

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FELIPE CONTE JUNIOR

ESTRESSE EM EQUINOS SUBMETIDOS AO TRANSPORTE RODOVIÁRIO

PALOTINA

2014

FELIPE CONTE JUNIOR

ESTRESSE EM EQUINOS SUBMETIDOS AO TRANSPORTE RODOVIÁRIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração em Patologia Animal, linha de pesquisa em Clínica e Bem-Estar Animal, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a Dr^a Erica Cristina B. P. Guirro

PALOTINA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C759 Conte Junior, Felipe
Estresse em equinos submetidos ao transporte rodoviário /
Felipe Conte Junior; Orientador, Erica Cristina B.P. Guirro-
Palotina, PR, 2014.
40p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor Palotina, PR -- Área de concentração em Patologia Animal.
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2014.

1. Ciência Animal . 2. Equinos - Estresse. 3. Equinos –
Transporte rodoviário . I. Guirro, Erica Cristina B.P. , II.
Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal. III. Título

CDU 614.96

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL



TERMO DE APROVAÇÃO

FELIPE CONTE JUNIOR

ESTRESSE EM EQUINOS SUBMETIDOS A TRANSPORTE RODOVIÁRIO

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Área de Concentração em Produção Animal, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dra. Erica Cristina Bueno do Prado Guirro
Presidente/Coorientador: Universidade Federal do Paraná



Profa Dra. Paula Alessandra di Filippo
Membro: Universidade Estadual Fluminense



Prof. Dr. Nei Moreira
Membro: Universidade Federal do Paraná

Palotina, 23 de abril de 2014.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Felipe Conte Junior – filho de Felipe Conte Sobrinho e Ivone Maria Olivo Conte, nascido em Treze Tílias, SC no dia 04 de abril de 1984. Graduiu-se Médico Veterinário pela Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) no Centro de Ciências Agroveterinárias no ano de 2008. No ano de 2009 iniciou a carreira profissional trabalhando com bovinos leiteiros a campo e no ano seguinte foi aprovado no Programa de Residência em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina nas áreas de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais. Em 2012 iniciou o Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Paraná, no Setor Palotina.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que me trouxe aqui, que me protege, me guia, me ajuda, me capacita e sempre está ao meu lado.

Agradeço a minha esposa Thais, pelo amor, companheirismo, pelas orações e por estar ao meu lado.

Muito obrigado a minha mãe Ivone, pelo seu amor por mim e por nunca medir esforços para ajudar-me.

Obrigado à D. Regina por me tratar como filho.

Muito obrigado a professora Erica, pela confiança, pelo apoio, pelo esforço em me ajudar, pela orientação desde quando cheguei em Palotina.

Sou grato ao Rafael, ao Pedro, à Marla, ao Lindomar à Devielle, que me ajudaram a executar o experimento.

Muito obrigado ao Hospital Veterinário da UFPR do Setor Palotina, por ceder os animais e a estrutura para realização do projeto.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o nível de estresse em equinos submetidos a transporte rodoviário realizou-se a avaliação de parâmetros hematológicos, bioquímicos, hemogasométricos e concentração de cortisol sérico. Cinco equinos foram transportados por 216km e 3,5 horas e houve coleta de sangue 24h antes do embarque, no momento zero (M0), na metade do transporte, onde ocorreu desembarque (M1), no desembarque definitivo (M2), uma (M3), duas (M4), quatro (M5), oito (M6), 12 (M7) e 24 horas (M8) após o desembarque para contagem de hemácias (He), hematócrito (Ht), hemoglobina (Hb) concentração de proteína plasmática total (PPT), glicemia, contagem e diferencial de leucócitos (Leu), cálculo da relação neutrófilo:linfócito (neu:lin), mensuração de creatinaquinase (CK), aspartatoaminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH), de cortisolemia, pressão parcial de oxigênio (PvO₂), pressão parcial de dióxido de carbono (PvCO₂), pH e bicarbonato (HCO₃). Houve aumento do cortisol em M3 e M7, provavelmente por excitação. Ocorreu elevação de He, Ht e Hb com destaque para M3, possivelmente por contração esplênica e leve desidratação. Em M2 e M3 destacaram-se leucocitose por neutrofilia, aumento da relação neu:lin e eosinopenia após o transporte. Em M2 e M3 ocorreu hiperglicemia. Diminuição da CK ocorreu durante todo o estudo, AST apresentou elevação transitória em M3 e LDH apresentou aumento transitório em M4 possivelmente devido a alimentação anterior. A avaliação hemogasométrica evidenciou acidose metabólica após transporte. Conclui-se que o transporte por 216km e 3,5h atua como fator estressor transitório para equinos.

Palavras-chave: equino, estresse, transporte rodoviário

ABSTRACT

STRESS EVALUATION OF EQUINE SUBMITTED TO ROAD TRANSPORT

In order to assess the level of stress in horses undergoing road transport performed by assessment of hematologic, biochemical, blood gas and serum cortisol concentration parameters. Five horses were transported per 216km and 3.5 hours and there was blood collection 24 hours before departure , at time zero (M0) , at half the shipping , which occurred landing (M1) , the final landing (M2) , one (M3), two (M4) , four (M5), eight (M6) , 12 (M7) and 24 hours (M8) after landing to red blood cell count (He) , hematocrit (Ht) , hemoglobin (Hb) concentration of protein Total plasma (PPT) , glucose , leukocyte count (Leu) and differential calculation of neutrophil ratio: lymphocyte (neu : lin) , measurement of creatine kinase (CK) , aspartate aminotransferase (AST) , lactate dehydrogenase (LDH) , the cortisolemia , partial pressure of oxygen (PvO₂) , partial pressure of carbon dioxide (PvCO₂) , pH and bicarbonate (HCO₃) emissions . There was an increase in cortisol in M3 and M7, probably due to excitement. An elevation of He, Ht and Hb especially M3, possibly due to splenic contraction and mild dehydration. In M2 and M3 stood out leukocytosis with neutrophilia, increased relative neu:lineosinopenia and after transport . M2 and M3 occurred in hyperglycemia. Decreased CK occurred throughout the study, showed transient elevation in AST and LDH M3 had a transient increase in M4 possibly due to previous power. The review hemogasimetric metabolic acidosis after shipping. It is concluded that the transport by 216km and 3.5 h acts as a transient stressor for horses.

Keywords: equine, stress, road transport

LISTA DE ABREVIATURAS

EDTA	- ácido etilenoaminotetracético
Eos	- eosinófilos
Hb	- hemoglobina
Hem	- hemácias
HT	- hematócrito
HV – SPA – UFPR-	Hospital Veterinário do setor Palotina da Universidade Federal do Paraná
Leu	- leucócitos
Lin	- linfócitos
HCO ₃	- bicarbonato
Neu	- neutrófilos
neu:lin	- relação neutrófilo:linfócito
PvO ₂	- pressão parcial de oxigênio
PvCO ₂	- pressão parcial de dióxido de carbono
PPT	- proteína plasmática total
T°C	- temperatura em graus Célsius
UR	- umidade relativa do ar

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Caminhão carroceria do tipo boiadeiro utilizado para transportar os equinos por 216km durante o experimento que avaliou o efeito do estresse decorrente do transporte rodoviário	20
Figura 2 - Caminhão carroceria do tipo boiadeiro utilizado para transportar os equinos por 216km durante o experimento que avaliou o efeito do estresse decorrente do transporte rodoviário	21
Figura 3 - Variação da concentração de cortisol sérico (picogramas/mililitro) e desvio padrão em equinos submetidos a transporte rodoviário por 3,5h, mensurada 24h antes do transporte (M0), meio do transporte (M1), desembarque definitivo (M2), uma, duas, 4h, 8h, 12h e 24h (M3, M4, M5, M6, M7 e M8 respectivamente) após o transporte	25

LISTA TABELAS

Tabela 1 -	Temperatura ambiente em °C (mínima, máxima e média) e umidade relativa do em % (mínima, máxima e média) observadas durante o transporte rodoviário de equinos	20
Tabela 2 -	Valores (média ± desvio padrão) do número total de hemácias (Hem), p=0,072, taxa de hemoglobina (Hb), p=0,051 e hematócrito (Ht), p=0,113 apresentados por equinos submetidos a transporte rodoviário por 3,5h.	25
Tabela 3 -	Valores (média ± desvio padrão) do número total de leucócitos totais (Leu), p=0,243, neutrófilos (Neu), p=0,220, linfócitos (Lin), p=0,161, eosinófilos (Eos), p=0,459 e relação (neu:lin), p=0,005* apresentados por equinos submetidos a transporte rodoviário por 3,5h.	26
Tabela 4 -	Valores (média ± desvio padrão) da concentração de proteína plasmática total (PPT), p=0,401, glicemia, p=0,001*, creatinaquinase (CK), p=0,007*, aspartatoaminotransferase (AST), p=0,263 e lactato desidrogenase (LDH), p=0,126 apresentados por equinos submetidos a transporte rodoviário por 3,5h.	27
Tabela 5 -	Valores médios ± desvio padrão da pressão parcial de oxigênio (PvO ₂), p=0,002*, pressão parcial de dióxido de carbono (PvCO ₂), potencial hidrogeniônico (pH), p=0,001* e bicarbonato (HCO ₃), p=0,001*, apresentados por equinos submetidos a transporte rodoviário de 3,5h.	27

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO	11
II. REVISÃO DE LITERATURA	14
III. MATERIAL E MÉTODOS	18
Certificação	18
Avaliações sanguíneas	21
Hematológicas	21
Bioquímicas	21
Hemogasométricas	22
Hormonal	22
Análise estatística	22
IV. RESULTADOS	22
V. DISCUSSÃO	29
VI. CONCLUSÃO	34
VII. REFERÊNCIAS	35

I. INTRODUÇÃO

Dados de 2008 apontam que no mundo há mais de 58 milhões de equinos, e destes, 5,6 milhões estão no Brasil. Além disso, no Brasil, o complexo agronegócio do cavalo movimenta aproximadamente R\$ 7,5 bi/ano (ALMEIDA & SILVA, 2010), estando envolvido neste contexto o transporte dos animais.

Os equinos frequentemente têm que se adaptar a situações ou tarefas às quais eles naturalmente evitariam e o transporte é um fator estressante para a maioria dos animais domésticos (SCHMIDT et al., 2010).

O estresse tem sido definido como um estado em que o animal é obrigado a fazer ajustes anormais ou extremos em sua fisiologia ou comportamento a fim de lidar com aspectos do ambiente ou manejo (FOREMAN & FERLAZZO, 1996).

O estresse no transporte pode se originar de uma combinação de fontes incluindo espaço, barulho, condições de rodagem, reagrupamento ou ambiente desconhecido, temperatura ambiental, umidade relativa e sanidade do animal (STULL & RODIEK, 2000) e pode ocasionar mudanças hematológicas, bioquímicas, metabólicas e endócrinas capazes de alterar o rendimento de cavalos e de aumentar a ocorrência de enfermidades como pneumonia, cólica, diarreia e laminite (RAIDAL et al., 1997; JONES, 2003).

Situações durante o transporte podem elevar a frequência cardíaca em decorrência da ativação do sistema nervoso simpático e liberação de catecolaminas (SCHMIDT et al., 2010), o que também pode ocasionar aumento do hematócrito por contração esplênica. No entanto, também pode estar associado com a proteína plasmática total para evidenciar desidratação (FIELDING & MAGDESIAN, 2011), pois os equinos podem ser privados de água ou mesmo diminuir sua ingestão durante o transporte (SMITH et al., 1996). A privação ou diminuição do consumo de água e alimento durante o transporte em equinos também pode ocasionar perda de peso e diminuição do preenchimento intestinal (SMITH et al., 1996; STULL & RODIEK, 2000) e ocasionar diminuição dos movimentos peristálticos, como já foi observado em equinos após o transporte (OIKAWA et al., 2005).

Altas temperaturas ambientes associadas à alta umidade relativa do ar podem prejudicar a troca de calor com o ambiente e ocasionar elevação da temperatura corporal, ocasionando estresse térmico e liberação de cortisol (STULL

& RODIEK, 2000). O aumento da temperatura corporal pode estar associado a problemas respiratórios. Infecção do trato respiratório pode ocorrer quando os animais permanecem muito tempo amarrados com a cabeça elevada e pelos gases nocivos no ambiente de transporte que prejudicam o transporte mucociliar, favorecendo a internalização de microorganismos e alterações na distribuição e função das células imunes (RAIDAL et al., 1997).

O sistema imunológico é especialmente afetado pelo estresse do transporte. O estresse pode ocasionar leucocitose por neutrofilia e diminuição de linfócitos (DAVIS et al., 2008). Isso aumenta a relação neutrófilo:linfócito a qual juntamente com a eosinopenia também encontrada em equinos submetidos ao transporte são indicativos de estresse (STULL & RODIEK, 2000; MAEDA et al., 2011). Estas alterações são implicadas em parte por serem ocasionadas pelo aumento na concentração de cortisol, o qual pode desempenhar função imunorregulatória (STULL et al., 2008), no entanto, a noradrenalina também possui atuação sobre essas células (BAUER, 2002).

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).

Animais submetidos a longos períodos de transporte podem apresentar lesões musculares associadas ao balanço e a postura que os animais adotam para manter o equilíbrio durante a viagem.

Equinos também já apresentaram evidências de estresse oxidativo associado ao transporte (ONMAZ et al., 2011) e alteração na gasometria indicando acidemia também já foi encontrada em equinos após o transporte (YÁÑEZ-PIZAÑA et al., 2012).

Levando em consideração as evidências de que o transporte é um fator estressor para os equinos, e que a literatura a respeito deste tema é basicamente de outros países, principalmente da Europa e Estados Unidos os quais provavelmente possuem condições diferentes das aqui encontradas como clima, estradas e o próprio veículo de transporte, justifica-se o presente estudo no intuito de pesquisar alterações que o transporte possa ocasionar nos animais utilizados considerando a realidade local.

O objetivo deste estudo foi avaliar o estresse em equinos submetidos ao transporte rodoviário, verificando se ocorreu alteração nos parâmetros hematológicos, bioquímicos, hormonal e hemogasométricos e o tempo necessário para os valores voltarem aos valores basais.

II. REVISÃO DE LITERATURA

O estresse não é fácil para definir. Tem sido descrito como uma consequência de efeitos adversos do ambiente ou sistemas de manejo que forçam alterações fisiológicas ou comportamentais auxiliando os animais a enfrentar a situação (FAZIO & FELAZZO, 2003).

Os estressores mais comuns para os equinos são o transporte, o exercício, a laminite e mudanças na temperatura ambiente e umidade relativa do ar (FOREMAN & FERLAZZO, 1996).

Atualmente o crescente número de competições equestres exige que os animais sejam constantemente transportados, algumas vezes por longas distâncias (SCHIMDT et al., 2010). Os cavalos podem ser transportados para o abate, competições e lazer, podendo ou não envolver um grande número de animais viajando juntos (MASMANN & WOODIE, 1995).

O estresse resultante do transporte pode se originar de uma combinação de fatores, incluindo espaço, barulho, condições de rodagem, reagrupamento ou ambiente desconhecido, temperatura ambiental, umidade relativa e sanidade do animal (STULL e RODIEK, 2000). Como consequência do estresse, podem ocorrer mudanças hematológicas, bioquímicas, metabólicas e endócrinas capazes de alterar o rendimento de cavalos e de aumentar a ocorrência de enfermidades como pneumonia, cólica, diarreia e laminite (RAIDAL et al., 1997; JONES, 2003).

O transporte de equinos geralmente se faz utilizando trailers, ou caminhões fabricados para esta finalidade e durante as viagens os animais podem ou não receber alimentação e água. Pesquisas com o transporte de cavalos por 24h relatam que os animais receberam alimento e água durante a viagem (SMITH et al., 1996; STULL & RODIEK, 2000; OIKAWA et al., 2005), enquanto que equinos submetidos à 12h de transporte, não receberam alimento e água (RAIDAL et al., 1997). Equinos transportados por curtos períodos como 1-3h não receberam feno ou água (TATEO et al., 2012). Associado ao menor consumo de alimento e água ocorreu perda de peso em equinos após o transporte de 24h (SMITH et al., 1996; STLL & RODIEK, 2000).

A temperatura ambiente e a umidade relativa do ar máxima e mínima foram mensuradas durante o transporte em equinos, o que concluiu que temperaturas

excedendo os 30°C e a umidade relativa do ar maior que 50% prejudicam a dissipação do calor e ocasiona estresse térmico (STULL & RODIEK, 2000).

Situações estressoras como o transporte podem estimular o eixo-hipotálamo-hipófise-adrenal e ocasionar elevação da concentração de cortisol (STULL & RODIEK, 2000), que pode ser mensurada para avaliar a severidade do estresse em cavalos (FOREMAN & FERLAZZO, 1996).

É importante considerar que a concentração de cortisol apresenta um ritmo circadiano em equinos (IRVINE & ALEXANDER, 1994; STULL & RODIEK, 2000) e pode ser de difícil mensuração, pois flutuações ao longo do dia, o período do dia e a adaptação dos animais a determinados ambientes podem influenciar sua liberação (IRVINE & ALEXANDER, 1994). Ademais este hormônio atinge seu pico na circulação sanguínea em torno de 20 minutos após sua liberação (TATEO et al., 2012), apresentando uma meia-vida de 60 a 90 minutos (STULL & RODIEK, 2000).

Equinos submetidos ao transporte rodoviário por 1h e 3h tiveram a concentração de cortisol sérico mensurada, por meio de imunoenensaioquimioluminescente, sendo observada elevação nos momentos de embarque e desembarque, retornando aos níveis anteriores ao transporte 2h após (TATEO et al., 2012). O cortisol plasmático foi mensurado em equinos transportados por 24h por meio de ELISA competitivo, antes e após o transporte, onde se observou elevação significativa após a viagem (SMITH et al., 1996).

Mensuração do cortisol plasmático foi realizada por ensaio imunoenzimático em duplicata antes, durante e após o transporte de equinos por 24h. Observou-se elevação acima dos valores basais durante todo o transporte, com maior aumento nas 3h iniciais. Após o transporte os níveis cortisol declinaram, no entanto permanecendo acima dos valores encontrados anteriores ao transporte (STULL & RODIEK, 2000).

O hematócrito apresenta elevação em casos de desidratação, contração esplênica e hipóxia crônica, enquanto que a proteína plasmática total aumenta com desidratação e doença crônica (FIELDING & MAGDESIAN, 2011). Aumento no hematócrito e na proteína plasmática total foi encontrado durante o transporte de equinos por 24h, sendo a proteína associada à desidratação (STULL & RODIEK, 2000). Em outro estudo com equinos submetidos à 24h de transporte, ocorreu elevação do hematócrito e proteína total após a viagem, sendo o hematócrito

associado à contração esplênica e a proteína a desidratação (SMITH et al., 1996). Equinos transportados por 1h e 3h, apresentaram elevação do hematócrito após o embarque, o que sugere agitação e conseqüente contração esplênica, enquanto a proteína plasmática total apresentou elevação ao desembarque sendo associada à desidratação (TATEO et al., 2012). Equinos transportados por 8h apresentaram elevação da proteína plasmática total ao desembarque, permanecendo elevada por 24h após o transporte, sendo esse aumento associado às propriedades antioxidantes das proteínas (NIEDZWIEDZ et al., 2012).

O perfil leucocitário é útil para a mensuração do estresse, sendo utilizado desde a década de 1940, antes dos métodos disponíveis para avaliação de corticosteróides e podem estar relacionado com hormônios do estresse. As mudanças observadas em situações estressoras são neutrofilia e linfopenia ocasionando elevação da relação neutrófilo:linfócito, sendo relacionada positivamente com a magnitude do estresse (DAVIS et al., 2008). O cortisol é responsabilizado por ocasionar mudanças na migração, e distribuição das células imunes, no entanto a noradrenalina também possibilita essa mudança (BAUER, 2002).

Ocorreu neutrofilia e linfopenia durante e após um transporte de 24h e após uma viagem de 36h, com conseqüente elevação da relação neutrófilo:linfócito que pode ter sido influenciadas pelo aumento da concentração de cortisol, no entanto, esta relação é por si considerada um índice de estresse (STULL & RODIEK, 2000; MAEDA et al., 2011). Equinos transportados por 37h e 43h apresentaram neutrofilia durante o transporte e no desembarque, no entanto, foi associada com infecção do trato respiratório (OIKAWA et al., 2005). Neutrofilia após o transporte de 12h em equinos também foi associada à infecção respiratória, entretanto a diminuição na capacidade de internalização e fagocitose dessas células pode ocorrer pelo aumento de hormônios do estresse (RAIDAL et al., 1997) Eosinopenia foi encontrada após o transporte em equinos, não sendo associada a outros parâmetros e consideradas um índice de estresse (OIKAWA et al., 2004; OIKAWA et al., 2005; MAEDA et al., 2011).

Aumento da glicemia tem sido relatado em equinos transportados por diferentes períodos de tempo, sendo relacionado com o aumento da concentração

circulante de cortisol (STULL & RODIEK, 2000; ONMAZ et al., 2011; TATEO et al., 2012; YÁÑEZ-PIZAÑA et al., 2012).

As enzimas creatinaquinase (CK), aspartatoaminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH), são rotineiramente empregadas na avaliação de cavalos submetidos a esforço físico para avaliar a integridade muscular (THOMASSIAN et al., 2007; SALES et al., 2013). Após um transporte de equinos por 8h, elevação da concentração de CK e AST foi associada com fadiga muscular (NIEDZWIEDZ et al., 2011). Elevação de CK também foi encontrada em equinos após 3h de transporte, sendo também associada à fadiga muscular (TATEO et al., 2012). Leve lesão muscular foi associada ao aumento de lactato, CK e AST após um transporte de equinos por 24h (STULL & RODIEK, 2000). É importante salientar que o transporte prévio ao exercício pode provocar aumento adicional nestes parâmetros (MEDICA et al., 1996).

Não há muitas informações a respeito da utilização de hemogasometria em equinos submetidos ao transporte rodoviário. Estudos utilizando pH, PvO₂, PvCO₂ e HCO₃ já foram realizados para auxiliar a avaliação da performance muscular em equinos em treinamento (GOUNDASHEVA & SABEV, 2011) e com miopatia atípica (van GALEN et al., 2013). Porém em equinos submetidos ao transporte HOBBO et al. (1995), relataram a mensuração de PaO₂, PaCO₂, pH e HCO₃ para avaliar a capacidade de ventilação pulmonar em equinos transportados por 45h e 60h, no entanto, sem encontrar alterações após o transporte, enquanto que em equinos submetidos ao transporte por 2h e 11h observou-se acidemia ocasionada pela elevação da PvCO₂, após o transporte (YÁÑEZ-PIZAÑA et al., 2012).

III. MATERIAL E MÉTODOS

Certificação

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPR/ Setor Palotina (protocolo nº33/2012), pelo Comitê de Pesquisa do Setor Palotina (protocolo nº41/2012) e registrado no sistema BANPESQ/Thales da UFPR (nº2013026412).

Animais

Foram utilizados cinco equinos, sendo três fêmeas sem sinais de estro e/ou prenhes e dois machos castrados, mestiços, clinicamente sadios, com idade variando entre 5 e 15 anos, provenientes do Hospital Veterinário do Setor Palotina da Universidade Federal do Paraná (HV-SPA-UFPR). Os animais foram mantidos em piquete de capim Tifton 85 (*Cynodondactylon*) e receberam feno de Tifton 85 e ração comercial de manutenção duas vezes ao dia (07h00min e 19h00min), além de água *ad libitum*.

Métodos

Visando adaptar os animais, estes foram manejados diariamente e foram submetidos a exame físico duas vezes por semana durante 20 semanas antes da coleta de dados. Uma semana antes do transporte os animais foram alojados em baias individuais durante a noite para adaptação.

Trinta e seis horas antes do início do experimento, aproximadamente as 18h00min, os animais foram colocados em baias individuais e foram submetidos à tricotomia para acessar a veia jugular esquerda. Na sequência, os equinos receberam um catéter 14G com extensor que foi fixado no terço médio da veia jugular com auxílio de pontos isolados simples e cola adesiva a base de cianoacrilato¹. O extensor foi mantido fechado com *plug* PRN e foi totalmente

¹SuperBonder – Loctite, Henkel, Itapevi, SP, Brasil.

preenchido com solução heparinizada. A lavagem do extensor foi realizada imediatamente após o manuseio do catéter. O catéter foi removido após 72 horas.

No dia do experimento, às 06h40min, os animais foram embarcados em caminhão da marca Mercedes-Benz, modelo 608 D (Figura 1) com carroceria tipo boiadeiro dividida em dois compartimentos, sendo três animais de um mesmo compartimento mantidos com a cabeça voltada para um lado e os outros dois cavalos do outro compartimento voltados para o outro lado.

Durante o transporte, os animais permaneceram com cabresto, amarrados e não houve fornecimento de alimento antes e nem durante o transporte (Figura 2). O percurso se deu entre as cidades de Palotina e Toledo, no oeste do Paraná, em estrada asfaltada sem muitas curvas, com poucas alterações de relevo e sem falhas importantes no piso de rodagem. A fim de garantir regularidade na velocidade, a viagem foi programada para a manhã de um sábado, quando o fluxo neste trecho de estrada é reduzido. A distância total percorrida foi de 216km, sendo que a distância entre as cidades supracitadas é de aproximadamente 54km.

Vinte e quatro horas antes do experimento, no momento zero (M0), realizou-se a primeira coleta de sangue. Esse momento deu-se às 07h00min e a alimentação foi fornecida só após a coleta de sangue. A coleta de sangue 24h antes do embarque foi realizada pensando-se em evitar alterações oriundas da manipulação dos animais anterior ao transporte.

A saída ocorreu no Hospital Veterinário em Palotina às 07h00min. O caminhão foi até Toledo e imediatamente retornou à Palotina, totalizando 108km, percorridos em 90 minutos. Ao retornar, os animais foram desembarcados (M1) e procedeu-se nova coleta de sangue. Os equinos foram reembarcados em torno de 45 minutos após e repetiu-se o mesmo trajeto de viagem, somando-se mais 108km, percorridos em 120 minutos e, então, houve desembarque definitivo (M2) e nova coleta de sangue. Os animais foram colocados individualmente nas baias para descanso e receberam água. Novas coletas de sangue foram realizadas após uma (M3), duas (M4), quatro (M5), oito (M6), 12 (M7) e 24 horas (M8) após o desembarque. A alimentação foi retomada após M3.

A temperatura ambiente e a umidade relativa, mínima e máxima, foram mensuradas com psicômetro digital² durante as coletas de sangue de M1 a M8 e não apresentaram diferenças durante todo o experimento (Tabela 1).

Tabela 1. Temperatura ambiente em °C (mínima, máxima e média) e umidade relativa do em % (mínima, máxima e média) observadas durante o transporte rodoviário de equinos.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
T (C°)								
Mínima	19,88	23,94	24,93	25,43	25,89	21,92	18,78	23,48
Máxima	20,01	24,12	25,06	25,84	26,14	22,06	18,95	23,5
Média	19,94	24,03	24,99	25,63	26,01	21,99	18,86	23,49
UR (%)								
Mínima	77,62	66,38	67,01	65,47	58,61	76,61	82,2	61,27
Máxima	77,69	67,52	67,87	66,51	59,58	76,56	82,58	61,33
Média	77,65	67,00	67,44	65,99	59,09	76,58	82,39	61,3

Sendo: M1 à metade do transporte; M2 imediatamente após o término do transporte; M3 à uma hora após o término do transporte. M4 à duas horas após o término do transporte; M5 à quatro horas após o término do transporte; M6 à oito horas após o término do transporte; M7 à doze horas após o término do transporte e M8 à 24 horas após o término do transporte.



Figura 1. Caminhão carroceria do tipo boiadeiro utilizado para transportar os equinos por 216km durante o experimento que avaliou o efeito do estresse decorrente do transporte rodoviário.

²Psicômetro digital PY 5080 – Icel, Manaus, AM, Brasil.



Figura 2. Disposição dos equinos submetidos ao transporte rodoviário por 216km no interior da carroceria tipo boiadeiro.

Avaliações Sanguíneas

As análises das amostras de sangue foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do HV – SPA – UFPR, excetuando-se CK, AST e LDH que foram analisadas no Laboratório Santa Rita em Palotina - PR. Procederam-se as seguintes avaliações:

- Hematológica: foram coletados 3ml de sangue em tubo contendo EDTA, para mensuração do número de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, proteína plasmática total (PPT), contagem total e diferencial de leucócitos e relação neutrófilo:linfócito (neu:lin). A análise foi realizada por analisador automático de células³. A PPT foi mensurada utilizando refratômetro e a contagem diferencial de leucócitos se deu em lâmina corada com Panótico sendo realizado o cálculo da relação neu:lin.
- Bioquímica: foram coletados 3ml de sangue em tubo contendo citrato de sódio para avaliação da glicemia através de kit comercial⁴; 4ml de sangue em tubo contendo fluoreto de potássio para análise de lactato

³ Analisador automático de células hematológicas bc 2800 Mindray – Shaanxi Medical instrument Co., Ltd, Shaanxi, China.

⁴ Glicose liquiform – Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil.

desidrogenase (LDH), o qual foi centrifugado para obtenção do plasma e congelado em alíquotas de 1,5ml a -18°C até o momento das análises; uma amostra de 15ml de sangue foi coletada em tubos sem anticoagulantes, centrifugado para obtenção do soro e congeladas a -18°C em alíquotas de 1,5ml para mensuração de creatinaquinase (CK) e aspartatoaminotransferase (AST).

- Hemogasométrica: foi coletado 1ml de sangue em seringa de insulina heparinizada para mensuração de pressão parcial de oxigênio (PvO_2), pressão parcial de dióxido de carbono (PvCO_2), potencial hidrogeniônico (pH_v) e bicarbonato de sódio (HCO_3). Após a coleta a seringa foi rapidamente tampada para evitar o contato do sangue com o ar, acondicionada em caixa térmica com gelo e levada ao laboratório para análise imediata em hemogasômetro⁵. Essa análise foi acompanhada da mensuração da temperatura retal para calibração exigida pelo equipamento.
- Hormonal: do total dos 15ml de sangue coletados sem anticoagulante uma alíquota de 1,5ml do soro, também foi congelada a -18°C para mensuração do cortisol. O método utilizado foi ensaio imunoenzimático com kit comercial⁶, sendo as análises processadas em triplicatas.

Análise estatística

Foi aplicada análise de variância ANOVA, seguida por teste de Tukey ($p < 0,05$) para verificar a existência de diferença estatística das variáveis avaliadas ao longo do tempo em relação ao momento zero (M0).

IV. RESULTADOS

⁵ Analisador de pH e gases sanguíneos AGS 22 – Drake, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

⁶ ADI 901 071 – Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, USA.

A viagem iniciou-se às 7h00min e foi finalizada às 11h15min, totalizando 255 minutos, sendo que a primeira parte (M1) levou 90 minutos totalizando 108km e a segunda parte (M2) 120 minutos percorrendo outros 108km. Os outros 45 minutos foram o tempo de desembarque, coleta e embarque em M1. Dessa maneira foram percorridos 216km em 210 minutos, o que permite calcular uma velocidade média de 61,7km/h.

O transporte não promoveu mudança significativa nos níveis de cortisol sérico durante o experimento (Figura 3). Em M1, os níveis de cortisol sérico apresentaram uma diminuição em relação ao M0, o que também ocorreu em M2. Observou-se que em M3, ou seja, uma hora após o desembarque, ocorreu o pico máximo da concentração de cortisol sérico, sendo que a partir deste momento os níveis desta variável permaneceram acima dos valores basais até M6. Em M7, o cortisol sérico apresentou destacada elevação, permanecendo acima dos valores de M0 também em M8.

A avaliação hematológica, não apresentou diferença no número de hemácias ($p=0,072$), taxa de hemoglobina ($p=0,051$) e hematócrito ($p=0,113$) ao longo do experimento (Tabela 2). No entanto, houve elevação da média dos valores dessas variáveis em todos os momentos após o transporte. Vale ressaltar que o aumento destes parâmetros em relação a M0 ocorreu a partir de M1. Os momentos 3, 4 e 6 (uma, duas e 8h após o transporte respectivamente), demonstraram os maiores valores para estas variáveis.

Houve elevação não significativa no número de leucócitos totais ($p=0,243$) (Tabela 3). Destaca-se que esta elevação acompanha os momentos de desembarque (M1 e M2), no entanto, a concentração máxima ocorreu em M3 e M4 permanecendo acima dos valores de M0 por todo o experimento. Observa-se que este aumento de leucócitos totais foi impulsionado principalmente pela elevação do número de neutrófilos ($p=0,220$) com pico máximo em M3. Os linfócitos apresentaram diminuição não significativa ($p=0,161$) em relação a M0, com valor mínimo encontrado em M2, todavia, o momento 1 também exerceu influência na queda deste parâmetro. A partir de M3 os linfócitos apresentaram uma elevação, no entanto permanecendo abaixo dos valores de M0 até M6 (8h após o transporte). Não houve diferença no número de eosinófilos ($p=0,459$), no entanto ocorreu diminuição destas células, permanecendo abaixo dos índices de M0 de M2 a M7,

portanto até 12h após o transporte. Ocorreu aumento significativo ($p=0,005$) na relação neutrófilo:linfócito (neu:lin) em M3 e M4 em relação a M0. Vale ressaltar que a elevação da relação neu:lin iniciou-se em M1.

A proteína plasmática total não apresentou diferença significativa ($p=0,401$). Em M1 observou-se uma elevação em relação a M0, sendo que o contrário ocorreu em M2. No entanto a partir de M3, ocorreu um aumento deste parâmetro que permaneceu acima de M0 por todo período após o transporte (Tabela 4).

A glicemia apresentou aumento a partir de M2 permanecendo elevada acima dos valores de M0 por todo período pós-transporte. Esta elevação foi significativa ($p=0,001$) em M2, M3, M6 e M7 (desembarque, uma, 8 e 12h após o transporte) em relação a M0 (Tabela 4).

A creatinaquinase (CK) apresentou redução em relação a M0 em todo experimento, sendo que em M7 (12h após o transporte), essa redução foi significativa ($p=0,007$) em relação a M0. A aspartatoaminotransferase (AST) e a lactato desidrogenase (LDH) não variaram de forma significativa ($p=0,263$ e $p=0,126$, respectivamente) apesar de aumentos transitórios em M3 e M4 (Tabela 4).

A PvO_2 apresentou elevação da média durante todo o experimento em relação a M0, sendo que em M3 e M4 (uma e 2h após o transporte), esse aumento foi significativo ($p=0,002$). A $PvCO_2$ se mostrou diminuída em relação a M0 até M6 (8h após o transporte). No entanto em M7 e M8 ocorreu elevação deste parâmetro além dos valores encontrados em M0, porém essas alterações não foram significativas. O bicarbonato permaneceu diminuído em relação a M0 até M7 (12h após o transporte). A diminuição encontrada nos níveis de bicarbonato foi significativa ($p=0,001$) em M1, M2 e M6 em relação a M0. O pH por sua vez apresentou queda por todo experimento, sendo significativa ($p=0,001$) em M1 e M6 em relação a M0 (Tabela 5).

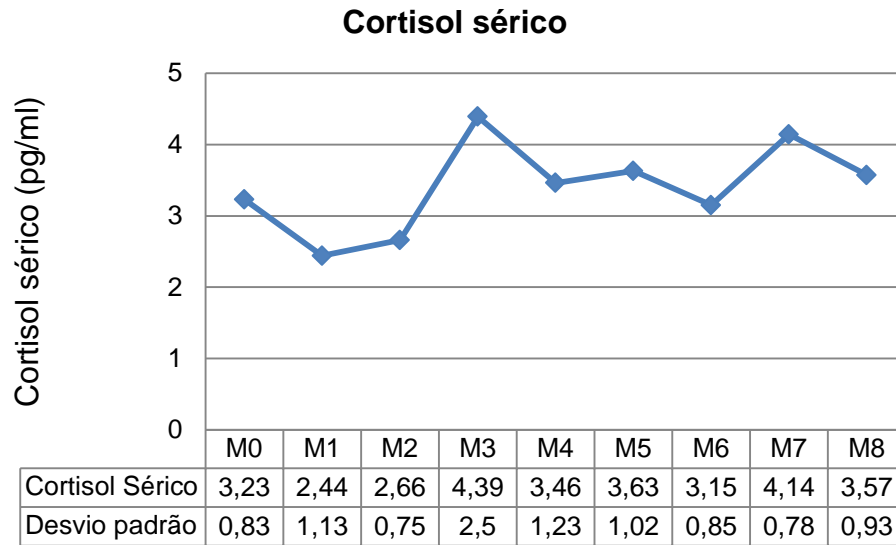


Figura 3. Variação da concentração de cortisol sérico (picogramas/mililitro) e desvio padrão em equinos submetidos a transporte rodoviário por 3,5h, mensurada 24h antes do transporte (M0), meio do transporte (M1), desembarque definitivo (M2), uma, duas, 4h, 8h, 12h e 24h (M3, M4, M5, M6, M7 e M8 respectivamente) após o transporte.

Tabela 2. Valores (média± desvio padrão) do número total de hemácias (Hem), $p=0,072$, taxa de hemoglobina (Hb), $p=0,051$ e hematócrito (Ht), $p=0,113$ apresentados por equinos submetidos a transporte rodoviário por 3,5h.

M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
Hem ($\times 10^6/\mu\text{L}$)								
4,86 ± 0,39	5,02 ± 0,24	5,01 ± 0,39	5,6 ± 0,44	5,63 ± 0,46	5,16 ± 0,56	6,19 ± 1,48	5,59 ± 0,58	5,23 ± 0,54
Hb(g/dL)								
9,34 ± 0,38	9,7 ± 0,81	9,52 ± 1,04	11,18 ± 1,18	10,8 ± 1,18	10,02 ± 0,80	11,96 ± 3,43	10,72 ± 1,08	10,2 ± 1,00
Ht (%)								
29,12 ± 1,20	30,44 ± 2,77	30,04 ± 3,47	33,62 ± 4,28	33,74 ± 3,47	30,66 ± 2,67	32,52 ± 2,49	33,44 ± 2,85	31,42 ± 3,09

Sendo: o M0 correspondente à 24h antes do transporte; M1 à metade do transporte; M2 imediatamente após o término do transporte; M3 à uma hora após o término do transporte. M4 à duas horas após o término do transporte; M5 à quatro horas após o término do transporte; M6 à oito horas após o término do transporte; M7 à doze horas após o término do transporte e M8 à 24 horas após o término do transporte.

Tabela 3. Valores (média± desvio padrão) do número total de leucócitos totais (Leu), p=0,243, neutrófilos (Neu), p=0,220, linfócitos (Lin), p=0,161, eosinófilos (Eos), p=0,459 e relação (neu:lin), p=0,005* apresentados por equinos submetidos a transporte rodoviário por 3,5h.

M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
Leu (x10 ³ /μL)								
6,90 ± 1,29	7,96 ± 2,00	8,28 ± 2,07	9,54 ± 1,78	9,58 ± 2,55	9,24 ± 1,83	7,16 ± 2,34	8,06 ± 1,48	7,78 ± 1,06
Neu (x10 ³ /μL)								
3,81 ± 0,67	5,28 ± 1,94	6,28 ± 2,58	7,19 ± 1,91	7,01 ± 2,52	6,5 ± 1,65	4,32 ± 1,32	4,75 ± 0,48	4,51 ± 1,07
Lin (x10 ³ /μL)								
2,72 ± 0,71	2,24 ± 0,64	1,53 ± 0,80	1,77 ± 0,20	2,14 ± 0,45	2,45 ± 0,79	2,42 ± 1,03	2,87 ± 1,24	2,64 ± 0,62
Eos (x10 ³ /μL)								
0,387 ± 0,287	0,449 ± 0,286	0,313 ± 0,407	0,308 ± 0,240	0,301 ± 0,239	0,288 ± 0,315	0,368 ± 0,309	0,360 ± 0,393	0,678 ± 0,084
Neu:Lin								
1,4 ± 0,9	2,34 ± 2,99	4,08* ± 3,2	4,05* ± 9,43	3,27 ± 5,54	2,65 ± 2,08	1,78 ± 1,27	1,65 ± 0,38	1,7 ± 1,7

Sendo: o M0 correspondente à 24h antes do transporte; M1 à metade do transporte; M2 imediatamente após o término do transporte; M3 à uma hora após o término do transporte. M4 à duas horas após o término do transporte; M5 à quatro horas após o término do transporte; M6 à oito horas após o término do transporte; M7 à doze horas após o término do transporte e M8 à 24 horas após o término do transporte.

Tabela 4. Valores (média± desvio padrão) da concentração de proteína plasmática total (PPT), p=0,401, glicemia, p=0,001*, creatinaquinase (CK), p=0,007*, aspartatoaminotransferase (AST), p=0,263 e lactato desidrogenase (LDH), p=0,126apresentados por equinos submetidos atransporte rodoviário por 3,5h.

M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
PPT (g/dL)								
7,32 ± 0,30	7,52 ± 0,33	7,28 ± 0,41	7,76 ± 0,55	7,64 ± 0,38	7,52 ± 0,33	7,48 ± 0,30	7,36 ± 0,29	7,60 ± 0,29
Glicemia (mg/dL)								
73,8 ± 2,28	73,8 ± 5,26	98,4* ± 8,32	98,4* ± 13,7	82 ± 10	85,4 ± 5,12	93,2* ± 5,4	94* ± 9,24	81,6 ± 10,94
CK (U/L)								
359,82 ± 73,9	351,64 ± 40,1	340,34 ± 78,4	336 ± 43,8	323,1 ± 43	319,34 ± 39,7	280,8 ± 35,1	226* ± 58,1	288,56 ± 43
AST (U/L)								
238,8 ± 14,6	233,2 ± 23,5	230 ± 21,1	249 ± 21	241,4 ± 24,3	234,8 ± 23,9	225 ± 31,9	211,4 ± 27,4	223,6 ± 22,3
LDH (U/L)								
651,92 ± 47,7	643,1 ± 64,9	645,66 ± 69,6	562,52 ± 70,5	741,3 ± 150,1	652,68 ± 125,2	598 ± 23,5	627,06 ± 73,4	556,5 ± 37,4

Sendo: o M0 correspondente à 24h antes do transporte; M1 à metade do transporte; M2 imediatamente após o término do transporte; M3 à uma hora após o término do transporte. M4 à duas horas após o término do transporte; M5 à quatro horas após o término do transporte; M6 à oito horas após o término do transporte; M7 à doze horas após o término do transporte e M8 à 24 horas após o término do transporte.

Tabela 5. Valores médios \pm desvio padrão da pressão parcial de oxigênio (PvO₂), p=0,002*, pressão parcial de dióxido de carbono (PvCO₂), potencial hidrogeniônico (pH), p=0,001* e bicarbonato (HCO₃), p=0,001*, apresentados por equinos submetidos a transporte rodoviário de 3,5h.

M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
PvO₂ (mmHg)								
32,46 \pm 1,27	37,46 \pm 3,49	38,77 \pm 4,91	41,82* \pm 1,97	41,66* \pm 1,79	41,48 \pm 0,75	40,38 \pm 8,17	35,74 \pm 2,84	36,56 \pm 4,70
PvCO₂ (mmHg)								
45,5 \pm 1,67	41,86 \pm 0,88	39,94 \pm 3,55	44,88 \pm 5,62	44,94 \pm 3,20	43,40 \pm 2,94	43,86 \pm 1,81	46,24 \pm 1,51	50,66 \pm 4,29
pH								
7,35 \pm 0,015	7,30* \pm 0,021	7,32 \pm 0,018	7,33 \pm 0,028	7,33 \pm 0,034	7,35 \pm 0,007	7,28* \pm 0,018	7,32 \pm 0,011	7,31 \pm 0,024
HCO₃ (mmol/L)								
25,48 \pm 1,23	20,52* \pm 1,20	20,76* \pm 1,81	23,68 \pm 2,97	23,86 \pm 1,49	24,02 \pm 1,91	20,88* \pm 1,28	23,72 \pm 1,38	26,04 \pm 3,05

Sendo: o M0 correspondente à 24h antes do transporte; M1 à metade do transporte; M2 imediatamente após o término do transporte; M3 à uma hora após o término do transporte. M4 à duas horas após o término do transporte; M5 à quatro horas após o término do transporte; M6 à oito horas após o término do transporte; M7 à doze horas após o término do transporte e M8 à 24 horas após o término do transporte.

V. DISCUSSÃO

A zona de conforto térmico para os equinos varia entre $-1,1^{\circ}\text{C}$ e $25,0^{\circ}\text{C}$, sendo que temperaturas abaixo de $-1,1^{\circ}\text{C}$ e superiores a $32,2^{\circ}\text{C}$ são consideradas críticas (STULL, 1997; MARTINSON et al., 2013). Assim, pode-se afirmar que no presente estudo a temperatura ambiente se manteve dentro da zona de conforto térmico da espécie. Durante o estudo a temperatura variou entre 19° e 26°C e a umidade relativa entre 59 e 82% e tais valores estão dentro da variação para a época do ano na região em que ocorreu o estudo (CAVIGLIONE et al., 2000; CPTEC-INPE, 2013).

O ambiente no qual os animais vivem também influencia a zona de conforto térmico (KENTUCKY EQUINE RESEARCH, 2011) e os equinos do presente estudo viviam na mesma cidade onde ocorreu o estudo há pelo menos três anos, portanto, estavam adaptados às condições climáticas da região.

O transporte rodoviário não parece ter influenciado a concentração de cortisol apresentada pelos equinos, inclusive houve redução da cortisolemia em M1 e M2 em relação a M0, denotando que os animais se adaptaram bem a situação. Vale ressaltar que em M1, 108km haviam sido percorridos e M2 216km, não aumentando a concentração de cortisol, ao contrário do que foi encontrado por FAZIO et al. (2008), que evidenciaram elevação do cortisol em equinos submetidos a transporte rodoviário de 100, 200 e 300km. No presente estudo, o desembarque não ocasionou elevação na concentração. Entretanto o desembarque foi considerado uma situação estressante para os equinos, sendo que TATEO et al. (2012) que estudaram o efeito do transporte por uma hora (50km) e 3h (200km) em equinos verificaram elevação da concentração de cortisol ao desembarque. No presente estudo observou-se que ocorreu elevação na concentração de cortisol no período pós-transporte, com destaque para M3 e M7 (uma e 12h após o transporte). Uma hipótese levantada a partir dos dados do presente estudo é que a elevação de cortisol encontrada em M3 deveu-se à ansiedade para receber o alimento, já que os animais ainda estavam em jejum, pois é sabido que a ansiedade leva os animais à agitação o que eleva os níveis de cortisol sérico, como descreveram IRVINE & ALEXANDER, (1994). Os dados para o cortisol sérico do presente estudo corrobora SMITH et al. (1996), o qual citou que em cavalos

transportados por menos de 24h, não ocorreu elevação significativa da concentração de cortisol após o transporte.

É importante ressaltar que o ciclo circadiano interfere na liberação de cortisol em equinos e observam-se concentrações maiores desse hormônio pela manhã e menores à noite (STULL & RODIEK, 2000; IRVINE & ALEXANDER, 1994). A elevação de cortisol em M7 que correspondeu a aproximadamente 23h30min também pode ser explicada pela agitação dos animais, visto que os mesmos não estavam acostumados ao manejo nesse horário, o que se encaixa na explicação de IRVINE & ALEXANDER, (1994), que descreveram que qualquer perturbação pode alterar o padrão normal de liberação deste hormônio e interromper o ritmo circadiano.

A elevação no número de hemácias e a taxa de hemoglobina durante o experimento apresentaram relação com os momentos de elevação do hematócrito. O aumento do hematócrito está relacionado com a desidratação que ocasiona perda de água da circulação sanguínea elevando a porcentagem de hemácias (FIELDING & MAGDESIAN, 2011). No entanto, o aumento concomitante do hematócrito, hemácias e taxa de hemoglobina do presente estudo, sugerem que possa ter ocorrido contração esplênica elevando estes parâmetros, pois o estresse também pode elevar o hematócrito devido à contração esplênica resultante da liberação de catecolaminas após a ativação do sistema nervoso simpático (STULL & RODIEK, 2000; FIELDING & MAGDESIAN, 2011; TATEO et al., 2012).

Apesar da influência do sistema nervoso simpático em elevar o hematócrito, no presente estudo, uma leve desidratação não pode ser descartada, pois a proteína plasmática total também apresentou aumento após o transporte, e este é um parâmetro para avaliação da desidratação juntamente com o hematócrito como citam FIELDING & MAGDESIAN, (2011). É importante ressaltar que os animais permaneceram em jejum hídrico durante o transporte e tiveram acesso à água somente após a coleta de sangue em M3 (uma hora após o transporte) e isso pode ter contribuído para a elevação da proteína plasmática total o que corrobora SMITH et al. (1996). Ademais, a excitação também pode ter contribuído para ocasionar a elevação das proteínas (CARLSON, 2006), visto que a contração esplênica também pode elevar a concentração de proteínas plasmática total (ECKERSALL, 2008) o que pode ter ocorrido em M3. Outra causa que pode estar relacionada com a

elevação de proteínas após o transporte em equinos é a propriedade antioxidante deste parâmetro, que está ligado com o aumento dos radicais livres (NIEDZWIEDZ et al., 2012).

Sabe-se que o cortisol possui funções imunorregulatórias e o aumento de sua concentração pode ocasionar mudanças nas células imunes (STULL et al., 2008). No entanto, no presente estudo, essas alterações se iniciaram antes da concentração de cortisol aumentar acima dos níveis basais, ou seja, em M1, o que pode indicar que o cortisol não foi o principal mediador destas alterações, o que não corrobora DICKSON, (1996), que descreveu que o cortisol causa redução dos linfócitos e eosinófilos, sendo que esta redução atingiu o pico em equinos 4h após o aumento deste hormônio na circulação sanguínea.

Neste estudo, as catecolaminas parecem ter exercido maior influência sobre esses grupos celulares, o que corrobora com estudos relatando que nervos noradrenérgicos ou a noradrenalina atuam sobre o baço e linfonodos influenciando o fluxo sanguíneo, a permeabilidade vascular e a migração e diferenciação dos leucócitos (BAUER, 2002; TIZARD, 2002).

A elevação no número de neutrófilos e queda de linfócitos e eosinófilos, do presente estudo, corroboram (MAEDA et al., 2011), que encontraram estas alterações em equinos após o transporte, no entanto, com duração de 36h, ao contrário desta pesquisa. Aumento do número de leucócitos totais e neutrófilos neste trabalho não foi associado à infecção respiratória, como em estudos com cavalos transportados por 12h (RAIDAL et al., 1997) e 37h e 43h(OIKAWA, et al., 2005).

A influência do cortisol sobre o sistema imune de equinos pode estar relacionada com o maior tempo de exposição ao cortisol, como em um transporte por 24h, onde os animais ficaram expostos à ação deste hormônio por mais tempo (STULL & RODIEK, 2000).

Os equinos do presente estudo, também apresentaram aumento da relação neu:lin, com início em M1, atingindo seu pico em M2, não estando ligado com aumento da concentração de cortisol. No entanto, aumento da relação neu:lin foi encontrada em equinos transportados por 24h, sendo associada com a elevação do cortisol (STULL & RODIEK, 2000) . É importante salientar que variações no perfil leucocitário de equinos e também outras espécies submetidas a situações de estresse têm sido investigadas em diferentes estudos e, atualmente, este parâmetro

é considerado um bom indicador da presença de estresse (DAVIS et al., 2008; MIRANDA et al., 2009; PAES et al., 2012).

O transporte rodoviário provocou queda no número de eosinófilos a partir de M2 até M7 (desembarque definitivo e 12h após o transporte) nos equinos desta pesquisa. Estudos relatam essa diminuição, como sendo um índice de estresse em equinos transportados (OIKAWA et al., 2004; OIKAWA et al., 2005; MAEDA et al., 2011), no entanto não associaram ao aumento da concentração de cortisol, o que neste estudo não parece ter ocorrido.

Considerando o fato de que os animais estavam em jejum alimentar desde antes do início do transporte até uma hora após o desembarque (M3), pode-se sugerir que a elevação da glicemia observada em M2 e M3 decorreu do estresse ocasionado pelo transporte. É sabido que os glicocorticóides estimulam a gliconeogênese, por permitir a ação do glucagon e da adrenalina e inibir aos efeitos da insulina (DICKSON, 1996), porém no presente estudo, a elevação da glicemia se inicia anterior à elevação da concentração de cortisol, o que pode indicar que as catecolaminas podem ter influenciado este parâmetro, visto que além do aumento da concentração de cortisol, a descarga de catecolaminas pode elevar a glicemia em equinos (ONMAZ et al., 2011; TATEO et al., 2012).

Ao se observar os valores das enzimas musculares, o transporte rodoviário por 3,5h não ocasionou lesão muscular nos equinos do presente estudo, ao contrário do encontrado por TATEO et al. (2012), que evidenciaram elevação de CK em equinos transportados por 3h. Observou-se diminuição nos níveis de CK a partir de M1, assim permanecendo por todo experimento, o que corrobora ONMAZ et al. (2011), no entanto este autor transportou os equinos por 12h. Outros estudos também mencionam que o transporte pode aumentar a concentração de CK em equinos (STULL & RODIEK, 2000; NIEDZWIEDZ et al., 2012).

No presente trabalho, a AST e a LDH mostraram elevação transitória sem associação com CK para evidenciar lesão muscular. A AST não é específica para a musculatura, sendo encontrada também no fígado, músculo cardíaco e eritrócitos (HOFFMANN & SOLTER, 2008) e seu aumento está implicado em lesão muscular juntamente com CK e LDH associada à prática esportiva (THOMASSIAN et al., 2007) e transporte em equino (TATEO et al., 2012). Neste estudo, sua elevação não parece estar associada à lesão muscular, visto a diminuição da CK durante o

experimento. No entanto, a elevação de AST em M3 e M4 pode ter se originado de uma alteração na permeabilidade da membrana ou aumento da síntese desta enzima (SALES et al., 2013).

A elevação de LDH em M4, no presente estudo, poderia indicar leve fadiga muscular associada ao transporte, como também explicaram STULL & RODIEK, (2000); TATEO et al. (2012). Entretanto, é sabido que a LDH possui isoenzimas que desempenham função em outros tecidos além do muscular sendo associada à CK para evidenciar lesão muscular. (THOMASSIAN et al., 2007; HOFFMANN & SOLTER, 2008). No presente estudo, observou-se um aumento na LDH em M4, que foi 2h após o transporte e uma hora (M3) após o fornecimento do alimento, sendo que BOTTEON, 2012 explicou que a alimentação é um dos fatores para a elevação do lactato, o que se suspeita que possa ter ocasionado elevação da LDH no presente trabalho.

O transporte rodoviário por 3,5h causou alterações hemogasométricas caracterizadas por acidose metabólica decorrente da diminuição dos níveis de bicarbonato e do pH. A literatura apresenta pouca informação a respeito deste parâmetro associado ao transporte em animais, no entanto, acidemia denotada pela elevação de $PvCO_2$ foi encontrada em equinos transportados por duas e 11 horas (YÁÑEZ-PIZAÑA et al., 2012). No presente estudo, observou-se uma tendência para diminuição da $PvCO_2$ e aumento da PvO_2 que se iniciaram em M1, permanecendo até M6 (8h após o transporte). Isto pode ter ocorrido, pelo aumento da ventilação pulmonar, diminuindo o dióxido de carbono e conseqüentemente o bicarbonato, o qual constitui a maior fração do dióxido de carbono, o que pode ter ocasionado queda do pH como também explicaram GOUNDASHEVA & SABEV, (2011).

VI. CONCLUSÃO

O transporte rodoviário de equinos por 90 minutos e 108km e 210 minutos e 216km é capaz de elevar o hematócrito, o número de hemácias, a taxa de hemoglobina, a concentração de proteína plasmática total, o número total de leucócitos a relação neu:lin, além de acarretar hiperglicemia e acidose metabólica, entretanto essas alterações são brandas e transitórias.

VII. REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, F.Q.; SILVA, V.P. Progresso científico em equideocultura na 1ª década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.12, p.119-129, 2010.
2. BAUER, M.E. Estresse como ele abala as defesas do corpo? **Ciência Hoje**, v.30 n.179, p. 20-25, 2002.
3. BOTTEON, P. de T.L. Lactato na medicina veterinária - Atualização conceitual. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34 n.4, p.283-287, 2012.
4. CARLSON, G.P. Testes bioquímicos. In: SMITH, B.P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. 3 ed. Barueri: Manole, 2006. p. 389-419.
5. CAVIGLIONE, J.H.; KIIHL, L.R.B.; CARAMORI, P.H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. IAPAR, Londrina 2000. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>. Acesso em: 05/02/2014.
6. CPTEC-INPE. **Previsão climática**. Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos. 2013. Disponível em: http://clima1.cptec.inpe.br/~rclima1/monitoramento_brasil.shtml. Acesso em: 05/02/2014.
7. 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, p. 760 – 772, 2008.
8. DICKSON, W. M. Endocrinologia, reprodução e lactação. In: REECE, W. O. **Dukes: Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 571- 602.

9. ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 135 – 155.
10. FAZIO, E.; FERLAZZO A. Evaluation of stress during transport. **Veterinary Research Communications**, v.27, p. 519-524, 2003.
11. FAZIO, E.; MEDICA, P.; ARONICA, V.; GRASSO, L.; FERLAZZO, A. circulating β -endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels of stallions before and after short road transport: stress of different distances. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.50 n.6, 2008.
12. FIELDING, C.L.; MAGDESIAN, K.G. Review of packed cell volume and total protein for use in equine practice. **AAEP Proceedings**, v. 57, 2011.
13. FOREMAN, J.H.; FERLAZZO, A. Physiological responses to stress in the horse. **Pferdeheilkunds**, v.12, p. 401-404, 1996.
14. GOUNDASHEVA, D.; SABEV, S. Influence of exercise on acid-base, blood gas and electrolyte status in horses. **Trakia Journal of Sciences**, v.9, n.3, p. 63-67, 2011.
15. HOBO, S.; KUWANO, A.; OIKAWA, M. Respiratory changes in horses during automobile transportation. **Journal Equine Science**, v. 6, n. 4, p. 135-139, 1995.
16. HOFFMANN, W.E.; SOLTER, P.F. Diagnostic enzymology of domestic animals. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. San Diego: Academic Press, 2008, p. 351-378.
17. IRVINE, C.H.G.; ALEXANDER, S.L. Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 11, n.2, p. 227-238, 1994.

19. JONES, W. E. Transporting horses: Minimizing the stress. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 23, n. 12, p. 543-545, 2003.
20. KENTUCKY EQUINE RESEARCH. **Lower critical temperature for horses**. EquineNews. 2011. Disponível em: <http://www.equinews.com/article/lower-critical-temperature-for-horses>. Acesso em: 05/02/2014.
21. 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.
22. MARTINSON, K.; HATHAWAY, M.; WARD, C.; JOHNSON, R. **Managing horses during hot weather**. University of Minnesota, 2013. Disponível em: <http://www.extension.umn.edu/agriculture/horse/care/managing-horses-during-hot-weather/>. Acesso em: 05/02/2014.
23. MASMANN, R. A.; WOODIE, B. Equine transportation problems and some preventives: a review. **Proceedings of the 2nd International Conference on Equine Rescue**, v.15, n.4, p. 141-143, 1995.
24. MEDICA, P.; GIACOPPO, E.; FAZIO, E.; AVENI, F.; PELIZZOTTO, R.; FERLAZZO, A. Cortisol and haematochemical variables of horses during a two day trekking event: effects of preliminary transport. **Equine Veterinary Journal**, v.42, p.167-170, 2010.
25. MIRANDA, L. R.; MUNDIM, A. V.; SAQUY, A. C. S.; COSTA, A. S.; GUIMARÃES, E. C.; GONÇALVES, F. C.; SILVA, F. O. C. Perfil hematológico de equinos submetidos a prova de teampenning. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 81 – 86, 2011.

26. NIEDZWIEDZ, A.; ZAWADZKI, M.; FILIPOWSKI, H.; NICPON, J. Influence of 8 hour road transportation on selected physiological parameters in horses. **Bull Veterinary Institute Pulawy**, v. 56, p. 193-197, 2012.
27. OIKAWA, M.; TAKAGI, S.; YASHIKI, K. Some aspects of the stress responses to road transport in thoroughbred horses with special reference to shipping fever. **Journal Equine Science**, v.15, n.4, p.99-102, 2004.
28. OIKAWA, M.; HOBBO, 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.
29. 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.
30. PAES, P. R. O.; GONÇALVES, R. C.; BARIOINI, G.; LEME, F. O. P.; MELO, M. M.; CRUZ, M. L. O leucograma como indicador de estresse no desmame e no transporte rodoviário de bovinos da raça nelore. **Semina**, v. 33, n. 1, p. 305 – 312, 2012.
31. RAIDAL, S.L.; BAILEY, G.B.; LOVE, D.N. Effect of transportation on lower respiratory tract contamination and peripheral blood neutrophil function. **Australian Veterinary Journal**, v.75, n.6, p.433-438, 1997.
32. SALES, J.V.F.; DUMONT, C.B.S.; LEITE, C.R.; MORAES, J.M.M.; GODOY, R.F.; LIMA, E.M.M. Expressão do Mg^{+2} , CK, AST e LDH em equinos finalistas de provas de enduro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n.1, p. 105-110, 2013.
33. SCHIMDT, A.; BIAU, S.; MÖSTL, E.; BECKER-BIRCK, M.; MORILLON, B.; AURICH.; FAURE, J.M.; AURICH, C. Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 38, p. 179-189, 2010.

34. SMITH, B.L.; JONES, J.H.; HORNOF, W.J.; MILES, J.A.; LONGWORTH KIM, E.; WILLITS, N.H. Effects of road transport on indices of stress in horses. **Equine Veterinary Journal**, v.28, n.6, p.446-454, 1996.
35. STULL, C. **Physiology, balance and management of horses during transportation**. Agriculture and Rural Development, 1997. Disponível em: [http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/hrs3812](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/hrs3812). Acesso em: 05/02/2014.
36. 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.
37. STULL, C.L.; MORROW, J.; ALDRIDGE, B.A.; STOTT, J.L.; McGLONE, J.J. Immunophysiological responses of horses to a 12 hour rest during 24 hours of road transport. **The Veterinary Record**, n.162, p. 509-514, 2008.
38. 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.
39. THOMASSIAN, A.; CARVALHO, F.; WATANABE, M.J., SILVEIRA, V.F.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J.L.M. Atividade sérica da aspartatoaminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brasilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 44, n.3, p. 183-190, 2007.
40. TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária: Uma introdução**. 6ed. São Paulo: Roca, 2006, p. 201-213.
41. Van GALEN, G.; CERRI, S.; PORTER, S.; SAEGERMAN, C.; LEFERE, L.; ROSCHER, K.; MARR, C.; AMORY, H.; VOTION, D.M. Traditional and quantitative assessment of acid-basic and shock variables in horses with atypical myopathy. **Journal Veterinary International Medicine**, v.27, p. 186-193, 2013.

42. 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.