte os equinos em muitas situações permanecem em jejum, que na maioria das vezes é negligenciado como promotor adicional de estresse e que provavelmente contribui com o desconforto desses animais durante as viagens (JUNIOR, 2014). A privação alimentar durante o transporte prolongado é um dos principais contribuintes para indução da resposta de fase aguda e redução do desempenho de bovino de corte (MARQUES *et al.*, 2012).

O estresse gerado pelo balanço energético negativo, quando mantido por período prolongado, é acompanhado de perda de massa muscular, mobilização lipídica e comprometimento da defesa imunológica (NAYLOR *et al.*, 1980). Estudo feito por Frank *et al.* (2002), demonstrou que a privação alimentar por 36 horas elevou as concentrações séricas de triglicerídeos e

ácidos graxos, além de reduzir a concentração de glicose, em equinos. Resultados semelhantes foram relatos por Tóth et al. (2018), que relataram elevação sérica de triglicerídeos, ureia, ácidos graxo e bilirrubina direta, em equinos submetidos a 96 horas de privação alimentar.

Tendo em vista a escassez de estudos até o momento que avaliam as alterações fisiológicas promovidas pelo jejum na espécie equina, bem como suas consequências na sanidade e desempenho atlético, pretende-se com este estudo identificar as alterações nos parâmetros físicos, hematológicos e bioquímicos além das proteínas de fase aguda, promovidas por diferentes tempos de jejum.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivos gerais**

Identificar e quantificar alterações nos parâmetros físicos, hematológicas, bioquímicas e no proteinograma sérico desencadeadas pela restrição alimentar em equinos.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Avaliar o efeito da restrição alimentar de 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 e 48 horas sobre parâmetros clínico-laboratoriais de equinos.
- Correlacionar os diferentes tempos de restrição alimentar com as alterações clínico-laboratoriais diagnosticadas.
- Propor medidas que minimizem os efeitos colaterais da restrição alimentar em equinos.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Comportamento alimentar

O cavalo durante a evolução sofreu alterações adaptativas que o permitiu escapar de predadores e garantir o sucesso da espécie. O sistema musculoesquelético e o digestório foram os que sofreram as maiores mudanças. A musculatura mais robusta dos membros locomotores permitiu que o cavalo ganhasse velocidade nas fugas. Já o sistema digestório, evoluiu para um estômago reduzido, com capacidade de armazenar pouco alimento e conseqüentemente acumular menos peso, beneficiando o cavalo durante as fugas (GOODWIN *et al.*, 2007).

Graças ao seu estômago reduzido o cavalo livre gasta de 60 a 70% do seu tempo pastejando, ocupando diariamente 12 a 18 horas com a alimentação (DUNCAN, 1980; MEYER, 1995). Porém a disponibilidade de folhas verdes, bem como sua distribuição espacial, afeta o tempo de permanência na busca e colheita do alimento (CARVALHO *et al.*, 2001). Os períodos de pastejo duram cerca de 2 a 3 horas, interrompidos por períodos de descanso, momento em que os cavalos interagem socialmente (MEYER, 1995). Os cavalos passam mais tempo pastejando durante o dia, com maior intensidade no período de 16:00 às 19:00 horas. No início da tarde e final da madrugada, os animais normalmente não buscam alimento (ZANINE *et al.*, 2006). Em todo esse tempo de pastejo, em média os equinos ingerem em torno de 1,8 a 2,2% do seu peso vivo, podendo variar de 1 a 3,3% de acordo com a disponibilidade de alimento (PAGAN, 2011).

Diferente do que ocorre com o alimento volumoso, que é ingerido em várias pequenas porções durante o dia, o cavalo bebe água uma ou duas vezes ao dia com uma ingestão de aproximadamente 40 litros por dia. Certamente o volume e a frequência dependem de fatores como temperatura ambiente e exercício físico. Essa média é válida para a manutenção básica, o consumo de água diário pode chegar aos 60 litros para animais exercendo atividade física vigorosa (McDONNELL, 2002), ou reduzir significativamente em

equinos submetidos ao jejum (YASH PAL e GUPTA 2004; HORTON et al., 1996).

Na criação atual de equinos, a preocupação da grande parte dos criadores é suprir as necessidades nutricionais dos animais, sendo por sua vez negligenciados aspectos relacionados às formas de disponibilização destes alimentos e o comportamento alimentar dos equinos (DITTRICH *et al.*, 2010).

### **3.2. Manejo Alimentar**

Particularmente na espécie equina, as diferentes formas de utilização, como meio de transporte, trabalho e esporte, determinam desde a domesticação, mudanças na forma de criar e manter os cavalos (DITTRICH *et al.*, 2010). A principal mudança foi a restrição espacial onde o confinamento em baias foi a opção adotada por inúmeros criadores, inclusive os cavalos das forças armadas (RESENDE *et al.*, 2006). Uma vez confinado o equino é privado do contato social com outros animais e despense pouca parte do seu tempo se alimentando, por isso grande parte do dia o cavalo fica ocioso. Diante a necessidade de adaptação a este ambiente reduzido, os cavalos desenvolveram mudanças comportamentais. Entre cavalos estabulados não é incomum observar comportamentos estereotipados relacionados ao movimento, como andar em círculos e balanço lateral da cabeça e pescoço (RESENDE *et al.*, 2006).

Em alguns estabelecimentos equestres o alimento é ofertado somente duas vezes ao dia. Esse tipo de manejo faz com que o cavalo permaneça com o estômago vazio por várias horas (BIRD, 2004). Embora aumentar a frequência de oferta de alimento pareça resolver tal problemática, Vieira *et al.* (2013) em um estudo com cavalos estabulados concluíram que o tempo médio gasto com alimentação é inferior a quatro horas, mesmo com o fornecimento de cinco refeições diárias. Tempo muito inferior quando comparado às 16 horas gastas com alimentação em vida livre.

Certamente a permanência de equinos em cocheiras é a principal causa que mantém os equinos em jejum por um tempo superior ao que seria fisiológico. Porém com a crescente utilização do cavalo em atividades esportivas e no lazer, o transporte passou a ser uma situação rotineira, manejo que na maioria das vezes impõe a restrição alimentar nos cavalos (SMITH *et al.*, 1996; STULL; RODIEK, 2000; OIKAWA *et al.*, 2005).

Na espécie equina um período variável de jejum é recomendado nos casos de doença abdominal aguda bem como antes e após procedimentos cirúrgicos para prevenir complicações como o timpanismo abdominal e a cólica pós-operatória (ZEBELI *et al.*, 2015; HOSPES; BLEUL, 2007). No manejo pré-abate os cavalos também devem ser mantidos em jejum e sob dieta hídrica durante 18 horas antes do abate, de acordo com as normas do RIISPOA (1997). Entretanto, os equídeos destinados ao abate percorrem longas distâncias até o seu destino e verifica-se que muitos animais de vários lotes ultrapassam o tempo de descanso, jejum e dieta hídrica nos currais (BONESI, 2007). Ao examinarem o estômago de equinos após o abate De Souza *et al.* (2014) encontraram lesões da mucosa gástrica em todos os animais avaliados. Os autores acreditam que o tempo de jejum alimentar, pode ter contribuído ou agravado no desenvolvimento das lesões gástricas encontradas.

### **3.3. Jejum**

A não ingestão de alimentos pode ocorrer por motivos intrínsecos ou extrínsecos, mudando a definição apropriada para cada caso. Alguns autores usam o termo inanição quando os animais são expostos a situações de privação de alimento, em decorrência a privação extrínseca da sua disponibilidade. Essa privação pode ser total ou não. Por outro lado o termo jejum é mais apropriado para situações em que a não ingestão de alimento é voluntária. Apesar da disponibilidade de alimentos, o animal deixa de consumi-lo utilizando seu tempo e energia em outras atividades como, por exemplo, fuga de predadores, termorregulação ou vários comportamentos relacionados à reprodução (McCUE, 2010). Porém existem divergências quando ao uso dos

termos, muitos autores referem o termo jejum à privação total de alimento por determinado período (MURRAY; MURRAY, 1997; BERMUDES, 2007).

O jejum pode ser classificado de duas formas diferentes: simples ou associada ao estresse. O jejum simples, por sua vez, é classificado como curto (<72 horas) ou prolongado (>72 horas) (BARENDREGT *et al.*, 2008).

Em geral os animais desenvolveram mecanismos adaptativos, para estocar a energia fornecida pelos alimentos, o que foi essencial para garantir sua sobrevivência em ambientes com escassez de alimento. Existem diversas formas de reserva energética, com complexos mecanismos de controle que estimulam o estoque de energia ou seu gasto, porém o glicogênio hepático e o tecido adiposo como forma de armazenar energia na forma de ácidos graxos e glicose respectivamente, são as formas mais comuns e eficientes (MAIA, 2007).

Os principais combustíveis metabólicos são a glicose, os aminoácidos, os ácidos graxos e os corpos cetônicos. Existem várias formas de armazenamento e transporte para estes compostos. A glicose é o produto da digestão de carboidratos e a primeira fonte de energia metabólica do organismo, sendo, portanto o combustível básico dos animais monogástricos como os equinos. Apesar de existirem outras fontes de energia o organismo não é independente da glicose, por existirem tecidos como as hemácias que utilizam exclusivamente a glicose como fonte de energia. Por isso existe um refinado sistema de homeostase da glicose para suprir as necessidades desses tecidos (CUNNINGHAM, 2008).

A glicose é armazenada no fígado e no músculo esquelético na forma de glicogênio, sendo a única forma de armazenamento direto da glicose. Dessa maneira a quebra do glicogênio, fenômeno denominado glicogenólise, fornece glicose para os tecidos. Porém uma vez que o estoque de glicogênio é exaurido, outra via metabólica é ativada para fornecer glicose, a neoglicogênese, que acontece no fígado e forma glicose a partir dos produtos finais da glicólise, e intermediários do ciclo de Krebs (CUNNINGHAM, 2008).

Os ácidos graxos são a principal forma de armazenamento de energia, e são estocados no tecido adiposo na forma de triglicerídeos. Este tipo de estoque é extremamente eficiente por ser muito concentrado e com pouca água, permitindo que tal tecido acumule o máximo de energia com menor peso (CUNNINGHAM, 2008).

O excesso de glicose ingerida é estocado na forma de ácidos graxos, porém esse é um processo irreversível. Apesar dos ácidos graxos não serem convertidos em glicose, eles podem ser transformados em corpos cetônicos, que são hidrossolúveis e servem como substitutos da glicose. Em períodos de jejum prolongado, os corpos cetônicos se tornam a principal fonte de energia do sistema nervoso central, embora esse sistema permaneça dependente de certa quantidade de glicose, para seu funcionamento. Em suma, apesar de o sistema nervoso poupar glicose, utilizando os corpos cetônicos como fonte de energia, ele não é independente da glicose (MALHEIROS, 2006).

Durante o jejum os cavalos sofrem mudanças adaptativas tanto fisiológicas, quanto comportamentais. Nas vias metabólicas a glicogenólise mantém a glicemia durante as primeiras horas de jejum, dando espaço a gliconeogênese nos períodos mais prolongados de restrição alimentar, quando os estoques de glicogênio já foram exauridos. No que se refere às mudanças comportamentais, para poupar energia, os equinos evitam ao máximo atividade física espontânea, permanecendo menos receptivos aos estímulos do meio (CAMPBELL, 2007).

A resposta metabólica frente à privação de alimento segue uma cascata ordenada de fases. Apesar de seguir uma sequência lógica, o tempo que cada indivíduo permanece em cada fase é alterado por fatores como: velocidade de perda de massa corporal, excreção de nitrogênio, ou pelo combustível fisiológico primário estocado (carboidrato, lipídeo, proteína) (McCUE, 2010).

A primeira fase metabólica adaptativa à privação de alimento é denominada fase glicogenólica. Em resposta a diminuição da concentração de glicose plasmática, ocorre uma redução da concentração de insulina e aumento da secreção de glucagon e catecolaminas, que por sua vez promovem a glicogenólise e lipólise. Esse evento dispõe ácidos graxos e glicerol através da

hidrólise dos triglicerídeos, que vão suprir energeticamente vários tecidos vitais, como a musculatura cardíaca e os rins. Nessa primeira fase do jejum, a fração de glicose necessária aos tecidos dependentes dela, advém da glicogenólise. Essa fase termina quando os estoques de glicogênio hepático e muscular são exauridos, dando espaço à fase gliconeogênica. (CAMPEBEL, 2007).

Baixas concentrações plasmáticas de insulina somado ao acréscimo de glucagon e glicocorticóides promovem uma liberação de aminoácidos oriundos da proteólise de tecidos periféricos e da musculatura (CAMPEBEL, 2007). A intensidade da proteólise muscular varia de acordo com a quantidade de tecido adiposo. A quantidade de proteína muscular perdida durante as primeiras horas de jejum é inversamente proporcional à quantidade total de tecido adiposo (ARGILES *et al.*, 2005).

### **3.4. Estresse**

A definição de estresse dada por Appleby e Hughes (1997), sugere que o estresse é a capacidade fisiológica e comportamental de um animal quando submetido a um desafio. Uma visão mais atual dada por Randall (2010) relaciona o estresse ao que acontece quando um organismo deixa de responder adequadamente às ameaças.

Existem vários fatores que podem desencadear estresse nos animais, que variam desde fatores físicos como a privação de alimentos, fadiga ou temperatura ambiental extrema, até fatores de origem psicológica, como perturbação do grupo social, presença dos seres humanos e exposição a novos ambientes (TERLOUW *et al.*, 2008). Os animais respondem às fontes de estresse de maneira individual, influenciados pela genética e experiências anteriores (GRANDIN, 1997).

O estresse pode ser classificado em eustresse e distresse. O eustresse, também conhecido como o estresse bom, promove alterações fisiológicas benéficas que objetivam manter o conforto e o bem-estar. Porém o distresse

promove mudanças comportamentais que podem ser maléficas para os animais, podendo gerar quadros de desconforto e dor (BREAZILE, 1987).

Ainda se tratando dos tipos de estresse, outra forma de classificação é: estresse agudo, também denominado fisiológico, e crônico. O estresse agudo desencadeia alterações sistêmicas adaptativas ao agente agressor (MOSTI; PALME, 2002). A persistência de agentes estressores, ou a incapacidade do indivíduo de adaptação, predispõe ao estresse crônico, cujos prejuízos são mais potenciais (BREAZILE, 1987).

Aumento da contagem total de leucócitos é comumente vista em animais expostos à situações de estresse, sendo portando uma leucocitose fisiológica. Esse evento é mediado pela liberação de epinefrina e de corticosteróides, estimulando a saída de neutrófilos do compartimento marginal para a circulação periférica (JAIN 1993; LASSEN; SWARDSON 1995).

Outra alteração hematológica normalmente vista em animais estressados é a elevação do hematócrito, em resposta a contração esplênica e liberação de hemácias no sangue. Os equinos possuem estoque esplênico de aproximadamente 33% da massa eritrocitária total (JABLONSKA, 1991).

Dessa forma o conhecimento das fontes de estresse, e da capacidade de adaptação de cada espécie e raça é imprescindível para a tomada de decisão quanto aos sistemas de criação e estratégias de manejo a serem utilizadas (NOBREGA *et al.*, 2011).

### **3.5. Parâmetros Físicos**

Os parâmetros físicos são avaliados com o objetivo de se fazer um levantamento geral sobre a sanidade do animal. A avaliação dos parâmetros: temperatura corpórea, frequência cardíaca, frequência respiratória, motilidade intestinal e tempo de preenchimento capilar, fornecem informações sobre vários sistemas orgânicos como o circulatório, o gastrointestinal e o respiratório, por exemplo, (SMITH, 2006).

A coloração das mucosas e o tempo de preenchimento capilar auxiliam na avaliação da hidratação do paciente, além disso, conclusões a respeito do sistema respiratório, hepático, entre outros podem ser retiradas (SMITH, 2006). A icterícia é um achado importante que pode estar presente em diversas situações, como em problemas hepáticos e hemoparasitoses, mas vale ressaltar que a icterícia observada nas mucosas de equinos também pode estar associada ao jejum (SMITH, 2006). A abundância de triglicerídeos no plasma ocorre em resposta à intensa mobilização adiposa durante o jejum. Triglicerídeos e ácidos graxos competem com os sítios de ligação hepáticos da bilirrubina e reduz sua conjugação. Dessa maneira observa-se uma menor excreção de bilirrubina, que se reflete em icterícia (MCKENZIE, 2011).

Nos equinos, a frequência cardíaca normal em repouso pode variar entre 32 a 44 batimentos por minuto e a frequência respiratória normal em repouso varia de 8 a 16 respirações por minuto (CUNNINGHAM, 2008). Existem vários processos que alteram a frequência respiratória e cardíaca, incluindo processos dolorosos e estressantes, atividade física extenuante, umidade e temperatura ambiente ou processos de compensação metabólica (SPEIRS, 1999).

Alguns parâmetros físicos podem estar diminuídos em equinos submetidos a privação alimentar, como: frequência respiratória, pressão arterial e temperatura retal. Alterações que ocorrem em resposta a uma diminuição da taxa metabólica (YASH PAL e GUPTA, 2004). Além disso a redução na intensidade de sons intestinais refletido pela menor estimulação mioelétrica tem sido reportada em equinos sob jejum (NAYLOR et al., 2006).

### **3.6. Hemograma**

O hemograma é um exame muito utilizado na clínica médica equina, sendo um indicador de alterações que podem não ser percebidas ao exame clínico, além de servir como procedimento para avaliar a saúde animal e auxiliar na obtenção de um diagnóstico (FAILACE, 2006).

### 3.6.1. Eritrograma

A avaliação da série vermelha no hemograma compreende os seguintes elementos: Contagem de eritrócitos, volume globular, hemoglobina, volume corpuscular médio e a concentração de hemoglobina corpuscular média (LOPES *et al.*, 2007).

Os eritrócitos são produzidos principalmente na medula óssea, e tem com função básica transportar oxigênio para os tecidos (THRALL, 2015). A produção dessas células é regulada pela eritropoietina, hormônio secretado pelos rins em resposta a hipóxia tecidual (MEYER *et al.*, 1995).

O baço é um importante órgão envolvido na hematopoese, funcionando como sítio de armazenamento de hemácias e plaquetas. Em situações de estresse, ocorre o evento denominado contração esplênica, liberando as células sanguíneas para a circulação. A contração esplênica resulta em uma rápida elevação dos eritrócitos na circulação, chegando a um aumento de 30 a 40% dos valores basais, dada a capacidade do baço equino armazenar até um terço da massa eritrocitária total (KRAMER, 2000; SMITH, 2006). Graças ao grande potencial esplênico em reservar hemácias na espécie equina, o volume globular dos equinos é bastante instável devendo ser interpretado com cautela (SMITH, 2006).

O VCM, é um parâmetro muito importante na classificação das anemias quanto a resposta medular. Na espécie equina a importância desse parâmetro se ressalta, pelo fato de raramente serem liberados eritrócitos imaturos na circulação periférica (WALTON, 2014).

Poucas são as alterações provocadas na série vermelha em decorrência ao jejum agudo, porém a atividade dos glicocorticoides pode elevar o hematócrito por meio da contração esplênica. Ademais, hormônios tireoidianos, hipofisários e adrenocorticais alteram a demanda de oxigênio nos tecidos, alterando a necessidade de eritropoiese (LOPES *et al.*, 2007).

### 3.6.2. Leucograma

Os leucócitos ou glóbulos brancos são células produzidas na medula óssea a partir de uma célula pluripotencial, também chamada célula-tronco ou “stemcell”. A capacidade proliferativa da célula-tronco depende de estímulos apropriados de hormônios estimuladores da leucopoiese. Os leucócitos são classificados em polimorfonucleares, abrangendo os neutrófilos, eosinófilos e basófilos, e em mononucleares composto pelos linfócitos e monócitos (LOPES *et al.*, 2007).

O perfil leucocitário auxilia na mensuração do estresse, graças às alterações provocadas pelo cortisol na contagem total e diferencial dos leucócitos. Sob a influência de epinefrina e corticóides endógenos liberados em resposta ao estresse, o compartimento marginal de neutrófilos pode ser rapidamente mobilizado, também ocorre uma diminuição da diapedese das células para os tecidos, aumentando a concentração de segmentados na circulação. Por outro lado a ação do cortisol causa linfopenia principalmente pela linfólise dos linfócitos T sensíveis a esteróides no sangue, pela marginação e sequestro dos linfócitos nos locais extravasculares e pela inibição da linfopoiese (LOPES *et al.*, 2007).

Antes dos métodos hoje disponíveis para avaliação de corticosteroides, a avaliação do perfil leucocitário era a principal ferramenta para se monitorar o estresse. As principais alterações observadas frente a situações estressoras para os equinos são neutrofilia e linfopenia, ocasionando elevação da relação neutrófilo:linfócito. Essa relação é utilizada para avaliar a magnitude do estresse (DAVIS *et al.*, 2008).

O estresse pode ocasionar leucocitose por neutrofilia, diminuição de linfócitos e eosinófilos. Neutrofilia e linfopenia foram relatadas por Maeda *et al.* (2011) durante e após transporte de 24h, com consequente elevação da relação neutrófilo: linfócito. Tal fato foi correlacionado ao aumento da concentração sérica de cortisol.

### 3.7. Dosagens Bioquímicas

#### 3.7.1. Glicose

A glicose sanguínea advém basicamente de duas fontes: da absorção intestinal, oriunda na quebra dos carboidratos da dieta, e da produção hepática, resultante tanto da gliconeogênese como da glicogenólise (THRALL, 2015).

O aumento da glicemia pode ocorrer durante o estresse. Sua elevação pode estar associada à elevação do cortisol e das catecolaminas. Vários estudos apontam elevação da glicemia em equinos após o transporte (STULL; RODIEK, 2000; ONMAZ *et al.*, 2011; TATEO *et al.*, 2012; YÁÑEZ-PIZAÑA *et al.*, 2012). Os glicocorticoides aumentam a concentração sanguínea de glicose por meio de dois eventos: promovendo a liberação de glucagon e consequente ativação da gliconeogênese hepática e impedindo o transporte de glicose para o interior da célula, por induzir uma resistência insulínica nas proteínas transportadoras de glicose (THRALL, 2015).

O jejum raramente será capaz de promover diminuição sérica de glicose, com exceção de animais jovens e neonatos, pois a gliconeogênese ajuda a manter a concentração de glicose normal (THRALL, 2015; WALTON, 2014). Mas os equinos são extremamente dependentes dessa via glicolítica para manter a glicemia, pois possuem uma pequena reserva de glicose na forma de glicogênio. (WALTON, 2014).

Cavalos normalmente não são submetidos a jejum antes de coletas de sangue, mas vale lembrar que a ingestão de concentrado pode elevar a glicemia transitoriamente por até quatro horas pós-prandial (THRALL, 2015).

### **3.7.2. Ureia**

A uréia é um subproduto do metabolismo do nitrogênio, é produzida no fígado a partir da amônia e bicarbonato, e é o principal meio de excreção do nitrogênio em animais (THRALL, 2015).

Aumentos na concentração sérica de ureia tem sido reportados em cavalos submetidos a restrição alimentar associada ao aumento do catabolismo protéico (YASH PAL e GUPTA 2004; TOTH et al., 2018).

### **3.7.3. Creatinina**

A creatinina é um subproduto do metabolismo muscular e, portanto, está correlacionada com a massa muscular total. Animais fortemente musculosos podem ter concentrações de creatinina ligeiramente acima dos intervalos de referência da espécie (WALTON, 2014).

Liberação de creatinina do músculo durante o exercício, jejum, perda muscular, ou rabdomiólise podem influenciar a concentração de creatinina. Além disso, se o método colorimétrico de Jaffe é usado para medir a creatinina, a concentração de creatinina pode ser aumentada artificialmente pela presença de cromógenos não creatínicos. Este pode ser o principal motivo para o aumento da creatinina associado ao jejum (THRALL, 2015; WALTON, 2014).

### **3.7.4. Enzimas Hepáticas**

As enzimas hepáticas são normalmente divididas em hepatocelular e hepatobiliar para fins de diagnóstico (WALTON, 2014). Mas também podem ser classificadas quanto á sua forma de liberação para o plasma como: enzimas de extravasamento ou de indução (THRALL, 2015).

O Aspartato Aminotransferase (AST) é uma enzima hepatocelular de extravasamento, encontrada predominantemente no citoplasma e em maior concentração no hepatócito e nas células musculares esqueléticas e cardíacas. Apesar de rotineiramente ser utilizada para avaliar a doença hepática ela não é uma enzima hepatoespecífica (THRALL, 2015), pois o aumento do AST pode ser causado por lesão de hepatócitos e também de células musculares (McGOWAN, 2008).

A Fosfatase Alcalina (FA) e a gama-glutamilttransferase (GGT) constituem as enzimas hepatobiliares. Em humanos, cães e gatos a FA é considerada a enzima hepatobiliar preferível, em contraste, nos equinos a GGT é considerada mais representativa (WALTON, 2014). Em equinos com colestase experimental induzida pela ligação do ducto biliar, a magnitude do aumento de atividade sérica de GGT foi maior que a atividade de FA (THRALL, 2015).

A FA é sintetizada por vários tecidos ou órgãos como o fígado, os ossos, os rins, o intestino, o pâncreas e a placenta. No fígado a FA, está presente em células do epitélio biliar e nas membranas canaliculares de hepatócitos. Por isso várias doenças hepatobiliares podem resultar em aumento de sua atividade sérica. Mas como a localização desta enzima não é exclusivamente hepática, o seu aumento pode ser devido a diversos outros eventos, como: aumento da atividade osteoblástica, corticóides endógenos ou exógenos, ingestão de colostro, gestação entre outros (THRALL, 2015).

O AST, FA, GGT, apesar de serem enzimas utilizadas para monitorar o fígado, possuem suas atividades séricas elevadas em casos de lesão da musculatura esquelética ou cardíacas, por isso a interpretação dos resultados exige cautela (ANDREAZZI *et al.*, 2014). Esse fato ressalta a importância de dosar perfis enzimáticos, que auxiliam a distinguir com base na meia vida plasmáticas das enzimas, informações importantes como: o momento do início da lesão, o local da injúria e ainda se o processo continua ativo ou não. O AST possui meia-vida plasmática longa, de aproximadamente oito dias e o seu pico acontece cerca de 24 horas após a lesão tecidual (THOMASSIAN *et al.*, 2007).

### **3.7.5. Lipidograma**

Os dois principais lipídios mensurados em animais são triglicerídeo e colesterol, usados principalmente para monitorar as hiperlipemias (WALTON, 2014). Hiperlipemia é a definição dada para a concentração elevada de lipídios no plasma, que nos equinos normalmente está associada a períodos de balanço energético negativo e estresse fisiológico (MCKENZIE, 2011).

Durante o balanço energético negativo hormônios como o glucagon e os corticoides estimulam a hidrólise de triglicerídeos e liberação de ácidos graxos não esterificados. Esses ácidos graxos são tomados pelos hepatócitos para a oxidação e produção de cetonas, ou retornar a triglicerídeos que são ou armazenados no tecido hepático ou liberados na forma de VLDL (WALTON, 2014).

Vários estudos relatam o desenvolvimento de hipertrigliceridemia em equídeos submetido ao jejum, com concentrações séricas tão altas quanto 1000mg/dl (NAYLOR et al., 1980, GUPTA et al., 1999; FRANK et al., 2002). O que permitiu que a hipertrigliceridemia fosse usada como indicador de hipofagia e manejada de acordo (TÓTH et al., 2018).

### **3.7.6- Proteína Total e Albumina**

Diminuição da ingestão hídrica tem sido uma alteração comportamental frequentemente relatada em equinos submetidos ao jejum. A menor ingestão hídrica nesses casos é acompanhada de aumento nas concentrações séricas de proteína total e albumina (GUPTA et al., 1999)

#### 4.9 Proteínas de Fase Aguda (PFA)

As proteínas de fase aguda são um grupo de proteínas sintetizadas pelo fígado que alteram em concentração no plasma em resposta a estímulos nocivos como infecções e injúria tecidual. Graça a essa cinética, as PFA são consideradas marcadoras biológicas da inflamação. São considerados biomarcadores elementos relacionados às alterações celulares, bioquímicas ou moleculares, mensuráveis em componentes biológicos, tais como tecidos, células ou fluidos. Em suma, os biomarcadores auxiliam na previsão, causa, diagnóstico, progressão, regressão ou o estado de convalescência de uma doença (ECKERSALL; BELL, 2010).

O advento da eletroforese permitiu a pormenorização das proteínas e sua utilização para monitorar processos inflamatórios, alterações nutricionais e/ou infecciosas. Por monitorar uma grande quantidade de proteínas simultaneamente a eletroforese permite uma excelente interpretação da cinética das PFA em diferentes situações, utilizando sempre como referência a comparação de animais enfermos com saudáveis (GRUYS et al., 2005).

As proteínas de fase aguda tem sido recentemente utilizadas para monitorar o estresse promovido pela restrição alimentar e suas consequências em animais de produção (NAJAFI et al., 2016). Bovinos e frango de corte são espécies em que a resposta de fase aguda frente a privação alimentar já foi identificada, permitindo o uso dessas proteínas para desenvolver estratégias de manejo alimentar e conseqüentemente melhorar a performance (NAJAFI et al., 2016; MARQUES et al., 2018).

## REFERÊNCIAS

ANDREAZZI, M. A.; PRESTES, K. M. R.; CANATO, JUNIOR C. C.; SIMONELLI S. M. Avaliação dos níveis séricos de enzimas musculares em equinos praticantes de hipismo clássico. Enciclopédia Biosfera, v. 10, n. 19, p. 366-376, 2014.

APPLEBY, M. C.; HUGHES, B. M. Assessment of pre-laying motivation in the domestic hen using social interaction. *Animal Behavior*, v.54, n.2, p.313-319, 1997.

ARGILES, J. M.; LÓPEZ-SORIANO, J.; ALMENDRO, V.; BUSQUETS, S.; LÓPEZ SORIANO, F. J. Cross-talk between skeletal muscle and adipose tissue: a link with obesity? *Med. Res. Rev.* v.25, p.49-65, 2005.

BARENDREGT, K.; SOETERS, P.; ALLISON, S.; SOBOTKA, L. Basics in clinical nutrition: simple and stress starvation. *Journal of clinical nutrition and metabolism*. v.3, p. 267-271, 2008.

BERMUDES, F. A. M. Efeitos do jejum agudo e do jejum intermitente na evolução da peritonite bacteriana induzida por ligadura e punção do ceco ou por injeção intra-peritoneal de suspensão fecal em camundongos. Vitória-ES 2007.

BONESI, G. L. Lesões hepáticas provocadas por larvas de helmintos em eqüídeos (equusspp.) abatidos em matadouro-frigorífico e suas implicações em carcaças. Botucatu-SP, 2007.

BIRD, J. Cuidado natural del caballo: Um enfoque natural para su óptimo estado de salud, desarrollo y rendimiento. Barcelona, ed. Acanto. p.206, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Aprovado pelo decreto nº 30.691, de 29/03/52, alterado pelo decreto nº 2244 de 04/06/97. Diário Oficial da União, Brasília, 1997.

BREAZILE, J. E. Physiologic basis and consequences of distress in animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. Schaumburg, v. 191, n.10,p. 1212-1215, 1987.

CAMPBELL, I. Starvation, exercise, injury and obesity. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*. v. 8, p. 299-303, 2007.

CARVALHO, P. C. F.; FILHO, H. M. N. R.; POLI, C. H. E. C.; MORAES, A.; DELAGARDE, R. Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. *Sociedade Brasileira de Zootecnia. A produção animal na visão dos brasileiros*. Piracicaba: Fealq., p. 853-871, 2001.

CUNNINGHAM, J. G. *Tratado de fisiologia veterinária*. Ed.3ª, Guanabara Koogan,2008.

DAVIS, A. K.; MANEY, D. L.; MAERZ, J. R. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*, v. 22, n.5, p. 760-772, 2008.

DE SOUZA, M. V.; BUENO, M. C. M.; DE OLIVEIRA, P. J., PEREIRA, S. J. C.; DANTAS, R. F. J.; Lopes, M. J. D. C. Lesões gástricas em equinos de abatedouro: avaliação macroscópica e histológica. *Ciência Rural*, v.44, n.9, 2014.

DEDAR, R. K.; KUMAR, V.; BALA, P. A.; LEGHA, R. A.; TRIPATHI, B. N. Oxidative stress and hemato-biochemical indices in marwari horses during moderate intensity field exercise. *Veterinary Practitioner*, v.22, 2017.

DITTRICH, J. R.; MELO, H. A.; AFONSO, A. M. C. F.; DITRICH, R. L. Comportamento ingestivo de equinos e a relação com o aproveitamento das forragens e bem-estar dos animais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, p.130-137, 2010.

DUNCAN, P. Time budets of camargue horses. *Behavior*. v. 72, n.1, p. 26-47, 1980.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The veterinary journal*, v.185, n.1, p. 23-27, 2010.

FAILACE, R. Hemograma. Porto Alegre: Artmed, 4<sup>a</sup>. ed., p. 298, 2006.

FRANK, N.; SOJKA, J. E.; LATOUR, M. A. Effect of withholding feed on concentration and composition of plasma very low density lipoprotein and serum nonesterified fatty acids in horses. *American journal of veterinary research*, v.63 n.7, p. 1018-1021, 2002.

GOODWIN, D.; DAVIDSON, H. P. B.; HARRIS, P. Responses of horses offered a choice between stables containing single or multiple forages. *The Veterinary Record*, 2007.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*, v.75, p.249-257, 1997.

GRUYS, E., TOUSSAINT, M. J. M.; NIEWOLD, T. A; KOOPMANS, S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal of Zhejiang University Science* v.6, p.1045–1056, 2005.

GUPTA, A. K.; PAL, Y.; YADAV, M. P. Effect of feed deprivation on biochemical indices in equids. *Journal of Equine Science*, v.10, n.2, p. 33-38, 1999.

HILLEBRANT, R. S.; DITTRICH, J. R. Anatomia e fisiologia do aparelho digestório de equinos aplicados ao manejo alimentar. Grupo equi – Grupo de Pesquisa e ensino em equideocultura. [www.gege.agrarias.ufpe.br/equideo](http://www.gege.agrarias.ufpe.br/equideo). 2015.

HAYDARDEDEOĞLU, A. E.; YAĞCI, B. B.; URAL, K.; GÜZELBEKTEŞ, H. Stress responses of stallions during transport period: the variations of complete blood count and serum biochemistry. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, v. 12, n.2, p. 118-123, 2017.

HORTON, G. M. J.; BALDWIN, J. A.; EMANUELE, S. M.; WOHLT, J. E.; MCDOWELL, L. R. Performance and blood chemistry in lambs following fasting and transport. *Animal Science*, v.62 n.1, p. 49-56, 1996.

HOSPES, D. V. M. R.; BLEUL, D. V. M. U. The effect of extended preoperative fasting in mares undergoing surgery of the perineal region. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.27, n.12, p. 542-545, 2007.

JABLONSKA, E.M. Changes in some haematological and metabolic indices in young horses during the first year of jump-training. *Equine Veterinary Journal*, v. 23, n. 4, p. 309-311, 1991.

JAIN, N.C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea &Febiger, p. 417, 1993.

JUNIOR, F. C. *Estresse em equinos submetidos ao transporte rodoviário*. Palotina, 2014.

KRAMER, J.W. *Normal Hematology of the Horse*. p.1344, 2000.

LASSEN, D. E.; SWARDSON, C. J. Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities. *Clinical Pathology*, v.11, n.3, p.351-389, 1995.

LOPESS, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. *Manual de Patologia Clínica Veterinária*. 3ªed. Santa Maria, 2007.

MAEDA, Y.; TOMIOKA, M.; HANADA, M.; OIKAMA, M. Changes in peripheral blood lymphocyte and neutrophil counts and function following long-term road transport in thoroughbred horses. *International Journal Applied Research Veterinary Medicine*, v.9, n.3, p.284-289, 2011.

MAIA, M. R. G.; CHAUDHARY, L. C.; FIGUEIRES, L.; WALLACE, R. J.; Metabolism of polyunsaturated fatty acids and toxicity to the microflora of the rumen. *Original Paper*, v.91, p. 303-314, 2007.

MALHEIROS, S. V. P. Integração metabólica nos períodos pós-prandial e de jejum—um resumo. *Revista de Ensino de Bioquímica*, v. 4, n. 1, p. 16-22, 2006.

MARQUES, R. S.; COOKE, R. F.; FRANCISCO C. L.; BOHNERT, D. W. Effects of twenty-four hour transport or twenty-four hour feed and water deprivation on physiologic and performance responses of feeder cattle. *Journal of Animal Science*, v.90, n. 13, p. 5040-5046, 2012.

MARQUES, R. S.; BOHNERT, D. W.; DE SOUSA, O. A.; BRANDÃO, A. P.; SCHUMACHER, T. F.; SCHUBACH, K. M.; COOKE, R. F. Impact of 24-h feed, water, or feed and water deprivation on feed intake, metabolic, and inflammatory responses in beef heifers. *Journal of animal science*, v. 97, n.1, p. 398-406, 2018.

MCCUE, M. D. Starvation physiology: reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 156, n. 1, p. 1-18, 2010.

MCDONNELL, S.M. Behaviour of Horses. Per Jensen (Ed.).*The Ethology of Domestic Animals*, CABI Publishing, UK, p. 119-130, 2002.

MCGOWAN C. Clinical pathology in the racing horse: the role of clinical pathology in assessing fitness and performance in the racehorse. *Veterinary Clinics – Equine Practice*, v. 24, p. 405-421, 2008.

MCKENZIE, H. C. Equine hyperlipidemias. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, v. 27, n.1, p. 59-72, 2011.

MEYER, H. Alimentação de cavalos. Varela. São Paulo. p.303, 1995.

MOSTI, E.; PALME, R. Hormone as indicator of stress. *Domestic Animal Endocrinology*. v. 23, p. 67-74, 2002.

MURRAY, M. J.; MURRAY, A. B. Starvation suppression and refeeding activation of infection: An ecological necessity?. *The Lancet*, v. 309, p. 123-125, 1977.

NAJAFI, P.; ZULKIFLI, I.; SOLEIMANI, A. F.; GOH, Y. M. Acute phase proteins response to feed deprivation in broiler chickens. *Poultry science*, v.95, n.4, p. 760-763, 2016.

NAYLOR, J. M.; KRONFELD, D. S.; ACLAND, H. Hyperlipemia in horses: effects of undernutrition and disease. *American journal of veterinary research*, v.41, n.6, p. 899-905, 1980.

NAYLOR, J. M.; POIRIER, K. L.; HAMILTON, D. L.; DOWLING, P. M. The effects of feeding and fasting on gastrointestinal sounds in adult horses. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 20, n.6, p.1408-1413, 2006.

NÓBREGA, G. H.; SILVA, E. M. N.; SOUZA, B. B.; MANGUEIRA, J. M. A produção animal sob a influência do ambiente nas condições do semiárido nordestino. *Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável*. v.6, n.1, p. 67-73, 2011.

OIKAWA, M.; HOB0, S.; QYAMADA, T.; YOSHIKAWA, H. Effects of orientation, intermittent rest and vehicle cleaning during transport on development of transport-related respiratory disease in horses. *Journal of Comparative Pathology*, v.132, p.153-168, 2005.

ONMAZ, A. C.; VAN DEN HOVEN, R.; GUNES, V.; CINAR, M.; KUCUK, O. Oxidative stress in horses after 12 hours transport period. *Revue de Médecine Vétérinaire*, v.4 n.162, p.213-217, 2011.

PAGAN, J. D. *Nutritional Management of the Horse*. McIlwraith; Ed. Rollin, Equine Welfare. Wiley-Blackwell, UK, p. 71-93, 2011.

PICCIONE, G.; VAZZANA, I.; GIANNETTO, C.; GIANESELLA, M.; FERRANTELLI, V. Modification of some haematological and haematochemical parameters in horses during long distance rides. *Journal Veterinary Science* n.1, v.1, p. 37-63. 2008.

REZENDE, M. J. M.; McMANUS, C.; MARTINS, R. D.; OLIVEIRA, L. P. G.; GARCIA, J. A. S.; LOUVANDINI, H. Comportamento de cavalos estabulados do exército brasileiro em Brasília. *Ciência Animal Brasileira*, v.7, n.1, p.17-25, 2006.

SATUÉ, K.; HERNÁNDEZ, A.; MUÑOZ, A. Physiological factors in the interpretation of equine hematological profile: Hematology - Science and Practice, Dr. Charles Lawrie (Ed.), Europe: Inteeh, 2012.

SMITH, B. L.; JONES, F. H.; HORNOF, W. J.; MILES, J. A.; LONGWORTH, K. E.; WILLITS, N. H. Effects of road transport on indices of stress in horse. Equine Veterinary Journal, v. 28, n.6, p. 446-454, 1996.

STULL, C.L.; RODIEK, A.V. Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. Journal of Animal Science, v.78, p.1458-1466, 2000.

SPEIRS, V. C. O Sistema respiratório. Exame clínico de Equinos. 1ª ed. Ed. Artes Médicas Sul Ltda., Porto Alegre-RS, p. 37-81, 1999.

TATEO, A.; PADALINO, B.; BOCCACCIO, M.; MAGGIOLINO, A.; CENTODUCATI, P. Transport stress in horses: Effects of two different distances. Journal of Veterinary Behavior, v.7, p. 33-42, 2012.

TERLOUW, E. M. C.; ARNOLD, C.; AUPERIN, C.; BERRI, C.; Pre-slaughter condition, animal stress and welfare current status and possible future research. The animal consortium v.2, p. 1501-1517, 2008.

THOMASSIAN A.; CARVALHO F.; WATANABE M. J.; SILVEIRA V. F; ALVES A. L. G.; HUSSNI C. A.; NICOLETTI J. L. M. Atividades séricas da aspartatoaminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 183-190, 2007.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. Ed. 2ª, Guanabara Kogan, 2015.

VIEIRA, W.S.; RODRIGUES, I. M. S. M. M.; FRADE, N. P. L.; BALDANI, C. D.; BOTTEON, R. C. C. M.; BOTTEON, P. T. L. B. Perfil bioquímico e capacidade antioxidante total em cavalos de polo suplementados com selênio e vitamina-E. Ciência Rural, Santa Maria, v.43, n.12, p.2268-2273, 2013.

WALTON, R. M. Equine clinical pathology. Ed. Aptara, New York, 2014.

YÁÑEZ-PIZAÑA, A.; RONDAN-SANTIAGO, P.; MORA-MEDINA, P.; BORDERAS-TORDESILLAS, F.; FLORES-PEINADO, S.; MOTA-ROJAS, D. Effects of transport in the metabolism of horses. Revista Científica, FCV-LUZ, v. 22, n. 5, p. 432-436, 2012.

YASH PAL; GUPTA, A. K. Comparative physiological and biochemical studies in Equids under short-term feed deprivation stress. Indian Journal of Animal Sciences, v.74 n.6, p. 662-666, 2004.

ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M.; PARENTE, H. N.; FERREIRA, D. F.; ALMEIDA, F. Q. Diferenças entre sexos para as atividades de pastejo de eqüinos no nordeste do Brasil. Arch. Zootec. v. 55, n.210, p.139-147, 2006.

ZEBELI, Q.; KEBNER, J.; KLISEVICIUTE, V.; RIJIKENHUINZEN, A. B. M. Dietary approaches to optimize the fasting period before laparoscopic surgery in horse: an overview. Journal of Equine Veterinary Science, v.35, p.701-708, 2015.

## **CAPITULO 1 – EFEITO DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE PARÂMETROS, FÍSICOS, HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE EQUINOS.**

**RESUMO** – Em várias espécies incluindo o homem o jejum promove alterações físicas e hematológicas. Visando testar a hipótese de a restrição alimentar exercer efeito sobre parâmetros físicos, hematológicos e bioquímicos de equinos, submetidos a diferentes tempos de jejum, 32 equinos foram distribuídos em dois grupos experimentais: controle (CONT) e restrição alimentar (RA). Avaliação física e coleta de amostras de sangue foram feitas no momento basal (M0), e a cada seis horas de restrição alimentar (M1- seis horas; M2- 12 horas; M3- 18 horas; M4- 24 horas; M5- 30 horas; M6- 36 horas; M7- 42 horas e M8- 48 horas). Não houve diferença de média entre os grupos para os parâmetros: frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e tempo de preenchimento capilar (TPC). O grupo RA reduziu a temperatura retal (TR) em relação ao grupo CONT no M8. A motilidade intestinal (MI) diminuiu significativamente em relação ao grupo CONT nos momentos: M3, M5, M6, M7 e M8, relacionada à diminuição da atividade mioelétrica. Todas as variáveis hematimétricas (RBC, HGB, HCT, VCM e CHCM) não apresentaram diferença de média nem entre momentos e nem entre grupos. A leucometria global (WBC) do grupo RA sofreu decréscimo em relação ao grupo CONT e à média basal em M2, M4 e M7. As variáveis bioquímicas, ureia, triglicerídeos (TG), colesterol total (CT), glicose e aspartato aminotransferase (AST) sofreram elevação em relação ao grupo CONT, associados às adaptações metabólicas frente à restrição alimentar. As demais variáveis bioquímicas: gama glutamil transferase (GGT), creatinina, proteína total (PT) e albumina (Alb) não tiveram diferença de média entre os grupos. Os resultados obtidos sugerem que o jejum exerce influência sobre parâmetros físicos hematológicos e bioquímicos, indicando que os resultados devem ser interpretados mediante estado nutricional do paciente.

**Palavras-chave:** equino, hemograma, bioquímica, jejum

**ABSTRACT** – In several species including man, fasting promotes physical and hematological changes. In order to test the hypothesis that feed deprivation exerts an effect on the physical, hematological and biochemical parameters of equines submitted to different fasting times, 32 equines were distributed in two experimental groups: control (CONT) and feed deprived (FD). Physical evaluation and collection of blood samples were done at baseline (M0), and every six hours of feed deprivation (M1-6 hours, M2-12 hours, M3-18 hours, M4-24 hours, M5-30 hours M6-36 hours, M7-42 hours and M8-48 hours). There were no mean differences between the groups for the parameters: heart rate (HR), respiratory rate (HR) and Capillary Fill Time (CPT). The FD group reduced the rectal temperature (RT) relative to the CONT group in M8. Intestinal motility (IM) decreased significantly in relation to the CONT group at moments: M3, M5, M6, M7 and M8, related to the decrease in myoelectric activity. All hematimetric variables (RBC, HGB, HCT, VCM and CHCM) presented no mean differences, neither between moments nor between groups. The global leukometry (WBC) of the FD group decreased with respect to the CONT group and the baseline mean in M2, M4 and M7. The biochemical variables, urea, triglycerides (TG), total cholesterol (TC), glucose and aspartate aminotransferase (AST) were elevated in relation to the CONT group, associated with metabolic adaptations to feed deprivation. The other biochemical variables: gamma glutamyl transferase (GGT), creatinine, total protein (TP) and albumin (Alb) had no mean difference between groups. The results suggest that fasting exerts influence on hematological, biochemical and physical parameters, indicating that the results must be interpreted through the nutritional status of the patient.

**Key words:** equine, hemogram, biochemistry, fasting

## 1.1. INTRODUÇÃO

Durante o atendimento clínico de equinos é muito comum se deparar com animais em jejum, seja pela restrição de alimento, pela inapetência ou pela incapacidade de apreender ou ingerir o alimento (KRONFELD 1993). Doença gastrointestinal, na cavidade oral, ulcera gástrica e doenças paralisantes dos nervos faciais e faríngeos como a mieloencefalite protozoária equina e a raiva, compõem uma enorme gama de enfermidades que resultam em anorexia (CARR e HOLCOMBE 2009; MUÑOZ et al., 2010). Apesar da avaliação física e a realização de exames hematológicos e bioquímicos constituírem as ferramentas mais utilizadas no diagnóstico, prognósticos e monitoramento desse tipo de pacientes, a literatura fornece pouca informação a respeito da influência do jejum sobre tais parâmetros (MUÑOZ et al., 2010).

O desenvolvimento da lipemia durante períodos de restrição alimentar é bem documentada na literatura (NAYLOR e KENYON 1981; FRANK et al., 2002; THÓTH et al., 2018). A abundância de triglicerídeos e ácidos graxos no fígado e na circulação periférica pode alterar as funções celulares devido a suas propriedades físico-químicas. A mais comum é a diminuição da sensibilidade à insulina, situação que exacerba a mobilização lipídica podendo levar a casos graves de lipidose hepática e renal (NAYLOR et al., 1980; McKENZIE, 2011).

Diante o exposto o objetivo do presente estudo foi avaliar as possíveis alterações nos parâmetros físicos, hematológicos e bioquímicos de equinos, que são frequentemente usados na rotina clinico-cirúrgica, sobre a hipótese da restrição alimentar exercer efeito em tais parâmetros, comprometendo na interpretação dos resultados.

## **1.2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **1.2.1. Comissão de Ética**

O estudo experimental foi feito de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (SBCAL/COBEA). Foi pela Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA-UENF/2018).

### **1.2.2. Amostragem**

Foram utilizados 32 equinos, hípidos sem raça definida, com idade média de  $7,4 \pm 5,0$  anos, escore corporal de três a cinco, segundo classificação de Speirs (1997) e peso corporal médio de  $404,19 \text{ Kg} \pm 46,93$ . Os animais pertenciam a uma propriedade rural localizada na região noroeste do estado do Rio de Janeiro onde eram mantidos em regime extensivo em pastagens, em piquetes amplos de aproximadamente  $10000\text{m}^2$ , compostos predominantemente por grama Tyfton. Os equinos avaliados possuíam a finalidade de execução de atividades agropecuárias e lazer.

### **1.2.3. Delineamento experimental**

Os animais passaram por exames físicos e clínicos prévios, uma semana antes da execução do experimento, onde foram feitas: pesagem (com fita de correlação peso x perímetro torácico), registro dos parâmetros físicos, hemograma e OPG (ovos por grama de fezes) de cada animal. Foram aferidas: frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), coloração de membranas mucosas, tempo de preenchimento capilar (TPC), temperatura retal (TR) e motilidade gastrointestinal (MI). Só foram inclusos no ensaio

animais com parâmetros físicos e hematológicos dentro dos intervalos de normalidade para a espécie. Ademais os animais foram desparasitados com mebendazol, via oral, na dose de 50mg/kg, com base nos resultados do exame parasitológico quantitativo OPG.

Antes da execução do experimento os animais passaram por um período de adaptação de uma semana. Durante esse período os cavalos foram diariamente conduzidos aos currais de experimentação, onde foram ofertados água e grama Tifton fresca, durante um período de seis horas diárias. O mesmo procedimento foi realizado antes da primeira coleta de amostra.

Durante o período experimental (48 horas), os animais foram alojados em currais com 150 m<sup>2</sup> com livre acesso a água. Foram divididos aleatoriamente dois grupos experimentais, um grupo tratamento (RA- com restrição alimentar e livre acesso à água), composto por 20 animais submetidos ao jejum máximo de 48 horas e grupo controle (CONT) contendo 12 animais os quais possuíam água e alimento *ad libitum*.

#### **1.2.4. Coleta de Amostras e Dados**

A avaliação dos parâmetros físicos supracitados foi realizada a cada coleta de amostras de sangue, que foi realizada por venopunção jugular utilizando-se agulha estéril 40x16 e tomando-se os devidos cuidados prévios de antissepsia.

A primeira coleta foi realizada no momento zero (animais sem jejum), e posteriormente a cada 6 horas com restrição de alimento, totalizando nove análises para cada animal. Assim, o M0 é momento zero, animal sem jejum; M1 é o momento após seis horas de restrição alimentar; M2 é o momento após 12 horas de restrição alimentar; M3 é o momento após 18 horas de restrição alimentar; M4 é o momento após 24 horas de restrição alimentar; M5 é o momento após 30 horas de restrição alimentar; M6 é o momento após 36 horas de restrição alimentar; M7 é o momento após 42 horas de restrição alimentar e M8 é o momento após 48 horas de restrição alimentar.

A motilidade intestinal foi avaliada através da auscultação de borboríngmos intestinais no centro de quatro quadrantes: dorsal direito, ventral direito, dorsal esquerdo e ventral esquerdo. A auscultação foi realizada por no mínimo um minuto em cada quadrante que receberam uma pontuação de escore de motilidade intestinal, de acordo com Singh et al. (1997): 0 (ausência de sons); 1 (sons crepitantes, pouco audíveis e abafados, com frequência por minuto igual a um); 2 (sons crepitantes, pouco audíveis e abafados, com frequência de mais de uma vez por minuto); 3 (borboríngmos audíveis e com frequência de uma vez por minuto) e 4 (borboríngmos audíveis e com frequência de dois a quatro por minuto). Os resultados da motilidade intestinal foram agrupados em escore da motilidade intestinal, obtendo-se o escore total pela somatória dos pontos dos quatro quadrantes, obtendo-se pontuação máxima de 16 pontos e mínima de zero.

### **1.2.5. Processamento das amostras**

Foram coletadas amostras de sangue em três diferentes tubos hematológicos BD-vacutainer®. O primeiro contendo EDTA a 10%, o segundo gel separador e o terceiro fluoreto de potássio, para a realização do hemograma, da bioquímica sérica e da glicose, respectivamente. Durante a coleta as amostras foram armazenadas em caixa isotérmica com gelo, em seguida foram conduzidas à geladeira e mantidas entre 2°C a 8°C até o momento do processamento.

As amostras de sangue destinadas à avaliação bioquímica (tubo com gel separador e tubo contendo fluoreto) foram centrifugadas em uma aceleração de 1609,7g em centrífuga<sup>1</sup>, durante cinco minutos. Após a separação da fração líquida e celular do sangue, o soro foi pipetado e acondicionado em tubo do tipo Eppendorfes® previamente identificados, e imediatamente congelados à -14°C.

---

<sup>1</sup> Centrífuga Modelo RDE B-40

Amostras de sangue do tubo contendo EDTA foram refrigeradas e enviadas ao setor de patologia clínica da UENF, local onde foram realizadas as análises hematológicas. Da mesma amostra foi pipetada uma gota de sangue para a confecção do esfregaço sanguíneo, que foi posteriormente corado com kit panótico rápido, New Prov®, destinada a contagem diferencial de leucócitos.

Ao chegarem ao laboratório as amostras foram processadas utilizando-se um contador automático de células<sup>2</sup>, que fez a quantificação das células do sangue por impedância fornecendo os seguintes parâmetros: hemácias (RBC), hemoglobina (HGB), hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e contagem total de leucócitos (WBC) .

As concentrações séricas das enzimas hepáticas, (AST- aspartato aminotransferase e GGT- gama glutamil transferase), os produtos do metabolismo (ureia, Cr- creatinina, PT- Proteínas Totais e Alb- Albumina) e lipidograma (CT- Colesterol Total e TG- Triglicerídeos) foram determinadas em analisador automatizado<sup>3</sup>, utilizando reagentes Labtest®.

#### **1.2.6. Análise Estatística**

Após a coleta dos dados, foi realizada a análise de consistência (para detectar dados atípicos), análise de normalidade e a estatística descritiva (média, desvio padrão, valores mínimos e máximos e coeficiente de variação) das variáveis estudadas (Proc UNIVARIATE, PROC MEANS, SAS, 2016). Posteriormente, foi realizada a análise de variância das variáveis FC, FR, TR, TPC, MI, hematológicas e bioquímicas incluindo no modelo de análise os efeitos fixos de grupo e momento e a interação simples grupo\*momento (PROC GLM, SAS, 2016). As médias foram comparadas por meio do teste ‘tukey’ ao nível de 5 % de probabilidade.

---

<sup>2</sup> Analisador Automático de Células Modelo SDH3- Vet, Marca Labtest®.

<sup>3</sup> Analisador de Bioquímica Automático, Modelo LabmaxPlenum, Marca Labtest®.

### 1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 1.3.1. Parâmetros físicos

Na Tabela 1 estão expressas as médias dos parâmetros clínicos avaliados: FC-Frequência Cardíaca, FR-Frequência Respiratória, TR-Temperatura Retal, TPC-Tempo de Preenchimento capilar e Motilidade Intestinal (MI) dos animais do grupo CONT e RA em oito momentos.

**Tabela 1:** Médias e respectivos desvios-padrão da avaliação física de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) incluindo: Frequência Cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR), Temperatura Retal (TR), Tempo de Preenchimento Capilar (TPC) e Motilidade Intestinal (MI) em diferentes momentos de avaliação.

AVALIAÇÃO FÍSICA		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
FC (Batimento /minuto)	CONT	46,0 <sup>Aa</sup> ±9,26	42,1 <sup>Aab</sup> ±9,93	37,6 <sup>Aabc</sup> ±8,94	34,3 <sup>Abc</sup> ±7,13	36,3 <sup>Aabc</sup> ±13,48	34,3 <sup>Abc</sup> ±6,31	36,0 <sup>Aabc</sup> ±9,34	29,6 <sup>Ac</sup> ±6,71	30,3 <sup>Ac</sup> ±6,20
	RA	43,8 <sup>Aa</sup> ±9,45	42,3 <sup>Aab</sup> ±8,67	37,6 <sup>Aabc</sup> ±6,51	35,5 <sup>Abc</sup> ±4,99	35,5 <sup>Abc</sup> ±5,54	35,9 <sup>Abc</sup> ±6,44	33,3 <sup>Ac</sup> ±6,81	32,6 <sup>Ac</sup> ±7,2	35,5 <sup>Ac</sup> ±6,71
FR (Movimento / minuto)	CONT	27,2 <sup>Aa</sup> ±7,85	29,6 <sup>Aa</sup> ±9,71	19,0 <sup>Aab</sup> ±5,15	14,0 <sup>Ab</sup> ±5,25	20,6 <sup>Aab</sup> ±13,08	21,0 <sup>Aab</sup> ±7,65	15,3 <sup>Ab</sup> ±7,00	14,0 <sup>Ab</sup> ±5,53	19,8 <sup>Aab</sup> ±10,03
	RA	25,0 <sup>Aa</sup> ±11,00	24,0 <sup>Aa</sup> ±7,28	18,4 <sup>Aabc</sup> ±4,75	17,3 <sup>Abc</sup> ±5,78	18,9 <sup>Aabc</sup> ±7,18	21,2 <sup>Aab</sup> ±7,44	14,2 <sup>Ac</sup> ±3,60	13,0 <sup>Ac</sup> ±4,78	19,0 <sup>Aabc</sup> ±5,09
TR (°C)	CONT	37,6 <sup>Aab</sup> ±0,56	37,9 <sup>Aa</sup> ±0,54	37,6 <sup>Aab</sup> ±0,41	36,9 <sup>Ac</sup> ±0,47	37,3 <sup>Abc</sup> ±0,35	37,6 <sup>Abc</sup> ±0,38	37,4 <sup>Aabc</sup> ±0,35	37,2 <sup>Abc</sup> ±0,25	37,3 <sup>Aabc</sup> ±0,32
	RA	37,2 <sup>Aa</sup> ±0,55	37,6 <sup>Aa</sup> ±0,34	37,4 <sup>Aab</sup> 0,58	37,3 <sup>Aab</sup> ±0,30	37,2 <sup>Aab</sup> ±0,42	37,3 <sup>Aab</sup> ±0,46	37,3 <sup>Aab</sup> ±0,53	37,0 <sup>Ab</sup> 0,45	37,0 <sup>Bb</sup> 0,41
TPC (segundos)	CONT	2,1 <sup>Aa</sup> ±0,40	2,0 <sup>Aa</sup> ±0,43	2,0 <sup>Aa</sup> ±0,51	2,1 <sup>Aa</sup> ±0,39	2,0 <sup>Aa</sup> ±0,45	2,1 <sup>Aa</sup> ±0,40	2,0 <sup>Aa</sup> ±0,00	2,1 <sup>Aa</sup> ±0,40	2,27 <sup>Aa</sup> 0,47
	RA	2,15 <sup>Aa</sup> ±0,37	2,05 <sup>Aa</sup> ±0,22	2,15 <sup>Aa</sup> ±0,37	2,10 <sup>Aa</sup> ±0,31	2,10 <sup>Aa</sup> ±0,31	2,15 <sup>Aa</sup> ±0,37	2,15 <sup>Aa</sup> ±0,37	2,10 <sup>Aa</sup> ±0,31	2,1 <sup>Aa</sup> ±0,31
MI (pontos)	CONT	15,0 <sup>Aa</sup> ±2,74	14,5 <sup>Aa</sup> ±2,71	15,3 <sup>Aa</sup> ±1,30	14,0 <sup>Aa</sup> ±2,82	13,8 <sup>Aa</sup> ±3,46	15,3 <sup>Aa</sup> ±1,30	15,8 <sup>Aa</sup> ±0,58	15,3 <sup>Aa</sup> ±1,30	15,8 <sup>Aa</sup> ±0,58
	RA	15,4 <sup>Aa</sup> ±1,60	14,0 <sup>Aa</sup> ±2,25	10,8 <sup>Bb</sup> ±69	9,4 <sup>Bb</sup> ±3,67	11,4 <sup>Ab</sup> ±3,95	10,7 <sup>Bb</sup> ±4,87	8,7 <sup>Bb</sup> ±4,87	8,6 <sup>Bb</sup> ±3,44	9,2 <sup>Bb</sup> ±8,82

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste 't' p<0,05.

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste 't' p<0,05.

M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

Não foram observadas diferenças de médias entre os grupos, em todos os momentos avaliados, para frequência cardíaca. O grupo CONT teve redução da frequência cardíaca em M3, M5, M7 e M8 em relação à média basal, enquanto o grupo RA teve redução a partir de M3, até o M8.

De acordo com Ditrich et al. (2010), os equinos são reativos a interação com humanos e mudanças físicas, comportamentais e hematológicas podem ocorrer como estratégias fisiológicas adaptativas. Portanto a frequência cardíaca mais elevada no início do experimento em ambos os grupos, possivelmente está associada às reações fisiológicas mediante o contato com a equipe de coleta.

Embora a redução da frequência cardíaca tenha sido observada nos dois grupos, o grupo RA teve mais momentos com média inferior ao momento basal que o grupo CONT. Em um experimento com camundongos Mager et al. (2006) relatam que, tanto o jejum quanto a restrição calórica suscitam diminuição da frequência cardíaca e da pressão arterial, associado a uma diminuição da atividade simpática no sistema nervoso autônomo.

Na variável frequência respiratória, não foram detectadas diferenças de média entre os grupos em nenhum momento de avaliação. O grupo controle e o grupo tratamento apresentaram diminuição na frequência respiratória em relação à média basal em M3, M6 e M7. Por outro lado Yash Pal e Gupta (2004) relatam diminuição significativa na frequência respiratória em pôneis a partir de três dias de restrição alimentar associada a uma redução da demanda metabólica. O contraste entre os resultados possivelmente é decorrente do tempo de jejum mais prolongado imposto pelos autores.

Até M7 não foram detectadas diferenças de médias entre o grupo CONT e RA, para temperatura retal, porém em M8, o grupo RA apresentou redução da temperatura retal em relação ao grupo CONT.

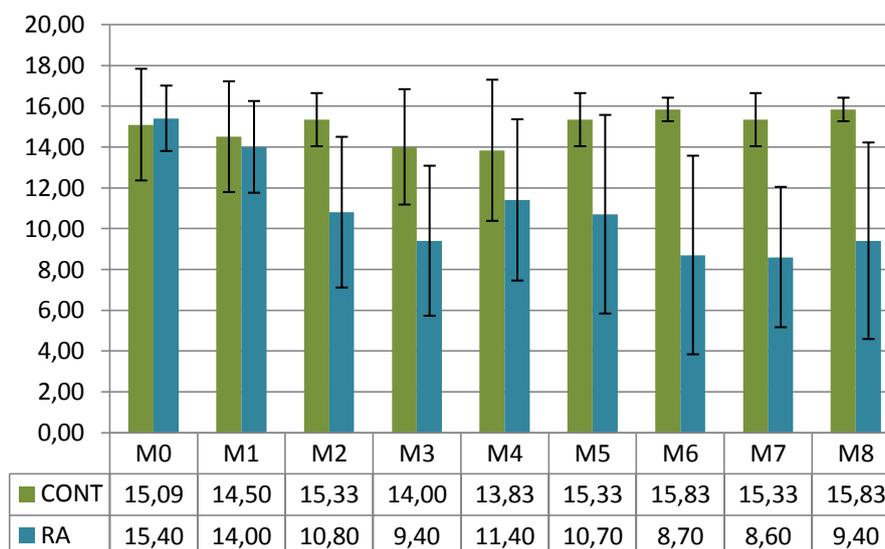
O grupo CONT, apresentou redução da TR nos momentos, M3, M4 e M7, em relação à média basal, enquanto o grupo RA, redução na temperatura retal, foi observada em M7 e M8. Yash Pall e Gupta (2004) relatam ausência de efeito do jejum sobre a temperatura retal até quatro dias de jejum em burros e

mulas, e até três dias em pôneis, precedidos de uma redução da temperatura retal. Dada a diferença de média observada entre os grupos em M8, pode-se sugerir que o jejum de 48 horas, diminui a temperatura retal de equinos, em resposta a uma redução da taxa metabólica (YASH PALL; GUPTA 2004).

Não foram observadas diferenças de média para TPC, nem entre grupos e nem entre momentos tanto no grupo CONT quanto para o grupo RA, indicando ausência de efeito da restrição alimentar sobre esse parâmetro. Resultados semelhantes aos descritos na literatura (GUPTA et al., 1999).

As médias e respectivos desvios-padrão da pontuação de escore de motilidade intestinal estão expressos na Figura 1.

**Figura 1:** Histograma contendo médias da pontuação de escore da Motilidade Intestinal, no grupo Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT), em diferentes momentos de avaliação.



M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

A motilidade intestinal foi a única variável da avaliação física dos equinos que apresentou correlação significativa ( $P < 0,001$ ) Grupo x Momento. No M0,

M1 e M4 não houve diferença de média significativa entre os grupos. Nos demais momentos a motilidade intestinal do grupo RA sofreu diminuição em relação ao grupo CONT. No grupo CONT não houve diferença de média em nenhum momento avaliado. Já no grupo TRAT a partir do M3 houve diminuição da motilidade intestinal em relação ao valor basal. Essa diminuição da motilidade intestinal ocorreu possivelmente devido à diminuição na atividade mioelétrica no cólon, como descrito por Merritt et al. (1995). Atividades mioelétricas e mecânicas estão ligadas e, portanto, uma diminuição na atividade mioelétrica produz uma diminuição na atividade contrátil e conseqüentemente nos sons gastrointestinais (NAVARRE; ROUSSEL 1996). Resultados em conformidade com os descritos por, Hospes e Bleul, (2007) que relatam diminuição na motilidade intestinal e defecação em resposta ao jejum.

### **1.3.2. Hemograma**

Os valores referentes aos parâmetros do hemograma do grupo TRAT e RA com seus respectivos desvios-padrão estão expressos na Tabela 3.

**Tabela 2:** Médias e respectivos desvios-padrão da contagem de Hemácias (RBC), Volume Gobular (HCT), Hemoglobina (HGB), Volume Corpuscular Médio (VCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação.

ERITROGRAMA		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
RBC ( $\times 10^9/\mu\text{l}$ )	CONT	7,14 <sup>Aa</sup> ±1,02	7,15 <sup>Aa</sup> ±1,14	7,21 <sup>Aa</sup> ±1,08	7,18 <sup>Aa</sup> ±0,85	6,74 <sup>Aa</sup> ±0,76	6,71 <sup>Aa</sup> ±0,74	6,91 <sup>Aa</sup> ±0,94	7,08 <sup>Aa</sup> ±0,97	6,81 <sup>Aa</sup> ±0,85
	RA	6,71 <sup>Aa</sup> ±0,97	6,62 <sup>Aa</sup> ±0,42	6,56 <sup>Aa</sup> ±1,15	6,55 <sup>Aa</sup> ±1,25	6,55 <sup>Aa</sup> ±1,38	6,55 <sup>Aa</sup> ±1,25	6,55 <sup>Aa</sup> ±1,20	6,55 <sup>Aa</sup> ±1,32	6,55 <sup>Aa</sup> ±1,36
HCT (%)	CONT	35,09 <sup>Aa</sup> ± 4,09	34,87 <sup>Aa</sup> ±4,87	35,10 <sup>Aa</sup> ±4,39	34,99 <sup>Aa</sup> ±3,43	33,49 <sup>Aa</sup> ±3,50	32,73 <sup>Aa</sup> ±3,10	33,43 <sup>Aa</sup> ±3,92	34,40 <sup>Aa</sup> ±4,10	32,83 <sup>Aa</sup> ±3,62
	RA	34,09 <sup>Aa</sup> ±3,64	33,20 <sup>Aa</sup> ±3,85	33,27 <sup>Aa</sup> ±4,70	33,16 <sup>Aa</sup> ±5,30	33,56 <sup>Aa</sup> ±5,85	33,20 <sup>Aa</sup> ±5,12	33,07 <sup>Aa</sup> ±5,00	33,25 <sup>Aa</sup> ±5,08	34,07 <sup>Aa</sup> ±5,49
HGB (g/dl)	CONT	11,07 <sup>Aa</sup> ±1,60	11,08 <sup>Aa</sup> ±1,90	11,02 <sup>Aa</sup> ±1,67	11,03 <sup>Aa</sup> ±1,19	10,34 <sup>Aa</sup> ±1,16	10,21 <sup>Aa</sup> ±1,09	10,60 <sup>Aa</sup> ±1,42	10,72 <sup>Aa</sup> ±1,51	10,23 <sup>Aa</sup> ±1,26
	RA	11,13 <sup>Aa</sup> ±1,55	10,55 <sup>Aa</sup> ±1,42	10,45 <sup>Aa</sup> ±1,70	10,50 <sup>Aa</sup> ±1,98	10,77 <sup>Aa</sup> ±2,12	10,74 <sup>Aa</sup> ±1,96	10,66 <sup>Aa</sup> ±1,88	10,66 <sup>Aa</sup> ±1,96	10,01 <sup>Aa</sup> ±2,25
VCM (fl)	CONT	49,24 <sup>Aa</sup> ±2,27	48,92 <sup>Aa</sup> ±2,57	48,83 <sup>Aa</sup> ±2,59	48,83 <sup>Aa</sup> ±2,41	48,83 <sup>Aa</sup> ±2,40	49,00 <sup>Aa</sup> ±2,37	48,58 <sup>Aa</sup> ±2,50	48,75 <sup>Aa</sup> ±2,45	48,25 <sup>Aa</sup> ±2,63
	RA	51,05 <sup>Aa</sup> ±3,33	51,10 <sup>Aa</sup> ±3,40	51,10 <sup>Aa</sup> ±3,45	50,90 <sup>Aa</sup> ±3,39	51,20 <sup>Aa</sup> ±3,52	51,30 <sup>Aa</sup> ±3,57	50,95 <sup>Aa</sup> ±3,50	51,00 <sup>Aa</sup> ±3,85	50,80 <sup>Aa</sup> ±3,46
CHCM (%)	CONT	31,46 <sup>Aa</sup> ±1,26	31,66 <sup>Aa</sup> ±1,32	31,36 <sup>Aa</sup> ±1,09	31,52 <sup>Aa</sup> ±0,84	31,52 <sup>Aa</sup> ±1,12	31,19 <sup>Aa</sup> ±0,61	31,73 <sup>Aa</sup> ±1,15	31,09 <sup>Aa</sup> ±0,85	31,10 <sup>Aa</sup> ±0,78
	RA	32,53 <sup>Aa</sup> ±1,33	31,71 <sup>Aa</sup> ±1,07	31,29 <sup>Aa</sup> ±1,18	31,55 <sup>Aa</sup> ±1,25	31,93 <sup>Aa</sup> ±1,29	32,23 <sup>Aa</sup> ±1,32	32,12 <sup>Aa</sup> ±1,40	31,95 <sup>Aa</sup> ±1,59	32,14 <sup>Aa</sup> ±1,54

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

Hematócrito, hemoglobina, hemácias, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média dos animais do grupo CONT e RA se mantiveram sem diferença de média ( $P > 0,05$ ) entre grupos bem como entre momentos.

A restrição alimentar crônica em equinos é uma condição capaz de reduzir a quantidade de glóbulos vermelhos circulantes, podendo até mesmo gerar quadros de anemia, como proposto em experimento conduzido por

Muñoz et al. (2010). Por outro lado a influência do jejum agudo sobre a hematimetria de equinos saudáveis é pouco relatada. No presente estudo o jejum de 48 horas não teve efeito sobre a hematimetria dos equinos avaliados. Resultados semelhantes foram relatos em equinos submetidos a jejum pré-cirúrgico prolongado (HOSPES; BLEU, 2007).

As hemácias são células cruciais quando se trata de restrição alimentar, uma vez que o metabolismo dessas células consomem como fonte exclusiva de energia a glicose, elemento normalmente poupado pelas demais células do organismo devido a seu alto custo metabólico. Uma vez que sua principal função é carrear oxigênio, a eficácia desta tarefa seria extremamente comprometida se o oxigênio fosse usado em seu metabolismo próprio. Como estratégia de otimizar o transporte do oxigênio, as hemácias utilizam a quebra anaeróbica de glicose como via metabólica. Produzir glicose mediante jejum representa intensa perda proteica muscular que é um estoque energético limitado do corpo (MALHEIROS, 2006). Apesar do metabolismo inteiramente dependente de glicose dessas células, o jejum agudo parece não influenciar na contagem total de hemácias circulantes, como demonstrado nos dados do presente estudo.

Na Tabela 4 são apresentados os valores de média e desvios-padrão relativos à leucometria global e específica dos grupos CONT e RA em nove tempos distintos.

**Tabela 3:** Médias e respectivos desvios-padrão da contagem de leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), eosinófilos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), linfócitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) e monócitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação.

LEUCOMETRI A		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	CONT	10,92 <sup>Aa</sup> ±2,51	10,05 <sup>Aa</sup> ±2,04	9,67 <sup>Aa</sup> ±1,51	9,04 <sup>Aa</sup> ±1,86	9,89 <sup>Aa</sup> ±2,20	9,86 <sup>Aa</sup> ±2,19	9,14 <sup>Aa</sup> ±3,10	9,42 <sup>Aa</sup> ±1,52	9,16 <sup>Aa</sup> ±1,30
	RA	10,16 <sup>Aa</sup> ±2,22	9,09 <sup>Aab</sup> ±2,22	8,42 <sup>Bb</sup> ±1,64	7,97 <sup>Ab</sup> ±1,73	8,06 <sup>Bb</sup> ±1,77	7,90 <sup>Ab</sup> ±2,73	7,71 <sup>Ab</sup> ±1,94	7,70 <sup>Bb</sup> ±1,82	8,14 <sup>Ab</sup> ±1,76
EO ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	CONT	7,66 <sup>Aa</sup> ±3,99	6,13 <sup>Aab</sup> ±1,55	5,85 <sup>Aab</sup> ±2,18	6,06 <sup>Aab</sup> ±2,40	4,86 <sup>Aab</sup> ±3,50	3,36 <sup>Ab</sup> ±2,24	5,23 <sup>Aa</sup> ±2,59	5,09 <sup>Aa</sup> ±3,49	5,67 <sup>Aab</sup> ±4,34
	RA	6,87 <sup>Aa</sup> ±6,54	6,47 <sup>Aa</sup> ±5,74	4,84 <sup>Aa</sup> ±4,24	5,49 <sup>Aa</sup> ±5,22	6,36 <sup>Aa</sup> ±7,49	4,85 <sup>Aa</sup> ±2,59	3,52 <sup>Aa</sup> ±3,42	2,70 <sup>Ba</sup> ±2,15	3,08 <sup>Ba</sup> ±2,27
BT ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	CONT	0,19 <sup>Aa</sup> ±45,93	0,00 <sup>Aa</sup> ±0,00	0,11 <sup>Aa</sup> ±0,34	0,25 <sup>Aa</sup> ±0,46	0,00 <sup>Aa</sup> ±0,00	0,00 <sup>Aa</sup> ±0,00	0,83 <sup>Aa</sup> ±0,29	0,00 <sup>Aa</sup> ±0,00	0,00 <sup>Aa</sup> ±0,00
	RA	0,41 <sup>Aa</sup> ±0,19	0,76 <sup>Aa</sup> ±0,23	0,36 <sup>Aa</sup> ±0,16	0,17 <sup>Aa</sup> ±0,35	0,20 <sup>Aa</sup> ±0,36	0,74 <sup>Aa</sup> ±0,23	0,10 <sup>Aa</sup> ±0,25	0,00 <sup>Aa</sup> 0,00	0,51 <sup>Aa</sup> ±0,23
SE ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	CONT	5,95 <sup>Aa</sup> ±1,85	5,78 <sup>Aa</sup> ±1,73	5,47 <sup>Aa</sup> ±1,10	5,59 <sup>Aa</sup> ±1,70	6,33 <sup>Aa</sup> ±2,14	6,20 <sup>Aa</sup> ±2,26	6,62 <sup>Aa</sup> ±2,12	6,34 <sup>Aa</sup> 1,59	5,91 <sup>Aa</sup> ±1,15
	RA	5,49 <sup>Aa</sup> ±1,51	4,99 <sup>Aa</sup> ±2,10	4,61 <sup>Aa</sup> ±1,24	4,60 <sup>Aa</sup> ±1,30	4,56 <sup>Ba</sup> ±1,60	4,60 <sup>Ba</sup> ±1,31	4,89 <sup>Ba</sup> ±1,86	5,14 <sup>Aa</sup> ±1,85	5,32 <sup>Aa</sup> ±1,71
LI ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	CONT	3,35 <sup>Aa</sup> ±0,95	3,22 <sup>Aa</sup> ±1,44	3,16 <sup>Aa</sup> ±0,83	2,46 <sup>Aa</sup> ±0,68	2,68 <sup>Aa</sup> ±0,83	3,03 <sup>Aa</sup> ±1,04	2,51 <sup>Aa</sup> ±1,05	2,39 <sup>Aa</sup> ±0,75	2,17 <sup>Aa</sup> ±0,94
	RA	3,60 <sup>Aa</sup> ±1,49	3,15 <sup>Aab</sup> ±1,33	2,89 <sup>Aab</sup> ±1,26	2,67 <sup>Aab</sup> ±1,6	2,78 <sup>Aab</sup> ±1,09	2,85 <sup>Aab</sup> ±1,02	2,22 <sup>Ab</sup> ±0,91	2,10 <sup>Ab</sup> ±0,72	2,23 <sup>Ab</sup> ±0,95
MO ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	CONT	0,32 <sup>Aa</sup> ±0,16	0,29 <sup>Aa</sup> ±0,16	0,27 <sup>Aa</sup> ±0,17	0,36 <sup>Aa</sup> ±0,24	0,32 <sup>Aa</sup> ±0,18	0,26 <sup>Aa</sup> ±0,19	0,28 <sup>Aa</sup> 0,24	0,23 <sup>Aa</sup> ±0,16	0,20 <sup>Aa</sup> 0,18
	RA	0,34 <sup>Aa</sup> ±0,25	0,25 <sup>Aab</sup> ±0,17	0,21 <sup>Ab</sup> ±0,11	0,17 <sup>Bab</sup> ±0,10	0,24 <sup>Aab</sup> ±0,13	0,23 <sup>Ab</sup> ±0,13	0,21 <sup>Ab</sup> ±0,10	0,15 <sup>Ab</sup> ±0,11	0,19 <sup>Ab</sup> ±0,12

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar. WBC- Leucometria Global; EO- Eosinófilos; BT- Neutrófilos Bastonetes; SE- Neutrófilos Segmentados; LI- Linfócitos; MO- monócitos.

Entre os grupos, foi observada diferença de média na contagem global de leucócitos em M2, M4 e M7, momentos em que a leucometria global do grupo RA apresentou diminuição em relação ao grupo CONT. O grupo CONT

não teve diferença de média em todos os momentos avaliados para a leucometria global, enquanto o grupo RA, teve redução a partir do M2.

Nos momentos M7 e M8, o grupo RA apresentou redução de eosinófilos em relação ao grupo CONT, associado à elevação da cortisolemia induzida pela restrição alimentar (YASH PAL; GUPTA, 2004).

Não foram observadas diferenças de média nem entre grupos, e nem entre momentos, para neutrófilos bastões, em ambos os grupos. Para neutrófilos segmentados, não foram observadas diferenças de média em ambos os grupos, entre os momentos avaliados, porém nos momentos M4, M5 e M6, o grupo RA apresentou diminuição de neutrófilos em relação ao grupo CONT.

Em humanos Van Oostrom et al. (2002), identificaram um incremento na contagem de neutrófilos no período pós-prandial, associado a ativação dessas células pela combinação da abundância de lipídios e glicose. Embora não tenha sido identificada diferença de média entre os momentos no grupo CONT, a ativação pós-prandial de neutrófilos pode ser uma possível causa da diferença de média observada entre os grupos. Além disso quando submetidos a restrição alimentar os equinos permanecem inativos, com poucos movimentos voluntários, para poupar energia metabólica (YASH PAL; GUPTA, 2004). Dado que a atividade física promove liberação de neutrófilos do compartimento de reserva marginal para a circulação, a menor contagem de neutrófilos no grupo CONT, pode estar associado a esse evento fisiológico (WALTON, 2014). Portanto são necessárias pesquisas específicas que comprovem tais hipóteses.

Por outro lado Muñoz et al. (2010), descreveram aumento na contagem de neutrófilos em equinos com má nutrição e emagrecimento, correlacionando essa neutrofilia a maior susceptibilidade a infecções pela restrição alimentar crônica.

Não foram observadas diferenças de média entre grupos para linfócitos. Entre momentos, também não foram identificadas diferenças de média para o grupo CONT. Porém, no grupo RA, observou-se uma diminuição em relação à

média basal (M0) nos momentos, M6, M7 e M8. Resultado semelhante ao de Naylor e Kenyon (1981), que durante o jejum prolongado (6 dias), observaram diminuição progressiva na contagem de linfócitos de equinos, acompanhada de uma maior susceptibilidade á infecções. Possivelmente diferenças de médias entre os grupos não foram alcançadas pelo tratamento empregado ser jejum curto (<72 horas).

A contagem de monócitos do grupo CONT, permaneceu sem diferença estatística em todos os momentos, o grupo RA por outro lado, a partir do M5 sofreu redução em relação à média basal. Os monócitos são precursores dos macrófagos teciduais e estão envolvidos tanto na imunidade inata quanto na adaptativa (LESTER et al., 2015), a redução observada na contagem dessas células no grupo RA sugerem comprometimento imune pela restrição alimentar, como proposto anteriormente na literatura (Naylor; Kenion 1981, Oostrom et al., 2002).

### **1.3.3. Análises Bioquímicas**

Os valores referentes ás médias de triglicerídeos, colesterol total e glicose do grupo CONT e RA e seus respectivos desvios-padrão estão contidos na Tabela 5.

**Tabela 4:** Médias e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de triglicerídeos, colesterol total e glicose em mg/dl de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação.

Momento	GLICOSE		COLESTEROL		TRIGLICERÍDEOS	
	CONT	RA	CONT	RA	CONT	RA
M0	73,66 <sup>Aa</sup>	78,75 <sup>Aab</sup>	79,75 <sup>Aa</sup>	86,80 <sup>Aa</sup>	16,42 <sup>Aa</sup>	19,45 <sup>Ae</sup>
	±10,38	±8,27	±14,74	±23,88	±8,67	±5,51
M1	71,00 <sup>Aa</sup>	82,05 <sup>Ba</sup>	87,41 <sup>Aa</sup>	92,80 <sup>Aa</sup>	16,75 <sup>Aa</sup>	25,2 <sup>Be</sup>
	±14,48	±5,51	±11,70	±25,69	±4,81	±11,00
M2	67,33 <sup>Aa</sup>	69,60 <sup>Ab</sup>	84,41 <sup>Aa</sup>	93,75 <sup>Aa</sup>	13,33 <sup>Aa</sup>	28,65 <sup>Be</sup>
	±9,08	±13,33	±9,44	±38,32	±8,03	±13,22
M3	60,75 <sup>Aa</sup>	76,00 <sup>Aab</sup>	81,91 <sup>Aa</sup>	95,95 <sup>Aa</sup>	15,67 <sup>Aa</sup>	45,00 <sup>Be</sup>
	±15,97	±7,53	±13,21	±30,02	±7,36	±24,41
M4	77,27 <sup>Aa</sup>	78,10 <sup>Aab</sup>	83,83 <sup>Aa</sup>	100,95 <sup>Aa</sup>	15,83 <sup>Aa</sup>	69,05 <sup>Bed</sup>
	±14,66	±8,93	±11,00	±27,93	±5,29	±32,78
M5	64,00 <sup>Aa</sup>	71,05 <sup>Aab</sup>	85,25 <sup>Aa</sup>	103,30 <sup>Aa</sup>	17,67 <sup>Aa</sup>	105,8 <sup>Bd</sup>
	±15,50	±14,83	±14,60	±29,50	±5,21	±53,96
M6	70,58 <sup>Aa</sup>	68,63 <sup>Ab</sup>	92,83 <sup>Aa</sup>	112,16 <sup>Aa</sup>	17,42 <sup>Aa</sup>	159,05 <sup>Bc</sup>
	±14,60	±12,53	±14,74	±32,49	±5,50	±66,19
M7	70,25 <sup>Aa</sup>	74,95 <sup>Aab</sup>	93,83 <sup>Ba</sup>	116,80 <sup>Aa</sup>	17,75 <sup>Aa</sup>	197,30 <sup>Bb</sup>
	±14,60	±16,59	±13,76	±36,74	±5,12	±96,67
M8	63,08 <sup>Aa</sup>	80,05 <sup>Bab</sup>	93,00 <sup>Ba</sup>	117,35 <sup>Aa</sup>	17,67 <sup>Aa</sup>	245,80 <sup>Ba</sup>
	±12,55	±14,81	±14,42	±35,69	±6,83	±116,13

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

Nos momentos M2 e M8, foram observados incrementos na concentração de glicose do grupo RA em relação ao grupo CONT. Resultados em conformidade com os descritos por Gupta et al. (1999) e Yash Pal e Gupta (2004), que relatam aumento de glicose nos primeiros dias de jejum seguidos de decréscimo a partir do terceiro dia.

Durante todos os momentos avaliados os equinos mantiveram a concentração sérica de glicose dentro do intervalo de referência proposto para

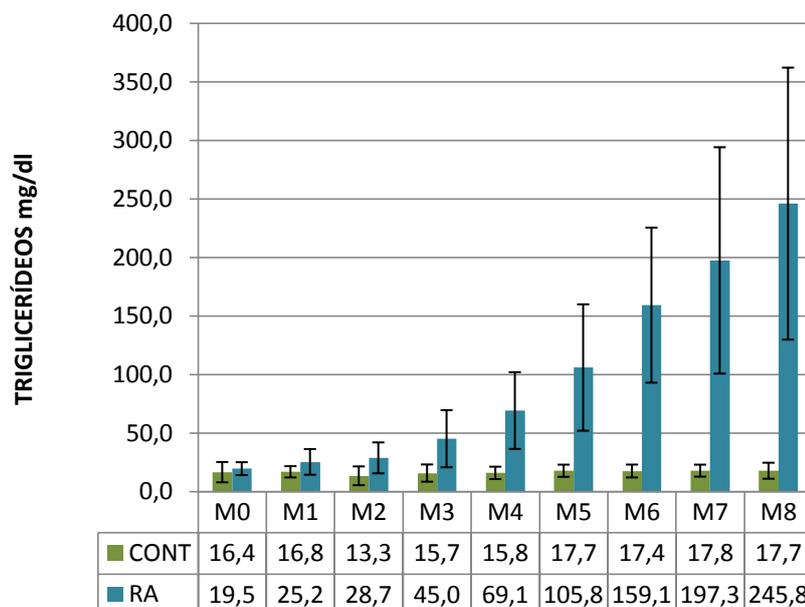
a espécie. Esses resultados corroboram com os de Hospes e Bleul, (2007), que ao submeterem equinos ao jejum prolongado, relatam que todos os animais se mantiveram com a concentração de glicose dentro do intervalo, nos primeiros sete dias de jejum. Por outro lado Frank et al. (2002) relata diminuição significativa da concentração sérica de glicose de éguas submetidas ao jejum em relação ao grupo de éguas alimentadas ad libitum com feno e capim picado.

Ao longo das 48 horas de jejum não foi observada hipoglicemia em nenhum animal submetido ao jejum. A manutenção da glicemia apesar da restrição calórica é possível graças a um refinado sistema de homeostase da glicose. A via da glicogenólise mantém a glicemia nas primeiras horas de jejum, cedendo espaço à gliconeogênese no jejum prolongado (COELHO, 2016).

A concentração sérica de colesterol total do grupo RA foi significativamente maior que o grupo CONT nos momentos M7 e M8. No grupo CONT e RA não foram observadas diferenças de média entre os momentos. Apesar do acréscimo de média observado, apenas dois animais do grupo RA apresentaram hipercolesterolemia a partir de 12 horas de jejum, que se manteve até fim do período experimental. No momento M8, mais um animal apresentou elevação de colesterol acima do intervalo de referência para a espécie, totalizando três animais com hipercolesterolemia ao decorrer das 48 horas de restrição alimentar. Resultados semelhantes foram demonstrados por Hospes e Bleul, (2007) que identificaram elevação progressiva e marcante nas concentrações séricas de colesterol em éguas submetidas ao jejum prolongado. Ao submeter burros e mulas ao jejum solido total durante dez dias, GUPTA et al. (1999), relataram concentração sérica de colesterol total significativamente elevada comparada aos valores do momento controle.

Os valores referentes às médias da concentração sérica de Triglicerídeos dos animais do grupo CONT e RA estão contidos na Figura 3.

**Figura 2:** Histograma e valores de média das concentrações séricas de Triglicerídeos de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação.



M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

Foi observada interação tratamento x momento na variável triglicerídeo ( $P < 0.001$ ). No M0, início da restrição alimentar, o grupo CONT e RA apresentavam médias de concentração de triglicerídeos estatisticamente iguais. Grupo controle com média de 16,4 mg/dl e grupo tratamento com 19,5 mg/dl. Apesar da concentração sérica de triglicerídeos do grupo tratamento apresentar incremento progressivo desde o M0, diferença significativa entre os grupos foi alcançada apenas no M3. Tais resultados corroboram com os relatados por Hospes e Bleu (2007), que relatam aumento progressivo de triglicerídeos ao logo de 13 dias de restrição alimentar em equinos.

No M3, cinco animais apresentavam concentração de triglicerídeos acima do limite máximo para a espécie, e no M4 apenas um animal possuía valor de triglicerídeos dentro do intervalo de referência. A partir de 30 horas de jejum solido total, todos os animais desenvolveram hipertrigliceridemia. Resultados semelhantes aos de Naylor et al. (1980) que relatam aumento

sérico acima do intervalo de referência em cinco dos seis animais submetidos ao jejum. Frank et al. (2002) relatam desenvolvimento de hipertrigliceridemia após 36 horas de jejum e Tóth et al. (2018) apenas após 96 horas de jejum em cavalos AkalTeke. Em contrapartida, em experimento conduzido por Hospes e Bleu (2007) apesar dos animais submetidos ao jejum apresentarem elevação progressiva na média de triglicérides, os animais não desenvolveram hipertrigliceridemia.

O aumento da concentração sérica de triglicérides foi acompanhado de aspecto leitoso no plasma. Lipemia já havia sido relatado previamente por Gupta et al. (1999) ao submeterem burros e mulas ao jejum prolongado. O aumento na concentração sérica de triglicérides no jejum se deve à influência do glucagon, principal hormônio regulador da homeostasia da glicose no jejum. A lipólise é aumentada no tecido adiposo, mobilizando triacilglicerol que geram ácidos graxos e glicerol para os tecidos capazes de utiliza-los como substrato energético. No jejum prolongado, além do glucagon, hormônios adrenérgicos e o cortisol incrementam a lipólise, disponibilizando mais ácidos graxos e glicerol (COELHO, 2016).

Apesar da elevação da concentração de triglicérides promovida pelo jejum ser bem documentada na literatura, existe grande variação quanto ao tempo de jejum capaz de promover a hipertrigliceridemia. Possivelmente diferenças raciais de escore corporal e de dietas prévias, influenciam a tolerância ao jejum.

Os valores de média e desvios-padrão da concentração sérica de Ureia e creatinina do grupo CONT e RA estão contidos na Tabela 6.

**Tabela 5:** Médias e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de Ureia e Creatinina expressas em mg/dl de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação.

Momento	UREIA		CREATININA	
	CONT	RA	CONT	RA
<b>M0</b>	35,5±8,15 <sup>Aabcd</sup>	34,3±10,14 <sup>Ae</sup>	0,98± 0,09 <sup>Aa</sup>	1,06±0,15 <sup>Aab</sup>
<b>M1</b>	38,2±8,24 <sup>A abc</sup>	36,9±10,61 <sup>Acde</sup>	1,04± 0,10 <sup>Aa</sup>	1,11±0,15 <sup>Aa</sup>
<b>M2</b>	39,9 ±9,02 <sup>Aa</sup>	36,5±10,87 <sup>Acde</sup>	1,03±0,13 <sup>Aa</sup>	1,12±0,15 <sup>Aa</sup>
<b>M3</b>	39,0±9,65 <sup>Aab</sup>	35,1±9,43 <sup>Ade</sup>	0,98±0,11 <sup>Aa</sup>	1,07±0,17 <sup>Aab</sup>
<b>M4</b>	37,4 ±9,65 <sup>Aabc</sup>	50,2 ± 6,76 <sup>Ba</sup>	1,01±0,16 <sup>Aa</sup>	1,07±0,18 <sup>Aab</sup>
<b>M5</b>	31,8±7,09 <sup>Ac d</sup>	40,5 ±7,90 <sup>Bbcd</sup>	0,90±0,11 <sup>Aa</sup>	0,94±0,24 <sup>Aabc</sup>
<b>M6</b>	32,5±6,02 <sup>Abcd</sup>	42,2±9,83 <sup>Bbc</sup>	0,99±0,12 <sup>Aa</sup>	0,97±0,25 <sup>Aabc</sup>
<b>M7</b>	32,2±8,86 <sup>Ac d</sup>	43,5±8,46 <sup>Bb</sup>	0,90±0,11 <sup>Aa</sup>	0,84±0,27 <sup>Ac</sup>
<b>M8</b>	30,7±5,94 <sup>Ad</sup>	45,6 ±11,51 <sup>Bab</sup>	0,89±0,17 <sup>Aa</sup>	0,89±0,24 <sup>Abc</sup>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

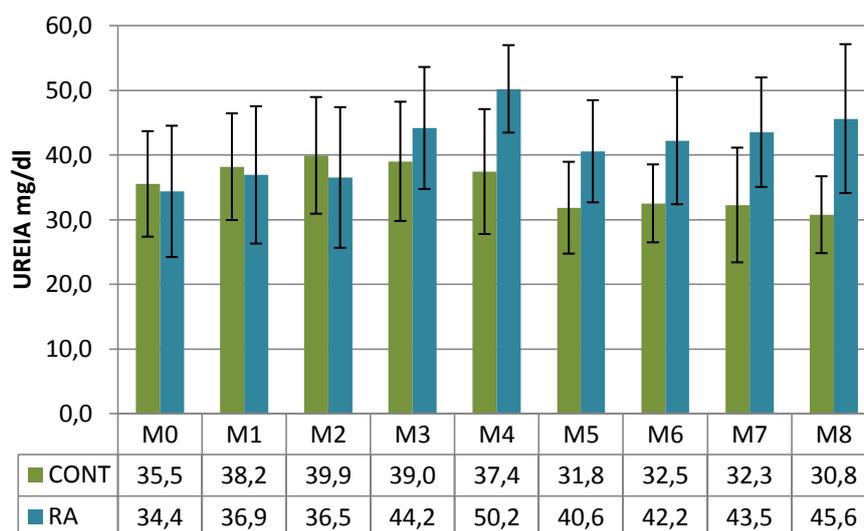
Durante todos os momentos avaliados não foram observadas diferenças de média de Creatinina entre os grupos CONT e RA. Entre momentos, no grupo CONT, também não foram registradas diferenças de média. O grupo RA por outro lado, sofreu diminuição de creatinina nos momentos M7 e M8, em relação à média basal. A concentração da creatinina depende simultaneamente do clearance renal e da atividade muscular com quebra do fosfato de creatina, portanto atividade física promove incremento em sua concentração sérica (WALTON, 2014). A redução de creatinina observada provavelmente ocorreu pela diminuição de sua produção, dado que equinos submetidos ao jejum reduzem a atividade física voluntária (YASH PAL; GUPTA, 2004). Gupta et al. (1999), relata aumento sérico de creatinina em burros e mulas do terceiro ao quinto dia de privação alimentar total.

Apesar da redução de creatinina observada, nenhum animal durante as avaliações apresentou valor fora do intervalo de referência para a espécie,

resultados semelhantes aos de Muñoz et al., 2010 , que relatam que equinos com privação alimentar crônica mantém valor de creatinina dentro do intervalo de referência.

Os valores de média da concentração sérica de Ureia do grupo CONT e RA estão contidos na Figura 3.

**Figura 3:** Histograma contendo valores de média das concentrações séricas de Ureia de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação.



M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; , M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

Foi observada interação grupo x momento na variável ureia ( $P < 0.001$ ). A concentração sérica de ureia do grupo RA foi maior que a do grupo CONT a partir de 24 horas de restrição alimentar, permanecendo com média superior em todos os momentos avaliados até se completarem às 48 horas de ensaio. No M4 e M8, foram registrados dois picos de ureia no Grupo RA e do M5 em diante, houve elevação progressiva na média de ureia. Os resultados expostos estão em conformidade com resultados preliminares da literatura (YASH PAL e GUPTA 2004; TOTH et al., 2018).

Os equinos possuem um estoque de glicogênio limitado, portanto a manutenção da glicemia é intensamente dependente da gliconeogênese e do catabolismo proteico, para fornecer carboidratos e aminoácidos como

precursores para a síntese de glicose (McKENZIE, 2011). Por conseguinte durante o jejum tais processos catabólicos podem causar elevação da ureia em equinos. Com base neste evento fisiológico a alimentação parenteral é usada para prevenir a elevação de ureia em equinos enfermos (MYERS, 2009).

Além do catabolismo proteico promovido pelo jejum, outra possível fonte de elevação de ureia é a diminuição da volemia, diminuindo conseqüentemente, a taxa de filtração glomerular gerando maior reabsorção de ureia. Durante o jejum os cavalos diminuem significativamente a ingestão de água, fazendo que a hipovolemia seja uma possível contribuinte na elevação da ureia (GUPTA et al., 1999). Os equinos no presente estudo mantiveram ao longo de todo o experimento o tempo de preenchimento capilar normal, sugerindo a manutenção da volemia. Além disso, não houve diferença estatística entre os grupos em relação à concentração de proteínas totais (exposto adiante), reforçando a hipótese de que a volemia não influenciou no acréscimo de ureia observado no grupo RA. Apesar da volemia não ter sido monitorada por métodos avançados, a permanência do tempo de preenchimento capilar normal somada à ausência de diferença de média de proteínas totais entre os grupos RA e CONT, sugerem que o aumento da concentração de ureia teve como fonte exclusiva o catabolismo proteico.

O grupo CONT iniciou com média de 35,5 g/dl de ureia, que se manteve sem diferença estatística até o M4. No M5 a ureia apresentou uma redução significativa em relação à média basal, e se manteve inferior até o M8. No M8 foi registrada a menor média de ureia do grupo CONT de 30.7 mg/dl, sendo significativamente menor que os demais momentos. A diminuição de ureia sérica registrada do grupo controle foi associada ao confinamento durante o período experimental, dado que a atividade física bem como o jejum promove catabolismo muscular e produção hepática de ureia (FERNANDES et al., 2000). Stickers et al. (1995) relatam aumento significativo de ureia em éguas submetidas a atividade física.

Os valores de média e desvios-padrão da concentração sérica de Proteína Total do grupo CONT e RA estão contidos na Tabela 7.

**Tabela 6:** Médias e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de Proteína Total e Albumina expressas em mg/dl de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação.

Momento	PROTEINA TOTAL		ALBUMINA	
	CONT	RA	CONT	RA
<b>M0</b>	7,54 ±0,45 <sup>Aa</sup>	7,32 ±0,55 <sup>Aa</sup>	2,46 ±0,27 <sup>Aa</sup>	2.42 ±0.52 <sup>Ab</sup>
<b>M1</b>	7,61 ±0,47 <sup>Aa</sup>	7,42 ±0,93 <sup>Aa</sup>	2,55 ±0,21 <sup>Aa</sup>	2.48 ±0.22 <sup>Aab</sup>
<b>M2</b>	7,70 ±0,59 <sup>Aa</sup>	7,60 ±0,95 <sup>Aa</sup>	2,56 ±0,31 <sup>Aa</sup>	2.58 ±0.25 <sup>Aab</sup>
<b>M3</b>	7,75 ±0,56 <sup>Aa</sup>	7,53 ±1,07 <sup>Aa</sup>	2,58 ±0,37 <sup>Aa</sup>	2.60 ±0.28 <sup>Aab</sup>
<b>M4</b>	7,82 ±0,80 <sup>Aa</sup>	7,60 ±0,70 <sup>Aa</sup>	2,58 ±0,24 <sup>Aa</sup>	2.65 ±0.21 <sup>Aab</sup>
<b>M5</b>	7,87 ±1,25 <sup>Aa</sup>	7,73 ±0,88 <sup>Aa</sup>	2,62 ±0,18 <sup>Aa</sup>	2.66 ±0.28 <sup>Aab</sup>
<b>M6</b>	7,88 ±0,89 <sup>Aa</sup>	7,88 ±1,16 <sup>Aa</sup>	2,66 ±0,31 <sup>Aa</sup>	2.66 ±0.21 <sup>Aab</sup>
<b>M7</b>	8,13 ±0,77 <sup>Aa</sup>	8,26 ±1,28 <sup>Aa</sup>	2,63 ±0,27 <sup>Aa</sup>	2.74 ±0.22 <sup>Aa</sup>
<b>M8</b>	8,20 ±0,93 <sup>Aa</sup>	8,06 ±1,31 <sup>Aa</sup>	2,60 ±0,27 <sup>Aa</sup>	2.69 ±0.27 <sup>Aa</sup>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

Durante todos os momentos avaliados não foram observadas diferenças de média de Proteína Total entre o grupo CONT e RA. Também não foram observadas diferenças de média entre os momentos de ambos os grupos. Resultados semelhantes foram observados para albumina, que não alcançou diferença de média entre grupos em nenhum momento avaliado, portando no grupo CONT, foi observado aumento de albumina em M7 e M8.

Embora não tenha sido alcançada diferença de média significativa entre os grupos tanto para proteína total quanto para albumina, o grupo RA sofreu incremento de albumina em relação à média basal. O acréscimo na concentração sérica de proteínas totais e albumina em equinos submetidos a restrição alimentar ocorre em resposta a hemoconcentração, decorrente de menor ingestão hídrica (YASH PAL E GUPTA 2004; HORTON et al., 1996).

Gupta et al. (1999), relatam uma diminuição de ingestão de seis e onze litros de água por burros e mulas respectivamente, após um dia de jejum. Portanto, dada a hipertrigliceridemia identificada no grupo RA, vale ressaltar que a albumina tem valor falsamente elevado decorrente da lipemia, que interfere na transmissão de luz em medições fotométricas (WALTON, 2014).

Os valores de média e desvios-padrão da concentração sérica de GGT e AST do grupo CONT e RA estão contidos na Tabela 8.

**Tabela 7:** Médias e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de AST e GGT expressas em UI/L de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação.

Momento	AST		GGT	
	CONT	RA	CONT	RA
<b>M0</b>	213,67 <sup>Aa</sup>	238,55 <sup>Aa</sup>	15,25 <sup>Aa</sup>	17,95 <sup>Aa</sup>
	±51,79	±52,74	±5,88	±5,11
<b>M1</b>	213,67 <sup>Aa</sup>	249,05 <sup>Aa</sup>	16,75 <sup>Aa</sup>	19,55 <sup>Aa</sup>
	±56,34	±44,54	±4,83	±5,15
<b>M2</b>	211,25 <sup>Ba</sup>	246,95 <sup>Aa</sup>	17,25 <sup>Aa</sup>	18,80 <sup>Aa</sup>
	±57,04	±40,65	±5,40	±5,21
<b>M3</b>	211,91 <sup>Aa</sup>	235,25 <sup>Aa</sup>	17,08 <sup>Aa</sup>	16,05 <sup>Aa</sup>
	±65,73	±45,38	±5,76	±6,34
<b>M4</b>	213,66 <sup>Aa</sup>	240,25 <sup>Aa</sup>	16,08 <sup>Aa</sup>	15,77 <sup>Aa</sup>
	±58,75	±53,63	±4,52	±7,89
<b>M5</b>	182,17 <sup>Ba</sup>	234,65 <sup>Aa</sup>	15,00 <sup>Aa</sup>	15,90 <sup>Aa</sup>
	±62,44	±52,07	±6,09	±5,86
<b>M6</b>	205,63 <sup>Aa</sup>	229,20 <sup>Aa</sup>	16,08 <sup>Aa</sup>	16,95 <sup>Aa</sup>
	±32,70	±70,87	±6,68	±6,71
<b>M7</b>	184,50 <sup>Ba</sup>	241,50 <sup>Aa</sup>	17,17 <sup>Aa</sup>	17,94 <sup>Aa</sup>
	±66,76	±59,54	±5,92	±6,57
<b>M8</b>	189,81 <sup>Aa</sup>	234,20 <sup>Aa</sup>	17,83 <sup>Aa</sup>	17,10 <sup>Aa</sup>
	±57,25	±62,43	±6,75	±8,32

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

Não foram observadas diferenças significativas de médias para a concentração sérica de GGT entre grupos e entre momentos. Resultados semelhantes aos de Gupta et al. (1999) que relatam concentração de GGT sem alteração significativa até dois dias de jejum, seguida de posterior elevação. Toth et al. (2018) relata aumento da atividade da GGT em cavalos submetidos a 96 horas de privação alimentar. Diante do exposto pode-se supor que a elevação da concentração sérica de GGT promovida pelo jejum ocorre a partir de 48 horas de privação alimentar.

Não foram observadas diferenças de médias para a concentração sérica de AST entre momentos em ambos os grupos. Porém no momentos M2, M5 e M7, o grupo RA apresentou aumento da atividade sérica de AST em relação ao grupo CONT. Resultados semelhantes aos descritos na literatura (DEEGEN et al. 1995; YASH PALL; GUTA 2004). Diminuição da atividade sérica de AST em burros e mulas, foi relatada por Gupta et al. (1999) após nove dias de restrição alimentar associados à redução do metabolismo.

Durante todo os momentos de avaliação os parâmetros AST e GGT, permaneceram dentro do intervalo de referência, sugerindo que os animais preservaram a integridade hepática apesar da lipemia. Resultados em conformidade com a literatura que diz que a lesão hepática é comum apenas no jejum prolongado e em espécies predispostas a desenvolver quadros de lipemia intensa como pôneis, burros e mulas (Gupta et al. 1999).

A resposta fisiológica frente à privação alimentar é complexa e depende da integração do metabolismo. Os efeitos do jejum em humanos e animais de laboratório já é bem documentado em vários aspectos, como sua relação com o controle de peso, doenças metabólicas, doenças cardiovasculares, desordens neurológicas e câncer. Apesar de em algumas situações poder se aplicar tais conhecimentos na medicina equina, os cavalos possuem disparidades quanto ao aparelho digestório e o padrão de alimentação que limita a extrapolação de dados à espécie equina (MELO et al., 2011).

#### **1.4. CONCLUSÃO**

Com base nos resultados obtidos e na discussão é possível concluir que o jejum de até 48 horas reduz a motilidade intestinal de equinos e aumenta a concentração sérica de triglicerídeos e colesterol total, podendo levar a valores fora do intervalo de referência para a espécie equina.

A restrição alimentar exerce efeito sobre a temperatura retal, contagem global e específica de leucócitos (eosinófilos, neutrófilos, linfócitos e monócitos) e concentração de: glicose, albumina, ureia e creatinina. Apesar de discreto o efeito da restrição alimentar sobre tais variáveis, pode comprometer a interpretação dos resultados se associados ao efeito de enfermidades.

O Incremento marcante de triglicerídeos decorrente da privação alimentar, permite o uso dessa variável, como marcador biológico de balanço energético negativo, na espécie equina.

## REFERÊNCIAS

CARR, E. A.; HOLCOMBE, S. J. Nutrition of critically ill horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v.25 n., p. 93-108.2009.

COELHO, R. G. Integrações do metabolismo em exercício, jejum e no estado alimentado. *Ciência Atual. Revista Científica Multidisciplinar das Faculdades São José*, v. 8, n. 2, 2016.

DITTRICH, J. R.; MELO, H. A.; AFONSO, A. M. C. F.; DITTRICH, R. L. Comportamento ingestivo de equinos e a relação com o aproveitamento das forragens e bem-estar dos animais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, p. 130-137, 2010.

FERNANDES, W. R.; LARSSON, M. H. M. A. Alterações nas concentrações séricas de glicose, sódio, potássio, ureia e creatinina, em equinos submetidos à provas de enduro de 30km com velocidade controlada. *Ciência Rural*, v.30, n.3, p. 393-398, 2000.

FRANK, N.; SOJKA, J. E.; LATOUR, M. A. Effect of withholding feed on concentration and composition of plasma very low density lipoprotein and serum nonesterified fatty acids in horses. *American journal of veterinary research*, v.63 n.7, p. 1018-1021, 2002.

GUPTA, A. K.; PAL, Y.; YADAV, M. P. Effect of feed deprivation on biochemical indices in equids. *Journal of Equine Science*, v.10, n.2, p. 33-38, 1999.

JAIN, N.C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea &Febiger, p.417, 1993.

MAGER, D. E.; WAN, R.; BROWN, M.; CHENG, A.; WARESKI, P.; ABERNETHY, D. R.; MATTSON, M. P. Caloric restriction and intermittent fasting alter spectral measures of heart rate and blood pressure variability in rats. *The FASEB Journal*, v. 20. N. 6, p. 631–637, 2006.

MALHEIROS, S. V. P. Integração metabólica nos períodos pós-prandial e de jejum—um resumo. *Revista de Ensino de Bioquímica*, v. 4, n. 1, p. 16-22, 2006.

MCKENZIE, H. C. Equine hyperlipidemias. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, v. 27, n.1, p. 59-72, 2011.

MERRITT, A. M.; PANZER, R. B.; LESTER, G. D.; BURROW, J. A. Equine pelvic flexure myoelectric activity during fed and fasted states. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, v. 269, n.2, p. 262–268, 1995.

MYERS, C. J.; MAGDESIAN, K. G.; KASS, P. H.; MADIGAN, J. E.; RHODES, D. M.; MARKS, S. L. Parenteral nutrition in neonatal foals: clinical description, complications and outcome in 53 foals (1995–2005). *The Veterinary Journal*, 181(2), 137-144, 2009.

HOSPES, R.; BLEUL, U. (2007). The effect of extended preoperative fasting in mares undergoing surgery of the perineal region. *Journal of equine veterinary science*, v.27, n. 12, p. 542-545.

HORTON, G. M. J.; BALDWIN, J. A.; EMANUELE, S. M.; WOHLT, J. E.; MCDOWELL, L. R. Performance and blood chemistry in lambs following fasting and transport. *Animal Science*, v.62 n.1, p. 49-56, 1996.

KRONFELD, D. S. Starvation and malnutrition of horses: recognition and treatment. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.13, n.5, p. 298-304, 1993.

MELO, U. P.; PALHARES, M. S.; GHELLER, V. A.; SILVA FILHO, J. M.; FERREIRA, C.; LEME, F. O. P. Respostas neuroendócrinas à inanição em equinos. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 5, n.1, p. 24-32, 2011.

MUÑOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJÓN, F. Hematology and clinical pathology data in chronically starved horses. *Journal of equine veterinary science*, v.30, n.10, p. 581-589 2010.

NAVARRE, C. B.; ROUSSEL, A. J. Gastrointestinal motility and disease in large animals. *Journal Veterinary Internal Medicine*, Lakewood, v. 10, n. 2, p. 51-59, 1996.

NAYLOR, J. M.; KRONFELD, D. S.; ACLAND, H. Hyperlipemia in horses: effects of undernutrition and disease. *American journal of veterinary research*, v.41, n.6, p. 899-905, 1980.

NAYLOR, J. M.; KENYON, S. J. Effect of total calorific deprivation on host defence in the horse. *Research in veterinary Science*, v.31, n.3, p. 369-372, 1981.

ONMAZ, A. C.; VAN DEN HOVEN, R.; GUNES, V.; CINAR, M.; KUCUK, O. Oxidative stress in horses after 12 hours transport period. *Revue de MédecineVétérinaire*, v.4 n.162, p.213-217, 2011.

STICKER, L. S.; THOMPSON JR; D. L., BUNTING, L. D.; FERNANDEZ, J. M.; DEPEW, C. L.; NADAL, M. R. Feed deprivation of mares: plasma metabolite and hormonal concentrations and responses to exercise. *Journal of animal science*, v.73, n12, p. 3696-3704, 1995.

STULL, C.L.; RODIEK, A.V. Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *Journalof Animal Science*, v.78, p.1458-1466, 2000.

TATEO, A.; PADALINO, B.; BOCCACCIO, M.; MAGGIOLINO, A.; CENTODUCATI, P. Transport stress in horses: Effects of two different distances. *Journal of Veterinary Behavior*, v.7, p. 33-42, 2012.

TÓTH, B.; AUTH, A.; ROMPOS, L.; BAKOS, Z. Effect of feed deprivation on selected parameters of lipid mobilisation and hepatic function in healthy Akhal Teke horses. *Equine veterinary journal*, v.50 n.1, p. 98-103, 2018.

TRINDADE, P. H. E.; SOUSA, D, B. Associação entre diferentes locais de oferta de volumoso e aparição de indícios de estresse em equinos estabulados. FAPESP-SP, 2011.

VAN OOSTROM, A. J. H. H. M.; RABELINK, T. J.; VERSEYDEN, C.; SIJMONSMA, T. P.; PLOKKER, H. W. M.; DE JAEGERE, P. P. T.; CABEZAS, M. C. Activation of leukocytes by postprandial lipemia in healthy volunteers. *Atherosclerosis*, v. 177, n.1, p. 175–182, 2004

WALTON, R. M. *Equine clinical pathology*. Ed. Aptara, New York, 2014.

YÁÑEZ-PIZAÑA, A.; ROLDAN-SANTIAGO, P.; MORA-MEDINA, P.; BORDERAS TORDESILLAS, F.; FLORES PEINADO, S.; MOTA ROJAS, D. Effects of transport on the metabolism of horses. *Revista Científica*, v.22, n.5, p. 432-433, 2012.

YASH PAL; GUPTA, A. K. Comparative physiological and biochemical studies in Equids under short-term feed deprivation stress. *Indian Journal of Animal Sciences*, v.74 n.6, p. 662-666, 2004.

ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M.; PARENTE, H. N.; FERREIRA, D. F.; ALMEIDA, F. Q. Diferenças entre sexos para as atividades de pastejo de eqüinos no nordeste do Brasil. *Arch. Zootec.* v. 55, n.210, p.139-147, 2006.

## **CAPÍTULO 2 – RESPOSTA DE FASE AGUDA À RESTRIÇÃO ALIMENTAR EM EQUINOS.**

**RESUMO:** Parte dos efeitos da restrição alimentar demonstra uma relação entre as modulações metabólicas e respostas inflamatórias ao jejum, levando a ativação da resposta de fase em algumas espécies. Visando testar a hipótese de a restrição alimentar exercer efeito sobre o proteinograma sérico de equinos submetidos a diferentes tempos de jejum, 32 animais foram distribuídos em dois grupos experimentais: controle (CONT) e restrição alimentar (RA). Avaliação física e coleta de amostras de sangue foram feitas no momento basal (M0), e a cada seis horas de restrição alimentar (M1- seis horas; M2- 12 horas; M3- 18 horas; M4- 24 horas; M5- 30 horas; M6- 36 horas; M7- 42 horas e M8- 48 horas). As proteínas de fase aguda foram separadas por gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sódio por meio de eletroforese. Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando o programa estatístico SAS, e médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença de média entre os grupos para as concentrações séricas das proteínas avaliadas: (ceruloplasmina, haptoglobina,  $\alpha$ 2-macroglobulina,  $\alpha$ 1-antitripsina, apolipoproteína, glicoproteína ácida e imunoglobulina IGG de cadeia leve e pesada). Em suma este estudo fornece evidências de que o jejum máximo de 48 horas não provoca alterações imediatas no proteinograma sérico de equinos sadios.

**Palavras-chave:** cavalo, proteína de fase aguda, jejum.

**ABSTRACT:** Part of the effects of fasting demonstrates a relationship between metabolic modulations and inflammatory responses to fasting, leading to the activation of the phase response in some species. Aiming to test the hypothesis of food restriction to exert an effect on the serum proteinogram of horses submitted to different fasting times, 32 animals were distributed in two experimental groups: control (CONT) and feed restriction (RA). Physical evaluation and collection of blood samples were done at baseline (M0), and every six hours of food restriction (M1-6 hours, M2-12 hours, M3-18 hours, M4-24 hours, M5-30 hours M6-36 hours, M7-42 hours and M8-48 hours). The acute phase proteins were separated by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide electrophoresis gel. The results were submitted to analysis of variance using the SAS statistical program, and averages were compared by the Tukey test ( $P < 0.05$ ). There was no mean difference between the groups for serum concentrations of the evaluated proteins (ceruloplasmin, haptoglobin,  $\alpha$ 2-macroglobulin,  $\alpha$ 1-antitrypsin, apolipoprotein, acid glycoprotein, and light and heavy chain IgG immunoglobulin). In summary, this study provides evidence that a maximum fasting of 48 hours does not cause immediate changes in the serum proteinogram of healthy horses.

**Key words:** equine, acute phase protein, fasting

## 2.1 – INTRODUÇÃO

Como o tipo de alimento e a frequência da ingestão já foram associados com o desenvolvimento de inflamação de baixo grau bem como o fato do jejum ser um potente promotor de estresse cabe elucidar os possíveis efeitos do jejum sobre marcadores inflamatórios frequentemente utilizados para monitorar a saúde dos cavalos.

As proteínas de fase aguda compõe um grupo de proteínas plasmáticas responsáveis por restabelecer a homeostase de forma anticorpo independente em situações de infecção, inflamação, trauma cirúrgico e estresse. É amplamente aceito tanto em humanos quanto em animais que o estresse físico e psicológico eleva as concentrações plasmáticas de proteínas de fase aguda (BERRY et al., 2004; MORLESE et al., 1998).

Durante o jejum há liberação de cortisol, hormônio com papel importante na neoglicogênese, via metabólica ativada em resposta á depleção dos estoques de glicose em forma de glicogênico hepático e muscular. Embora não seja completamente esclarecida as vias regulatórias de produção e liberação das proteínas de fase aguda, entende-se que a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal pelo estresse pode desencadear a produção sistêmica ou local de citocinas e conseqüentemente a síntese de proteínas de fase aguda pelo hepatócitos (Nukina et al., 2001).

Uma vez que as proteínas de fase aguda são cada vez mais usadas na pratica clínica e cirúrgica como sinalizadores precoces da inflamação, é importante investigar a influência do jejum sobre o comportamento de tais proteínas, dado que a prescrição de jejum é uma pratica rotineira na clínica de equinos. O esclarecimento dos efeitos do jejum sobre a concentração das proteínas de fase aguda permitirá uma interpretação mais fidedigna do proteinograma sérico dos equinos.

## **2.2. MATERIAL E METODOS**

### **2.2.1. Comissão de Ética**

O estudo experimental foi feito de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (SBCAL/COBEA). Foi pela Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA-UENF/2018).

### **2.2.2. Amostragem**

Foram utilizados 32 equinos, hípidos sem raça definida, com idade média de  $7,4 \pm 5,0$  anos, escore corporal de três a cinco, segundo classificação de Speirs (1997) e peso corporal médio de  $404,19 \text{ Kg} \pm 46,93$ . Os animais pertenciam a uma propriedade rural localizada na região noroeste do estado do Rio de Janeiro onde eram mantidos em regime extensivo em pastagens, em piquetes amplos de aproximadamente  $10000\text{m}^2$ , compostos predominantemente por grama Tyfton. Os equinos avaliados possuíam a finalidade de execução de atividades agropecuárias e lazer.

### **2.2.3. Delineamento experimental**

Os animais passaram por exames físicos e clínicos prévios, uma semana antes da execução do experimento, onde foram feitas: pesagem (com fita de correlação peso x perímetro torácico), registro dos parâmetros físicos, hemograma e OPG (ovos por grama de fezes) de cada animal. Foram aferidas: frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), coloração de membranas mucosas, tempo de preenchimento capilar (TPC), temperatura retal (TR) e motilidade gastrointestinal (MI). Só foram inclusos no ensaio

animais com parâmetros físicos e hematológicos dentro dos intervalos de normalidade para a espécie. Ademais os animais foram desparasitados com mebendazol, via oral, na dose de 50mg/kg, com base nos resultados do exame parasitológico quantitativo OPG.

Antes da execução do experimento os animais passaram por um período de adaptação de uma semana. Durante esse período os cavalos foram diariamente conduzidos aos currais de experimentação, onde foram ofertados água e grama Tifton fresca, durante um período de seis horas diárias. O mesmo procedimento foi realizado antes da primeira coleta de amostra.

Durante o período experimental (48 horas), os animais foram alojados em currais com 150 m<sup>2</sup> com livre acesso a água. Foram divididos aleatoriamente dois grupos experimentais, um grupo tratamento (RA- com restrição alimentar e livre acesso à água), composto por 20 animais submetidos ao jejum máximo de 48 horas e grupo controle (CONT) contendo 12 animais os quais possuíam água e alimento *ad libitum*.

#### **2.2.4. Coleta de Amostras**

As coletas de amostras de sangue foram realizadas por venopunção jugular utilizando-se agulha estéril 40x16 e tomando-se os devidos cuidados prévios de antissepsia.

A primeira coleta foi realizada no momento zero (animais sem jejum), e posteriormente a cada 6 horas com restrição de alimento, totalizando nove análises para cada animal. Assim, o M0 é momento zero, animal sem jejum; M1 é o momento após seis horas de restrição alimentar; M2 é o momento após 12 horas de restrição alimentar; M3 é o momento após 18 horas de restrição alimentar; M4 é o momento após 24 horas de restrição alimentar; M5 é o momento após 30 horas de restrição alimentar; M6 é o momento após 36 horas de restrição alimentar; M7 é o momento após 42 horas de restrição alimentar e M8 é o momento após 48 horas de restrição alimentar.

### **2.2.5. Processamento das amostras**

As amostras foram encaminhadas ao Departamento de Medicina Veterinária e de Bioquímica, da Universidade Federal de Viçosa para dosagem das proteínas de fase aguda (ceruloplasmina, haptoglobina, macroglobulina  $\alpha_2$ , antitripsina  $\alpha_1$ , apolipoproteína, glicoproteína ácida e imunoglobulina IGG de cadeia leve e pesada). As proteínas foram identificadas e quantificadas por meio de corrida eletroforética das amostras de soro em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), de acordo com técnica descrita por Laemmli (1970) modificada. Utilizou-se o sistema vertical de eletroforese.

### **2.2.6. Análise Estatística**

Após a coleta dos dados, foi realizada a análise de consistência (para detectar dados atípicos), análise de normalidade e a estatística descritiva (média, desvio padrão, valores mínimos e máximos e coeficiente de variação) das variáveis estudadas (Proc UNIVARIATE, PROC MEANS, SAS, 2016). Posteriormente, foi realizada a análise de variância das variáveis: ceruloplasmina, haptoglobina, macroglobulina  $\alpha_2$ , antitripsina  $\alpha_1$ , apolipoproteína, glicoproteína ácida e imunoglobulina IGG de cadeia leve e pesada, incluindo no modelo de análise os efeitos fixos de grupo e momento e a interação simples grupo\*momento (PROC GLM, SAS, 2016). As médias foram comparadas por meio do teste 'tukey' ao 5 % de probabilidade.

## **2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os valores referentes às médias e respectivos desvios-padrão do proteinograma sérico de quinos do grupo RA e CONT estão presentes na Tabela 9.

**Tabela 8:** Médias e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de  $\alpha$ 2-macroglobulina ( $\alpha$ 2-MG), ceruloplasmina (CP), transferrina (TF),  $\alpha$ 1-antitripsina ( $\alpha$ 1-AT), IGG de cadeia pesada (IGG-CP), haptoglobina (HG), glicoproteína ácida (GA), IGG de cadeia leve (IGG-CL) e apolipoproteína (APP) de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT) em diferentes momentos de avaliação.

PROTEINOGRAMA		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
MA										
$\alpha$ 2-MG	CONT	241,2 <sup>Aa</sup> ±94,4	237,2 <sup>Aa</sup> ±86,6	244,9 <sup>Aa</sup> ±113,2	225,0 <sup>Aa</sup> ±97,8	237,1 <sup>Aa</sup> ±87,5	261,3 <sup>Aa</sup> ±137,8	224,1 <sup>Aa</sup> ±68,4	277,2 <sup>Aa</sup> ±133,5	206,7 <sup>Aa</sup> ±133,5
	RA	183,6 <sup>Aa</sup> ±100,5	238,7 <sup>Aa</sup> ±182,4	220,5 <sup>Aa</sup> ±104,2	244,9 <sup>Aa</sup> ±146,8	287,0 <sup>Aa</sup> ±175,0	296,6 <sup>Aa</sup> ±197,2	322,0 <sup>Aa</sup> ±225,2	251,4 <sup>Aa</sup> ±200,4	262,1 <sup>Aa</sup> ±212,6
CP	CONT	110,0 <sup>Aa</sup> ±38,3	117,2 <sup>Aa</sup> ±43,0	128,3 <sup>Aa</sup> ±54,3	110,0 <sup>Aa</sup> ±59,9	115,7 <sup>Aa</sup> ±55,3	117,3 <sup>Aa</sup> ±72,4	125,0 <sup>Aa</sup> ±103,2	108,0 <sup>Aa</sup> ±76,1	102,4 <sup>Aa</sup> ±56,0
	RA	99,8 <sup>Aa</sup> ±49,3	112,7 <sup>Aa</sup> ±71,2	107,9 <sup>Aa</sup> ±64,0	109,6 <sup>Aa</sup> ±50,2	121,4 <sup>Aa</sup> ±71,0	123,7 <sup>Aa</sup> ±68,9	146,0 <sup>Aa</sup> ±81,9	123,5 <sup>Aa</sup> ±69,2	122,7 <sup>Aa</sup> ±93,7
TF	CONT	611,9 <sup>Aa</sup> ±221,1	685,3 <sup>Aa</sup> ±277,6	639,3 <sup>Aa</sup> ±219,9	595,3 <sup>Aa</sup> ±229,1	678,9 <sup>Aa</sup> ±194,0	613,8 <sup>Aa</sup> ±265,6	636,9 <sup>Aa</sup> ±331,5	702,2 <sup>Aa</sup> ±289,8	667,2 <sup>Aa</sup> ±329,6
	RA	588,9 <sup>Aa</sup> ±187,1	672,2 <sup>Aa</sup> ±251,3	579,1 <sup>Aa</sup> ±228,4	620,5 <sup>Aa</sup> ±278,1	670,9 <sup>Aa</sup> ±243,0	585,8 <sup>Aa</sup> ±258,3	659,2 <sup>Aa</sup> ±272,5	719,4 <sup>Aa</sup> ±214,2	721,6 <sup>Aa</sup> ±234,2
$\alpha$ 1-AT	CONT	245,0 <sup>Aa</sup> ±176,2	204,6 <sup>Aa</sup> ±72,8	274,1 <sup>Aa</sup> ±214,7	222,9 <sup>Aa</sup> ±149,9	224,0 <sup>Aa</sup> ±92,1	213,6 <sup>Aa</sup> ±105,7	193,2 <sup>Aa</sup> ±34,6	158,7 <sup>Aa</sup> ±102,8	209,1 <sup>Aa</sup> ±77,6
	RA	237,3 <sup>Aa</sup> ±82,2	274,7 <sup>Aa</sup> ±85,5	256,3 <sup>Aa</sup> ±76,2	301,4 <sup>Aa</sup> ±232,1	226,9 <sup>Aa</sup> ±79,3	231,7 <sup>Aa</sup> ±72,9	225,3 <sup>Aa</sup> ±69,6	284,3 <sup>Aa</sup> ±76,0	297,9 <sup>Aa</sup> ±108,2
IGG-CP	CONT	957,9 <sup>Aa</sup> ±421,1	973,9 <sup>Aa</sup> ±511,6	877,1 <sup>Aa</sup> ±389,9	896,3 <sup>Aa</sup> ±508,2	935,6 <sup>Aa</sup> ±284,1	965,8 <sup>Aa</sup> ±505,2	884,1 <sup>Aa</sup> ±331,6	1109,3 <sup>Aa</sup> ±533,9	941,4 <sup>Aa</sup> ±397,9
	RA	805,4 <sup>Aa</sup> ±396,7	940,9 <sup>Aa</sup> ±395,9	957,8 <sup>Aa</sup> ±406,3	877,2 <sup>Aa</sup> ±457,9	931,3 <sup>Aa</sup> ±357,5	916,3 <sup>Aa</sup> ±526,9	843,8 <sup>Aa</sup> ±374,4	1004,2 <sup>Aa</sup> ±395,3	898,7 <sup>Aa</sup> ±403,7
HG	CONT	300,2 <sup>Aa</sup> ±180,4	291,4 <sup>Aa</sup> ±144,9	327,3 <sup>Aa</sup> ±190,8	285,4 <sup>Aa</sup> ±146,9	325,2 <sup>Aa</sup> ±176,8	343,1 <sup>Aa</sup> ±199,1	352,7 <sup>Aa</sup> ±206,4	342,3 <sup>Aa</sup> ±221,0	336,9 <sup>Aa</sup> ±182,3
	RA	286,3 <sup>Aa</sup> ±114,7 2	307,9 <sup>Aa</sup> ±142,9	328,9 <sup>Aa</sup> ±207,6	319,1 <sup>Aa</sup> ±169,4	337,6 <sup>Aa</sup> ±166,3	319,4 <sup>Aa</sup> ±146,0	327,6 <sup>Aa</sup> ±148,8	384,7 <sup>Aa</sup> ±156,5	350,4 <sup>Aa</sup> ±169,0
HG	CONT	161,0 <sup>Aa</sup> ±148,2	136,8 <sup>Aa</sup> ±76,1	145,4 <sup>Aa</sup> ±60,4	162,3 <sup>Aa</sup> ±137,6	147,5 <sup>Aa</sup> ±94,6	156,7 <sup>Aa</sup> ±106,9	137,1 <sup>Aa</sup> ±109,9	150,9 <sup>Aa</sup> ±127,5	136,1 <sup>Aa</sup> ±111,8
	RA	140,3 <sup>Aa</sup> ±46,1	149,2 <sup>Aa</sup> ±82,7	142,2 <sup>Aa</sup> ±83,8	162,1 <sup>Aa</sup> ±87,6	160,2 <sup>Aa</sup> ±86,9	164,6 <sup>Aa</sup> ±109,4	155,8 <sup>Aa</sup> ±83,6	209,9 <sup>Aa</sup> ±110,1	183,6 <sup>Aa</sup> ±95,5
(IGG-CL)	CONT	1159,2 <sup>Aa</sup> ±477,7	1062,3 <sup>Aa</sup> ±529,2	971,6 <sup>Aa</sup> ±503,7	1052,6 <sup>Aa</sup> ±388,1	1052,5 <sup>Aa</sup> ±324,7	1300,6 <sup>Aa</sup> ±507,1	1215,7 <sup>Aa</sup> ±502,5	1201,8 <sup>Aa</sup> ±434,2	1158,1 <sup>Aa</sup> ±487,6
	RA	1263 <sup>Aa</sup> ±544,1	1317 <sup>Aa</sup> ±477,0	1198 <sup>Aa</sup> ±546,1	1188 <sup>Aa</sup> ±557,1	1194 <sup>Aa</sup> ±406,0	1164 <sup>Aa</sup> ±466,5	1080 <sup>Aa</sup> ±261,8	1158 <sup>Aa</sup> ±521,7	1241 <sup>Aa</sup> ±549,7
APP	CONT	589,9 ±206,5	556,9 ±296,0	513,0 ±61,2	487,7 ±102,2	465,90 ±81,72	552,3 ±188,1	590,6 ±235,4	534,1 ±147,6	552,6 ±125,1
	RA	509,9 ±253,4	512,8 ±150,4	480,5 ±183,0	531,8 ±203,6	523,4 ±169,4	565,8 ±187,9	500,5 ±167,6	539,0 ±197,2	550,7 ±198,9

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste 't' ( $p < 0,05$ ).

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste 't'  $p < 0,05$ .

M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

Indução da resposta de fase aguda promovida pelo estresse do jejum tem sido reportada em algumas espécies incluindo o homem (MARQUES et al. 2018; AFOLABI et al., 2007; AKSUNGAR et al., 2007; NAJAFI et al., 2016).

No presente estudo não foram observadas interação grupo x momento e nem diferença de média entre momento e entre grupos para nenhuma proteína de fase aguda avaliada (ceruloplasmina, haptoglobina, macroglobulina  $\alpha_2$ , antitripsina  $\alpha_1$ , apolipoproteína, glicoproteína ácida e imunoglobulina IGG de cadeia leve e pesada).

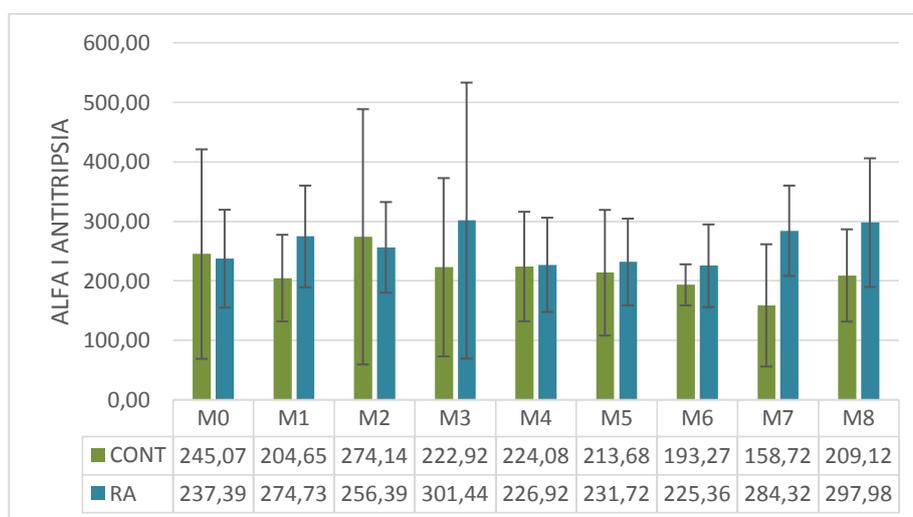
O aumento sérico de proteínas de fase aguda foi relato por Marques et al. (2018), em bezerras recém-desmamadas após 24 horas de jejum alimentar. Outros promotores de estresse como transporte, desmame e mistura de lotes já foram associados a elevação de proteínas de fase aguda em bovinos. Em equinos por outro lado a resposta de fase aguda foi relatada em diversas doenças inflamatórias e infecciosas, locais e sistêmicas (FAGLIARI et al., 2008; COHEN et al., 2005; POLLACK et al., 2005), porém o efeito do jejum sobre o proteinograma sérico de equinos é desconhecido.

Diferente dos dados aqui demonstrados em humanos, o jejum influencia a taxa de síntese de proteínas de fase aguda no fígado, bem como nas suas concentrações séricas, associados a maior liberação de citocinas e cortisol (AFOLABI et al, 2007). A produção de PFA em resposta ao estresse pode ser considerada como uma defesa imune antecipatória com intuito de limitar infecções, inflamações, e conseqüentemente o dano tecidual (DEAK et al., 1997)

Não foi observada diferença estatística entre os grupos, nem entre momentos para haptoglobina. Resultados semelhantes ao de Marques et al. (2018), que relata ausência de efeito de jejum de 24 horas sobre a concentração sérica de haptoglobina em bezerras desmamadas. A haptoglobina parece ter uso limitado como marcador inflamatório na medicina equina (Jhons, 2014), uma vez que seu uso para diferir cólica clínica da cirúrgica (Westerman et al., 2016) e taxa de sobrevivência em protos doentes (Zabrecky et al., 2015) por exemplo aparenta ter pouca significância.

A  $\alpha$ 2-antitripsina é uma proteína de fase aguda, que se eleva em humanos submetidos ao jejum. No presente trabalho embora não tenha sido alcançada diferença de média entre os grupos e momentos, o grupo RA ao fim das 48 horas de restrição alimentar apresenta média de  $\alpha$ 2-antitripsina 25,52% maior que a média basal (Figura 9). Nos equinos a  $\alpha$ 2-antitripsina exerce efeito anti-fibrinolítico através da inativação da plasmina, e tem sido demonstrado o seu aumento em equinos com cólica (TOPPER; PRASSI, 1998).

**Figura 4:** Médias e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de  $\alpha$ 1-antitripsina de equinos no grupo com Restrição Alimentar (RA) e no grupo Controle (CONT).



M0-animal sem jejum; M1- após seis horas de restrição alimentar; M2- após 12 horas de restrição alimentar; M3- após 18 horas de restrição alimentar; M4- após 24 horas de restrição alimentar; M5- após 30 horas de restrição alimentar; M6- após 36 horas de restrição alimentar; M7- após 42 horas de restrição alimentar e M8- após 48 horas de restrição alimentar.

A ativação da resposta de fase aguda frente a eventos inflamatórios é bem documentada na literatura (OKUMURA et al., 1991; FAGLIARI et al., 2008). Todavia o comportamento das proteínas de fase aguda inerente ao estresse físico como exercício, transporte e jejum é pouco mencionado. Di Filippo et al., (2018), relata ausência de efeito de exercício de marcha em cavalos Mangalarga Marchador. Por outro lado Paladino, et al. (2017) relata a ativação da resposta de fase aguda em equinos submetidos ao transporte

rodoviário, e Deak et al., (1997) demonstraram que após uma seção de choque na cauda, camundongos apresentaram elevação de glicoproteína ácida após 24 horas do estímulo elétrico, concluindo que o estresse promove elevação das PFA. No presente estudo os equinos não demonstraram efeito sobre as proteínas de fase aguda em resposta ao estresse da privação alimentar.

Sabe-se que os adipócitos secretam várias citocinas e proteínas de fase aguda, influenciando a concentração sérica de tais substâncias proporcionalmente a massa adiposa (PASSOS et al., 2017). As citocinas pró-inflamatórias interleucina-6 e fator de necrose tumoral alfa possuem efeito lipolítico, e incrementam a lipólise pela apoptose dos adipócitos. (ASHITANI et al. 2009). As respostas metabólicas à privação alimentar varia de acordo com condição corporal, idade e sexo (PAUL et al., 2007). Diante do exposto vale ressaltar que no presente estudo não foram feitos grupos distintos para idade, sexo e condição corporal prévia, destacando a importância de pesquisas que esclareçam tais efeitos. Ademais os animais usados no trabalho eram criados em regime extensivo e com alimentação composta exclusivamente por volumoso fresco. Novos ensaios com diferentes tipos de alimentação prévia podem esclarecer melhor a influência do jejum sobre perfil eletroforético de proteínas plasmáticas de equinos.

Existe uma ampla variedade de estudo a respeito dos efeitos do jejum sobre o perfil lipídico e metabólico de equídeos, visando investigar sua correlação com doenças metabólicas, desempenho reprodutivo e imunidade (NAYLOR; KENYON 1981; STICKERS et al., 1995; MUÑOZ et al., 2010, MELO et al., 2011; TÓTH et al., 2018). No entanto poucos estudos até o momento esclarecem os efeitos do jejum sobre o proteinograma sérico de equinos.

## **2.4- CONCLUSÃO**

Com base nos resultados obtidos e na discussão é possível concluir que, o jejum de até 48 horas não é capaz de induzir resposta de fase aguda em equinos. Porém novas investigações sobre a influência de fatores como: idade, sexo, escore corporal e tipo de alimentação associadas ao jejum em equinos, podem esclarecer melhor os efeitos do jejum na espécie equina.

**REFEFÊNCIAS**

AFOLABI, P. R.; JAHOOR, F.; JACKSON, A. A.; STUBBS, J.; JOHNSTONE, A. M.; FABER, P.; ELIA, M. The effect of total starvation and very low energy diet in lean men on kinetics of whole body protein and five hepatic secretory proteins. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 293, n.6, p. E1580-E1589, 2007.

AKSUNGAR, F. B.; TOPKAYA, A. E.; AKYILDIZ, M. Interleukin-6, C-reactive protein and biochemical parameters during prolonged intermittent fasting. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 51, n. 1, p. 88-95, 2007.

BERRY, B. A.; CONFER, A. W.; KREHBIEL, C. R.; GILL, D. R.; SMITH, R. A.; MONTELONGO, M. Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: II. Acute-phase protein response<sup>1,2</sup>. *Journal of Animal Science*, v. 82, n.3, p. 845–850, 2004.

COHEN N, D; CHAFFIN M, K; VANDENPLAS, M, L, Study of serum amyloid A concentrations as a means of achieving early diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonia. *Equine Veterinary Journal*, v. 37, n.3, p.212-216, 2005.

DEAK, T.; MERIWETHER, J. L.; FLESHNER, M.; SPENCER, R. L.; ABOUHAMZE, A.; MOLDAWER, L. L.; MAIER, S. F. Evidence that brief stress may induce the acute phase response in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 273, n. 6, p. R1998-R2004, 1997.

DI FILIPPO, P. A.; MARTINS, L. P.; MEIRELES, M. A. D.; QUIRINO, C. R.; DA SILVA NOGUEIRA A. F.; BOGOSSIAN, P. M. Influence of Marcha Exercise on the Serum Concentrations of Acute-Phase Proteins in Mangalarga Marchador Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 63, p. 65-68, 2018.

FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L.; SILVA, P. C.; PEREIRA, G. T. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de equinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, p. 322-328, 2008.

JONS, J. Alterations in blood proteins . Em: Smith BP, Medicina Interna de Grandes Animais, 5ª edição, Elsevier, p. 386- 392, 2014.

MARQUES, R. S.; BOHNERT, D. W.; DE SOUSA, O. A.; BRANDÃO, A. P.; SCHUMACHER, T. F.; SCHUBACH, K. M.; COOKE, R. F. Impact of 24-h feed, water, or feed and water deprivation on feed intake, metabolic, and inflammatory responses in beef heifers. *Journal of animal science*, v. 97, n.1, p. 398-406, 2018.

MELO, U. P.; PALHARES, M. S.; GHELLER, V. A.; SILVA FILHO, J. M.; FERREIRA, C.; LEME, F. O. P. Respostas neuroendócrinas à inanição em equinos. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 5, n.1, p. 24-32, 2011.

MUÑOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJÓN, F. Hematology and clinical pathology data in chronically starved horses. *Journal of equine veterinary science*, v.30, n.10, p. 581-589 2010.

MORLESE, J. F.; FORRESTER, T.; JAHOR, F. Acute-phase protein response to infection in severe malnutrition. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 275, n.1, p.112-117, 1998.

NAJAFI, P.; ZULKIFLI, I.; SOLEIMANI, A. F.; GOH, Y. M. Acute phase proteins response to feed deprivation in broiler chickens. *Poultry science*, v.95, n.4, p. 760-763, 2016.

NAYLOR, J. M.; KENYON, S. J. Effect of total calorific deprivation on host defence in the horse. *Research in veterinary Science*, v.31, n.3, p. 369-372, 1981.

NUKINA, H.; SUDO, N.; AIBA, Y., OYAMA, N.; KOGA, Y.; KUBO, C. Restraint stress elevates the plasma interleukin-6 levels in germ-free mice. *Journal of Neuroimmunology*, v.115, p.46-52, 2001.

OKUMURA, M.; FUJINAGA, T.; YAMASHITA, K.; TSUNODA, N.; MIZUNO, S. Isolation, characterization, and quantitative analysis of ceruloplasmin from horses. *American Journal Veterinary Research*. v.52, n.12, p. 1979-85, 1991.

PASSOS, C. S.; RIBEIRO, R. S.; ROSA, T. S. Obesity, inflammation, physical inactivity and risk for cancer. *J. Med. Oncol. Ther.*, v. 2, n. 1, p. 16 -19, 2017.

POLLOCK, P. J.; PRENDERGAST, M.; SCHUMACHER, J.; BELLENGER, C. R. Effects of surgery on the acute phase response in clinically normal and diseased horses. *Veterinary Record*, v. 156, n.17, p. 538-542, 2005.

STICKER, L. S.; THOMPSON Jr, D. L.; FERNANDEZ, J. M.; BUNTING, L. D.; DEPEW, C. L. Dietary protein and (or) energy restriction in mares: plasma growth hormone, IGF-I, prolactin, cortisol, and thyroid hormone responses to feeding, glucose, and epinephrine. *Journal of animal science*, v. 73, n.5, p. 1424-1432, 1995.

TOPPER, M. J.; PRASSE, K. W. Analysis of coagulation proteins as acute-phase reactants in horses with colic. *American journal of veterinary research*, v. 59, n. 5, p. 542-545, 1998.

TÓTH, B.; AUTH, A.; ROMPOS, L.; BAKOS, Z. Effect of feed deprivation on selected parameters of lipid mobilisation and hepatic function in healthy Akhal Teke horses. *Equine veterinary journal*, v.50 n.1, p. 98-103, 2018.

WESTERMAN, T. L.; FOSTER, C. M.; TORNQUIST, S. J.; POULSEN, K. P. Evaluation of serum amyloid A and haptoglobin concentrations as prognostic indicators for horses with colic. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 248, n.8, p. 935-940, 2016.

ZABRECKY, K. A.; SLOVIS, N. M.; CONSTABLE, P. D.; TAYLOR, S. D. Plasma C-reactive protein and haptoglobin concentrations in critically ill neonatal foals. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 29, n.2, p. 673-677, 2015.