MIRIAM BORDINHÃO COMIS

INFLUÊNCIA DO TEMPO E TEMPERATURA SOBRE A ESTABILIDADE DE CONSTITUINTES DO SORO E PLASMA SANGÜÍNEOS DE EQÜINOS MANGALARGA MARCHADOR

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do Título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da Biblioteca Central da UFV

T
C733i
2006

Comis, Miriam Bordinhão, 1979-
Influência do tempo e temperatura sobre a estabilidade de constituintes do soro e plasma sangüíneos de eqüinos Mangalarga marchador / Miriam Bordinhão Comis. – Viçosa : UFV, 2006.
xxiv, 111f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.
Orientador: José Dantas Ribeiro Filho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 85-105.

1. Plasma sangüíneo - Análise. 2. Soro sangüíneo - Análise. 3. Sangue - Composição. 4. Eqüinos. 5. Mangalarga (Cavalo). I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 636.10892115

MIRIAM BORDINHÃO COMIS

INFLUÊNCIA DO TEMPO E TEMPERATURA SOBRE A ESTABILIDADE DE CONSTITUINTES DO SORO E PLASMA SANGÜÍNEOS DE EQÜINOS MANGALARGA MARCHADOR

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de "Magister Scientiae".

APROVADA: 31 de julho de 2006

Prof. Cláudio Lísias Mafra de Siqueira
(Co-orientador)

Profa. Maria Verônica de Souza
(Co-orientadora)

Profa. Tânia Toledo de Oliveira

Profa. Fabíola de Oliveira Paes Leme

Prof. José Dantas Ribeiro Filho
(Orientador)

Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas.

Saint-Exupéry

Aos meus pais, Antonio Alvenir e Maria Elena.

Aos meus irmãos, Antonio Alvenir Júnior e Giovani.

Às minhas cunhadas, Adriana e Cassyana.

Aos meus sobrinhos, Antonio Alvenir Neto, Miguel Augusto, Mayara e Heitor.

A todos que tornaram possível a realização do meu sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sem dúvida a grande certeza da minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Medicina Veterinária, por possibilitar meu aprendizado.

À minha família maravilhosa, que me apoiou e apóia em todas as etapas da minha vida, motivo de orgulho, sempre.

Ao meu orientador, professor José Dantas Ribeiro Filho, pelos ensinamentos e conselhos.

Aos meus co-orientadores, professora Maria Verônica de Souza e professor Cláudio Lisias Mafra de Siqueira, pelos conselhos e pela amizade.

Aos professores Nairan Félix de Barros e Tânia Toledo de Oliveira, pela permissão e confiança para utilizar os laboratórios durante a fase experimental.

Ao professor Paulo Roberto Cecon, pela ajuda na elaboração do delineamento experimental.

Aos professores do Departamento de Veterinária, que durante todo nosso convívio sempre estiveram com as portas abertas para me receber.

Ao Rafael Guedes Guoretti, por ter disponibilizado os animais para a coleta de material dos eqüinos pertencentes ao Haras Três Corações.

Aos eqüinos, que suportaram tudo, sem entender nada.

À Quibasa Química Básica, pela doação dos reagentes para realização do experimento.

À Katal Biotenológica Ind. Com. Ltda., na pessoa da Srª Valéria, pelos reagentes para análise de lactato-plasmático.

Ao Douglas Pina, pelo grande auxílio na elaboração da análise estatística.

Aos amigos especiais, Edvarson, Marielle, André, Aline, Antonio Augusto, Luciana e Natércia, que apesar da distância sempre estiveram presentes de coração.

Às minhas irmãs de coração, Lucenira, Maria Carolina, Morgana e Melissa.

Ao José de Oliveira, pela sua amizade e por estar sempre disposto a ajudar.

Aos colegas que me ajudaram na realização do experimento, Carlos, Fabrício, Marcos, Angélica, Telma, José Maria, Eduardo e Paulo Ricardo.

Aos meus amigos Silvia, Suzana, Kátia, Douglas, Gabriel, Francisco, Janice, Edílson, Flavio, Miller, Fabiana, Sidimar, Antônio Marcos, André, Daniel e Andréia.

Aos colegas de pós-graduação, pela convivência e pelo auxílio nos momentos importantes.

A todos meus amigos que tornaram possível e agradável minha vida durante o mestrado.

Ao funcionário José Geraldo Pinto, que tornou possível o trabalho técnico.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, mas que porventura deixaram de ser citados.

BIOGRAFIA

MIRIAM BORDINHÃO COMIS, filha de Antonio Alvenir Comis e Maria Elena Bordinhão Comis, nasceu em 17 de junho de 1979, na cidade de Uruguaiana, Rio Grande do Sul.

No período de 1997 a 2001, cursou Medicina Veterinária na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS), Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia – *Campus* de Uruguaiana.

No período de 2002 a 2003, cursou especialização em "Clínica e Cirurgia Veterinárias" no Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

No período de 2004 a 2006, cursou o Programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, subárea Clínica de Grandes Animais, no Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

CONTEÚDO

Página

LISTA DE TABELAS x
LISTA DE FIGURAS xvi
LISTA DE ABREVIATURAS xx
RESUMO xxi
ABSTRACT xxiii
1. INTRODUÇÃO 1
2. REVISÃO DE LITERATURA 4

2.1. Plasma 4
2.2. Soro 4
2.3. Proteínas 5

2.3.1. Proteínas plasmáticas totais – PPT 5
2.3.2. Albumina 6
2.3.3. Fibrinogênio 6

2.4. Eletrólitos 7

2.4.1. Sódio – Na^+ 8
2.4.2. Potássio – K^+ 9
2.4.3. Cloreto – Cl^- 9

2.5. Metabolismo dos carboidratos 10

2.5.1. Glicose 10

2.6. Ácido lático 12

2.6.1. Lactato 12

Página

2.7. Bilirrubina 13

2.7.1. Bilirrubina total 13

2.8. Magnésio – Mg^{+2} 15

2.9. Substâncias nitrogenadas 15

2.9.1. Uréia 15
2.9.2. Creatinina 16

2.10. Enzimas 17

2.10.1. Fosfatase alcalina – FA 18
2.10.2. Gama-glutamil-transferase – GGT 19
2.10.3. Aspartato aminotransferase – AST 19
2.10.4. Creatinina quinase – CK 20
2.10.5. Lactato desidrogenase – LDH 22

2.11. Fisiologia do exercício 22

3. MATERIAL E MÉTODOS 27

3.1. Material e métodos 27

3.1.1. Eqüinos 27
3.1.2. Manejo alimentar 27
3.1.3. Exame físico 28
3.1.4. Hemograma e determinação do fibrinogênio plasmático ... 28
3.1.5. Local 28
3.1.6. Distribuição dos grupos experimentais 29
3.1.7. Tempos de avaliação das análises laboratoriais 29
3.1.8. Coleta das amostras 30
3.1.9. Avaliação laboratorial 31
3.1.10. Mensuração dos constituintes 31
3.1.11. Análise dos dados 32

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 33

4.1. Influência do tempo e da temperatura sobre a estabilidade de constituintes do soro e plasma sangüíneos de eqüinos mangalarga marchador: proteínas plasmáticas totais, albumina, fibrinogênio, sódio, potássio e cloreto 33

4.1.1. Resultados 33
4.1.2. Discussão 46

4.1.2.1. Proteínas plasmáticas totais – PPT 46

Página

4.1.2.2. Albumina 47
4.1.2.3. Fibrinogênio 48
4.1.2.4. Sódio – Na^+ 48
4.1.2.5. Potássio – K^+ 49
4.1.2.6. Cloreto – Cl 49

4.2. Influência do tempo e da temperatura sobre a estabilidade de constituintes o soro e plasma sangüíneos de eqüinos mangalarga marchador: glicose, lactato, bilirrubina total, magnésio, uréia e creatinina 50

4.2.1. Resultados 50
4.2.2. Discussão 63

4.2.2.1. Glicose 63
4.2.2.2. Lactato 64
4.2.2.3. Bilirrubina total 65
4.2.2.4. Magnésio – Mg 66
4.2.2.5. Uréia 66
4.2.2.6. Creatinina 68

4.3. Influência do tempo e da temperatura sobre a estabilidade das enzimas do soro sangüíneo de eqüinos mangalarga marchador: fosfatase alcalina, gama-glutamil-transferase, aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase 69

4.3.1. Resultados 69
4.3.2. Discussão 80

4.3.2.1. Fosfatase alcalina – FA 80
4.3.2.2. Gama-glutamiltransferase – GGT 80
4.3.2.3. Aspartato aminotransferase – AST 81
4.3.2.4. Creatinina quinase – CK 82
4.3.2.5. Lactato desidrogenase – LDH 83

5. CONCLUSÕES 85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 87
APÊNDICE 106

LISTA DE TABELAS

		Página
1	Distribuição dos grupos experimentais	29
2	Tempos de avaliação das análises laboratoriais das amostras mantidas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) ..	29
3	Tempos de avaliação das análises laboratoriais das amostras refrigeradas a 5°C	30
4	Tempos de avaliação das análises laboratoriais das amostras congeladas a -20°C	30
5	Tempos de avaliação das análises laboratoriais das amostras congeladas a -76°C	30
6	Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)	34
7	Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C).....	34
8	Valores médios da PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C	34
9	Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)	36

Página

10 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 36

11 Valores médios da albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 36

12 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)..... 38

13 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração (5°C)..... 38

14 Valores médios do fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 38

15 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) 40

16 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 40

17 Valores médios do sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 40

18 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do potássio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) 42

19 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do potássio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração (5°C)..... 42

20 Valores médios do potássio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 42

Página

21 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) 44

22 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 44

23 Valores médios do cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 44

24 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)..... 51

25 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 51

26 Valores médios da glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 51

27 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)..... 53

28 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 53

29 Valores médios do lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 53

30 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da bilirrubina total sérica (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) 55

31 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da bilirrubina total sérica (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 55

Página

32 Valores médios da bilirrubina total sérica (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 55

33 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do magnésio sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) 57

34 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do magnésio sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 57

35 Valores médios do magnésio sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 57

36 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) 59

37 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 59

38 Valores médios e coeficiente de variação da uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 59

39 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) 61

40 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 61

41 Valores médios da creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 61

42 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte FA sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) 70

Página

43 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte FA sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 70

44 Valores médios do constituinte FA sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 70

45 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)..... 72

46 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 72

47 Valores médios do constituinte GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 72

48 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)..... 74

49 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 74

50 Valores médios do constituinte AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 74

51 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)..... 76

52 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 76

53 Valores médios do constituinte CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 76

Página

54 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte LDH sérico (U/L) de soro sangüíneo de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) 78

55 Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C) 78

56 Valores médios do constituinte LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C 79

LISTA DE FIGURAS

Página

1 Valores das PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas 35

2 Valores das PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 35

3 Valores das PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias 35

4 Valores de albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas..... 37

5 Valores de albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 37

6 Valores de albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 37

7 Valores de fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas 39

8 Valores de fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C por 30 dias..... 39

Página

9 Valores de fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias. 39

10 Valores de sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) por 48 horas 41

11 Valores de sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C por 30 dias..... 41

12 Valores de sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 41

13 Valores de K sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas..... 43

14 Valores de K sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 43

15 Valores de K sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 43

16 Valores de cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas..... 45

17 Valores de cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 45

18 Valores de cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 45

19 Valores de glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas 52

20 Valores de glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 52

21 Valores de glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 52

22 Valores de lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas 54

Página

23 Valores de lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 54

24 Valores de lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias 54

25 Valores de bilirrubina total sérico (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas 56

26 Valores de bilirrubina total sérico (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 56

27 Valores de bilirrubina total sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 56

28 Valores de Mg sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas..... 58

29 Valores de Mg sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 58

30 Valores de Mg sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 58

31 Valores de uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas..... 60

32 Valores de uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 60

33 Valores de uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas -20 e -76°C, por 180 dias 60

34 Valores de creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas 62

35 Valores de creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias..... 62

36 Valores de creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20°C e -76°C, por 180 dias 62

Página

37 Valores de FA sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6ºC a 29,6°C), por 48 horas 71

38 Valores de FA sérica (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 71

39 Valores de FA sérica (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 71

40 Valores de GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas..... 73

41 Valores de GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 73

42 Valores de GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a-20 e -76°C, por 180 dias..... 73

43 Valores de AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas..... 75

44 Valores de AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 75

45 Valores de AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20°C e -76°C, por 180 dias 75

46 Valores de CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas..... 77

47 Valores de CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 77

48 Valores de CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 77

49 Valores de LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas..... 79

50 Valores de LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias 79

51 Valores de LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias..... 79

LISTA DE ABREVIATURAS

^{o}C	Temperatura grau Celsius
ALT	Alamina amino transferase
AST	Aspartato amino trasferase
CK	Creatina quinase
Cl	Cloreto
EDTA	Ácido etileno diamino tetracetato
FA	Fosfatase alcalina
g	Gramas
GGT	Gama-glutamil-transferase
H^{l}	Hidrogênio com íons livres
kg	Quilograma
LDH	Lactato desidrogenase
Mg	Magnésio
mg	Miligrama
mL	Mililitros
MM	Mangalarga Marchador
mmol/L	Milimolar por litro
PPT	Proteínas plasmáticas totais

RESUMO

COMIS, Miriam Bordinhão, M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2006. **Influência do tempo e temperatura sobre a estabilidade de constituintes do soro e plasma sangüíneos de eqüinos Mangalarga Marchador**. Orientador: José Dantas Ribeiro Filho. Co-Orientadores: Maria Verônica de Souza e Cláudio Lisias Mafra de Siqueira.

O estudo da influência do tempo e da temperatura sobre a estabilidade dos constituintes do soro e do plasma sangüíneos tem merecido destaque nas pesquisas, devido à sua importância no diagnóstico e prognóstico de diversas enfermidades, bem como ao número limitado de estudos que envolvem esses efeitos sobre os constituintes bioquímicos de eqüinos. Procurou-se verificar possíveis alterações nos constituintes do soro e do plasma sangüíneos de dez eqüinos Mangalarga Marchador, adultos e clinicamente sadios. As amostras foram submetidas aos seguintes métodos de armazenamento: temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), refrigeração a 5°C e congelamento a -20 e -76°C. As análises laboratoriais foram realizadas em 11 tempos, ou seja, tempo zero imediatamente após a coleta, 12, 24, 36, 48 horas após e 7, 15, 30, 60, 90 e 180 dias após a obtenção das amostras. Foram determinados os valores de albumina, sódio, potássio, cloreto (Cl), magnésio (Mg), bilirrubina total, creatinina, uréia, fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil-transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), proteínas

plasmáticas totais (PPT), fibrinogênio, glicose e lactato. Nas amostras mantidas sob temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), houve diminuição nos valores da albumina (12, 24 e 36 horas), lactato (48 horas) e FA (48 horas) e aumento nos valores do fibrinogênio (12, 24 e 36 horas) e sódio (36 e 48 horas). Nas amostras refrigeradas a 5°C, os valores da albumina (7 e 15 dias), do potássio (15 e 30 dias), do AST (15, 30 dias) e da LDH (15 e 30 dias) diminuíram e houve aumento na concentração da bilirrubina total (30 dias) e uréia (30 dias). As amostras congeladas a -20 °C apresentaram diminuição nos valores dos constituintes: PPT (60 e 90 dias), Cl (90 dias), FA (90 e 180 dias) e LDH (90 e 180 dias) e aumento das PPT (30 dias), Cl (30 dias) e creatinina (90 dias). Nas amostras congeladas a -76°C os valores da albumina (180 dias), Cl (90 dias), creatinina (180 dias) e FA (90 e 180 dias) diminuíram e houve aumento das PPT (30 e 60 dias), Cl (30 dias) e FA (60 dias). Ocorreram alterações significativas nos constituintes sangüíneos em todos os tempos e temperaturas estudados, com exceção da glicose, do magnésio, da GGT e da CK. Apesar das alterações observadas, ocorreu predomínio na estabilidade das variáveis durante toda a fase experimental, o que permite concluir que cada constituinte tem o seu tempo e a sua temperatura ideais de armazenagem.

ABSTRACT

COMIS, Miriam Bordinhão, M.S., Universidade Federal de Viçosa, July 2006. **Influences of time and temperature on stability of serum and plasma constituents of Mangalarga Marchador horses**. Adviser: José Dantas Ribeiro Filho. Co-Advisers: Maria Verônica de Souza and Cláudio Lisias Mafra de Siqueira.

The study of time and temperature influences on stability of serum and plasma constituents has deserved prominence on research due its great importance as source of diagnosis and prognosis of several diseases, as well due to a limited number of studies involving these effects on biochemical constituents of horses. Possible alterations on the activity of serum and plasma constituents were verified on 10 adults and clinically healthy MM horses (Mangalarga Marchador). Samples were submitted to the following storage methods: room temperature (16.6 to 29.6°C), cooling (5°C) and freezing (-20°C and -76 °C. Laboratorial analysis were performed in 11 different times: time zero immediately after sample collection, 12, 24, 36, 48 hours after; and 7, 15, 30, 60, 90 and 180 days after collection of samples. The constituents determined were albumin, sodium, potassium, chloride (Cl), creatinine, urea, total bilirubin, magnesium, alkaline fosfatase (FA), gamma-glutamyl transferase (GGT), aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), total plasma protein (PPT), fibrinogen, glucose and lactate. Results obtained on samples at room

temperature (16.6 to 29.6°C) revealed a decrease on values found in the following blood constituents: albumin (12, 24 and 36 hours), lactate (48 hours) and FA (48 hours), in the same group it had increased values on fibrinogen (12, 24 and 36 hours) and sodium (36 hours). Samples at cooling (5°C) presented decreased values on albumin (7 and 15 days), potassium (15 and 30 days), AST (15 and 30 days) and LDH (15 and 30 days), and increased values on total bilirubin (30 days) and urea (30 days). Samples freezed at -20 °C showed decreased values on the following constituents: PPT (60 and 90 days), Cl (90 days), FA (90 and 180 days) and LDH (90 and 180 days); and increased values on PPT (30 days), Cl (30 days) and creatinine (90 days). Samples freezed at -76°C presented decreased values of albumin (180 days), Cl (90 days), creatinine (180 days) and FA (90 and 180 days); increased values of PPT (30 and 60 days), Cl (30 days) and FA (60 days). Significative alterations occurred on the blood constituents studied at all times and temperatures with exception of glucose, magnesium, GGT and CK. Despite the observed alterations, stability of the variables prevailed during all experimental period, assenting the conclusion that each constituent has its proper time and temperature for storage.

INTRODUÇÃO

Os exames bioquímicos, realizados com amostras de plasma e soro sangüíneos, são importantes ferramentas para o auxílio ao diagnóstico de diversas enfermidades que acometem os animais domésticos (DORETTO, 1996; KANEKO, 1997). O perfil bioquímico funciona como indicador dos processos adaptativos do organismo, no metabolismo energético, protéico e mineral, além de oferecer indicativos na interpretação do funcionamento hepático, renal, pancreático, ósseo, muscular, cardíaco, do sistema nervoso central e do trato gastrintestinal (GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

O conhecimento das concentrações fisiológicas dos constituintes bioquímicos dos eqüídeos nas suas diferentes fases da vida constitui a base para a avaliação das alterações patológicas nos quadros mórbidos, facilitando o diagnóstico das enfermidades (SCHALM *et al*., 1975; HARVEY *et al*., 1984). Nos estados patológicos esses valores sangüíneos normais podem sofrer alterações, que, de modo geral, nem sempre são características de determinada doença, mas, em certos casos, podem ser específicas e, portanto, fornecer preciosos elementos de diagnóstico. Essas alterações às vezes aparecem antes dos primeiros sinais clínicos, permitindo assim a identificação precoce da doença ou de sua forma subclínica (MESSER, 1995).

Vários são os elementos sangüíneos cujas dosagens permitem avaliar o estado de sanidade dos animais. A uréia e a creatinina permitem avaliar a

função renal (CARLSON, 1993). A determinação da albumina sérica, das bilirrubinas e das enzimas AST, FA e, especialmente, GGT é importante no auxílio ao diagnóstico das hepatopatias, já que o fígado é um órgão difícil de ser avaliado pelo exame físico (PINSENT e EDDY, 2004). A verificação da atividade da CK permite avaliar a função muscular, enquanto a determinação das proteínas totais e da albumina pode auxiliar no diagnóstico de algumas disfunções nutricionais (DOXEY, 1985).

Os resultados dos exames laboratoriais podem sofrer alterações devido às variações pré-analíticas (idade, espécie, estresse, hidratação, dieta, estado reprodutivo, estase venosa, utilização de drogas, localização geográfica, coleta da amostra e sua manipulação) e analíticas, ou às variações biológicas normais em diferente conformidade com processos patofisiológicos (XIMENES *et al*., 1984; SARTOR *et al*., 1985; CARLSON, 1993; MEYER e HARVEY, 1998; ZHANG *et al*., 1998). Além dos fatores mencionados, devem ser também consideradas a dieta, a atividade física do animal e as características ambientais locais, como temperatura, altitude, solo e umidade do ar (MUNDIM *et al*., 2004). Para que as alterações patológicas sejam estabelecidas, as variações pré-analíticas e analíticas devem ser reduzidas a ponto de não influenciarem a interpretação dos resultados (ONO *et al*., 1981; LINDNER e BAUER, 1993; ZHANG *et al*., 1998).

Juul (1967) analisou amostras de soro de 18 humanos saudáveis e constatou que a atividade das enzimas transaminases e FA mantinha-se estável por oito dias, quando submetidas à temperatura de -20°C; porém, se mantidas a 38°C, perdiam rapidamente a estabilidade. Hanok e Kuo (1968) constataram que a albumina, bilirrubina, uréia, creatinina, FA e AST, dentre outros elementos, mantiveram seus níveis estáveis quando o soro foi armazenado a -15°C por três semanas ou a 10°C durante cinco dias.

Trabalhos relacionados com a conservação e a armazenagem de soro sangüíneo têm sido realizados, porém a maioria deles refere-se ao soro humano e de suínos (JUNG e LIESE, 1977; HAFKENSCHEID e KOHLER, 1986; JUNG e GRUTZMANN, 1987; REHAK e CHIANG, 1988; MAGNUSSON e HOLST, 1998).

Szenci *et al*. (1991) relataram que o armazenamento de amostras de soro sangüíneo à temperatura de 4°C, por mais de 48 horas, provocou diminuição significativa nos níveis de cálcio em eqüinos, bovinos, ovinos e caninos.

Amador e Wacker (1969), Schimdt e Schimdt (1976) e Kaneko *et al*. (1997) desenvolveram pesquisas relacionadas à enzimologia sérica e analisaram o efeito da temperatura de armazenamento sobre a estabilidade enzimática, verificando que algumas enzimas, como a LDH, são sensíveis à alteração térmica. Jones (1985a) confirmou que as condições de coleta e armazenamento do soro têm influência alta e significativa nas atividades enzimáticas em bovino.

A necessidade de processar a amostra em menor tempo possível, desde a sua coleta (HASKINS, 1977; COLES, 1984), impõe-se, entretanto, como um sério fator de limitação, particularmente para o profissional que milita no campo.

A manutenção das amostras de sangue sob conservação a baixas temperaturas tem sido objetivo de interesse e investigações científicas nas espécies eqüina (ASSAL e POULSEN, 1978; SZENCI *et al*., 1991; LISBÔA *et al*., 2001), bovina (JAGOS *et al*., 1977; POULSEN e SURYNEK, 1977; SZENCI e BESSER, 1990; SZENCI *et al*., 1991), canina (HASKINS, 1977; ASSAL *et al*., 1978) e suína (ASSAL *et al*., 1980).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tempo e da temperatura de armazenamento sobre os constituintes séricos e plasmáticos sangüíneos: proteínas plasmáticas totais, albumina, fibrinogênio, sódio, K, cloreto, glicose, lactato, bilirrubina total, Mg, creatinina, uréia, FA, GGT, AST, CK e LDH de eqüinos Mangalarga Marchador, submetidos ao treinamento para prova de marcha, clinicamente sadios.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Plasma

Aproximadamente 60 a 70% do peso corporal dos eqüinos é constituído por água (JOHNSON, 1995; STEWART, 1998), estando esta dividida nos compartimentos intra e extracelular (FREESTONE, 1993; STEWART, 1998). O fluido intracelular representa aproximadamente 40% do peso vivo, enquanto o extracelular representa cerca de 20 a 30% (FREESTONE, 1993; STEWART, 1998) e pode ser subdividido em plasma, fluido intersticial e transcelular (STEWART, 1998).

O plasma corresponde a 55 e 70% do sangue total. Além da água, seu maior constituinte, o plasma contém gases, minerais e uma variedade de constituintes orgânicos, nitrogenados ou não, como também enzimas, hormônios, vitaminas e seus derivados coenzimáticos, metabólitos variados e produtos do metabolismo da detoxicação (BACILA, 2003).

2.2. Soro

A diferença analítica entre soro e plasma é que o primeiro não contém fibrinogênio, que é utilizado para formação do coágulo. O soro é obtido a partir de sangue coletado sem anticoagulantes e pode ser utilizado para as dosagens bioquímicas. No caso de utilização do soro, é necessário um

período de 30 a 180 minutos para a formação do coágulo e a sua completa obtenção (BLOOD e STUDDERT, 2002; GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

Quando uma amostra de soro é submetida à análise, uma série de fatores pode levar a resultados pouco acurados. Soros hemolisados ou lipêmicos não são ideais para a realização de dosagens bioquímicas, e os resultados obtidos podem variar muito em relação ao método ou à aparelhagem utilizada e em relação aos parâmetros normais (O'NEILL e FELDMAN, 1989).

2.3. Proteínas

2.3.1. Proteínas plasmáticas totais – PPT

As proteínas podem ser divididas em duas grandes classes, com base em sua forma e em certas características físicas: proteínas globulares e fibrosas. Quase todas as enzimas são proteínas globulares, como também o são as proteínas sangüíneas de transportes, os anticorpos e as proteínas de reserva nutritiva (LEHNINGER, 1995).

As proteínas plasmáticas são constituídas de polímeros a partir de 22 aminoácidos conectados linearmente por ligações peptídicas em combinações diferenciadas, apresentando funções específicas ao tecido de sua síntese (SWENSON e REECE, 1996).

De acordo com Coles (1984), o principal local de síntese de proteínas plasmáticas – albumina, fibrinogênio, protrombina, alfa e beta-globulinas – é o fígado. Em geral, o soro sangüíneo contém cerca de 7,0 g/dL de proteínas. As funções das proteínas no organismo são inúmeras: manutenção da pressão osmótica, catálise de reações bioquímicas, manutenção do equilíbrio ácido-base, coagulação sangüínea, nutrição e defesa do organismo (KANEKO *et al*., 1997).

Evidências afirmam que as proteínas globulares sofrem desnaturação quando aquecidas, expostas a valores extremos de pH, ou tratadas com uréia (LEHNINGER, 1995). Uma vez que ocorre desnaturação, as atividades protéicas são afetadas, de modo irreversível (KANEKO *et al*., 1997).

O decréscimo na concentração das proteínas plasmáticas deve-se a vários fatores: quantidade insuficiente na dieta, má absorção protéica, deficiência na síntese de albumina pelo fígado e evasão da albumina para o espaço tecidual (COLES, 1984).

Somente a determinação da proteína total não reflete com precisão o estado do metabolismo protéico, sendo de particular importância a determinação da albumina e da globulina (COLES, 1984).

2.3.2. Albumina

A albumina é uma proteína globular hidrossolúvel e constitui 35 – 50% do total das proteínas séricas. É sintetizada no fígado, pelos hepatócitos, e catabolizada nos tecidos periféricos, sendo a principal responsável pela manutenção da pressão osmótica intravascular. Dois terços da albumina corporal estão no compartimento extravascular e apenas um terço, no intravascular (FENNER, 2003).

Giorgetti *et al.* (1989) analisaram as concentrações de elementos séricos de bovinos e ovinos, dentre eles albumina, proteínas totais e uréia, em soro a fresco, e após a estocagem por 30 a 60 dias à temperatura de -20°C constataram diferenças significativas nas concentrações: o teor de proteínas totais foi menor que o valor de referência das espécies estudadas, em relação aos métodos de conservação utilizados.

2.3.3. Fibrinogênio

O fibrinogênio, também considerado como uma globulina devido às suas características de solubilidade atua principalmente no processo de coagulação sangüínea. Desempenha, ainda, um papel importante na defesa do organismo, por desencadear os fatores de coagulação em cadeia inflamatória, ao ser transportado para o espaço extravascular (COLES, 1984).

A concentração de fibrinogênio plasmático é um indicador não-específico de diagnóstico e prognóstico de processos inflamatórios em eqüinos (CAMPBELL *et al*., 1981; YOUNG *et al*., 1991). Sua concentração

pode aumentar após um ou dois dias do aparecimento do processo inflamatório; valores de 500 a 600 mg/dL podem representar a fase precoce da enfermidade (JAIN, 1993; LASSEN e SWARDSON, 1995).

Schalm (1979) relatou que os valores de fibrinogênio nos eqüinos têm a mesma importância que o número de leucócitos na interpretação do processo inflamatório, pois segundo Campbell *et al*. (1981), Young *et al*. (1991), Cowell e Tyler (2002) e Thrall *et al*. (2004) elevações são expressões sensíveis da ocorrência de agressão tecidual e podem revelar alterações dissociadas de participação infecciosa.

A dosagem do fibrinogênio é muito útil no acompanhamento de infecções, uma vez que é mais confiável que o número de leucócitos, pois estes sofrem oscilações diárias, enquanto o fibrinogênio é mais estável (GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

2.4. Eletrólitos

Um eletrólito é uma substância permutável que se dissocia em partículas permutáveis ou íons em solução (STEWART, 1998). Pode ser dividido em cátions (carga positiva) e ânions (carga negativa), e deve estar em equivalência para manutenção da eletroneutralidade dentro do organismo (STEWART, 1983; DIVERS *et al*., 1986).

A principal função dos eletrólitos no organismo animal é a manutenção das forças osmóticas, o que possibilita o equilíbrio de líquidos entre os compartimentos intra e extracelulares (TEIXEIRA-NETO *et al*., 2004).

Cada compartimento, intra e extracelular, contém um soluto principal, sendo este responsável pela manutenção da osmolalidade nesse espaço. A osmolalidade se traduz pela quantidade total de partículas dissolvidas em uma solução (BROWNLOW e HUTCHINS, 1982). O sódio e o potássio são os principais solutos extra e intracelular, respectivamente (JOHNSON, 1995).

Essa diferença de constituição entre o espaço intra e o extracelular é mantida pela permeabilidade seletiva da membrana celular e pela atividade da bomba de sódio-potássio (BENESI e KOGIKA, 1999), que promovem um

constante movimento de água entre esses compartimentos, devido ao gradiente osmótico estabelecido entre os dois lados da membrana celular (ROSE, 1981; DEARO, 2001). A pressão osmótica é a força motora que promove a movimentação da água entre os dois compartimentos, intra e extracelular, sendo esta movimentação totalmente passiva (TASKER, 1997; RANDALL *et al*., 2000; COSTA, 2003).

Na célula, os eletrólitos atuam na condução nervosa e despolarização de fibras musculares, tornando possível a contração muscular. A extensão na qual essas funções podem ser prejudicadas em um dado déficit de eletrólitos induzido pelo exercício e na qual a capacidade atlética pode ser reduzida permanece sem compreensão (TEIXEIRA-NETO *et al*., 2004).

A melhor informação sobre o grau de desidratação e a necessidade de reposição hidroeletrolítica é obtida por meio de exame físico (DE MORAIS e DI BARTOLA, 1993; FREESTONE, 1993; TAYLOR e HILLYER, 1997). Por meio do exame físico do animal, obtêm-se dados de freqüência cardíaca e respiratória (TAYLOR e HILLYER, 1997; ECKE *et al*., 1998; COLLATOS e MORRIS, 1999), coloração das mucosas, turgor da pele, tempo de enchimento capilar (FREESTONE, 1993; TAYLOR e HILLYER, 1997; ECKE *et al*., 1998; COLLATOS e MORRIS, 1999), distensibilidade da veia jugular, qualidade do pulso arterial (FREESTONE, 1993; TAYLOR e HILLYER, 1997), motilidade intestinal e temperatura corporal (TAYLOR e HILLYER, 1997; ECKE *et al*., 1998).

2.4.1. Sódio – Na^+

O íon sódio é o principal cátion do líquido extracelular e um importante componente do esqueleto. Cerca de 45% do depósito corporal de sódio é encontrado no líquido extracelular, 45% nos ossos e o restante no interior das células. As principais funções do íon sódio são: regulação da pressão osmótica de cristalóides, equilíbrio ácido-base, manutenção dos potenciais de membrana, transmissão de impulsos nervosos e processos de absorção de monossacarídeos, aminoácidos, pirimidinas e sais biliares (MICHELL, 1983; SWENSON e REECE, 1996).

A concentração plasmática de sódio reflete a razão entre a composição corporal total de sódio e a quantidade total de água. Logo, a determinação da concentração de sódio auxilia na avaliação do grau de hidratação dos eqüinos. A diminuição da concentração plasmática de sódio (hiponatremia) em eqüinos desidratados indica perda de fluido hipertônico, ou seja, que houve maior perda de sódio do que de água. Já o aumento nessa concentração (hipernatremia) caracteriza perda de fluido hipotônico, ou seja, água livre, provavelmente por privação de ingestão de água (STOCKHAM, 1995).

2.4.2. Potássio – K^+

O íon potássio é o principal cátion do líquido intracelular, e 89% do seu conteúdo corporal total está localizado dentro das células (MICHELL, 1983; SWENSON e REECE, 1996).

Os eqüinos apresentam valores elevados de K e a hipercalemia pode ocorrer devido à diminuição na secreção renal, por um deslocamento de K do meio intra para o extracelular (observado na acidemia), ou devido à coleta imprópria da amostra ou se esta se torna hemolisada. A hemólise *in vivo* geralmente não causa hipercalemia, a menos que haja diminuição acentuada da taxa de filtração glomerular (ROSE, 1981; DIVERS *et al*., 1986; STOCKHAM, 1995).

Já a diminuição da concentração de potássio (hipocalemia) é observada em enfermidades nas quais ele é excessivamente eliminado pelo organismo, como nos distúrbios renais e intestinais, ou por perda excessiva pelo suor. A hipocalemia também ocorre por seqüestro do potássio para o meio intracelular, observada na alcalose sangüínea ou alcalemia (ROSE, 1981; STOCKHAM, 1995).

2.4.3. Cloreto – Cl^-

O cloreto é o principal ânion do espaço extracelular, pois sua concentração plasmática possui uma estreita relação com as concentrações de sódio e bicarbonato (ROSE, 1981; TAYLOR e HILLYER, 1997). As

alterações nas concentrações de cloreto normalmente estão relacionadas a alterações de sódio e bicarbonato. Existe uma correlação negativa entre as concentrações de cloreto e bicarbonato e uma correlação positiva do sódio com o cloreto (LUNA, 1994), com a finalidade de se manter o equilíbrio de cargas elétricas dentro do organismo (ROSE, 1981; LUNA, 1994; TAYLOR e HILLYER, 1997).

Os íons sódio e cloreto são os principais responsáveis pela osmolalidade plasmática; como o cloreto não se liga ao íon hidrogênio em pH fisiológico, não atua como tampão. Para manter a neutralidade eletroquímica, o cloreto varia inversamente com o bicarbonato (MEYER e HARVEY, 1998).

O cloreto, juntamente com o sódio, é responsável pelo equilíbrio ácido-base e pela manutenção da pressão osmótica (GONZÁLEZ e SILVA, 2003). A hipercloremia é associada com a desidratação e com a acidose tubular renal, ao passo que a hipocloremia ocorre em acidose metabólica (MEYER e HARVEY, 1998).

Epstein (1984) estudou o efeito do anticoagulante e da armazenagem no plasma de eqüinos, por 24 horas a 18°C, nos seguintes constituintes sangüíneos: sódio, potássio e cloreto. Foram coletadas 20 amostras com heparina de lítio e EDTA sódico. As concentrações destes constituintes foram comparadas às 2 e 24 horas. Quanto à armazenagem de sangue total a 18°C por 24 horas, em EDTA sódico, houve aumento significativo no potássio e sódio plasmático, porém as razões para a baixa concentração de cloreto são desconhecidas. As concentrações plasmáticas dos íons sódio, potássio e cloreto em amostras de sangue total armazenadas a 4 e 16°C em heparina de lítio foram comparadas, e apenas o potássio mostrou-se elevado, quando armazenado a 4°C.

2.5. Metabolismo dos carboidratos

2.5.1. Glicose

A glicose é um monossacarídeo composto de seis átomos de carbono e pode ser considerado o mais abundante na natureza (LEHNINGER, 1995).

Esse monossacarídeo é a primeira fonte de energia para todas as células dos mamíferos (KLEIN *et al*., 2002), sendo o carboidrato característico do sangue e de outros líquidos tissulares (BEITZ, 1996). A glicose pode ser rapidamente mobilizada dos estoques de glicogênio quando ocorrem demandas súbitas de energia (LEHNINGER, 1986) e constitui a via final comum para o metabolismo de quase todos os carboidratos até as células teciduais (GUYTON e HALL, 2002).

O organismo precisa de glicose, para os tecidos a seguir: sistema nervoso, tecido adiposo, músculo, feto e glândula mamária (BERGMAN, 1996). A glicose no sangue e em determinados líquidos tissulares é removida por todas as células do organismo para produzir energia útil ou trifosfato de adenosina (ATP), sendo o único combustível consumido pelo sistema nervoso central, sob condições normais (CUNNINGHAM, 2004).

As análises da concentração plasmática de glicose fornecem indícios importantes sobre o metabolismo de carboidratos. Para análise de glicose plasmática, a técnica recomendada é a coleta de sangue em tubos estéreis a vácuo que contenham fluoreto de sódio e oxalato de potássio, pois ambos aditivos funcionam como anticoagulantes, de modo que o fluoreto de sódio também atua inibindo a glicólise nos eritrócitos (CASTELLINI *et al*., 1992).

A hiperglicemia pode ser causada por um desequilíbrio entre a liberação hepática da glicose e a absorção periférica do açúcar, ocorrendo provavelmente na *Diabetes Mellitus* (COLES, 1984), enquanto a hipoglicemia é mais comum em períodos de jejum prolongado (MEYER *et al*., 1995).

Para testar se as condições de armazenagem alteram os resultados de glicose e lactato de focas-elefante (*Mirounga angustirostris*), Castellini *et al*. (1992) utilizaram amostras plasmáticas que foram mantidas em temperatura ambiente (25°C) e no gelo a 4°C. Essas amostras foram processadas em tempos predeterminados, imediatamente após a coleta (tempo zero) e com 30, 90,180 e 360 minutos. As amostras de sangue do grupo-controle foram processadas no tempo zero, utilizando-se a heparina como anticoagulante, onde não foi observada alteração na concentração média de glicose. As concentrações de glicose nas amostras coletadas com fluoreto de sódio e oxalato de potássio foram significativamente menores

que os valores do controle. O sangue tratado com fluoreto/oxalato a aproximadamente 20°C apresentou um valor menor do que o das amostras com heparina no tempo zero. A concentração de glicose no sangue a 20°C diminuiu após 360 minutos.

Os resultados encontrados no trabalho de Castellini *et al*. (1992) indicam que o sangue coletado em tubos com heparina apresentou melhores resultados do que sangue colhido em tubos com fluoreto/oxalato, e como a glicólise não é significativa em plasma congelado, as amostras podiam ser congeladas para análise posterior.

2.6. Ácido láctico

2.6.1. Lactato

O lactato é um produto final do metabolismo dos carboidratos, sendo o produto final da glicose anaeróbica. Na presença suficiente de oxigênio e uma moderada taxa de glicólise, o piruvato entra no ciclo de Krebs, gerando CO_2 e H_2O. Quando o ácido pirúvico é produzido em uma quantidade maior que aquela que o organismo consegue utilizar, ou quando ocorre condição de anaerobiose, o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico (GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

Em condições normais, a maioria do lactato é produzida pelos eritrócitos, mas durante exercício ou atividade física intensa o músculo produz grandes quantidades de lactato, devido à condição de insuficiente oxigenação do músculo (GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

O lactato é produzido como resultado do trabalho muscular durante todo tipo de exercício, mas altas concentrações de lactato não são sempre resultado de alta intensidade de exercício. Uma vez que o aumento de sua concentração é decorrente da limitação da disponibilidade de oxigênio para a oxidação do piruvato no citosol, a relação entre a concentração de lactato e a velocidade de exercício ilustra a situação na qual há aumento exponencial de suas concentrações sangüíneas, quando a contribuição da energia aeróbica começa a ser insuficiente diante dos requerimentos energéticos totais. Como o aumento do lactato sangüíneo é decorrente

principalmente da sua difusão e, ou, do transporte ativo através da membrana citoplasmática das células musculares, mensurações de suas concentrações sangüíneas refletirão no lactato muscular (ERICKSON, 1996).

A intensa produção de lactato resulta na diminuição do pH sangüíneo, que pode limitar a capacidade para a atividade física, por interferir na atividade enzimática muscular (THOMASSIAN *et al*., 2005).

No que se refere ao condicionamento físico de cavalos de corrida, vários fatores contribuem para valores distintos de ácido láctico. Dentre esses podem-se citar a umidade do ar e a temperatura ambiente, as condições da corrida, o treinamento prévio, a idade do animal, a presença de claudicação, a capacidade genética, a administração de drogas, o erro laboratorial e a coleta inadequada das amostras (MILNE, 1982).

As condições que resultam no aumento do lactato plasmático são agrupadas em: transtornos do músculo esquelético, cardiomiopatias, *Diabetes Mellitus*, deficiência de tiamina, transtornos hepáticos, doença genética na qual ocorre falha nas enzimas responsáveis pela estocagem do glicogênio, toxemia da gestação, hipóxia, desidratação, choque, redução da pressão sangüínea e anemia, causando redução na capacidade de oxigenação (GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

Segundo Alves *et al*. (2005), a hipovolemia decorrente da desidratação induz à baixa perfusão tecidual, resultando em limitado fornecimento de oxigênio aos tecidos e diminuição na excreção de íons de H^+ pelos rins, aumentando, portanto, os valores de lactato.

2.7. Bilirrubina

2.7.1. Bilirrubina total

A bilirrubina é o principal pigmento biliar encontrado no soro dos animais domésticos (COLES, 1984). A maior parte da bilirrubina no plasma deriva da degradação dos eritrócitos senis pelo sistema reticuloendotelial, especialmente no baço. A hemoglobina liberada dos eritrócitos é convertida em globina e grupo heme. Após a extração da molécula de ferro, que fica

armazenada ou é reutilizada, o grupo heme é convertido em bilirrubina, também chamada de bilirrubina não-conjugada, bilirrubina livre ou indireta (EADES e BOUNOUW, 1997; GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

A bilirrubina livre não é solúvel em água e, portanto, não é filtrada pelos glomérulos renais, não sendo excretada pela urina. No fígado, a bilirrubina é desligada da albumina e conjugada com o ácido glicurônico, para formar bilirrubina conjugada. Esta é solúvel em água e secretada ativamente para os canalículos biliares menores e, posteriormente, excretada pela bile. No plasma, são observadas pequenas quantidades de bilirrubina conjugada, sendo a maior parte da bilirrubina plasmática do tipo livre (indireta) (EADES e BOUNOUW, 1997; GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

O aumento dos níveis plasmáticos de bilirrubina pode ser devido ao aumento da bilirrubina livre que ocorre na hemólise aguda grave, na absorção de um grande hematoma, na hemorragia interna massiva ou na transfusão de eritrócitos armazenados inadequadamente. O aumento da bilirrubina conjugada ocorre na perda da funcionalidade hepato-celular, devido a doença infecciosa, dano tóxico ou obstrução do trato biliar. O aumento simultâneo da bilirrubina livre e da conjugada ocorre na perda da funcionalidade hepato-celular, na obstrução do fluxo biliar ou após uma hemólise intravascular aguda grave (GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

Diminuições dos níveis plasmáticos de bilirrubina são observadas em doenças crônicas, principalmente as que cursam com diminuição da formação dos eritrócitos, causando anemia. Portanto, a hipobilirrubinemia é devido a anemias hipoproliferativas (arregenetativas) atribuídas a uma infecção ou inflamação crônica, à neoplasia maligna ou na última fase da enfermidade renal (GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

Nos eqüinos, um fenômeno fisiológico causa um problema na interpretação das bilirrubinas. A anorexia ou o jejum por 24 horas ou mais pode resultar em icterícia, que é causada, em parte, pelos metabólitos (como ácidos biliares), competindo com a bilirrubina pela demanda dos hepatócitos (KANEKO *et al*., 1997).

A bilirrubina é sensível à luz, e a exposição direta à luz solar por 1 hora pode reduzir o nível de bilirrubina de uma amostra em até 50%. As amostras para determinações de bilirrubina não ficam estáveis quando

armazenadas a 20°C, mas protegidas da luz podem ser armazenadas por duas semanas de 0 a 4°C e por até três meses a -20°C (HENDRIX, 2005).

2.8. Magnésio – Mg^{+2}

O magnésio, íon intracelular, exerce amplo papel no organismo animal, por ser ativador de muitas enzimas envolvidas em processos ligados ao metabolismo energético, ao metabolismo dos ácidos nucléicos e à biossíntese de proteínas, tendo importância também na contração muscular e na neurotransmissão. É particularmente necessário como catalisador para muitas reações enzimáticas intracelulares, sobretudo as relacionadas com o metabolismo dos carboidratos (GUYTON e HALL, 2002).

O aumento das concentrações extracelulares de magnésio deprime a atividade do sistema nervoso, bem como a contração do músculo esquelético (GUYTON e HALL, 2002). Segundo Ribeiro Filho (2003), a hipermagnesemia pode ocorrer devido à desidratação e ao desequilíbrio ácido-base. Já a hipomagnesemia é observada na acidose metabólica (ZALOGA *et al*., 1987).

2.9. Substâncias nitrogenadas

A avaliação da função renal geralmente é feita pela dosagem de uréia e creatinina (FINCO, 1997).

2.9.1. Uréia

A uréia é sintetizada no fígado e seu ciclo incorpora duas moléculas de amônia, cuja principal fonte provém do catabolismo protéico (FINCO, 1997). Sua dosagem deve ser realizada sempre que houver suspeita de redução do funcionamento renal (COLES, 1984).

As mudanças nas concentrações da uréia no sangue podem ocorrer devido à dieta do animal, às alterações no fígado e nas funções renais e à mudança na taxa do catabolismo da proteína (FINCO, 1997).

Na avaliação da uréia sérica em bovinos, Wittwer *et al*. (1986) verificaram estabilidade nos seus valores a 4 e 20°C por 72 horas e -25°C por um ano com o coágulo. Doretto (1996), também em bovinos, observou estabilidade nos níveis séricos de uréia por cinco dias a 25°C e por 90 dias a 5 e -20°C. Ahsan *et al*. (1995) declararam que a atividade sérica em camelos é estável por quatro dias a 23 a 25°C e por oito dias a 4 e -5°C.

Em eqüinos, Lindner (1991a, b) relatou instabilidade nos seus valores em temperatura ambiente (25°C) e de refrigeração (5°C). Thoresen *et al*. (1995) informaram que a uréia, em cães, sofre alterações quando acondicionada por 90 e 240 dias à temperatura de -20 e -70°C.

O método da urease foi empregado por todos os autores citados, exceto Doretto (1996), que aplicou o método da diacetil modificado.

2.9.2. Creatinina

A creatinina é uma substância nitrogenada não-protéica (FINCO, 1997), excretada pela filtração glomerular, e qualquer anormalidade que diminua a velocidade do fluxo urinário resulta na elevação da sua concentração sérica (COLES, 1984).

Na mensuração de creatinina em bovinos, Doretto (1996) verificou estabilidade por 30 dias a 25°C e por 90 dias quando armazenada a 5°C e -20°C. Ahsan *et al*. (1995) observaram estabilidade em soro de camelos quando armazenado por seis dias a 23 e a 25°C e por sete dias a 4 e -5°C.

Thoresen *et al*. (1992) relataram instabilidade em soro e plasma heparinizado de cães, quando armazenados com o coágulo, e estabilidade por três dias sem o coágulo a 4 e 20°C. Posteriormente, Thoresen *et al.* (1995) relataram instabilidade do soro e do plasma heparinizado durante o período de armazenagem de 90 e 240 dias, a -20 e -70°C.

A metodologia aplicada por esses autores foi a reação Jaffé (reação de teste qualitativo de presença de creatinina na urina), exceto Doretto (1996), que utilizou o método de Lustosa-Basques (método para a dosagem de creatinina).

Fernandes *et al.* (2001) estudaram a influência da temperatura e do tempo de armazenagem nas dosagens bioquímicas de uréia e creatinina no

soro e no plasma de cães. Nas amostras séricas, quando conservadas à temperatura ambiente (25°C), não houve alterações significativas nos valores de creatinina nos tempos 0, 2, 6, 12 e 24 horas. Quando refrigeradas nenhuma alteração significativa foi observada até 24 horas após a primeira análise, quando se utilizaram amostras de soro, porém quando este foi substituído pelo plasma alterações ocorreram a partir de 12 horas. Sob congelamento a -20°C, as avaliações séricas da creatinina foram diferentes do tempo zero de análise a partir de 30 dias, enquanto nas amostras plasmáticas as alterações significativas ocorreram a partir das 12 horas, sendo estas avaliadas por 60 dias.

2.10. Enzimas

Os estudos de enzimologia iniciaram-se em 1901, com Vitor Henri, e foram intensificados a partir de 1910, por Leonor Michaelis. Apenas em 1927 foi descrita a primeira enzima, a FA, por King e Armstrong. Na década de 1960 a enzimologia passou a ser usada no diagnóstico na Medicina Humana, e apenas na década de 1980 seu uso foi ampliado no diagnóstico na Medicina Veterinária (KANEKO *et al*., 1997).

A enzimologia clínica surge, então, como um meio de desenvolver e utilizar exames clínicos que ofereçam o máximo de informação com um mínimo de invasibilidade, auxiliando no diagnóstico de doenças, no prognóstico de quadros clínicos diversos e na avaliação do estado nutricional dos pacientes (SCHEFFER e GONZÁLEZ, 2005).

Estudos têm demonstrado alteração nas atividades séricas de AST (BLINCOE e MARBLE, 1985; HEINS *et al*., 1995; HANSEN e SHULTZ, 2001), ALT (TOLLERSRUD, 1969; WILLIAMS *et al*., 1987; SHULMAN *et al*., 1988; HANSEN e SHULTZ, 2001), FA, GGT, CK (JONES, 1985a, b; HEINS *et al*., 1995), LDH (TOLLERSRUD, 1969; LOHNI e THORNTON, 1977; HEINS *et al*., 1995), em amostras de soro mantidas em diferentes condições de tempo e temperatura de armazenagem.

A estabilidade dos constituintes séricos é de importância fundamental nas análises laboratoriais realizadas nos exames bioquímicos de rotina clínica e pesquisas relacionadas. Esse fato aplica-se principalmente durante

a avaliação da atividade enzimática, considerando-se que variações na temperatura de armazenagem podem alterar a velocidade da reação catalítica e promover a desnaturação das enzimas (KRAMER e HOFFMANN, 1997), já que algumas enzimas apresentam-se estáveis à temperatura ambiente (25°C), enquanto outras não (STOKKE, 1974; BECK e SAMMONS, 1975; ADAMS *et al*., 1985; KANEKO *et al*., 1997).

A refrigeração (5°C) e o congelamento (-20°C) preservam muitas enzimas, mas outras se deterioram, pois o congelamento (-20°C) causa formação de sais e liberação de alguns protímeros fracamente ligados (STOKKE, 1974; BECK e SAMMONS, 1975; ADAMS *et al*., 1985; KANEKO *et al*., 1997). No momento do descongelamento, os protímeros podem se reagregar aleatoriamente, alterando a configuração enzimática, e inativar ou diminuir a atividade enzimática (JONES, 1985a).

2.10.1. Fosfatase alcalina – FA

A FA é uma enzima membrana-associada, que está amplamente distribuída no organismo, sendo encontrada em altas concentrações nos ossos, na mucosa intestinal, nas células tubulares renais, no fígado e na placenta (COLES, 1984).

Segundo KANEKO *et al*. (1997), a FA hidrolisa vários tipos de ésteres de fosfato e catalisa a desfosforilação do ATP. Sua concentração enzimática pode ser mensurada diretamente como massa, ou indiretamente pela sua atividade. A configuração tridimensional da enzima é responsável por sua ação catalítica específica, e qualquer alteração na sua conformação, ocasionada por fatores como temperatura, pH, concentração de proteína e uréia, resulta em redução ou perda de sua atividade.

A elevada atividade sérica da FA geralmente tem origem hepatobiliar, com exceção dos animais em crescimento ou pacientes com doença óssea (MEYER *et al*., 1995; LIMA e SILVA, 2002). Sua atividade sérica também pode aumentar quando mantida à temperatura ambiente (25°C) por alguns dias (STOKKE, 1974; BECK e SAMMONS, 1975; ADAMS *et al*., 1985; KANEKO *et al*., 1997).

Baranow *et al*. (1988) estudaram alguns índices bioquímicos do soro de vacas e de seus bezerros, tanto em regime de confinamento quanto de semiconfinamento, e concluíram que a atividade da FA no grupo confinado foi maior e estatisticamente significativa que no grupo de animais semiconfinados e que ambos os grupos apresentaram aumento na atividade logo após o parto.

2.10.2. Gama-glutamil-transferase – GGT

A GGT está presente, principalmente, nas células epiteliais dos ductos renais e biliares, apresentando atividade sérica muito baixa em cães e gatos, quando comparada à de ruminantes (COLES, 1984). A elevação de sua atividade sérica está relacionada com doenças hepáticas, especialmente aquelas que afetam o sistema de ductos biliares (BRAUN *et al*., 1992; THOMPSON e PAULI, 1992).

Em soro sangüíneo humano, a GGT é estável à temperatura ambiente (25°C) por 8 horas, mas quando congelada pode permanecer estável por até 40 semanas (SHAW, 1983). O soro de eqüinos armazenado a -30°C por quatro semanas perde 50% da atividade da GGT, porcentual de perda que diminui caso a armazenagem seja a -20°C (KANEKO *et al*., 1997).

Segundo Braun *et al.* (1983), a atividade sérica da GGT bovina apresentou estabilidade quando armazenada a -20°C e labilidade quando conservada a 4 e a 20°C. Juel e Curry (1974) constataram estabilidade da atividade dessa enzima em soro humano armazenado por 72 horas, a 4, 10 e 20°C.

2.10.3. Aspartato aminotransferase – AST

A AST, anteriormente denominada TGO (MEYER *et al*., 1995), é uma enzima que catalisa a transaminação reversível da L-aspartato e 2-cetoglutarato a oxalacetato e glutamato (CARLSON, 1993). Suas mais elevadas concentrações estão localizadas nas células musculares esqueléticas e nos hepatócitos (MEYER *et al*., 1995).

A atividade da enzima AST aumenta quando existem injúrias, por exemplo infecções ou toxinas, que resultam em lesão da membrana celular e perda dos componentes citoplasmáticos e mitocondriais para o plasma (CARLSON, 1993), no caso de miopatias (KANEKO *et al*., 1997), choque endotoxêmico relatado em bezerros (SINGH e SODHI, 1992) e doenças cardíacas estudadas em bovinos (SALIM e JOSHI, 1993), e em vacas submetidas à alimentação adequada, desde o período pós-parto até o pico da produção leiteira (KAMPL *et al*., 1991).

Slesingr (1969) constatou que a AST sérica de eqüinos e de bovinos apresentou mais estabilidade à temperatura de 3 e 20°C, durante 96 horas, do que a ALT. Segundo Tollersrud (1969) e Demetriou *et al*. (1974), a AST em soro é estável quando armazenada a -20º C.

Hansen e Shultz (2001) avaliaram a atividade enzimática da AST no soro humano congelado a -20, -80 e -196°C, por períodos de tempo variando de 1 a 84 dias. Nas amostras congeladas a -20°C, a atividade sérica de AST diminuiu 40%, com 58 dias. Porém, não foram observadas alterações significativas nas amostras congeladas a -80 e -196°C.

2.10.4. Creatina quinase – CK

A CK é uma enzima encontrada em muitos tipos celulares, mas sua maior especificidade está relacionada com a musculatura esquelética. No entanto, a sua meia-vida curta faz com que os altos valores séricos voltem rapidamente ao normal (KANEKO *et al*., 1997). Essa enzima é mais amplamente utilizada para determinação de doenças neuromusculares dos animais domésticos (CARDINET, 1997). Carlson (1993), Stockham (1995) e Cardinet (1997) concordam que essa enzima é altamente sensível e específica de lesão muscular, já que os principais tecidos-fonte CK são as fibras musculares esqueléticas, as cardíacas e o músculo liso, predominando no sistema nervoso central e no tecido muscular, esquelético e cardíaco (KRAMER e HOFFMANN, 1997).

Segundo Cardinet (1997), os valores normais de CK determinados em animais domésticos podem variar com a atividade física, a idade e o sexo, entre outros fatores.

Meyer *et al*. (1995) relataram que os valores normais de CK para eqüinos estão entre 86 e 140 U/L. Eades e Bounouw (1997) consideram normais os valores entre 60 e 330 U/L, enquanto para Kaneko *et al*. (1997) os valores para essa espécie variam de 2,4 – 23,4 U/L e para Radostits *et al*. (2002) a variação fica entre 145 e 380 U/L. Porém, Essen-Gustavsson *et al*. (1984) e Frape (1994) expõem que há uma grande variação individual na atividade sérica normal dessa enzima, salientando que as concentrações séricas de enzimas musculares aumentam ligeiramente após exercícios e que também estão elevadas nas desordens musculares ou miosites.

A CK é amplamente usada para diagnosticar transtornos musculares. A enzima é citosólica ou associada às estruturas das miofibrilas. Requer Mg^{2+} como co-fator e, portanto, sua atividade pode estar inibida na presença de compostos quelantes. A CK aparece elevada antes da AST e também desaparece primeiro. Assim, o padrão enzimático dessas enzimas pode indicar o estágio do problema. A CK aumentada com baixa AST indica lesão muscular recente, níveis persistentemente altos das duas indicam lesão continuada, enquanto níveis baixos de CK e altos de AST indicam processo de recuperação (GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

Weaver (2004) relatou que o dano muscular provocado pelo decúbito prolongado de bovinos pode ser avaliado, com segurança, por meio da determinação sérica de CK, e juntamente com a enzima AST pode também identificar miopatia cardíaca em bovinos.

Segundo Amador e Wacker (1969), Jones (1976) e Kaneko *et al*. (1997), a atividade da enzima CK é estável a -20°C, mas extremamente lábil a temperaturas mais elevadas. Jones (1985a) afirmou que em soro bovino a amostra preservou a atividade da CK por até uma semana, mesmo à temperatura ambiente (25°C).

Estudando a estabilidade enzimática no soro e no plasma de quatro ovelhas submetidas a diferentes métodos de conservação, Jones (1985b) concluiu que a atividade da CK foi mais instável do que as demais enzimas avaliadas no soro ao longo da fase experimental, qualquer que fosse a temperatura de armazenagem. Segundo Kaneko *et al*. (1997), a CK é instável quando armazenada à temperatura ambiente (25°C), sob

refrigeração (5°C) e sob congelamento (-20°C), devido à oxidação dos grupos sulfídricos de seu sítio ativo.

2.10.5. Lactato desidrogenase – LDH

A LDH, uma das maiores moléculas protéicas do organismo, é uma enzima intracelular que catalisa a interconversão reversível do lactato e do piruvato (KANEKO *et al*., 1997). É liberada após lesão celular hepática, pulmonar, muscular, renal, cardíaca e do tecido linforreticular, encontrando-se também em altas concentrações nas hemácias (COLES, 1984).

Elevações na atividade da LDH ajudam no diagnóstico de desordens orgânicas ou tissulares tanto em homens como em animais (ERICKSON e MORALES, 1961; GERBER, 1969).

Farrow e Jones (1969) relataram diminuição da atividade da LDH total de aproximadamente 50% em soro de cães armazenado em temperatura ambiente (25°C) por 14 dias e pequena diminuição em soro congelado (-20°C).

Lohni e Thornton (1977) avaliaram a atividade da LDH e suas isoenzimas no soro de eqüinos sadios sob quatro condições de armazenagem, concluindo que a armazenagem de sangue total por mais de 48 horas pode resultar em hemólise e em aumento inesperado na sua atividade. A temperatura menos recomendada para longo tempo de armazenagem foi a 4°C, porém períodos de armazenagem acima de três semanas a -20°C, ou 24 e 48 horas em temperatura ambiente (25°C), mostraram-se satisfatórios.

Heins *et al*. (1995) estudaram o efeito do tempo e da temperatura de armazenagem em 22 constituintes sangüíneos, encontrando aumento significativo na avaliação da atividade sérica de LDH nas amostras que foram estocadas a 9°C por sete dias.

2.11. Fisiologia do exercício

As análises laboratoriais, incluindo os exames bioquímicos, tornam-se fundamentais na avaliação do eqüino em competição, transformando-se em

ferramenta decisiva para o acompanhamento do eqüino atleta. Para tanto, é imprescindível o conhecimento de valores de referência para a adequada interpretação dos resultados bioquímicos, além do conhecimento das alterações decorrentes do esforço físico em diferentes intensidades (HINCHCLIFF *et al*., 2004; BALARIN *et al*., 2005).

O eqüino MM é um animal de temperamento dócil e apresenta baixa resistência às enfermidades mais comuns da espécie. Devido à sua utilização em provas de marcha, passa a maior parte da sua vida útil em regime de confinamento, predispondo-se a uma série de alterações físicas e metabólicas.

Vários fatores estão relacionados com o comportamento desses animais nas pistas, dentre os quais se destacam a relação entre o homem e o animal, a interação animal e meio ambiente (temperatura ambiente, umidade relativa, altitude, radiação solar e poluição sonora) e sistema de manejo e estado físico. Todos esses fatores podem interferir no desmempenho de um eqüino atleta, por serem muitas vezes agressores que promovem, no organismo, reações não-específicas de adaptação e, conseqüentemente, alteração nas características fisiológicas (SEEHERMAN e MORRIS, 1990; TEIXEIRA e PADUA, 2002).

Muitos estudos da fisiologia do exercício têm sido realizados em eqüinos, a maioria com base na avaliação da freqüência cardíaca, no lactato no sangue, na atividade enzimática no plasma e em alguns outros parâmetros bioquímicos (ROSE *et al*., 1980; PERSSON, 1982; SNOW *et al*., 1982; VALBERG *et al*., 1989).

Diversos autores salientam que a avaliação dos valores bioquímicos sangüíneos serve para medir os efeitos do exercício e o grau de adaptação dos eqüinos a este (MILNE *et al*., 1976; MULLEN *et al*., 1979; SNOW, 1987). Os autores postulam que os eqüinos não-acostumados ao exercício apresentam variações de certos constituintes sangüíneos, como enzimas CK e AST, lactato, uréia, glicose, cálcio, fósforo e magnésio. Estes constituintes retornariam a seus valores de referência, uma vez que o animal se adapta ao exercício; caso contrário, permaneceriam alterados (RUDOLPH *et al*., 1986).

Rose (1992) afirmou a importância de entender as alterações bioquímicas relacionadas a vários tipos de exercícios, por refletirem alterações na função de diferentes sistemas e no tipo de energia utilizada.

A produção e a utilização apropriadas de energia são essenciais para o eqüino atleta e possuem uma função crítica para o ótimo desempenho físico (EATON, 1994; HARRIS e HARRIS, 1998, GOMIDE *et al*., 2006). A glicose é uma importante fonte de energia para a atividade muscular. Com o aumento da intensidade do exercício, grande parte da energia é gerada por meio da glicólise anaeróbica, com conseqüente produção de ácido láctico. Quanto maior a intensidade do exercício, maior a quantidade de lactato e H^+ produzidos (EATON, 1994; GOMIDE *et al*., 2006).

Segundo Rose *et al*. (1983), a velocidade e a duração do exercício parecem ser os fatores mais importantes para a alteração na concentração de glicose. Spinha de Toledo *et al*. (2001) realizaram estudos com eqüinos PSI e observaram que os valores médios dos teores séricos de glicose sofreram elevação nos diferentes tipos de exercício, sendo proporcional à intensidade do esforço físico.

A significativa elevação de glicose após o exercício indica aumento da glicogenólise, como conseqüência do aumento da demanda tecidual, embora o efeito do estresse do exercício possa ser importante para a mobilização, devido ao aumento da atividade simpática, relacionada à intensidade do exercício e ao aumento do glucagon plasmático (ROSE e HODGSON, 1994).

O acúmulo de lactato no músculo e a conseqüente acidose intracelular pode prejudicar a glicólise e a capacidade respiratória da mitocôndria (COUROUCÉ, 1998), e podem estar relacionados a uma falha em manter a homeostase ADP/ATP no sítio de ligação miosina-actina. O aumento de ADP local pode causar perda de desempenho por fadiga muscular, sendo o principal impedimento para a continuidade do trabalho (HARRIS e HARRIS, 1998). Um dos efeitos do treinamento é aumentar a intensidade do exercício na qual o lactato começa a se acumular (limiar anaeróbico), além de melhorar a capacidade cardiorrespiratória do animal (COUROUCÉ, 1998; EATON, 1999).

A determinação de lactato sangüíneo ou sérico vem sendo utilizada com tanta freqüência quanto os parâmetros clínicos, e fornece informações adicionais sobre o condicionamento atual do atleta (LINDNER, 2000). Segundo Marlin e Nankervis (2002), testes de *desempenho* a campo são mais específicos e realistas, principalmente se forem similares às condições de competição. A concentração de lactato sangüíneo está relacionada à intensidade do exercício, possibilitando avaliar o sistema de produção energética mais utilizado (DESMECHT *et al*., 1996; COUROUCÉ, 1998). A concentração de lactato é a variável que apresenta melhor correlação com o desempenho competitivo do animal (LINDNER, 2000).

A manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico é de fundamental importância para a homeostase do organismo eqüino. Tomando-se por referência as perdas de peso corporal durante o esforço de baixa intensidade e longa duração. Estima-se que um eqüino perde, por hora, entre 10 e 15 litros de suor (CARLSON, 1985), contendo grandes concentrações de eletrólitos (KERR e SNOW 1982; CARLSON, 1983; ROSE *et al*., 1990).

Na fase inicial do exercício de baixa intensidade ocorre expansão do volume plasmático, em função do desvio de líquidos e proteínas, originários do sistema linfático e interstício, para o espaço intravascular (NAYLOR *et al*., 1993; LACERDA-NETO *et al*., 2003). Entretanto, à medida que o trabalho físico se prolonga há necessidade de dissipação do calor gerado pela atividade muscular, e uma parcela importante deste líquido é perdida através da sudorese (LACERDA-NETO *et al*., 2003). Segundo Marlin *et al*. (1996), embora as perdas de água corporal, pela sudorese, sejam significativas durante exercícios prolongados, as concentrações séricas de sódio mantêm-se dentro de valores fisiológicos, para impedir alterações na osmolalidade plasmática, uma vez que esse cátion é o mais importante regulador dessa função no organismo.

A atividade global de determinadas enzimas musculares pode ser usada para avaliar a atividade metabólica (CUTMORE *et al*., 1985). A atividade dessas enzimas é utilizada como indicador da capacidade metabólica do músculo (KLINE e BECHTEL, 1988), e durante a atividade física prolongada, como corridas de resistência, o metabolismo oxidativo tem

um papel importante pela utilização de carboidratos e lipídios (GUSTAVSSON *et al*., 1983; HODGSON e ROSE, 1987), sendo possível que a importância relativa dessas variações metabólicas em cada indivíduo ocorra a um rendimento competitivo diferente (RIVERO *et al*., 1998).

A AST e a LDH são enzimas com atividade nos hepatócitos e nas fibras musculares e têm sido utilizadas associadas à CK para avaliação das lesões musculares, entre elas as provocadas pelo exercício (KANEKO *et al*., 1997). Segundo Stockham (1995), o exercício pode liberar quantidades de enzimas suficientes para aumentar os valores séricos das enzimas AST e LDH.

Siciliano *et al*. (1995) e Löfstedt e Collatos (1997) relataram que o treinamento diário diminui os efeitos provocados pelo exercício, incluindo a elevação das concentrações séricas das enzimas CK e AST.

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

Em estudo realizado em eqüinos PSI sadios criados no Brasil, Lopes *et al*. (1993) observaram diferenças significativas na concentração sérica das enzimas AST, LDH e GGT, em relação aos valores de referência de autores estrangeiros. Os autores enfatizam a necessidade de cada laboratório determinar seus valores de referência.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material e métodos

A realização deste estudo experimental necessitou dos materiais relacionados, assim como dos métodos elaborados, descritos a seguir.

3.1.1. Eqüinos

Foram utilizados dez eqüinos da raça MM, cinco machos e cinco fêmeas não-lactantes e não-gestantes, com idade entre 3 e 5 anos, com escore corporal de três a quatro (SPEIRS, 1999) e clinicamente sadios, com base no exame físico e laboratorial de triagem, submetidos ao treinamento para o concurso de marcha, atividade esta com duração média de 20 a 40 minutos diários.

3.1.2. Manejo alimentar

Os animais foram mantidos em baias individuais e alimentados com 4,5 kg de ração[1] por dia (sendo esta distribuída em três períodos), capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach) triturado, feno de *tifton* (*Cynodon*

[1] Ração Equisul 15 Especial - Total Alimentos, Três Corações-MG.

spp.), água *ad libitum* e suplemento mineral à vontade[2], sendo em regime de semiconfinamento em piquete de capim *tifton* (*Cynodon nlemfuensis* Vanderyst var. *robustus*), em dias alternados.

3.1.3. Exame físico

Dez dias antes do experimento, foram registrados os dados de identificação, como a idade, o peso, o estado geral, a atitude, o comportamento, o aspecto das mucosas aparentes, os linfonodos e os parâmetros vitais (freqüência cardíaca, freqüência respiratória e temperatura). Os animais foram considerados sadios ao exame físico quando apresentaram parâmetros vitais dentro dos limites fisiológicos, segundo Houston e Radostits (2002).

3.1.4. Hemograma e determinação do fibrinogênio plasmático

Dez dias antes do experimento, após avaliação clínica, foram obtidas as amostras de sangue por venipunção jugular, em volume aproximado de 5 mL, que foram acondicionadas em tubo de ensaio contendo EDTA[3]. O hemograma e a determinação do fibrinogênio plasmático foram executados conforme as metodologias descritas por Coles (1984). Todos os animais do experimento estavam dentro dos parâmetros de normalidade para leucometria total e específica, bem como para os valores do fibrinogênio plasmático, segundo os valores de referência de Tyler *et al*. (1987).

3.1.5. Local

As amostras de soro e plasma sangüíneos dos eqüinos MM, para desenvolver o presente trabalho, foram colhidas no Haras Três Corações, localizado em Ponte Nova, Minas Gerais, região da Zona da Mata mineira (40 km de distância do laboratório). Após a coleta de sangue os frascos

[2] Hiposal 80% - Total Alimentos, Três Corações-MG.
[3] Frasco siliconizado a vácuo – 5 mL com EDTA, BD – Becton e Dickison Ind. Cirúrgica Ltda., Brasil.

foram encaminhados imediatamente ao laboratório clínico do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

As análises foram realizadas no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário do Departamento de Veterinária, no Laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular e no Laboratório de Solos Florestais, do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, no período de abril a outubro de 2005.

3.1.6. Distribuição dos grupos experimentais

As amostras de plasma e soro sangüíneos de cada animal foram submetidas a quatro diferentes métodos de conservação térmica.

Tabela 1 – Distribuição dos grupos experimentais

Grupo	Método
Grupo TA	Temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)
Grupo R5	Refrigeração (5°C)
Grupo C20	Congelamento (-20°C)
Grupo C76	Congelamento (-76°C)

3.1.7. Tempos de avaliação das análises laboratoriais

Tabela 2 – Tempos de avaliação das análises laboratoriais das amostras mantidas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Grupo TA: amostras mantidas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)	
T0	Logo após a obtenção do plasma e soro sangüíneos
T1	12 horas após T0
T2	24 horas após T0
T3	36 horas após T0
T4	48 horas após T0

Tabela 3 – Tempos de avaliação das análises laboratoriais das amostras refrigeradas a 5°C

Grupo R5: amostras refrigeradas a 5°C	
T0	Logo após a obtenção do plasma e soro sangüíneos
T1	7 dias após T0
T2	15 dias após T0
T3	30 dias após T0

Tabela 4 – Tempos de avaliação das análises laboratoriais das amostras congeladas a -20°C

Grupo C20: amostras congeladas a -20°C	
T0	Logo após a obtenção do plasma e soro sangüíneos
T1	30 dias após T0
T2	60 dias após T0
T3	90 dias após T0
T4	180 dias após T0

Tabela 5 – Tempos de avaliação das análises laboratoriais das amostras congeladas a -76°C

Grupo C76: amostras congeladas a -76°C	
T0	Logo após a obtenção do plasma e soro sangüíneos
T1	30 dias após T0
T2	60 dias após T0
T3	90 dias após T0
T4	180 dias após T0

3.1.8. Coleta das amostras

As amostras foram colhidas mediante venipunção jugular, após antissepsia local, utilizando-se agulhas hipodérmicas[4] e frascos Vacutainer[5]. Após a coleta de sangue, os frascos foram encaminhados imediatamente ao laboratório clínico. Para obtenção de soro sangüíneo foram colhidos 200 mL de sangue de cada animal, em frascos a vácuo, sem anticoagulante. Após a

[4] Agulhas 18G, BD – Bacton e Dickison Ind. Cirúrgica LTDA., Brasil.
[5] Frasco sliconizado a vácuo – 10 mL sem anticoagulante – Vacuum II.

coleta, as amostras permaneceram em repouso à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), até a retração do coágulo e posterior centrifugação a *700G* (10.000 rpm)[6] por 10 minutos, tendo o soro sangüíneo sido retirado por pipetagem para dosagem de albumina, sódio, K, cloreto, bilirrubina total, Mg total, uréia, creatinina, FA, GGT, AST, CK e LDH. O plasma foi obtido a partir de amostras de 50 mL de sangue, colhidas em frascos siliconizados, contendo fluoreto de sódio[7], as quais foram centrifugadas em velocidade e tempo semelhantes aos utilizados para o soro, imediatamente após a coleta, para mensuração das PPT, da glicose e do lactato; e a partir de 25 mL de sangue colhido em frascos siliconizados com citrato de sódio[8], para mensuração do fibrinogênio.

3.1.9. Avaliação laboratorial

Realizou-se a avaliação laboratorial dos seguintes constituintes: PPT (Biureto), albumina (verde de Bromocresol – VCB), fibrinogênio (precipitação a 56 – 58°C, segundo Jain, 1993), sódio (espectofotometria de chama), K (espectofotometria de chama), cloreto (colorimetria), glicose (enzimática colorimétrica – GOD – PAP), lactato (enzimático colorimétrico - LOD - PAP), bilirrubina total (Sims – Hom), Mg total (Mann Yoe), uréia (enzimático colorimétrico), creatinina (cinética colorimétrica), FA (cinética), GGT (Szasz modificado), AST (cinética – UV), CK (cinética – UV) e LDH (cinética).

3.1.10. Mensuração dos constituintes

Na mensuração de PPT (albumina) por meio de equipamento eletrônico[9] foram utilizados os reagentes comerciais da Bioclin[10]; o fibrinogênio foi medido por refratometria[11]; e o sódio e o K por espectrofotometria de chama, com as amostras de soro diluídas nas

---

[6] Centrífuga, EUREKA/ BIO ENG, Marconi Equipamentos para Laboratório.
[7] Celm – Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos.
[8] Frasco a vácuo – 5 mL – citrato de sódio – Vacuum II.
[9] Aparelho de Automação Alizé – Clinline 150.
[10] QUIBASA – Química Básica Ltda.
[11] Refratômetro: Atago, Hand Refractometer, Mod. Uricon cat No. 135.

seguintes proporções K = [(50 μL amostra + 50 μL H_2O + 2*(200) μL H_2O + 3 (500) μL H_2O = 2000 μL)] ⇒ 40* diluído = (1:40). A partir dessa diluição, foram retirados 200 μL para diluir o sódio = [(200μL + 100 μL H_2O + 200 μL H_2O + 3 (500) μL H_2O = 2000 μL)] ⇒ 400* diluído = (1:400); posteriormente a amostra foi analisada em fotômetro de chama[12]. Cloreto, glicose, lactato, bilirrubina total, Mg total, uréia, creatinina, FA, GGT, AST, CK e LDH foram também diluídos por meio de equipamento eletrônico[13], tendo sido utilizados os reagentes comerciais da Bioclin[14], Katal[15] e Synermed.[16]

3.1.11. Análise dos dados

Os dados estatísticos foram realizados em análise de variância (ANOVA), tendo o teste de Dunnett, a 5% de probabilidade, sido aplicado para os grupos das amostras mantidas em temperatura ambiente e refrigeração a 5°C. Todos os constituintes foram analisados, levando-se em consideração os quatro tratamentos, com os dez animais, para comparar cada tempo dos tratamentos com o controle.

A comparação entre os constituintes sangüíneos e a ocorrência de instabilidade foi realizada com o tempo zero como controle, para verificação de mudança de seus constituintes na avaliação da temperatura e armazenagem.

As análises para os grupos das amostras congeladas a -20 e -76ºC foram realizadas segundo o delineamento inteiramente casualizado (DIC), no esquema de parcelas subdivididas, em que as temperaturas constituíram as parcelas e os tempos de avaliação, as subparcelas. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probalidade.

As análises foram realizadas com o uso do programa computacional SAS.

---

[12] Fotômetro de chama - Corning 400.
[13] Aparelho de Automação Alizé – Clinline 150.
[14] QUIBASA – Química Básica Ltda.
[15] Katal Biotecnológica Ind. e Com. Ltda.
[16] Synermed International Inc. Canadá.

4. RESULTADOS E DISCUSÃO

4.1. Influência do tempo e da temperatura sobre a estabilidade de constituintes do soro e plasma sangüíneos de eqüinos mangalarga marchador: proteínas plasmáticas totais, albumina, fibrinogênio, sódio, potássio e cloreto

4.1.1. Resultados

Os resultados obtidos no presente estudo encontram-se representados sob a forma de tabelas e figuras enumeradas. As representações gráficas demonstram os valores médios obtidos, nos dez animais, para cada constituinte sangüíneo estudado nos determinados tempos de conservação.

Tabela 6 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Proteínas Plasmáticas Totais (g/dL)
T0	0	7,01 ± 0,16
T1	12	6,71 ± 0,14
T2	24	6,87 ± 0,20
T3	36	6,75 ± 0,16
T4	48	6,67 ± 0,20
CV (%)		7,99

Tabela 7 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Proteínas Plasmáticas Totais (g/dL)
T0	0	7,01 ± 0,16
T1	7	6,46 ± 0,15
T2	15	6,62 ± 0,16
T3	30	6,83 ± 0,19
CV (%)		7,72

Tabela 8 – Valores médios da PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Proteínas Plasmáticas Totais (g/dL)	
		C20	C76
T0	0	7,01 a b A	7,01 c A
T1	30	7,30 a A	7,47 a A
T2	60	6,54 c A	7,44 a b B
T3	90	6,56 c A	7,00 c A
T4	180	6,60 b c A	7,04 b c B

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

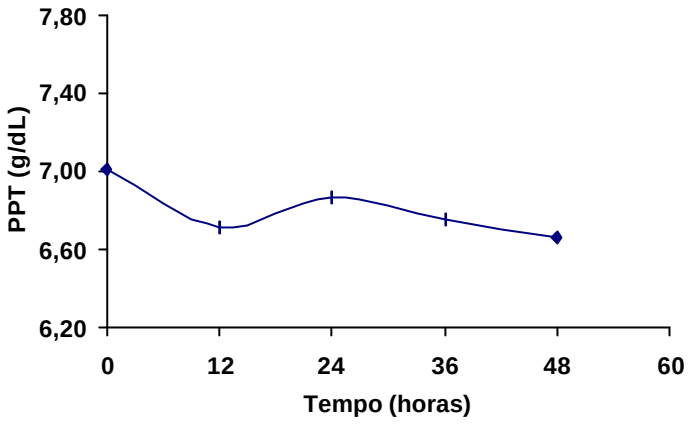

Figura 1 – Valores das PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

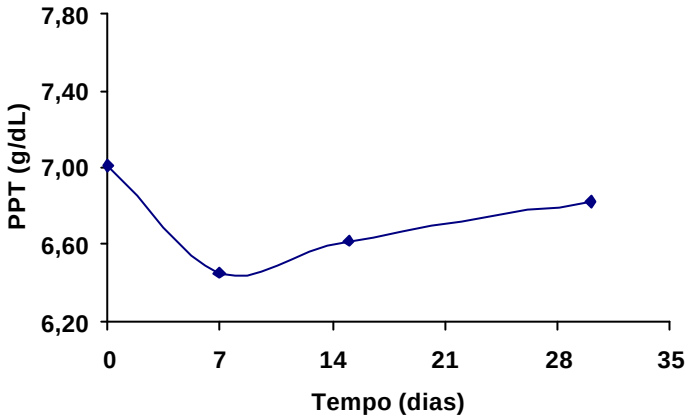

Figura 2 – Valores das PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

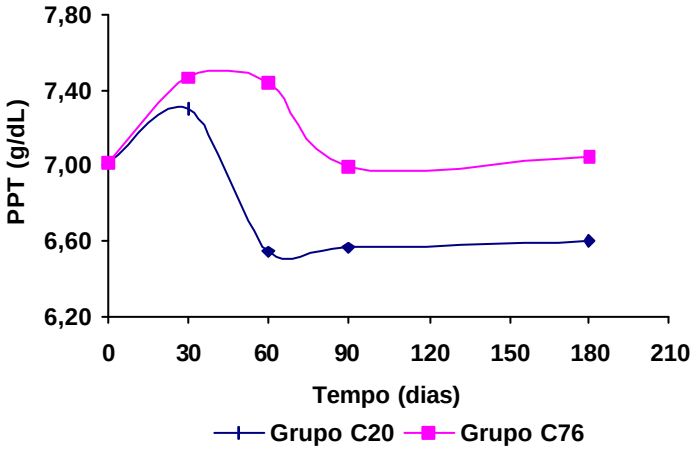

Figura 3 – Valores das PPT (g/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 9 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Albumina (g/dL)
T0	0	3,50 ± 0,04
T1	12	3,34* ± 0,04
T2	24	3,35* ± 0,05
T3	36	3,32* ± 0,03
T4	48	3,36 ± 0,03
CV (%)		3,90

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 10 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Albumina (g/dL)
T0	0	3,50 ± 0,04
T1	7	3,26* ± 0,03
T2	15	3,31* ± 0,03
T3	30	3,40 ± 0,03
CV (%)		3,05

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 11 – Valores médios da albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Albumina (g/dL)	
		C20	C76
T0	0	3,50 a A	3,50 a A
T1	30	3,47 a A	3,58 a b A
T2	60	3,38 a A	3,54 a b B
T3	90	3,43 a A	3,48 a b A
T4	180	3,37 a A	3,39 b A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

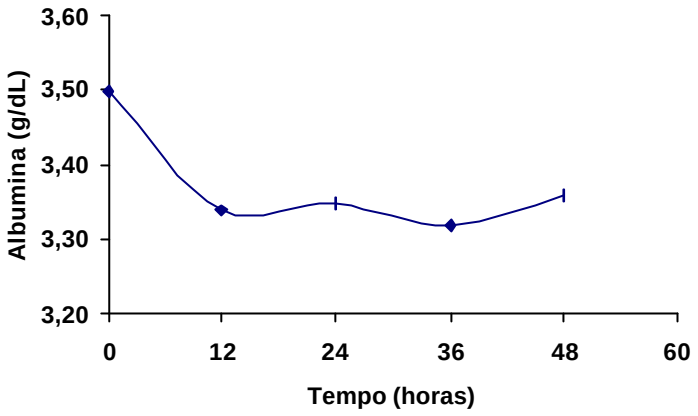

Figura 4 – Valores de albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

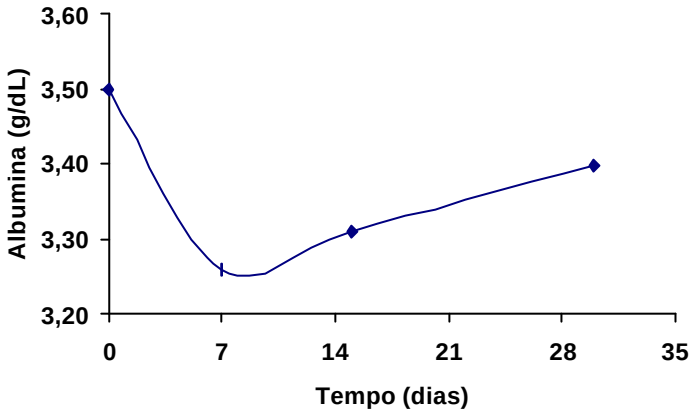

Figura 5 – Valores de albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

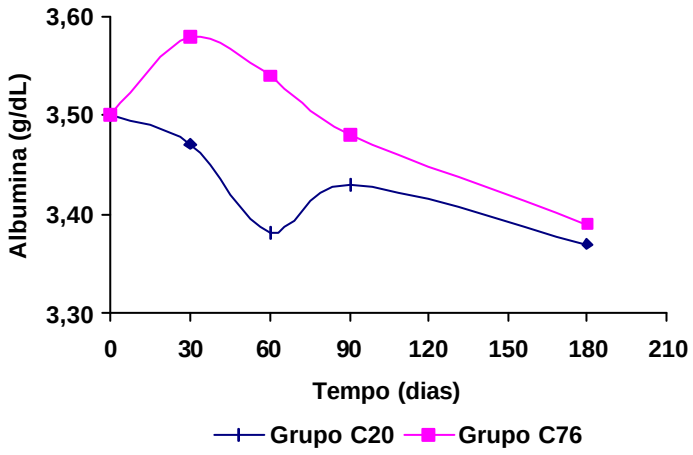

Figura 6 – Valores de albumina sérica (g/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 12 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Fibrinogênio (mg/dL)
T0	0	300,00 ± 53,75
T1	12	730,00* ± 114,55
T2	24	720,00* ± 94,05
T3	36	750,00* ± 76,38
T4	48	400,00 ± 61,47
CV (%)		45,27

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 13 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Fibrinogênio (mg/dL)
T0	0	300,00 ± 53,75
T1	7	470,00 ± 114,55
T2	15	350,00 ± 68,72
T3	30	290,00 ± 45,82
CV (%)		67,78

Tabela 14 – Valores médios do fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Fibrinogênio (mg/dL)	
		C20	C76
T0	0	300,00 a b A	300,00 a A
T1	30	190,00 b A	210,00 a A
T2	60	320,00 a b A	340,00 a A
T3	90	230,00 a b A	320,00 a A
T4	180	380,00 a A	300,00 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

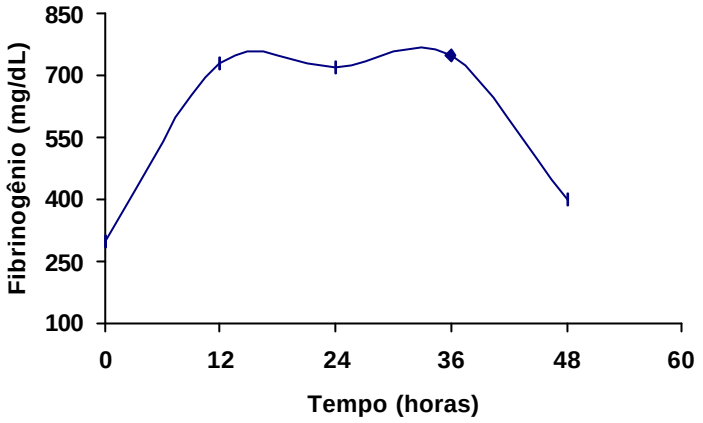

Figura 7 – Valores de fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

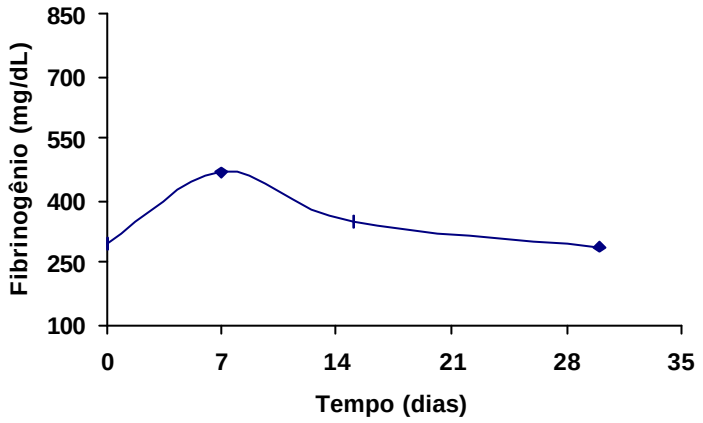

Figura 8 – Valores de fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C por 30 dias.

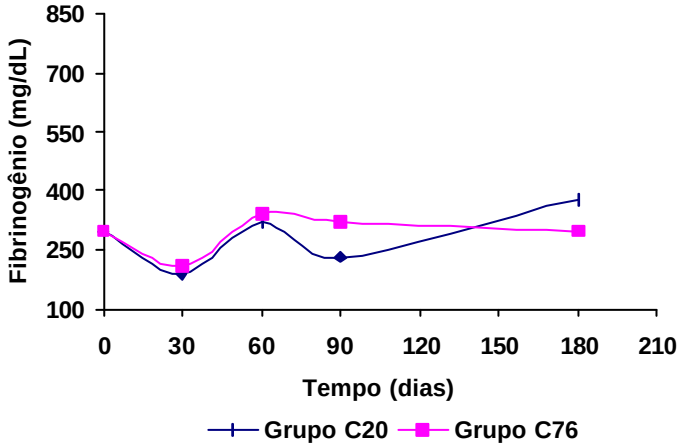

Figura 9 – Valores de fibrinogênio plasmático (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 15 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à tempera tura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Sódio (mmol/L)
T0	0	158,96 ± 2,08
T1	12	164,65 ± 1,66
T2	24	165,17 ± 2,28
T3	36	166,52* ± 1,94
T4	48	165,78* ± 1,37
CV (%)		4,64

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 16 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Sódio (mmol/L)
T0	0	158,96 ± 2,08
T1	7	159,26 ± 1,69
T2	15	159,18 ± 2,92
T3	30	162,78 ± 1,93
CV (%)		4,35

Tabela 17 – Valores médios do sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Sódio (mmol/L)	
		C20	C76
T0	0	158,96 a A	158,96 a A
T1	30	157,57 a A	153,83 a A
T2	60	154,78 a A	150,96 a A
T3	90	151,45 a A	148,59 a A
T4	180	150,22 a A	149,48 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

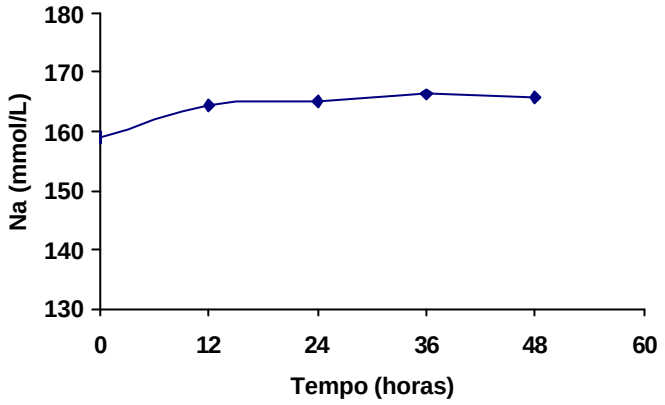

Figura 10 – Valores de sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) por 48 horas.

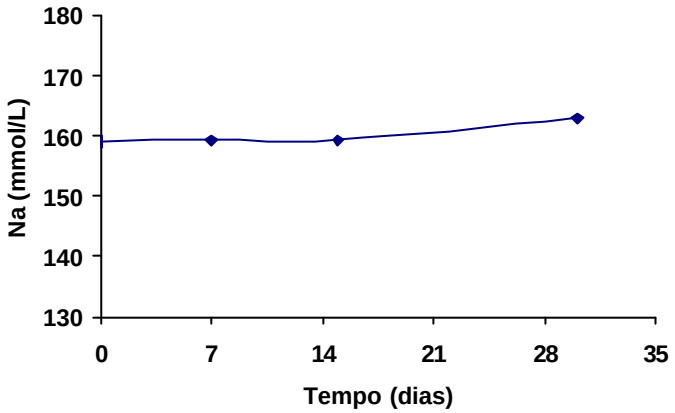

Figura 11 – Valores de sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C por 30 dias.

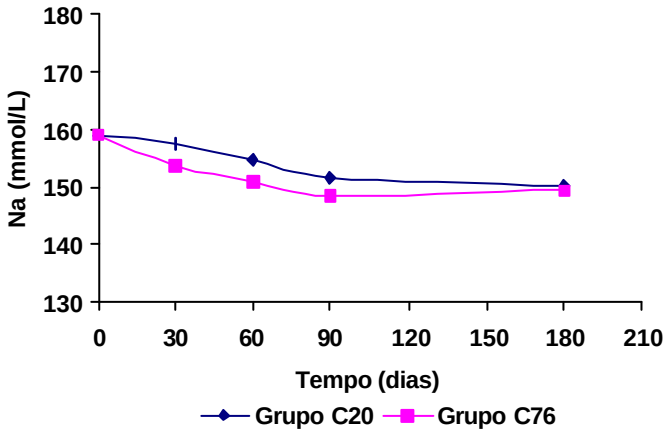

Figura 12 – Valores de sódio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 18 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do potássio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Potássio (mmol/L)
T0	0	4,90 ± 0,07
T1	12	4,63 ± 0,11
T2	24	5,15 ± 0,05
T3	36	4,68 ± 0,14
T4	48	4,95 ± 0,09
CV (%)		6,27

Tabela 19 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do potássio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Potássio (mmol/L)
T0	0	4,90 ± 0,07
T1	7	4,80 ± 0,09
T2	15	4,50* ± 0,11
T3	30	4,49* ± 0,12
CV (%)		7,04

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 20 – Valores médios do potássio sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Potássio (mmol/L)	
		C20	C76
T0	0	4,90 a A	4,90 a A
T1	30	4,69 a A	4,74 a A
T2	60	4,79 a A	4,78 a A
T3	90	5,02 a A	4,91 a A
T4	180	4,92 a A	4,77 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

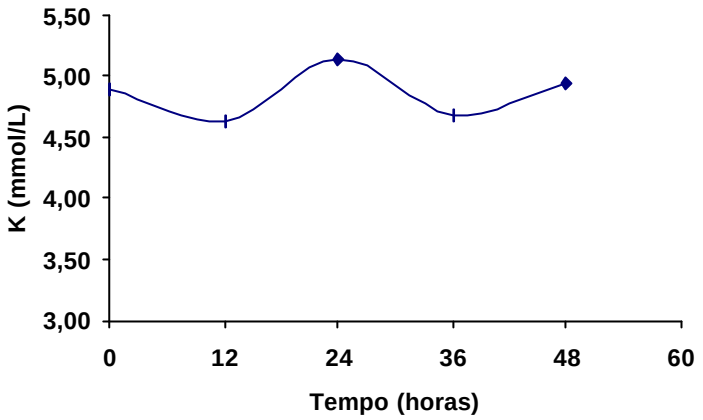

Figura 13 – Valores de K sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

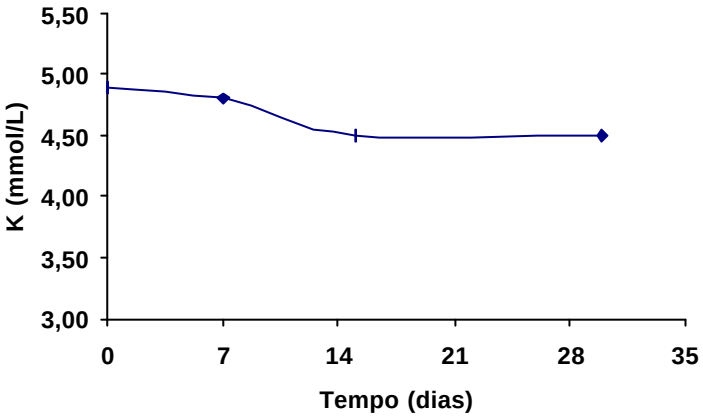

Figura 14 – Valores de K sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

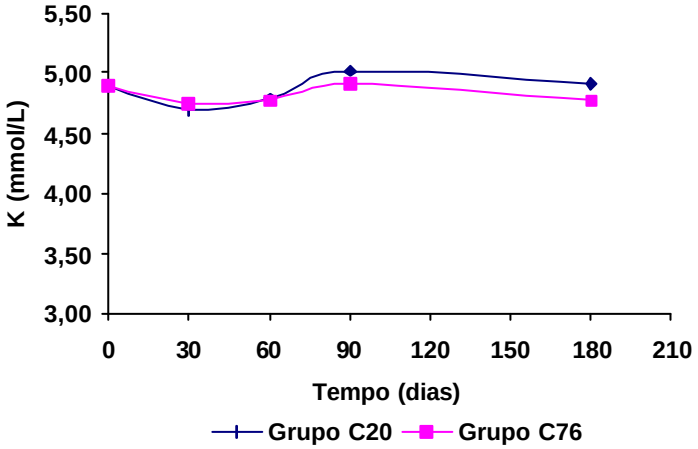

Figura 15 – Valores de K sérico (mmol/L) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 21 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Cloreto (mg/dL)
T0	0	97,73 ± 1,09
T1	12	93,18 ± 1,69
T2	24	94,16 ± 1,45
T3	36	93,24 ± 1,33
T4	48	93,31 ± 1,02
CV (%)		4,52

Tabela 22 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Cloreto (mg/dL)
T0	0	97,73 ± 1,09
T1	7	93,91 ± 1,98
T2	15	94,96 ± 3,66
T3	30	98,06 ± 0,60
CV (%)		7,28

Tabela 23 – Valores médios do cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Cloreto (mg/dL)	
		C20	C76
T0	0	97,73 a b A	97,73 a b A
T1	30	99,39 a A	101,14 a A
T2	60	95,83 a b A	99,33 a b A
T3	90	92,50 b A	94,24 b A
T4	180	92,82 a b A	96,02 a b A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

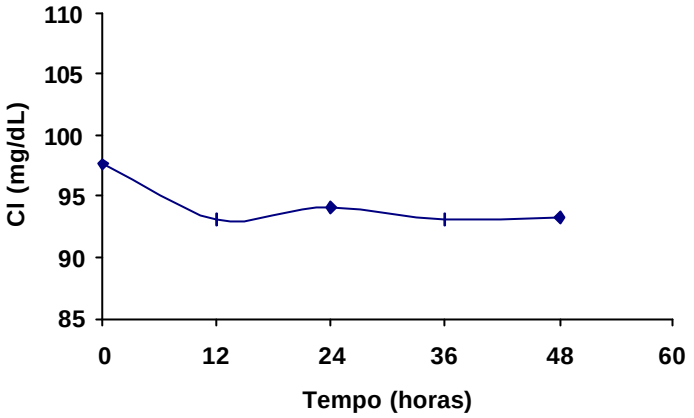

Figura 16 – Valores de cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

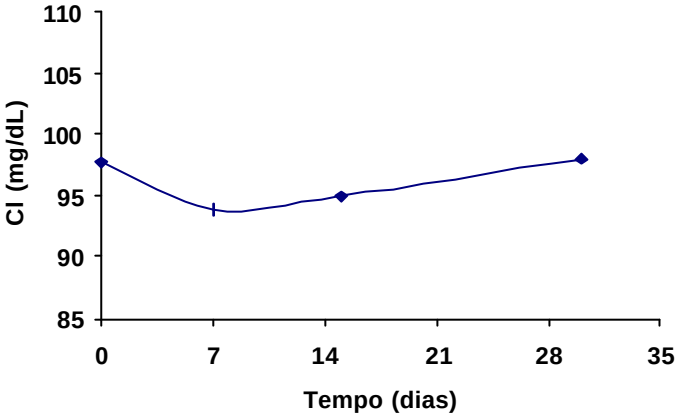

Figura 17 – Valores de cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

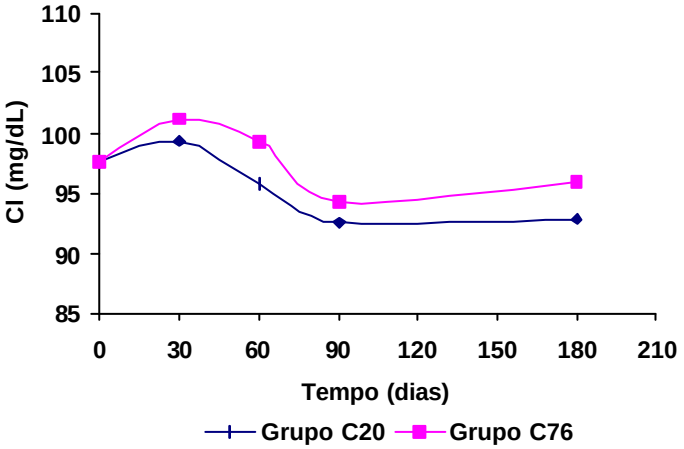

Figura 18 – Valores de cloreto sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos de amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

4.1.2. Discussão

4.1.2.1. Proteínas plasmáticas totais – PPT

Uma das práticas laboratoriais mais comuns é a mensuração das PPT com o objetivo de avaliar o grau de desidratação nos animais. No presente estudo os resultados apresentados nas Tabelas 6 a 8 e nas Figuras 1 a 3 demonstraram que os valores de PPT permaneceram estáveis nos grupos TA e R5, que nas amostras congeladas a -20°C apresentaram aumento no T1 (30 dias), que houve redução significativa no T2 e T3 (60 e 90 dias) e que a -76°C houve aumento no T1 e T2 (30 e 60 dias). Ao comparar os dois tratamentos constatou-se que houve diferença significativa nos valores T2 e T3 (60 e 90 dias). Apesar de a diminuição e do aumento terem sido significativos, esses valores encontram-se na faixa de referência para eqüinos, que é de 5,2 a 7,9 g/dL (KANEKO *et al*., 1997). Possivelmente esse valor foi em virtude da desnaturação que ocorre por qualquer alteração não-proteolítica nas propriedades químicas, na composição ou na estrutura de uma proteína original, resultando em perda de algumas ou de todas as suas características próprias ou específicas (BLOOD e STUDDERT, 2002), mudança esta provocada pelo calor ou pela agitação vigorosa da solução protéica (LEHNINGER, 1995). Resultados diferentes foram obtidos por Giorgetti *et al*. (1989), que encontraram diminuição significativa nos valores de proteína sérica total de bovinos quando as amostras foram armazenadas à temperatura de -20°C por 30 e 60 dias. Por sua vez, Thoresen *et al*. (1995) relataram que quando a coleta, a centrifugação e a manipulação das amostras de soro ou do plasma são realizadas de maneira adequada os valores das proteínas totais não são afetados pela armazenagem por até 240 dias, a -20°C ou de -70°C, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo. Ao avaliar as proteínas totais no soro bovino armazenadas à temperatura ambiente (25°C), sob refrigeração (5°C) e congeladas a -20°C, Doretto (1996) encontrou estabilidade nos valores das proteínas totais por 90 dias à temperatura ambiente (25°C) e refrigeradas (5°). Na temperatura de -20°C a estabilidade ocorreu até o 15º dia. Esses resultados não foram discutidos pelo autor e diferem dos valores encontrados no

presente estudo, com exceção das amostras mantidas à temperatura ambiente, apesar de os tempos avaliados terem sido diferentes.

4.1.2.2. Albumina

A albumina é a principal proteína sérica nos animais e constitui de 35 a 50% da proteína total sérica. É sintetizada no fígado e contribui com 75% da atividade osmótica plasmática (KANEKO *et al*., 1997). É considerada uma importante reserva protéica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina (GONZÁLEZ e SILVA, 2003). É utilizada no diagnóstico das hepatopatias (PINSENT e EDDY, 2004). Nas amostras do presente estudo houve diminuição significativa nos valores de albumina à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) nos tempos 12, 24 e 36 horas, nas amostras refrigeradas (5°C) com 7 e 15 dias e nas congeladas a -76°C aos 180 dias de armazenagem. Na comparação entre os grupos das amostras congeladas os valores diferiram-se aos 60 e 90 dias, como representados nas Tabelas 9, 10 e 11 e nas Figuras 4, 5 e 6. Possivelmente esse resultado foi ocasionado por sua desnaturação, como explicado anteriormente.

Apesar de terem utilizado diferentes tempos de armazenagem, Hanok e Kuo (1968) encontraram valores estáveis de albumina no soro sangüíneo humano mantido sob refrigeração (5°C) durante cinco dias. Valores diferentes foram obtidos por Giorgetti *et al*. (1989), que encontraram diminuição significativa nos valores de albumina sérica de bovinos aos 30 e 60 dias de armazenagem a -20°C, entretanto esses resultados não foram discutidos pelos autores. Por sua vez, Doretto (1996), ao avaliar a albumina no soro bovino armazenado à temperatura ambiente (25°C), sob refrigeração (5°C) e congelado a -20°C encontrou estabilidade nos valores da albumina sérica por 90 dias à temperatura ambiente (25°C) e refrigerada a 5°C. Na temperatura de -20°C encontrou aumento aos 15 dias e diminuição aos 60 dias. Esses resultados não foram discutidos e também diferem dos obtidos no presente estudo.

4.1.2.3. Fibrinogênio

O fibrinogênio (Fator I) é uma glicoproteína sintetizada no fígado, de alto peso molecular (340.000 Da); ele representa 5% das proteínas plasmáticas totais. Além de seu papel na coagulação, é uma importante proteína na resposta de fase aguda da inflamação (LOHUIS et al., 1988; COWELL e TYLER, 2002). No presente estudo, o fibrinogênio foi mensurado pela técnica de refratometria (SMITH e KANEKO 1966). Os resultados obtidos elevaram-se significativamente nas amostras mantidas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) no T1 (12 horas), T2 (24 horas) e T3 (36 horas) (Tabela 12, Figura 7), nas amostras congeladas a -20°C diminuíram no T1 (30 dias) e aumentaram no T4 aos 180 dias. Na comparação entre os grupos não foi constatada diferença significativa. Como o índice de refração é utilizado para medir a pureza de uma substância, os resultados obtidos podem ter sido ocasionados pelo aparecimento de um novo composto decorrente do processo de armazenagem do plasma à temperatura ambiente, que nesse período variou de 16,6 a 29,6°C, segundo a estação de meteorologia da UFV, podendo ter resultado no aumento dos valores do fibrinogênio, como citaram Coles (1984) e Motta (2006). Nos demais grupos os valores do fibrinogênio mantiveram-se constantes.

4.1.2.4. Sódio – Na^+

O sódio mantém a pressão osmótica e regula o equilíbrio ácido-base. Este eletrólito, nos fluidos corpóreos, está envolvido no metabolismo hídrico-celular, na respiração, na regulação do pH sangüíneo, na transmissão de impulsos nervosos, na contração da musculatura cardíaca e na nutrição (McDOWELL, 1999). Os valores de referência do sódio em eqüinos são de 132-146 mmol/L (KANEKO *et al*., 1997).

O T0 foi o que apresentou valores superiores (Tabelas 6, 7 e 8) aos valores de referência. Esse resultado possivelmente pode ter sido ocasionado devido à raça, à dieta, à atividade física ou à metodologia de análise utilizada, por não ter sido feita a homogeneização do volume total do soro de cada animal na fase de coleta e aliquotagem das amostras, com isso

alguma amostra pode ter apresentado hemólise ou lipemia, ocorrendo assim alterações nos tempos estudados. Esses resultados diferem dos obtidos por Bernstein (1952a,b; 1953; 1954a,b), Epstein (1984), Fontaine *et al*. (1987) e Lindner (1991a). Os valores de sódio apresentaram aumento nas amostras mantidas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) no T3 (36 horas) e T4 (48 horas), o que possivelmente foi ocasionado pela evaporação do soro em decorrência do tempo de armazenamento. Nas amostras refrigeradas a 5°C e nas congeladas a -20 e a -76°C, houve estabilidade nos valores do sódio sérico.

4.1.2.5. Potássio – K^+

O potássio é o principal cátion do espaço intracelular, estando apenas 2% da quantidade total deste no espaço extracelular (ROSE, 1981; TAYLOR e HYLLER, 1997).

Como demonstram as Tabelas 9, 10 e 11, os valores do potássio no T0 estão na faixa de referência, que segundo Radostits *et al*. (2002) é de 3,0 a 5,0 mmol/L. Durante a fase experimental, o potássio sérico manteve-se instável nas amostras mantidas sob refrigeração (5°C), porém ocorreu diminuição no T2 (15 dias) e T3 (30 dias) (Tabela 10, Figura 5). A causa das variações encontradas para o íon potássio foi semelhante à do sódio, possivelmente pelas condições de aliquotagem das amostras, mecanismo já explicado anteriormente, ou também pela perda de íons com a sudorese. Os demais tempos avaliados não apresentaram alterações relevantes. Resultados diferentes foram obtidos por Bernstein (1952a,b; 1953; 1954a,b), Epstein (1984) e Lindner (1991a), que encontraram aumento nos valores do K durante a conservação.

4.1.2.6. Cloreto – Cl

Os íons cloretos constituem aproximadamente dois terços dos ânions no plasma. Eles são os principais ânions filtrados pelos glomérulos e reabsorvidos nos túbulos renais. O cloreto é importante não só na manutenção da osmolalidade, mas também participa ativamente na

regulação do equilíbrio ácido-base (DiBARTOLA, 2006). No presente estudo observaram-se alterações nos valores de cloreto nas amostras mantidas a -20 e -76º C, aumento no T1 (30 dias) e diminuição no T3 (90 dias). Não foi constatada diferença significativa na comparação entre os grupos (Tabela 13, Figura 8). Como há uma estreita relação entre os íons sódio, potássio e cloreto, provavelmente as variações encontradas nos valores do cloreto foram também ocasionadas pelos mesmos mecanismos do sódio e potássio, como explicado anteriormente, ou também pela perda de íons com a sudorese e pela suplementação mineral. As amostras mantidas à temperatura ambiente e refrigeradas a 5°C mantiveram-se estáveis.

Quando se compara o valor de referência, 98 a 109 mmol/L, dos autores Duncan e Prasse (1982), Van Heerden *et al*. (1990), Carlson (1993) e Kaneko *et al*. (1997) com os valores do presente estudo, observa-se que a variação foi significativa, principalmente nas amostras mantidas a -20 por 90 e 180 dias, sinalizando que esse não é um bom método de conservação, diferindo dos resultados obtidos por Epstein (1984).

4.2. Influência do tempo e da temperatura sobre a estabilidade de constituintes o soro e plasma sangüíneos de eqüinos mangalarga marchador: glicose, lactato, bilirrubina total, magnésio, uréia e creatinina

4.2.1. Resultados

Os resultados obtidos no presente estudo encontram-se representados sob a forma de tabelas e figuras enumeradas. As representações gráficas demonstram os valores médios obtidos nos dez animais para cada constituinte sangüíneo estudado nos determinados tempos de conservação.

Tabela 24 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Glicose (mg/dL)
T0	0	102,68 ± 1,80
T1	12	96,49 ± 1,56
T2	24	101,42 ± 2,62
T3	36	100,28 ± 1,96
T4	48	98,85 ± 2,49
CV (%)		6,72

Tabela 25 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Glicose (mg/dL)
T0	0	102,68 ± 1,80
T1	7	98,28 ± 1,99
T2	15	98,83 ± 1,39
T3	30	100,72 ± 1,61
CV (%)		5,43

Tabela 26 – Valores médios da glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Glicose (mg/dL)	
		C20	C76
T0	0	102,68 a A	102,68 a A
T1	30	107,09 a A	108,16 a A
T2	60	100,18 a A	107,68 a A
T3	90	99,75 a A	105,08 a A
T4	180	98,97 a A	106,20 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

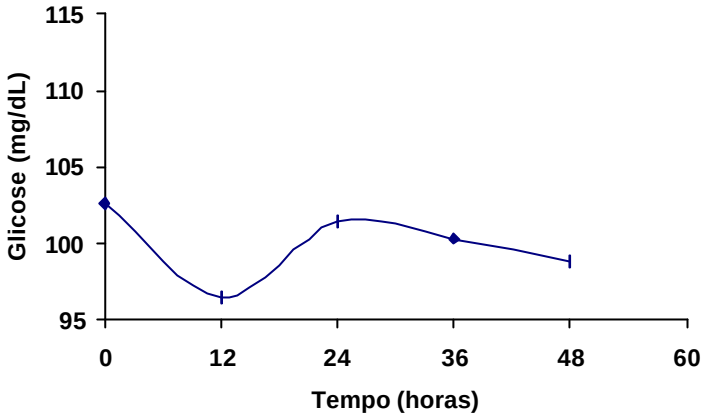

Figura 19 – Valores de glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

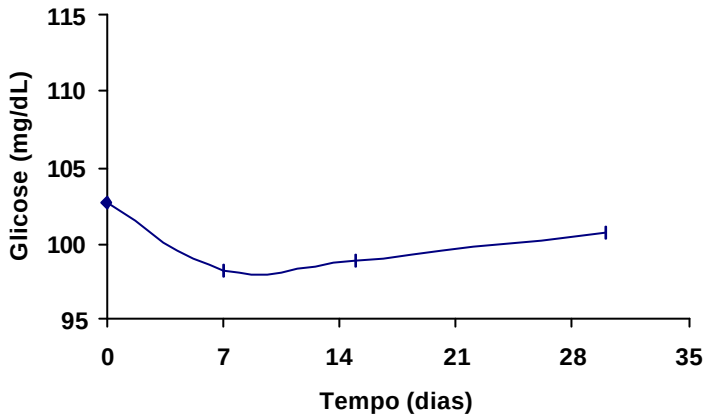

Figura 20 – Valores de glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

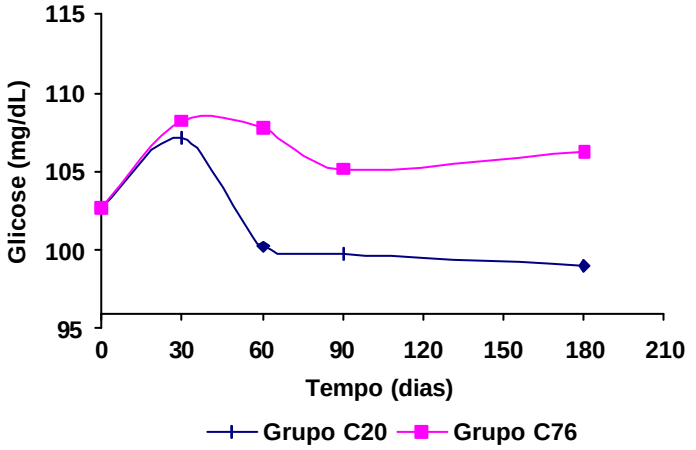

Figura 21 – Valores de glicose plasmática (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 27 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Lactato (mmol/L)
T0	0	1,13 ± 0,07
T1	12	1,08 ± 0,08
T2	24	1,18 ± 0,06
T3	36	1,19 ± 0,09
T4	48	0,76* ± 0,05
	CV (%)	21,14

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 28 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Lactato (mmol/L)
T0	0	1,13 ± 0,07
T1	7	0,96 ± 0,05
T2	15	1,24 ± 3,16
T3	30	0,85 ± 0,07
	CV (%)	21,14

Tabela 29 – Valores médios do lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Lactato (mmol/L)	
		C20	C76
T0	0	1,13 a A	1,13 a A
T1	30	0,96 a A	0,97 a A
T2	60	0,87 a A	0,95 a A
T3	90	0,91 a A	0,95 a A
T4	180	0,89 a A	0,92 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

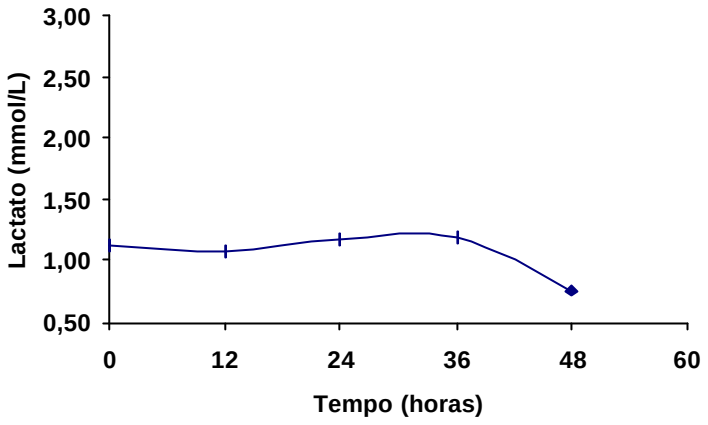

Figura 22 – Valores de lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

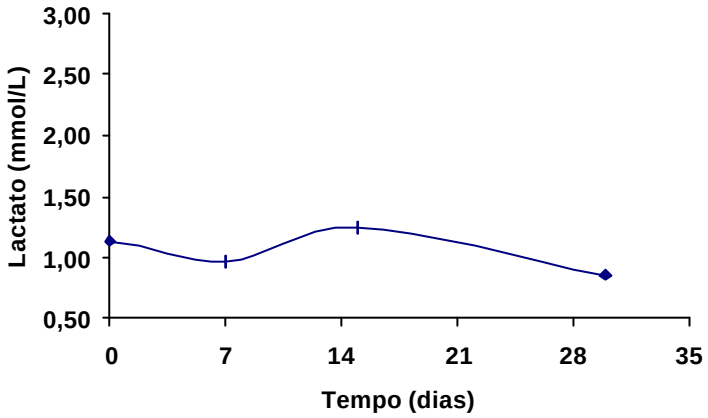

Figura 23 – Valores de lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

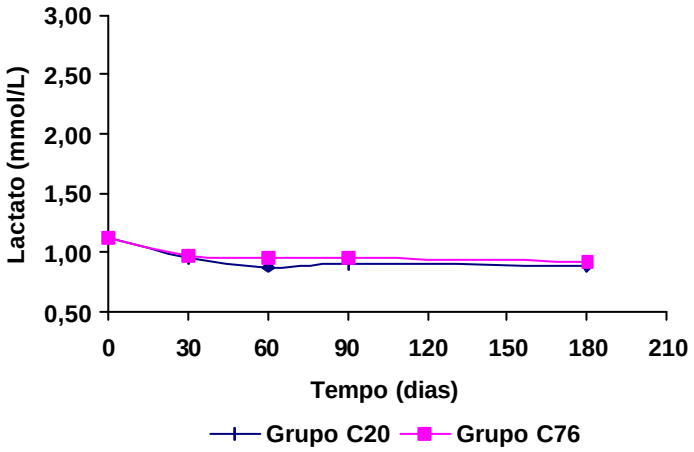

Figura 24 – Valores de lactato plasmático (mmol/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 30 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da bilirrubina total sérica (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Bilirrubina Total (mg/dL)
T0	0	1,27 ± 0,14
T1	12	1,04 ± 0,14
T2	24	1,01 ± 0,11
T3	36	0,96 ± 0,08
T4	48	1,10 ± 0,14
CV (%)		36,09

Tabela 31 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da bilirrubina total sérica (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Bilirrubina Total (mg/dL)
T0	0	1,27 ± 0,14
T1	7	1,56 ± 0,15
T2	15	1,66 ± 0,14
T3	30	1,86* ± 0,17
CV (%)		29,83

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 32 – Valores médios da bilirrubina total sérica (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Bilirrubina Total (mg/dL)	
		C20	C76
T0	0	1,27 a A	1,27 a A
T1	30	1,89 a A	1,73 a A
T2	60	1,72 a A	1,89 a A
T3	90	1,20 a A	1,50 a A
T4	180	1,24 a A	1,77 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

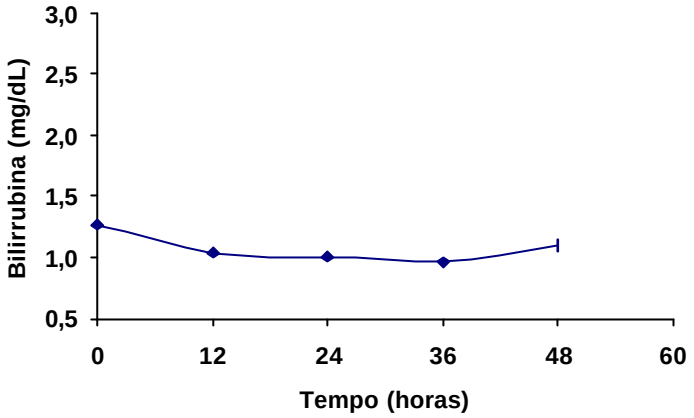

Figura 25 – Valores de bilirrubina total sérico (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

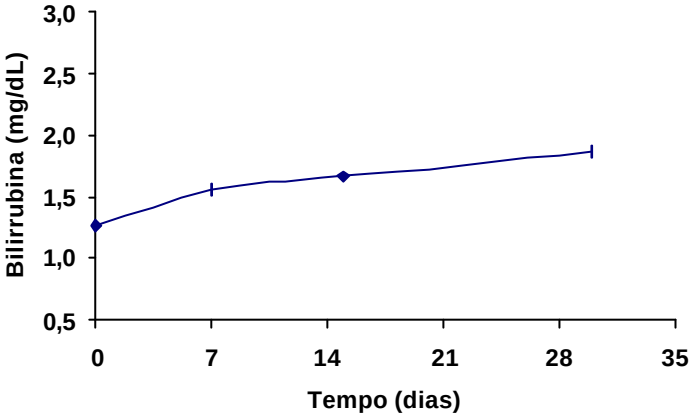

Figura 26 – Valores de bilirrubina total sérico (mg/dL) de eqüinos MM de amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

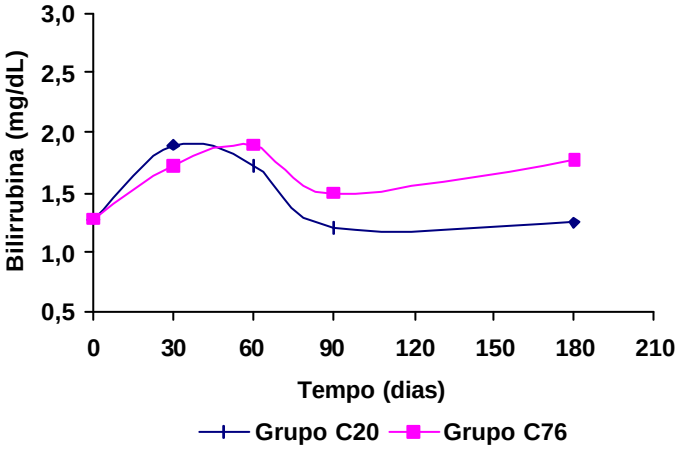

Figura 27 – Valores de bilirrubina total sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 33 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do magnésio sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Magnésio (mg/dL)
T0	0	2,01 ± 0,09
T1	12	2,28 ± 0,11
T2	24	2,28 ± 0,06
T3	36	2,33 ± 0,07
T4	48	2,21 ± 0,13
CV (%)		13,64

Tabela 34 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do magnésio sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Magnésio (mg/dL)
T0	0	2,01 ± 0,09
T1	7	1,78 ± 0,08
T2	15	1,78 ± 0,12
T3	30	1,79 ± 0,10
CV (%)		17,06

Tabela 35 – Valores médios do magnésio sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Magnésio (mg/Dl)	
		C20	C76
T0	0	2,01 a A	2,01 a A
T1	30	1,72 a A	1,85 a A
T2	60	1,65 a A	1,77 a A
T3	90	1,64 a A	1,71 a A
T4	180	1,60 a A	1,67 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

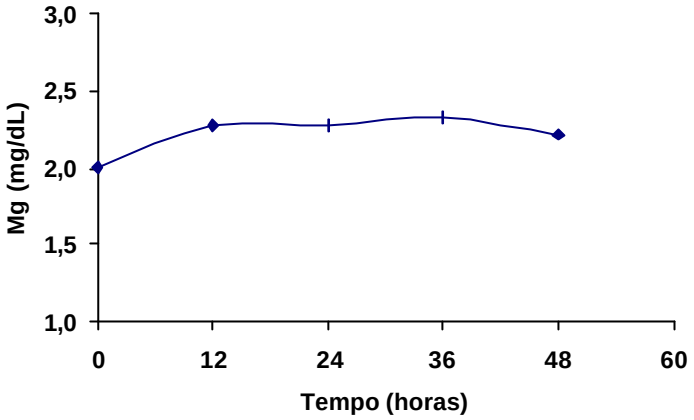

Figura 28 – Valores de Mg sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

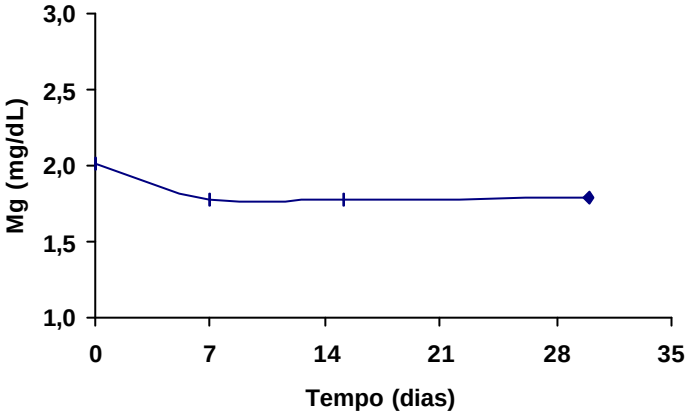

Figura 29 – Valores de Mg sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

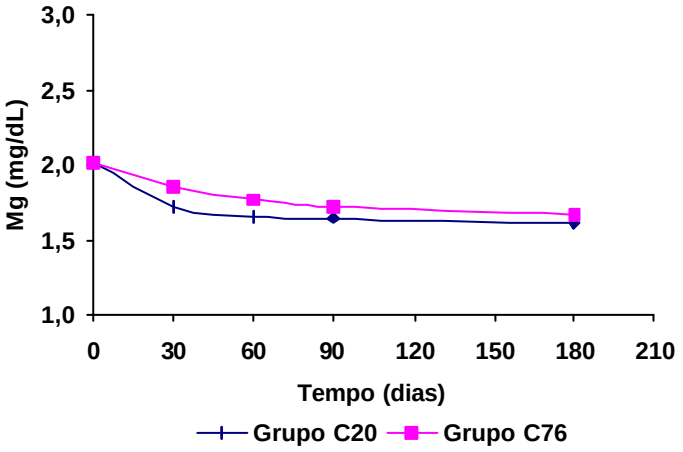

Figura 30 – Valores de Mg sérico (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 36 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Uréia (mg/dL)
T0	0	33,89 ± 1,76
T1	12	32,55 ± 3,25
T2	24	30,14 ± 1,87
T3	36	30,24 ± 1,96
T4	48	29,88 ± 2,48
CV (%)		23,48

Tabela 37 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Uréia (mg/dL)
T0	0	33,89 ± 1,76
T1	7	30,09 ± 2,18
T2	15	37,59 ± 1,82
T3	30	43,22* ± 1,98
CV (%)		16,94

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 38 – Valores médios e coeficiente de variação da uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Uréia (mg/dL	
		C20	C76
T0	0	33,89 a A	33,89 a A
T1	30	40,94 a A	38,21 a A
T2	60	40,42 a A	38,29 a A
T3	90	31,43 a A	31,43 a A
T4	180	34,69 a A	36,96 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

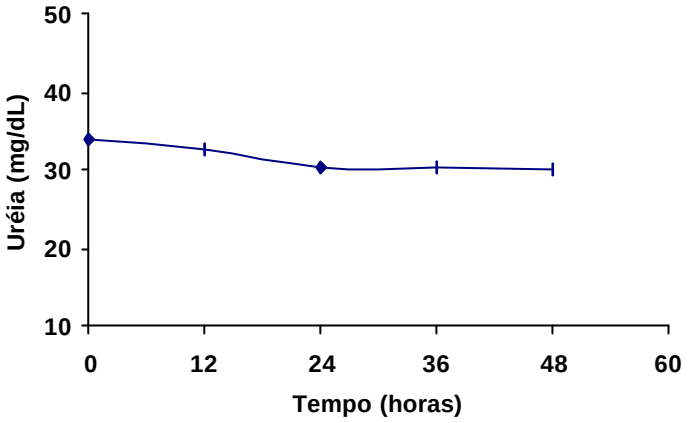

Figura 31 – Valores de uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

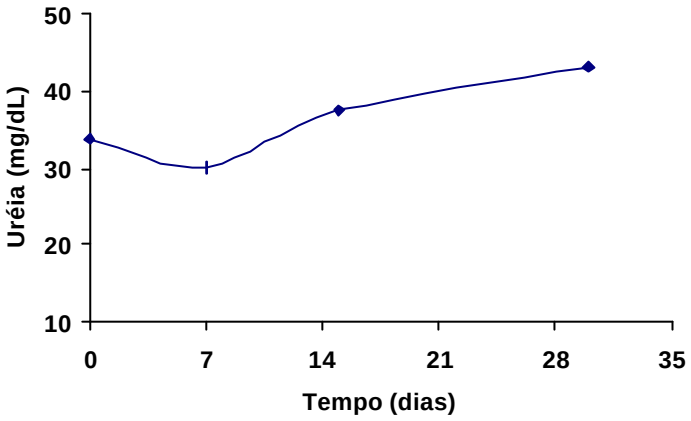

Figura 32 – Valores de uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

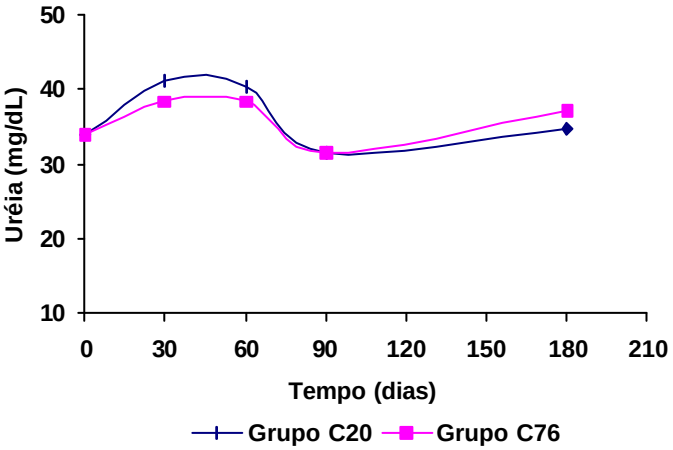

Figura 33 – Valores de uréia sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 39 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Creatinina (mg/dL)
T0	0	1,03 ± 0,04
T1	12	1,07 ± 0,04
T2	24	1,03 ± 0,04
T3	36	1,03 ± 0,03
T4	48	1,05 ± 0,03
CV (%)		11,18

Tabela 40 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação da creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Creatinina (mg/dL)
T0	0	1,03 ± 0,04
T1	7	1,01 ± 0,03
T2	15	0,95 ± 0,03
T3	30	0,94 ± 0,03
CV (%)		11,78

Tabela 41 – Valores médios da creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Creatinina – mg/dL	
		C20	C76
T0	0	1,03 a A	1,03 a A
T1	30	0,97 a A	1,03 a b A
T2	60	0,89 a A	0,95 a b A
T3	90	1,04 a A	1,13 b A
T4	180	0,92 a A	0,93 b A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

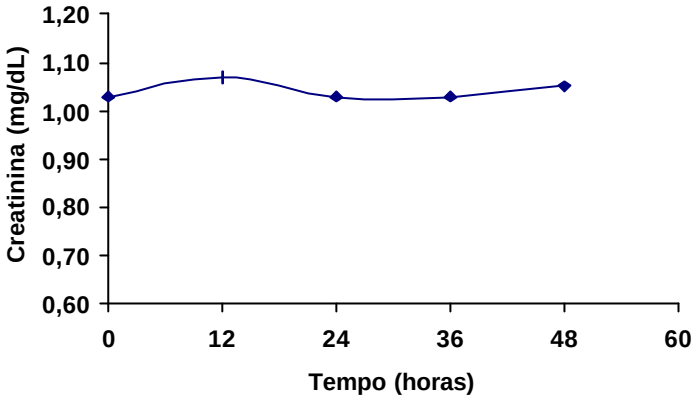

Figura 34 – Valores de creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

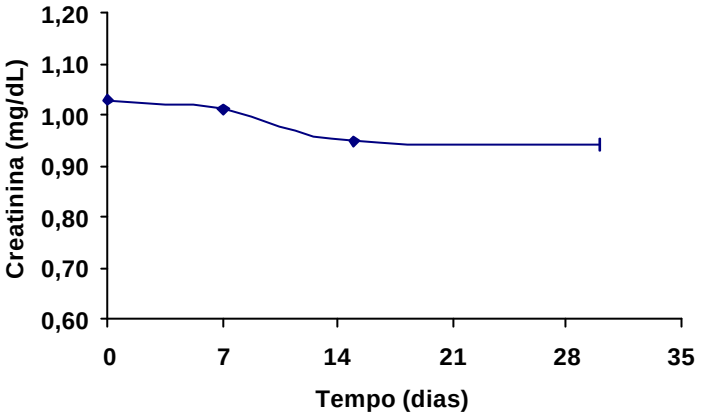

Figura 35 – Valores de creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

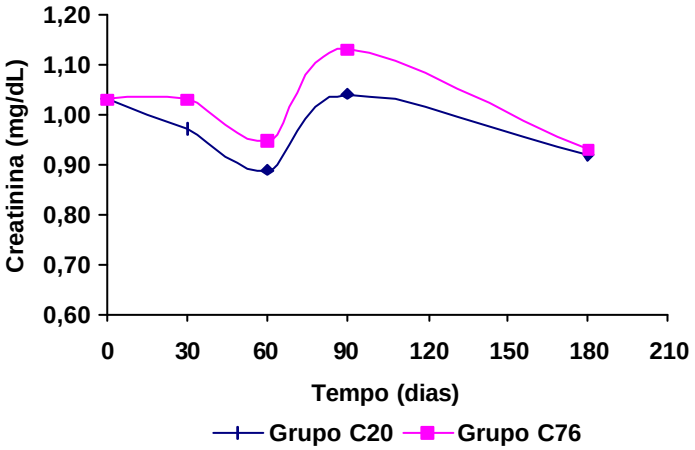

Figura 36 – Valores de creatinina sérica (mg/dL) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20°C e -76°C, por 180 dias.

4.2.2. Discussão

4.2.2.1. Glicose

A glicose, ao entrar na célula, tem vários destinos metabólicos, dependendo do tipo de célula e do estado energético celular (HARVEY e KANEKO, 1976; LEHNINGER, 1986; BEITZ, 1996). Seus valores são utilizados como indicador do metabolismo de carboidratos no organismo e também podem ser usados para mensurar a função endócrina do pâncreas (COLVILLE, 2005). No presente estudo os níveis de glicose apresentaram-se estáveis nas amostras mantidas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) por 48 horas e nas refrigeradas a 5ºC por 30 dias (Tabelas 24 e 25, Figuras 19 e 20), diferindo dos resultados obtidos por Manston *et al*. (1974), que encontraram diminuição na glicose sangüínea de bovinos com 48 horas de conservação, e dos resultados de Weissman e Klein (1958), Clark *et al*. (1990), Astles *et al*. (1994) e Young e Bermes (1999), que encontraram diminuição da glicose em humanos com 24 horas a 25°C. Já Christopher e O'Neill (2000) encontraram decréscimo nos valores da glicose em felinos com 8 e 24 horas a 25ºC. Segundo Ferrante e Kronfeld (1994), a perda de glicose em amostras do plasma pode ser, em parte, atribuída ao metabolismo do eritrócito. A taxa média da diminuição na concentração da glicose nas amostras do sangue obtidas de eqüinos armazenadas em 20 a 22ºC foi aproximadamente 7% em 60 minutos. Colville (2005) relatou que os níveis de glicose podem cair 10% em 1 hora se a amostra de plasma for deixada em contato com os eritrócitos na temperatura ambiente. Concordando com o presente estudo Manston *et al*. (1974) não encontraram variação nos valores das amostras conservadas a 4°C por 96 horas. Guppy *et al*. (1992) e Colville (2005) citam que as amostras refrigeradas a zero e a 4ºC permaneceram estáveis por 72 horas e mantiveram o pH ideal.

Foi encontrada também estabilidade nas amostras armazenadas a -20 e a -76°C por 180 dias (Tabela 26, Figura 21), o que corrobora com os resultados de Morris *et al*. (2002), obtidos em ovinos.

4.2.2.2. Lactato

A dosagem do lactato nos eqüinos tem grande importância (GONZÁLEZ e SILVA, 2003), sendo usada mais freqüentemente como indicador do diagnóstico e prognóstico metabólico nos casos de cólica e para avaliar o desempenho do exercício nesses animais (MOORE *et al*., 1976; GOSSET *et al*., 1987; WHITE, 1987, 1990; PARRY *et al*., 2003; HENDRIX, 2005). O teor de lactato no plasma de eqüinos sadios geralmente apresenta valor inferior a 1,5 mmol/L (ANDERSON, 1975). Segundo Kaneko *et al*. (1997), o valor de referência é de 1,11 a 1,78 mmol/L.

Nos dados referentes à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), observou-se que os valores de lactato plasmático obtidos no T0, T1, T2 e T3 estavam na faixa de referência, semelhantes aos resultados obtidos por Christopher e O'Neill (2000). Os autores, ao avaliarem o lactato de gatos em plasma armazenado durante 8 horas à temperatura ambiente, não observaram alterações significativas. Por outro lado, Ferrante e Kronfeld (1994), mensurando o lactato plasmático de eqüinos, encontraram valores inferiores dos do presente estudo, em amostras mantidas a 22ºC por 1 hora. Segundo Väihkönen *et al*. (1999), há influência nos valores de referência do lactato plasmático de eqüinos quando as amostras são armazenadas por 24 horas a 20ºC.

Nos valores referentes às concentrações de lactato do plasma no T4 (48 horas) (Tabela 27, Figura 22) à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), houve diminuição, possivelmente ocasionada por alteração na molécula do lactato decorrente do processo de conservação.

As amostras mantidas sob refrigeração (5°C) apresentaram-se estáveis por 30 dias, pois como citou Hendrix (2005) as amostras plasmáticas obtidas com o anticoagulante fluoreto-oxalato ficam estáveis por aproximadamente 30 dias a 4°C. No estudo de King *et al*. (1994), constatou-se diminuição nas amostras armazenadas por 2, 24 e 96 horas a 4ºC.

As amostras congeladas a -20°C e a -76°C mantiveram-se estáveis durante toda a fase experimental (Tabela 29, Figura 24).

4.2.2.3. Bilirrubina total

Considerando que o comportamento da bilirrubina total diante dos métodos de conservação está diretamente relacionado às oscilações ocorridas nos valores de bilirrubina direta e indireta, a discussão a seguir será em relação aos resultados obtidos para a bilirrubina total. A espécie eqüina tem a característica de apresentar hiperbilirrubinemia fisiológica decorrente do jejum. É por isto que no jejum o eqüino pode ficar ictérico. A icterícia, especialmente visível na esclerótica, é o sinal físico mais evidente da hiperbilirrubinemia (TASKER, 1978; CARLSON, 1993).

Os valores representados na Tabela 31 e na Figura 26 indicam que o teor de bilirrubina total apresentou aumento nas amostras refrigeradas (5°C) no T3 (30 dias); nos outros métodos de conservação estudados, manteve-se estável durante todo o período experimental. Segundo Doretto (1996), é possível que a conjugação hepática desse pigmento altere a constituição molecular, a ponto de ser influenciada por mudanças de temperatura no meio em que se encontra. A instabilidade verificada também pode ser explicada pelo fato de as amostras não terem sido protegidas da luz, nem durante a coleta e nem na fase de processamento e armazenagem do soro sangüíneo, em todos os grupos estudados no presente trabalho. Por outro lado, Leite *et al*. (2003) encontraram estabilidade nas amostras de bilirrubina total em humanos por nove meses a -70ºC.

Os resultados deste estudo comprovaram a estabilidade nas amostras de bilirrubina total à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) por 48 horas e congeladas a -20 e a -76°C por 180 dias de armazenagem. No estudo de Ogilvie *et al*. (1985) a bilirrubina total plasmática de gatos e de eqüinos permaneceu estável a -20ºC, por até 168 horas (7 dias), o que corrobora com os resultados do presente estudo. Entretanto, Souza *et al*. (2004) relataram que a alíquota do soro para determinação da bilirrubina em bovinos permaneceu sob refrigeração, sendo realizada a análise até 24 horas após a coleta do material, sem interferir nos resultados.

4.2.2.4. Magnésio – Mg

O Mg é encontrado em todos os tecidos corporais (COLVILLE, 2005) e é considerado um elemento extremamente importante para o metabolismo de carboidratos, lipídios (co-fator enzimático de várias enzimas) e dos líquidos intra e extracelular (UNDERWOOD, 1981). Segundo Kaneko *et al*. (1997), a faixa de referência para este eletrólito em eqüinos é 2,2 – 2,8 mg/dL, devendo-se ressaltar que vários autores aplicam métodos diferentes para determinar seus valores, muitos dos quais são subjetivos (GHERGARIU *et al*., 1984).

No presente estudo a concentração sérica de Mg total permaneceu estável durante toda a fase experimental. Embora esses valores não tenham sido significativos, houve um discreto aumento, o que pode ser atribuído a uma extrusão do Mg, das plaquetas e dos eritrócitos e, também, à hemólise *in vitro*, como citou Lindner (1991b).

As amostras refrigeradas a 5°C (Tabela 34, Figura 29) e as congeladas a -20 e a -76°C (Tabela 12, Figura 35) apresentaram estabilidade em todos os tempos estudados. Resultados semelhantes foram obtidos por Fontaine *et al*. (1987), que não encontraram alterações nas amostras de magnésio sérico de eqüinos mantidas a 4, 20 e -22°C por vários dias.

4.2.2.5. Uréia

A determinação da uréia em fluidos biológicos é um importante parâmetro para o diagnóstico clínico do funcionamento hepático e renal, além de ser um dos indicativos da condição nutricional dos animais. A uréia sérica origina-se do metabolismo hepático de compostos nitrogenados e é eliminada do organismo por via renal (STOCKHAM, 1995; FERNANDES e LARSSON, 2000). Seus valores de referência em eqüinos são de 10–24 mg/dL (KANEKO *et al*., 1997).

Os valores da uréia sérica, neste estudo, demonstraram estabilidade em soro mantido à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) durante as 48 horas de armazenagem. Provavelmente esses valores estáveis são devido

ao fato de a uréia apresentar baixo peso molecular e alta permeabilidade através das membranas celulares, sendo afetada com as mudanças de temperatura (GUSTAFSSON e PALMQUIST, 1993; MOORE e VARGA, 1996; BUTLER, 1998). Estabilidade nos valores da uréia sérica por 48 horas à temperatura ambiente também foi obtida por Doretto (1996).

Avaliando os valores de uréia no soro e no plasma de cães, Fernandes *et al*. (2001) revelaram que o soro conservar-se por mais tempo que o plasma nas diferentes temperaturas estudadas, caracterizando grande flexibilidade na conservação deste para dosagens de uréia, desde que respeitadas as condições de coleta e utilização de material estéril. Os referidos autores também encontraram estabilidade nas amostras mantidas à temperatura ambiente (25°C) nos tempos 0, 2, 6, 12 e 24 horas.

No soro mantido sob refrigeração (5°C) no T3 (30 dias), a concentração da uréia apresentou aumento (Tabela 37, Figura 32). Esse resultado possivelmente foi ocasionado pela concentração do soro, decorrente do processo de conservação. Esses dados contrapõem os obtidos por Doretto (1996), que encontrou estabilidade nos valores da uréia sérica por até 90 dias nas amostras mantidas a 5°C, e também por Hanok e Kuo (1968), que estocaram soro humano por 21 dias e constataram que a uréia manteve-se estável por apenas cinco dias sob refrigeração (5°C), diminuindo nos tempos subseqüentes.

As amostras congeladas a -20 e -76°C (Tabela 38, Figura 33) apresentaram estabilidade em toda a fase experimental. Resultados diferentes foram encontrados por Giorgetti *et al*. (1989), que demonstram que os níveis de uréia em bovinos e ovinos apresentaram diminuição no soro mantido congelado a -20ºC por 30 e 60 dias. Apesar de não apresentarem valores significativos, no presente estudo observou-se aumento, o que possivelmente tenha ocorrido durante o armazenamento, em virtude da hidrólise alcalina das proteínas ou de outras sustâncias amoniogênicas decompostas, como citaram Reif (1960), Reinhold *et al*. (1961), Conn (1965) e Ogilvie *et al*. (1985), pois a síntese da uréia fornece um mecanismo para a excreção da substância amônia durante o catabolismo dos aminoácidos. O ciclo da uréia incorpora duas moléculas de amônia em cada molécula de uréia (FINCO, 1997).

Estabilidade nos valores da uréia armazenada a -20 e -25°C, em diferentes espécies e tempos, foi observada por Hanok e Kuo (1968), Ogilvie *et al*. (1985), Wittwer *et al*. (1986) e Doretto (1996). Por outro lado, Fernandes et al. (2001) encontraram diminuição nos valores de uréia em amostras congeladas a -20°C por 60 dias, porém os autores não discutem os resultados obtidos.

4.2.2.6. Creatinina

Os níveis sangüíneos de creatinina são usados para avaliação da função renal, com base na capacidade dos glomérulos filtrarem a creatinina do sangue e eliminarem na urina (COLVILLE, 2005). Segundo Kaneko *et al*. (1997), seus valores de referência em eqüinos são de 1,2 a 1,9 mg/dL.

Neste estudo, os valores de creatinina apresentaram-se estáveis durante todo o período experimental nas amostras mantidas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), nas refrigeradas a 5°C e nas congeladas a -20°C (Tabelas 39, 40 e 41. Figuras 34, 35 e 36). É possível que a estabilidade encontrada seja decorrente da sua conformação e de seu baixo peso molecular, que segundo KANEKO *et al*. (1997) são pouco influenciados por mudanças de temperatura.

Resultados semelhantes foram obtidos em diferentes, espécies por Thoresen *et al*. (1992), Doretto (1996) e Fernandes *et al*. (2001).

Nas amostras congeladas a -76°C, os valores de creatinina apresentaram aumento no T3 (90 dias) e diminuição significativa no T4 (180 dias) (Tabela 41, Figura 36). Possivelmente esses resultados foram decorrentes da metodologia de análise utilizada, além da espécie animal poder influenciar as condições ideais de conservação da amostra, como citaram Davy *et al*. (1984). Corroborando com os resultados de Fernandes *et al*. (2001) e contrapondo os resultados obtidos por Hanok e Kuo (1968) e Doretto (1996), que encontraram estabilidade na concentração desse metabólito quando a amostra foi congelada a -20°C, por diferentes períodos e espécies.

4.3. Influência do tempo e da temperatura sobre a estabilidade das enzimas do soro sangüíneo de eqüinos mangalarga marchador: fosfatase alcalina, gama-glutamil-transferase, aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase

4.3.1. Resultados

Os resultados obtidos no presente estudo encontram-se representados sob a forma de tabelas e figuras enumeradas. As representações gráficas demonstram os valores médios obtidos nos dez animais para cada constituinte sangüíneo estudado nos determinados tempos de conservação.

Tabela 42 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte FA sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Fosfatase Alcalina (U/L)
T0	0	575,20 ± 41,94
T1	12	539,80 ± 37,91
T2	24	560,20 ± 37,99
T3	36	524,90 ± 38,67
T4	48	145,30* ± 5,88
CV (%)		23,68

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 43 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte FA sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Fosfatase Alcalina (U/L)
T0	0	575,20 ± 41,94
T1	7	505,60 ± 35,91
T2	15	509,20 ± 40,99
T3	30	519,20 ± 37,74
CV (%)		23,52

Tabela 44 – Valores médios do constituinte FA sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Fosfatase Alcalina (U/L)	
		C20	C76
T0	0	575,20 a A	575,20 a A
T1	30	544,30 a A	584,90 a b A
T2	60	539,20 a A	622,90 a b A
T3	90	481,90 a b A	471,60 b c A
T4	180	350,00 b A	365,20 c A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

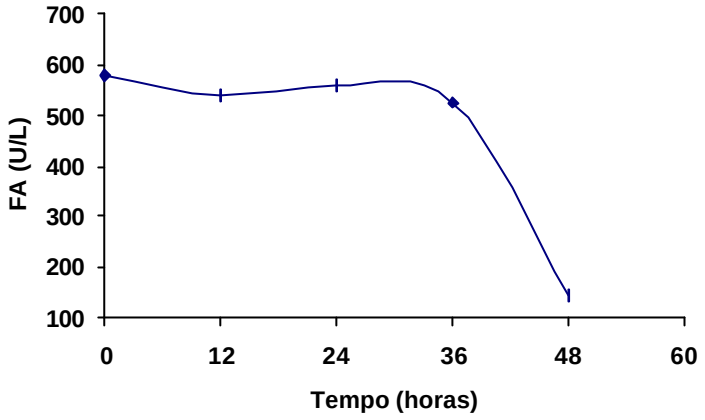

Figura 37 – Valores de FA sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6ºC a 29,6°C), por 48 horas.

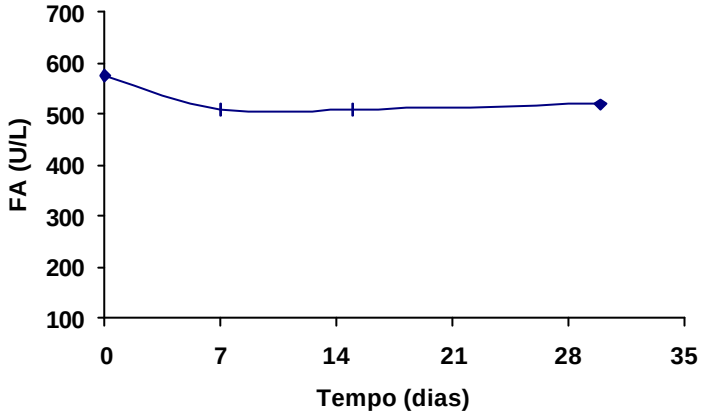

Figura 38 – Valores de FA sérica (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

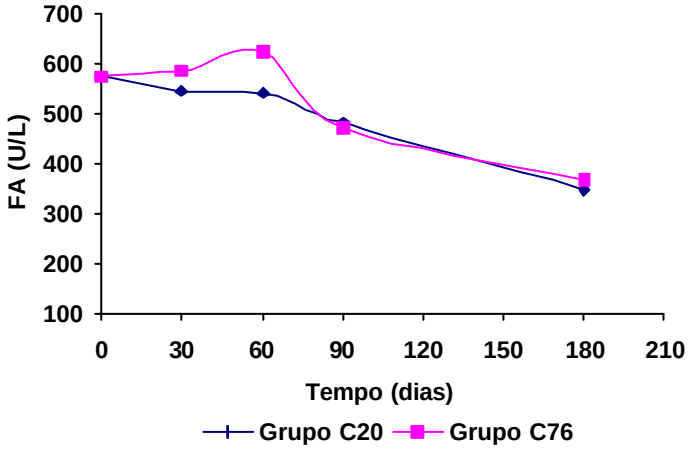

Figura 39 – Valores de FA sérica (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 45 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Gama GT (U/L)
T0	0	15,90 ± 1,08
T1	12	18,50 ± 0,97
T2	24	16,40 ± 1,13
T3	36	17,60 ± 0,96
T4	48	17,90 ± 1,59
CV (%)		21,42

Tabela 46 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Gama GT (U/L)
T0	0	15,90 ± 1,08
T1	7	16,70 ± 0,54
T2	15	16,00 ± 1,29
T3	30	15,30 ± 0,98
CV (%)		19,99

Tabela 47 – Valores médios do constituinte GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Gama GT (U/L)	
		C20	C76
T0	0	15,90 a A	15,90 a A
T1	30	16,20 a A	18,30 a A
T2	60	14,50 a A	15,90 a A
T3	90	15,10 a A	16,10 a A
T4	180	16,10 a A	15,90 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

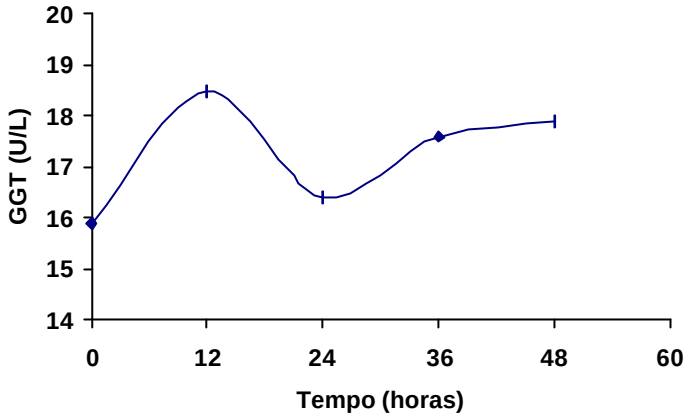

Figura 40 – Valores de GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), por 48 horas.

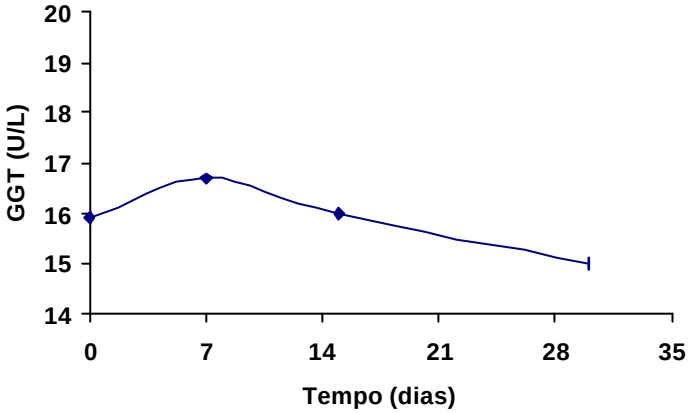

Figura 41 – Valores de GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

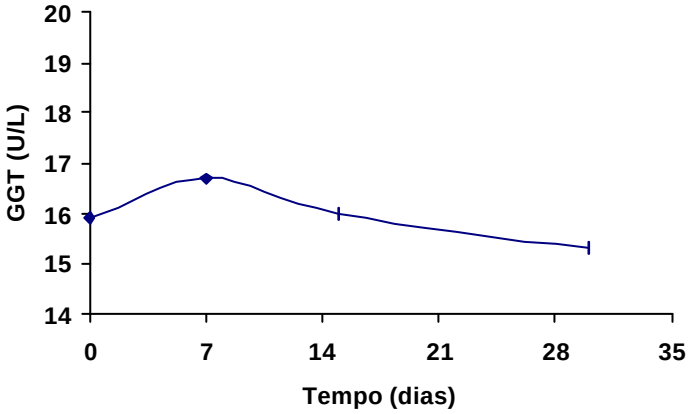

Figura 42 – Valores de GGT sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 48 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	AST (U/L)
T0	0	310,80 ± 9,95
T1	12	291,30 ± 11,06
T2	24	286,90 ± 10,75
T3	36	277,30 ± 7,68
T4	48	291,00 ± 10,89
CV (%)		11,00

Tabela 49 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	AST (U/L)
T0	0	310,80 ± 9,95
T1	7	229,20 ± 33,58
T2	15	214,50* ± 31,36
T3	30	179,40* ± 11,74
CV (%)		38,96

* Os tratamentos diferem significativamente pelo teste F ($p < 0,05$).

Tabela 50 – Valores médios do constituinte AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	AST (U/L)	
		C20	C76
T0	0	310,80 a A	310,80 a A
T1	30	278,70 a A	270,28 a A
T2	60	237,13 a A	234,45 a A
T3	90	233,45 a A	229,89 a A
T4	180	223,90 a A	238,30 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

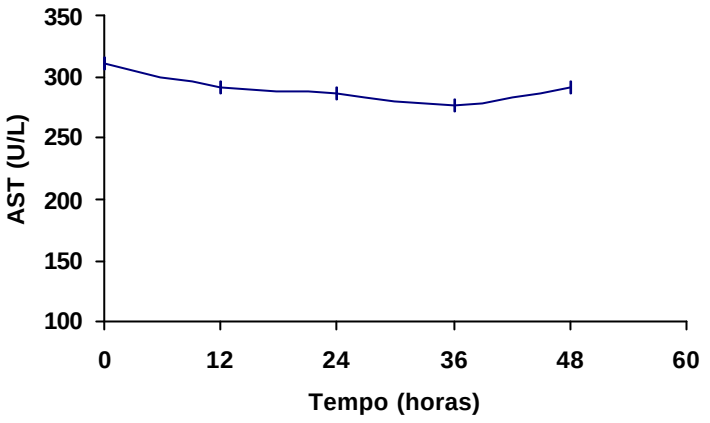

Figura 43 – Valores de AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) , por 48 horas.

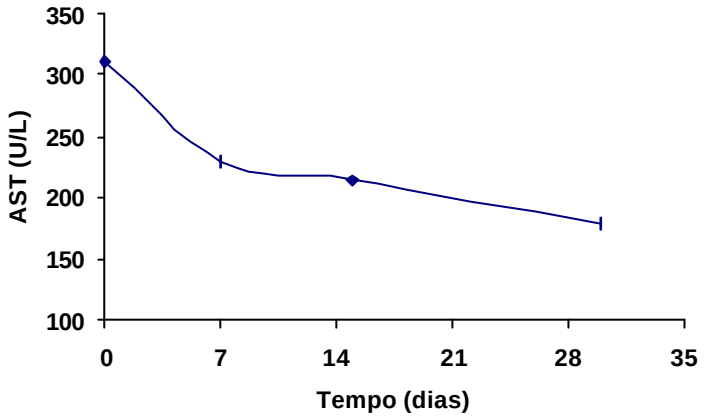

Figura 44 – Valores de AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

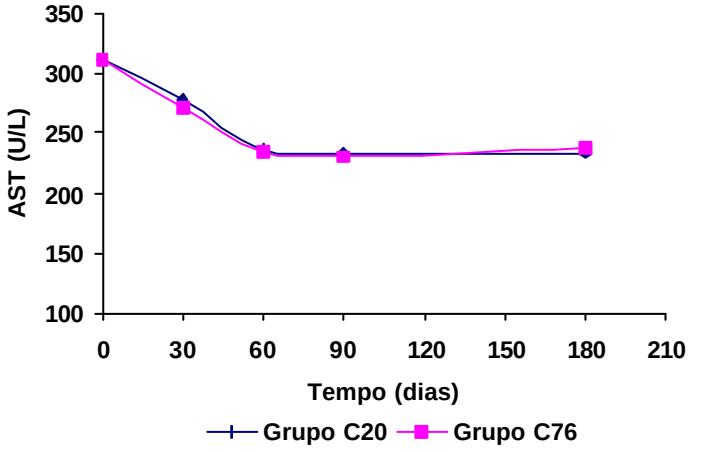

Figura 45 – Valores de AST sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20°C e -76°C, por 180 dias.

Tabela 51 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	Creatina quinase (U/L)
T0	0	297,90 ± 28,83
T1	12	282,20 ± 41,33
T2	24	244,10 ± 22,39
T3	36	218,80 ± 16,91
T4	48	236,80 ± 21,13
CV (%)		33,94

Tabela 52 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	Creatina quinase (U/L)
T0	0	297,90 ± 28,83
T1	7	263,70 ± 29,98
T2	15	241,80 ± 25,65
T3	30	254,10 ± 26,34
CV (%)		33,20

Tabela 53 – Valores médios do constituinte CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	Creatina quinase (U/L)	
		C20	C76
T0	0	297,90 a A	297,90 a A
T1	30	278,50 a A	286,70 a A
T2	60	259,50 a A	259,00 a A
T3	90	248,30 a A	251,30 a A
T4	180	239,80 a A	259,60 a A

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

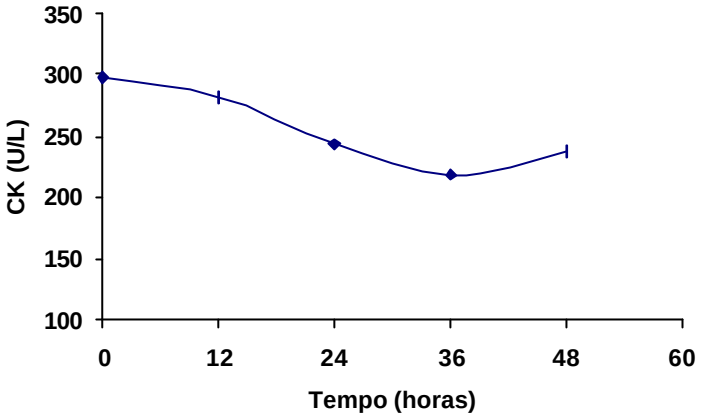

Figura 46 – Valores de CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) , por 48 horas.

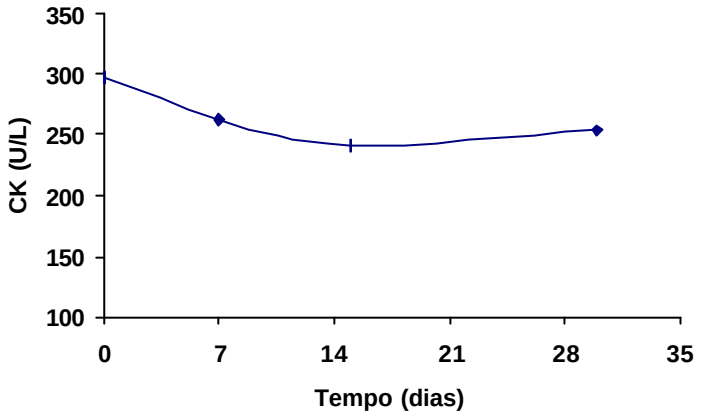

Figura 47 – Valores de CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

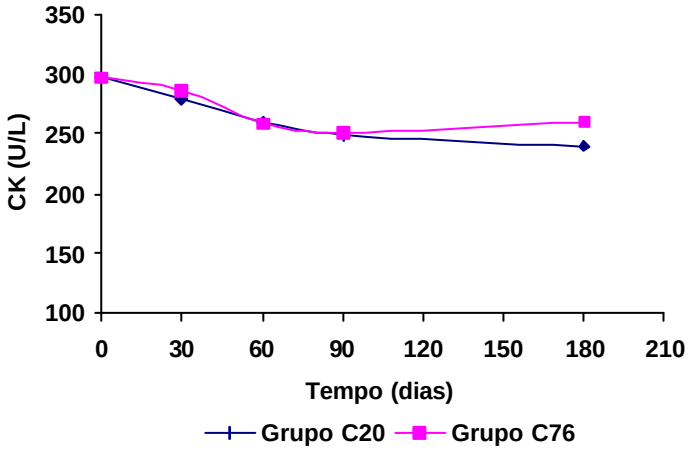

Figura 48 – Valores de CK sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

Tabela 54 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte LDH sérico (U/L) de soro sangüíneo de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)

Tratamentos	Tempo (horas)	LDH (U/L)
T0	0	878,80 ± 43,52
T1	12	818,40 ± 29,67
T2	24	788,90 ± 25,46
T3	36	779,80 ± 28,22
T4	48	820,10 ± 35,56
CV (%)		12,82

Tabela 55 – Valores médios, erro-padrão da média e coeficiente de variação do constituinte LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração (5°C)

Tratamentos	Tempo (dias)	LDH (U/L)
T0	0	878,80 ± 43,52
T1	7	773,10 ± 39,12
T2	15	671,20* ± 25,52
T3	30	622,70* ± 26,81
CV (%)		14,87

* Médias na mesma coluna seguidas diferem significativamente pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 56 – Valores médios do constituinte LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob congelamento a -20 e -76°C

Tratamentos	Tempo (dias)	LDH (U/L)	
		C20	C76
T0	0	878,80 a A	878,80 a A
T1	30	735,00 a b A	866,00 a A
T2	60	718,60 a b A	815,90 a A
T3	90	671,80 b A	809,46 a A
T4	180	597,30 b A	805,70 a B

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.
Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem significativamente (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

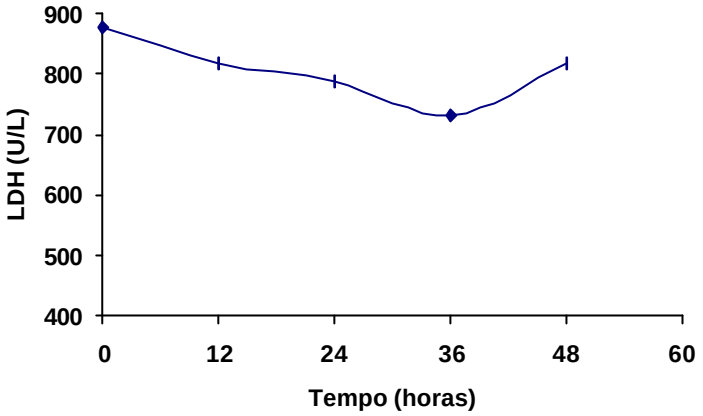

Figura 49 – Valores de LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas àtemperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) , por 48 horas.

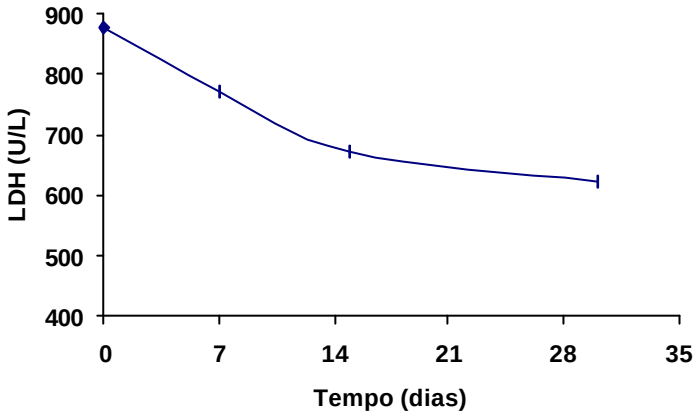

Figura 50 – Valores de LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras conservadas sob refrigeração a 5°C, por 30 dias.

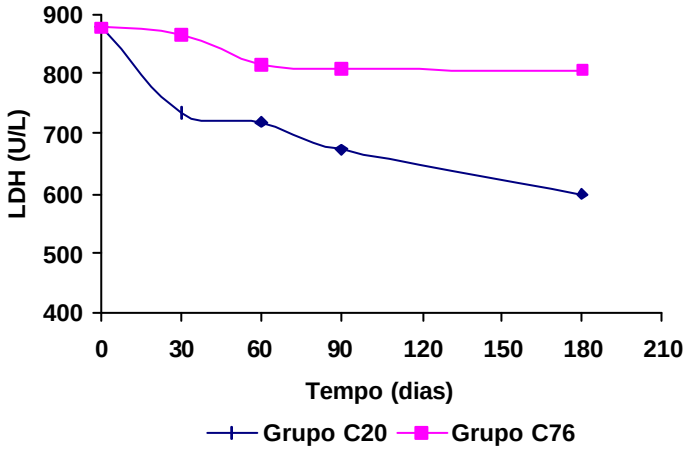

Figura 51 – Valores de LDH sérico (U/L) de eqüinos MM obtidos em amostras congeladas a -20 e -76°C, por 180 dias.

4.3.2. Discussão

4.3.2.1. Fosfatase alcalina – FA

A FA encontra-se em diversos tecidos, como fígado, osso, mucosa intestinal, placenta e rins, porém a enzima no soro provém principalmente dos ossos e do fígado (GONZÁLEZ e SILVA, 2003). Os níveis de FA aumentam nas crises gastrintestinais, por causa do comprometimento da mucosa e também nos distúrbios hepáticos, especialmente se os ductos biliares estiverem envolvidos, por superprodução de FA de origem hepática. Os valores de referência para eqüinos são 143 a 395 U/L (KANEKO *et al*., 1997).

A enzima FA apresentou-se instável nas amostras mantidas em temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), diminuindo no T4 (48 horas), o que pode ser justificado nesta pesquisa pela metodologia de análise utilizada. Estabilidade nos valores das amostras conservadas à temperatura ambiente foi detectada por Juul (1967) e Doretto (1996).

No presente estudo, as amostras refrigeradas (5°C) mantiveram-se estatisticamente estáveis em todo o período experimental, confirmando os resultados obtidos por Juul (1967), Hanok e Kuo (1968) e Doretto (1996). Nas amostras mantidas a -20°C houve diminuição no T3 (90 dias) e T4 (180 dias) e nas congeladas a -76°C observou-se aumento da FA no T2 (60 dias) e diminuição no T3 (90 dias) e T4 (180 dias). A causa para esta alteração é a instabilidade apresentada na concentração da FA quando congelada, como citaram Mundim *et al*. (2004). Doretto (1996) também encontrou variação nos valores da FA nas amostras mantidas a -20°C. Por sua vez, Hanok e Kuo (1968) encontraram estabilidade nos valores da FA, nas amostras mantidas por até 38 dias de conservação.

4.3.2.2. Gama-glutamiltransferase – GGT

A GGT é uma enzima localizada predominantemente nos hepatócitos, em menor concentração nos rins e em concentração bem menor no epitélio do trato biliar, intestino, coração, pâncreas, baço e cérebro. Sua principal

função é catalisar a transferência de aminoácidos e peptídeos através das membranas celulares (DAVY *et al*., 1984; LINDNER, 1991b; MUNDIM *et al*., 2004; BALARIN *et al*., 2005). Os valores de referência da enzima GGT para eqüinos variam de 4,3 a 13,4 U/L (KANEKO *et al*., 1997).

A análise dos resultados estudados demonstra a estabilidade da atividade enzimática da GGT em todos os tratamentos avaliados e em toda a fase experimental (Tabelas 45, 46 e 47, Figuras 40, 41 e 42). Esses resultados se encontram apoiados nos estudos experimentais de Shaw (1983), que relatou a estabilidade da enzima em soro mantido a -20°C por até 280 dias, nos de Juel e Curry (1974), onde foi observada estabilidade nos valores para GGT em soro conservado a 4, 10 e 25°C, por 72 horas, e nos de Doreto (1996), que também demonstrou estabilidade nos valores para GGT sérica de bovinos nas amostras armazenadas a 5 e a -20°C.

Por outro lado, os resultados de Braun *et al*. (1983) opõem-se aos da presente pesquisa, já que os autores encontraram instabilidade nas amostras da GGT sérica bovina mantidas à temperatura ambiente (22°C) e sob refrigeração (5°C); aos de Framstad *et al*. (1989), que constataram instabilidade na enzima de soro suíno a temperatura ambiente (22°C), e aos de Doretto (1996), que apresentaram aumento acentuado dos seus valores após o momento inicial do estudo em soro bovino mantido em temperatura ambiente (25°C).

4.3.2.3. Aspartato aminotransferase – AST

A AST existe em muitos tecidos, sendo mais abundante no fígado e nos músculos. Seu uso é como indicador de danos nesses tecidos (GONZÁLEZ e SILVA, 2003). Segundo Kaneko *et al*. (1997), os valores de referência para eqüinos variam de 226 a 366 U/L.

Os resultados encontrados para a atividade sérica da enzima AST demonstraram estabilidade sob temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) por 48 horas. Estudos de Juul (1967) e Framstad *et al*. (1989), realizados com soro de humanos e suínos, mostraram resultados, em parte, semelhantes com os encontrados neste estudo, uma vez que os autores concluíram que a estabilidade da transaminase manteve-se por até oito dias, quando

conservada à temperatura ambiente (25°C). Já no estudo de Slesingr (1969) foi detectado que a enzima AST apresenta pouca estabilidade quando conservada a 3 e 20°C durante 96 horas.

Constatou-se diminuição nas amostras mantidas sob refrigeração (5°C) no T2 e T3 (15 e 30 dias), como demonstrado nas Tabelas 48, 49 e 50 e nas Figuras 43, 44 e 45. É possível que a concentração tenha diminuído em função da meia-vida desta enzima, que segundo Burtis *et al*. (1978) e González e Silva (2003) é de 18 horas em temperatura ambiente. Por outro lado, no estudo de Jones (1989), em ovinos, foram encontrados valores aumentados de AST durante o armazenamento por três dias.

Nas amostras congeladas a -20 e a -76°C, constatou-se estabilidade em todo o período experimental.

4.3.2.4. Creatina quinase – CK

A CK é considerada uma das enzimas mais órgão-específico disponíveis para avaliação clínica das enfermidades neuromusculares dos animais domésticos (CARDINET, 1997; COLVILLE, 2005; LOPES *et al*., 2005). Os valores de referência para eqüinos variam de 2,4 a 23,4 U/L (KANEKO *et al*., 1997).

Nos resultados encontrados neste trabalho (Tabelas 51, 52 e 53, Figuras 46, 47 e 48), observou-se nos grupos TA, R5, C20 e C76 que a atividade da enzima permaneceu estável durante todo o período experimental. Instabilidade enzimática foi descrita por KANEKO *et al*. (1997), quando o soro sangüíneo foi armazenado à temperatura ambiente (25°C), sob refrigeração (5°C) e sob congelamento a -20°C, possivelmente devido à oxidação do grupo sulfídrico do seu sítio ativo. Adicionalmente, Jones (1985b) verificou alteração nos valores da CK em soro e em plasma de ovelhas submetidas a diferentes métodos de armazenagem. O autor constatou, ainda, que em soro bovino e em plasma contendo EDTA ou heparina a atividade da enzima foi estável, mas apresentou instabilidade em plasma contendo oxalato de cálcio. Rosalki (1967) obteve resultados semelhantes ao do presente estudo em soro humano. No entanto, Amador e

Wacker (1969) e Jones (1976) demonstraram que a enzima apresentou-se estável quando armazenada a -20°C, em diferentes tempos.

4.3.2.5. Lactato desidrogenase – LDH

A LDH é encontrada em vários tecidos, como coração, eritrócitos, fígado, músculo esquelético, rim, cérebro, pulmões e tecido linfóide. Desse modo, os valores de LDH total estarão elevados em uma série de situações clínicas. Devido à sua distribuição diversificada pelos tecidos, a dosagem da LDH total não é um indicador específico nem de doenças hepáticas e nem cardíacas. Porém, quando determinada conjuntamente com outras enzimas, ou quando fracionadas em isoenzimas, torna-se bastante útil para o diagnóstico dessas enfermidades (TOLLERSRUD, 1969; HATZIPANAGIOTOU *et al*., 1991; COLVILLE, 2005). Os valores de referência para eqüinos variam de 162 a 412 U/L (KANEKO *et al*., 1997).

Os resultados da atividade sérica da enzima LDH demonstraram estabilidade sob temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C) e nas amostras refrigeradas a 5°C diminuição no T2 e T3 (15 e 30 dias). A estabilidade desta enzima no presente trabalho é diferente dos resultados de Jones (1989), em temperatura ambiente (22°C), tanto no soro como no plasma de ovinos, cuja atividade enzimática da LDH diminuiu rapidamente. Corroborando com os resultados da presente pesquisa, Lazaroni *et al*. (1958), Farrow e Jones (1969), Freedland e Kramer (1970), Yamaoka e Kameya (1972) e Lohni e Thornton (1977) encontraram estabilidade por até 48 horas em temperatura ambiente (25°C) nas amostras de soro eqüino. A estabilidade da LDH armazenada à temperatura ambiente (25°C) também foi relatada para soro humano (KREUTZER e FENNIS, 1964), soro bovino (TOLLERSRUD, 1969) e soro de cães (FARROW e JONES, 1969) e quando o soro humano foi comparado com o de suínos (TOLLERSRUD, 1969). Lindner (1991a) não verificou alteração na enzima LDH em plasma eqüino resfriado a 4°C. por até quatro dias.

Entretanto, no soro eqüino resfriado analisado por Grün *et al*. (1977) e Sommer *et al*. (1983) a LDH manteve-se estável por meses. Judson *et al*. (1983) constataram que, nos testes sanguíneos em eqüinos com amostra

heparinizada, armazenada a 4°C, a atividade da LDH se manteve estável por seis dias.

Como demonstrado na Tabela 56 e na Figura 51, houve diminuição nos índices das amostras congeladas a -20°C no T3 e T4 (90 e 180 dias), e nas congeladas a -76°C mateve-se estável por 180 dias. Ao comparar esses dois grupos (C20 e C76), observa-se que a LDH foi mais bem conservada a -76°C, confirmando a citação de Jones (1989), que afirma que quanto menor a temperatura de armazenagem da enzima melhor a sua estabilidade. Por sua vez, Yamaoka e Kameya (1972) citaram que -20°C é a temperatura mais adequada para a conservação da LDH em soro de eqüinos. Já Ikeda *et al*. (1975) relataram que a atividade do LDH total do soro eqüino diminui em 25%, quando armazenado por 14 dias a -20°C.

5. CONCLUSÕES

Nas condições em que este experimento foi realizado, segundo a metodologia de análise utilizada para cada constituinte, conclui-se que:

1. Para armazenagem das amostras de PPT podem-se utilizar temperatura ambiente e refrigeração (5°C).

2. A albumina mantém-se estável quando congelada a -20 e a -76ºC, por 90 dias.

3. As amostras de fibrinogênio mantêm-se estáveis sob refrigeração a 5ºC, por 30 dias, e sob congelamento a -20 e a -76ºC, nos 180 dias.

4. O sódio pode ser conservado por 24 horas à temperatura ambiente; por 30 dias, quando refrigerado, e por 180 dias, a -20 e -76°C.

5. O eletrólito potássio pode ser conservado à temperatura ambiente por 48 horas, refrigerado por sete dias e congelado a -20 e a -76ºC por 180 dias.

6. Os íons cloreto são estáveis à temperatura ambiente por 48 horas e à refrigeração por 30 dias.

7. Na armazenagem da glicose, recomendam-se todos os tempos e temperaturas estudados.

8. Para a determinação do lactato, indicam-se a conservação a temperatura ambiente por 36 horas, a refrigeração a 5°C e o congelamento a -20 e a -76°C por até 30 e 180 dias, respectivamente.

9. Para a bilirrubina total o ideal de armazenagem são as temperaturas ambientes por 48 horas, a refrigeração a 5ºC por 15 dias e o congelamento a -20 e a -76ºC, por até 180 dias.

10. Para o magnésio, todos os tempos e temperaturas estudados mativeram-se estáveis, sendo ideais para a armazenagem.

11. As condições indicadas para armazenagem da uréia são temperatura ambiente por 48 horas, refrigeração durante 15 dias e congelamento a -20 e a -76°C, por até 30 e 180 dias.

12. Para a creatinina, todos os tempos e temperaturas estudados são indicados para a armazenagem, exceto no tempo de 180 dias a -20 e a -76ºC.

13. Na armazenagem das amostras da FA, observou-se que temperatura ambiente por 36 horas, refrigeração durante 30 dias e congelamento a -20 e a -76°C por até 60 e 30 dias, respectivamente, são indicados para avaliar a atividade desta enzima.

14. Para a GGT, todos os tempos e temperaturas são indicados, pois nenhuma variação foi encontrada nos estudos realizados.

15. Na armazenagem da AST, indicam-se a temperatura ambiente por 48 horas, a refrigeração a 5ºC por sete dias e o congelamento a -20 e a -76ºC por até 180 dias.

16. No caso da CK, a temperatura ambiente por 48 horas, a refrigeração (5ºC) por 30 dias e o congelamento a -20 e a -76ºC por 180 dias são os tempos indicados de armazenagem, encontrados neste estudo.

17. Para a armazenagem da LDH, os tempos e as temperaturas ideais de armazenagem são: temperatura ambiente por 48 horas, refrigeração (5ºC) por sete dias e congelamento a -20ºC durante 60 dias e a -76ºC por até 180 dias.

Foram evidenciadas alterações significativas na maioria dos constituintes sangüíneos, em todos os tempos e temperaturas estudados, com exceção da glicose, magnésio, GGT e CK. Apesar das alterações observadas, ocorreu predomínio na estabilidade das variáveis durante toda a fase experimental, permitindo concluir que cada constituinte tem o seu tempo e sua temperatura ideais de armazenagem. Neste caso, outros estudos podem ser realizados para elucidar os tempos e as temperaturas ideais dessas variáveis que apresentaram alterações em seus valores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.; McCLURE, J. J.; GOSSET, K. A.; KOONCE, K. L.; EZIGBO, C. Evaluation of a technique for measurement of gamma-glutamyltranspeptidase in equine urine. **Am. J. Vet. Res.**, v. 46, n. 1, p. 147-150, 1985.

AHSAN, S.; AFZAL, M.; AKHTAR, S. Effect of storage on some constituents of camel serum. **Austr. Vet. J.**, v., n. 72, p. 212-215, 1995.

ALVES, G. E. S.; RIBEIRO-FILHO, J. D.; OLIVEIRA, H. P.; ABREU, J. M. G. Tratamentos da compactação experimental do cólon maior em eqüinos: resultados de laboratórios e exames bioquímicos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 57, n. 3, p. 281-287, 2005.

AMADOR, E.; WACKER, N. E. C. **Methods of biochemical analysis**. New York: Intrascience, 1969, v. 13, p. 265-365.

ANDERSON, M. G. The effect of exercise on blood metabolite levels in the horse. **Equine Vet. J.**, v. 7, n. 1, p. 27-33, 1975.

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

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

ASSAL, A. N.; POULSEN, J. S. D. Acid-base status of equine blood during storage. **Nord. Vet. Med.**, v. 30, n. 9, p. 354-363, 1978.

ASTLES, R.; WILLIAMS, C. P.; SEDOR, F. Stability of plasma lactate in vitro in the presence of antiglycolytic agents. **Clin. Chem.**, v. 40, n. 7, p. 1327-1330, 1994.

BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Robe Editorial, 2003. 583 p.

BALARIN, M. R. S.; LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; LAPOSY, C. B.; FONTEQUE, J. H. Avaliação da glicemia e da atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gama-glutamiltransferase e lactato desidrogenase em eqüinos puro sangue inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Semina: Ciên. Agr.**, v. 26, n. 2, p. 211-218, 2005.

BARANOW-BARANOWSKI, S.; JANKOWIAK, D.; JANUS, K.; SKRZYPCZAK, W. F. Some physiological and biochemical indices in the blood serum of cows in the perinatal period and in the blood of their calves. II. Mineral elements and alkaline phosphatase activity. **Rocz. Nauk Roln.**, v. 104, n. 1, p. 19-29, 1988.

BECK, P. R.; SAMMONS, H. G. A stabilising factor for gamma-glutamyl transpeptidase in urine. **Clin. Chim. Acta**, v. 15, n. 65, p. 351-359, 1975.

BEITZ, D. C. Metabolismo dos carboidratos. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. (Ed.) **Dukes** – Fisiologia dos animais domésticos. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 398-411.

BENESI, F. J.; KOGIKA, M. M. Fluidoterapia. In: SPINOSA, H. S.; GORNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed.) **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1999. Cap. 54, p. 575-601.

BERGMAN, E.N. Distúrbios do metabolismo dos carboidratos e gordura. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. (Ed.) **Dukes** – Fisiologia dos animais domésticos. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. Cap. 27, p. 447-456.

BERNSTEIN, R. E. Potassium and sodium balance in mammalian red cells. **Science**, v. 17, n. 120, p. 459-460, 1954a.

BERNSTEIN, R. E. Biochemical changes in refrigerated blood. **S. Afr. J. Med. Sci.**, v. 19, n. 3, p.1 10-111, 1954b.

BERNSTEIN, R. E. Serum and plasma preparation for potassium analysis: effects of anticoagulants, storage time and temperature before separation, and haemolysis. **S. Afr. J. Med. Sci.**, v. 18, n. 3-4, p. 99-104, 1953.

BERNSTEIN, R. E. Correction of sources of error in the estimation of sodium, potassium and calcium in biological fluids and tissues by flame spectrophotometry. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 9, n. 5, p. 576-577, 1952a.

BERNSTEIN, R. E. The determination of potassium and sodium in biological fluids by flame spectroohotometry. **S. Afr. J. Med. Sci.**, v. 17, n. 3-4, p. 101-116, 1952b.

BLINCOE, C.; MARBLE, D. W. Storage stability of some bovine plasma enzymes. **Am. J. Vet. Res.**, v. 46, n. 6, p. 1242-1244, 1985.

BLOOD, D. C.; STUDDERT, V. P. **Dicionário de veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 974 p.

BRAUN, J. P.; BERNARD, P.; BURGAT, V.; RICO, A. G. Gamaglutamiltransferase in domestic animals. **Vet. Res. Commun.**, v. 6, p. 77-90, 1983.

BRAUN, J. P.; RICO, A. G.; BERNARD, P. Blood biochemistry in calf, foal and goat during the first two weeks of life. **Clin. Chem.**, v. 29, n. 6, p. 1210-1216, 1992.

BROWNLOW, M. A.; HUTCHINS, D. R. The concept of osmolality: its use in the evaluation of "dehydration" in the horse. **Equine Vet. J.**, v. 14, n. 2, p. 106-110, 1982.

BURTIS, C. A.; SAMPSON, E. J.; BAYSE, D. D.; Mc KNEALLY, S. S.; WHITNER V. S. An interlaboratory study of measurement of aspartate aminotransferase activity with use of purified enzyme materials. **Clin. Chem.**, v. 24, n. 6, p. 916-926, 1978.

BUTLER, W. R. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dary cows. **J. Dairy Sci.**, v. 81, n. 9, p. 2533-2539, 1998.

CAMPBELL, M. D.; BELLAMY, J. E. C.; SEARCY, G. P. Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse. **Am. J. Vet. Res.**, v. 42, n. 1, p. 100-104, 1981.

CARDINET, G. H. Skeletal Muscle Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. New York: Academic Press, 1997. Cap. 16, p. 407-435.

CARLSON, G. P. Thermoregulation and fluid balance in the exercising horse. In: SNOW, D. H.; PERSSON, S. G. B.; ROSE, R. J. (Ed.). **Equine exercise physiology**. 1983, p. 275-309.

CARLSON, G. P. Medical problems associated with protracted heat and work stress in horses. **Compend. Cont. Educ. Pract. Vet. Suppl.**, v. 7, n. 1, p. 542, 1985.

CARLSON, G. P. Testes de química clínica. In: SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, v. 1, p. 395-427, 1993.

CASTELLINI, M. A.; CASTELLINI, J. M.; KIRBY, V. L. Effects of standard anticoagulants and storage procedures on plasma glucose values in seals. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 201, n. 1, p. 145-8, 1992.

CHRISTOPHER, M. M.; O'NEILL, S. Effect of specimen collection and storage blood glucose and lactate concentrations in healthy, hyperthyroid and diabetic cats. **Vet. Clin. Pathol.**, v. 29, n. 1, p. 22-28, 2000.

CLARK, M. L.; HUMPHREYS, S. M.; FRAYN, K. N. Stability of plasma glucose during storage. **Ann. Clin. Biochem**., v. 27, n. 4, p. 373-377, 1990.

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

COLLATOS, C.; MORRIS, D. D. Fluid therapy. In: AUER, J. A.; STICK, J. A. (Ed.) **Equine surgery**. 2. ed. Saunders Company: Philadelphia, 1999. Cap. 5, p. 33-39.

COLVILLE, J. Bioquímica sangüínea. In: HENDRIX, C. M. **Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários**. 4. ed. São Paulo: Roca, 2005. cap. 3, p. 79-107.

CONN, H. O. Further observations on the lack of effect of isoniazid on the blood ammonia concentration. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 91, p. 108-111, 1965.

COSTA, A. P. D. **Determinação dos efeitos da desidratação experimental nos equilíbrios hidroeletrolítico e ácido-base de eqüinos**. 2003. 56 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos de Goytacazes, Rio Janeiro, 2003.

COUROUCÉ, A. Endurance and sprint training. In: CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE, 1., 1998, Cordoba, Espanha. **Anais**… Netherlands: Wageningen Pers, 1998. p. 190-202.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D. **Diagnostic cytology and hematology of the horse**. St. Louis: Mosby, 2002. 260 p.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 579 p.

CUTMORE, C. M.; SNOW, D. H.; NEWSHOLME, E. A. Activities of key enzymes aerobic and anaerobic metabolism in middle gluteal muscle from trained and untrained horse. **Equine Vet. J.**, v. 17, n. 5, p. 354-356, 1985.

DAVY, C. W.; JACKSON, M. R.; WALKER, J. M. Stabilities of some constituents of Marmoset (*Callithrix jacchus*) plasma under various conditions of storage. **Clin. Chem.**, v. 30, n. 1, p. 101-104, 1984.

DEARO, A. C. O.; REICHMANN, P. F. Fluidoterapia em grandes animais. Parte 1: água corpórea, indicações e tipos de fluidos. **Rev. Educ. Cont. CRMV-SP**, v. 4, n. 3, p. 3-11, 2001.

DEMETRIOU, J. A.; DREWES, P. A.; GIN, J. B. Principles and technics. In: HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKELMAN, J. W. (Ed.) **Clinical chemistry**. 2. ed. Hagerstown: Harper and Row, 1974. p. 879-88.

DE MORAIS, H. S. A.; DiBARTOLA, S. P. Mixed acid-base Disorders. Part I: Clinical approach. **Cont. Educ. Art.**, v. 15, n. 12, p. 1619-1626, 1993.

DESMECHT, D.; LINDEN, A.; AMORY, H.; ART, T.; LEKEUX, P. Relationship of plasma *lactate* production to cortisol release following completion of different types of sporting events in horses. **Vet. Res. Commun.**, v. 20, n. 4, p. 371-379, 1996.

DiBARTOLA, S. P. **Fluid therapy in small animal practice**. Philadelphia: Saunders Company, 2006. 720 p.

DIVERS, T. J.; JOHNSTON, J. K.; REEF, V. B.; ACLAND, H. Interpretation of electrolyte abnormalities in clinical disease in the horse. In: ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 32., 1986, Tennessee. **Proceedings**… Tenneesse: AAEP, 1986. p. 69-80.

DORETTO, J. S. **Influência do tempo e da temperatura de armazenagem sobre a estabilidade de alguns constituintes do soro sangüíneo de bovinos**. 1996. 49 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 1996.

DOXEY, D. L. **Patologia clínica e métodos de diagnóstico**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1985. 306 p.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217 p.

EADES, S. C.; BOUNOUW, D. I. **Laboratory profiles of equine diseases**, 1. ed. St. Louis: Mosby, 1997. 304 p.

EATON, M. D. Energetics and performace. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. (Ed.) **The athletic horse**: principles and practice of equine sports medicine. Philadelphia: Saunders, 1994, p. 49-62.

EATON, M. D.; HODGSON, D. R.; EVANS, D. L.; ROSE, R. J. Effects of low and moderate-intensity training on metabolic responses to exercise in thoroughbreds. **Equine Vet. J.**, Supl. 30, p. 521-527, 1999.

ECKE, P.; HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Induced diarrhea in horses. Part 2: Response to administration of an oral rehydration solution. **Vet. J.**, v. 155, n. 2, p. 161-170, 1998.

EPSTEIN, V. Changes in haematological values and plasma electrolytes following storage of whole blood samples collected from horses. **Aust. Vet. J.**, v. 61, n. 10, p. 325-327, 1984.

ERICKSON, H. H. Fisiologia do exercício. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. (Ed.) **Dukes** – Fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 278-296.

ERICKSON, R. J.; MORALES, B. S. Clinical use of lactic dehydrogenase. **New England J. Med.**, v. 7, n. 265, p. 478-482, 1961.

ESSEN-GUSTAVSSON, B.; KARLSTRÖM, K.; LINDHOLM, A. Fibre types, enzymes activities and subtrate utilization in skeletal muscles of horses competing in endurance rides. **Equine Vet. J.**, v. 16, n. 3, p. 197-202, 1984.

FARROW, B. R. H.; JONES, R. F. A technique for the examination of lactate dehydrogenase isoenzymes in the dog. **J. Small Anim. Pract.**, v. 10, n. 1, p. 339-344, 1969.

FENNER, W. R. **Consulta rápida em clínica veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 514 p.

FERNANDES, S. T.; TEIXEIRA, M. N.; SANTOS, E. S. Influência da temperatura e do tempo de armazenamento nas dosagens bioquímicas de uréia e creatinina em soro ou plasma caninos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 53, n. 6, p. 648-651, 2001.

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

FERRANTE, P. L.; KRONFELD, D. S. Effect of sample handling on measurement of plasma glucose and blood lactate concentrations in horses before and after exercise. **Am. J. Vet. Res.**, v. 55, n. 11, p. 1497-1500, 1994.

FINCO, D. R. Kidney function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. New York: Academic Press, 1997. Cap. 17, p. 441-484.

FONTAINE, M.; PIERRE, F. Stabilité des paremètres sanguins en fonction du temps, des conditions d'entreposage et de transport chez le cheval. **Med. Vet. Quebec.**, v. 17, p. 167-173, 1987.

FRAMSTAD, T.; HAVRE, G. N.; MORBERG, H. Effekt av lagring, separering og heparin på klinisk-kjemiske analyseresultater av griseblod. **Norsk Veterinaertidsskrift**, v. 101, n. 4, p. 237-243, 1989.

FRAPE, D. L. Diet and exercise performance in the horse. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 53, n. 1, p. 189-206, 1994.

FREEDLAND, R. A.; KRAMER, J. W. Use of serum enzymes as aids to diagnosis. **Adv. Vet. Sci. Comp. Med.**, v. 14, n. 1, p. 61-103, 1970.

FREESTONE, J. F. Fluid therapy: an integral part of treating common equine disorders. **Vet. Med.**, v. 88, n. 6, p. 563-570, 1993.

GERBER, H. Clinical features and therapy of chronic pulmonary diseases in the horse. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v. 11, n. 76, p. 234-239, 1969.

GHERGARIU, S.; ROWLANS. G. F.; POP, A.; DANIELESCU, N.; MOLDOVAN, N.A. A comparative study of metabolic profiles obtained in dairy herds in Romania. **Br. Vet. J.**, v. 140, n. 6, p. 600-608, 1984.

GIORGETTI, A.; LUPI, P.; MARTINI, A.; LAGORIO, O. Variability of results of metabolic profile analysis. I. First findings [for cattle and sheep] of the influence of the plasma storage method. **Obiettivi. Doc. Vet.**, v. 10, n. 6, p. 49-51, 1989.

GOMIDE, L. M. W.; MARTINS, C. B.; OROZCO, C. A. G.; SAMPAIO, R. C. L.; BELLI, T.; BALDISSERA, V.; LACERDA-NETO, J. C. Concentrações sangüíneas de lactato em eqüinos durante a prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural**, v. 36, n. 2, p. 509-513, 2006.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 1. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003. 198 p.

GOSSET, K. A.; CLEGHORN, B. S.; ADAMS, R. *et al*. Contribuition of whole blood L-lactate, pyruvate, D-lactate, acetoacetate, and 3-hydroxybutirate concentrations to the plasma anion gap in horses with intestinal disordens. **Am. J. Vet. Res.**, v. 48, n. 1, p. 72-75, 1987.

GRÜN, E.; SCHUHMACHER, U. Das verhalten von serumenzymen bei trainierten galopprennpferden im verlaufe von zwei rennjahren. **Mh. Vet. Med.**, v. 32, p. 866-873, 1977.

GUPPY, M.; ATTWOOD, P. V.; HANSEN, I. A.; SABARATNAM, R.; FRISINA, J.; WHISSON, M. E. pH, temperature and lactate production in human red blood cells: implications for blood storage and glycolytic control. **Vox. Sang.**, v. 62, n. 2, p. 70-75, 1992.

GUSTAFSSON, A. H.; PALMQUIST, D. L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. **J. Dairy Sci.**, v. 76, n. 2, p. 475-484, 1993.

GUSTAVSSON, B.; CURELARU, I.; HULTMAN E.; LINDNER L. E. Long central venous catheters – time for an evaluation. **Lakartidningen.**, v. 80, n. 4, p. 3929-3931, 1983.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973 p.

HAFKENSCHEID, J. C. M.; KOHLER, B. E. Temperature-conversion factors for four enzimes in comercial control sera. **Clin. Chem.**, v. 32, n. 8, p. 1616, 1986.

HANOK, A.; KUO, J. The stability of a reconstituted serum for the assay of fifteen chemical constituents. **Clin. Chem.**, v. 14, n. 1, p. 58-69, 1968.

HANSEN, C. M.; SHULTZ, T. D. Stability of vitamin B-6 dependent aminotransferase activity in frozen packed erytrocytes is dependent on storage temperature. **J. Nutr.**, v. 131, n. 5, p. 1581-1583, 2001.

HARRIS, P. A.; HARRIS, R. C. Nutritional ergogenic aids in the horse – uses and abuses. In: CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE, 1., 1998, Cordoba, Espanha. **Anais**… Netherlands: Wageningen Pers, 1998. p. 203-218.

HARVEY, J. W.; KANEKO, J. J. Glucose metabolism of mammalian erythrocytes. **J. Cell. Physiol.**, v. 89, n. 2, p. 219-224, 1976.

HARVEY, R. B.; HAMBRIGHT, M. B.; ROWE, L. D. Clinical biochemical and hematologic values of the American miniature horse: reference values. **Am. J. Vet. Res.**, v. 45, n. 5, p. 987-990, 1984.

HASKINS, S. C. Sampling and storage of blood for pH and blood gas analysis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 170, n. 4, p. 429-433, 1977.

HATZIPANAGIOTOU, A.; LINDNER, A.; SOMMER, H. LDH- und CK-Isoenzymmuster im blutplasma von pferden mit erhöhten CK-, LDH- und AST-Aktivitäten. **Dtsch. Tierärztl. Wschr.**, v. 98, n. 7, p. 284-286, 1991.

HEINS, M.; HEIL, W.; WITHOLD, W. Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. **Eur. J. Clin. Chem. Biochem.**, v. 33, n. 4, p. 231-238, 1995.

HENDRIX, C. M. **Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários**. 4. ed, São Paulo: Roca, 2005. 556 p.

HINCHCLIFF, K. W.; GEOR, R. J. Integrative physiology of exercise. In: ___. HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete**. Philadelphia: Saunders, 2004. Cap. 1, p. 3-41.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Effects of a nine-month endurance training programme on muscle composition in the horse. **Vet Rec.**, v.121, n.12, p.271-274, 1987.

HOUSTON, D. M.; RADOSTITS, O. M. O exame clínico. In: RADOSTITIS, O. M.; MAYHEW, I. G. J.; HOUSTON, D. M. **Exame clínico diagnóstico em veterinária**. Rio de Janerio: Guanabara Koogan, 2002. Cap. 6, p. 81.

IKEDA, S.; SUMI, Y.; FUKUI, S. Kinetic studies on coenzyme binding and coenzyme dissociation in tryptophanase immobilized on sepharose. **Biochemistry**, v. 8, n. 14, p. 1464-1470, 1975.

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

JAIN, N. C. **Shalm's veterinary hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993. 1221 p.

JOHNSON, P. J. Electrolyte and acid-base disturbance in the horse. **Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.**, v. 11, n. 3, p. 491-512, 1995.

JONES, D. G. The vulnerability of the brain to undernutrition. **Sci Prog**., v. 63, n. 252, p. 483-502, 1976.

JONES, D. G. Stability and storage characteristicis of enzymes in cattle blood. **Res. Vet. Sci.**, v. 38, n. 3, p. 301-306, 1985a.

JONES, D. G. Stability and storage characteristicis of enzymes in sheep blood. **Res. Vet. Sci.**, v. 38, n. 3, p. 307-311, 1985b.

JONES, D. G. Performance profiling. In: ___. **Equine sports medicine**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1989. p. 205-214.

JUDSON, G. J.; CARGILL, C. F.; NEEDHAM, D. J. Plasma bichemical values in Thoroughbred horses in training. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY, 1., Oxford. **Proceedings**… Cambridge: Granta Editions, 1983. p. 354-361.

JUEL, R.; CURRY, S. N. Stability of gama glutamyltransferase in serum. **Clin. Chem.**, v. 20, n. 7, p. 914-915, 1974.

JUNG, K.; GRUTZMANN, K. D. Temperature-conversion factors for enzime activities in comercial control sera. **Clin. Chem.**, v. 33, n. 1, p. 200, 1987.

JUNG, K.; LIESE, W. Influence of temperature on the determination of enzime actives in human serum. **Enzime**, v. 22, n. 4, p. 213-218, 1977.

JUUL, P. Stability of plasma enzymes during storage. **Clin. Chem.**, v. 13, n. 5, p. 416-422, 1967.

KAMPL, B.; MARTINEIÉ, T.; ALEGRO, A.; CATINELLI, M.; SUSNJIÉ, M. Profiles of selected blood biochemical parameters in dairy cows and their influence on milk production and reproductive efficiency. II. Activity of

transaminases (AST and ALT) and calcium and inorganiic phosphorus levels in blood. **Vet. Arhiv**, v. 61, n. 4, p. 197-206, 1991.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.

KERR, M. G.; SNOW, D. H. Alterations in plasma protein and electrolytes in horses following the feeding of hay. **Vet. Rec.**, v. 110, n. 16, p. 538-540, 1982.

KING, C. M.; ROSE, R. J.; EVANS, D. L. The influence of anticoagulant, storage temperature and time on equine plasma lactate concentration. **Aust. Vet. J.**, v. 71, n. 11, p. 382-384, 1994.

KLEIN, K. A.; CLARK, C.; ALLEN, A. L. Hypoglycemia in sick and moribund farmed elk calves. **Canadian Veterinary Journal**, v. 43, n. 10, p. 778-781, 2002.

KLINE, K. H.; BECHTEL, P. J. Changes in the metabolic profile of equine *Gluteus medius* as a function of sampling depth. **Comp. Biochem. Physiol. A**, v. 91, n. 4, p. 815-819, 1988.

KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical enzymology. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals.** 5. ed. New York: Academic Press, 1997. Cap. 12, p. 303-323.

KREUTZER, H. H.; FENMIS, W. H. S. Lactic Dehydrogenase Isoenzymes in blood serum after storage at different temperatures. **Clin. Chim. Acta.**, v. 34, n. 9, p. 64-68, 1964.

LACERDA-NETO, J. C.; SAMPAIO, R. C. L.; FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; PEREIRA, D. M.; TITTO, E. A. L.; CARVALHO, M. B.; QUEIROZ-NETO, A. Efeitos do resfriamento intermitente e de repositor eletrolítico sobre a osmolalidade e eletrólitos séricos de eqüinos submetidos a exercício de baixa intensidade. **Rev. Port. Ciênc. Vet.**, v. 98, n. 548, p. 189-195, 2003.

LASSEN, E. D.; SWARDSON, C. J. Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities. **Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.**, v. 11, n. 3, p. 351-389, 1995.

LAZARONI, J. A.; MAIER, E. C.; GORCZYCA, L. R. The stability of lactic dehydrogenase in serum. **Clin. Chem.**, v. 5, n. 4, p. 379-381, 1958.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 725 p.

LEHNINGER, A. L. Glicólise: a via central do catabolismo da glicose. In: ___. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1986. p. 287-310.

LEITE, M. G. C.; FACHINI, F. P.; FARIA, E. C.; DANELON, M. R. G. Avaliação laboratorial da estabilidade do padrão calibrador de bilirrubina. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 39, n. 1, p. 21-25, 2003.

LIMA E SILVA, R.; BORTOLOZZI, J.; RAMOS, P. R. R.; DIERCKX, S. M. Polimorfismo genético-bioquímico de enzimas em éguas da raça mangalarga. **Arch. Latinoam. Prod. Anim**., v. 10, n. 3, p. 149- 152, 2002.

LINDNER, A. Use of blood biochemistry for positive performace diagnosis of sports horses in practice. **Revue Médicine Vétérinaire**, v. 151, n. 7, p. 611-618, 2000.

LINDNER, A.; BAUER, S. Effect of temperature, duration of storage and sampling procedure on ammonia concentration in equine blood plasma. **Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.**, v. 31, n. 7, p. 473-476, 1993.

LINDNER, A. Einflub von lagerunngsdauer, temperatur und proenausgangsmaterial auf klinish-chemische blutearrablen. **Zentralbl Veterinarmed A**, v. 38, n. 6, p. 433-440, 1991a.

LINDNER, A. Comparison of clinical chemical variables in blood plasma and serum of horses. **Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.**, v. 29, n. 12, p. 837-840, 1991b.

LISBÔA, J. A. N.; BENESI, F. J.; MARUTA, C. A.; MIRANDOLA, R. M. S.; TEIXEIRA, C. M. C. Tempo de viabilidade de amostras de sangue venoso bovino destinadas ao exame hemogasométrico, quando mantidas sob conservação em água gelada. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 271-276, 2001.

LÖFSTEDT, J.; COLLATOS, C. Creatinekinase and aspartate aminotransferase concentrations. **Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.**, v. 13, n. 1, p. 145-168, 1997.

LOHNI, M. D.; THORNTON, J. R. The effect of storage and handling on the activity of lactate dehydrogenase and its isoenzymes in horse serum. **Res. Vet. Sci**., v. 23, n. 2, p. 259-261, 1977.

LOHUIS, J. A.; VERHEIIDEN, J. H.; BURVENICH, C.; van MIERT, A. S. Pathophysiological effects of endotoxins in ruminants. 2. Metabolic aspects. **Vet. Quarterly**, v. 10, n. 2, p. 117-125, 1988.

LOPES, S. T. A.; FRANCISCATO, C.; TEIXEIRA, L. V.; OLIVEIRA, T. G. M.; GARMATZ, B. C.; VEIGA, A. P. M.; MAZZANTI, A. determinação da creatina quinase em cães. **Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro.**, v. 12, n. 1, p. 31-37, 2005.

LOPES, S. T. A.; KRAUSE, A.; COSTA, P. R. S. Determinação dos valores médios das enzimas AST, LDH, GGT e FA no soro de eqüinos sadios em Santa Maria, RS. **Ciên. Anim.**, v. 23, n. 3, p. 301-303, 1993.

LUNA, S. P. L. Interpretação de exames laboratoriais. In: THOMASSIAN, A.; MACORIS, D. G.; ALVES, G. E. S.; SILVA, L. C. L. C.; JÚNIOR, P. V. M.; LUNA, S. P. L. (Ed.) **Diagnóstico em cólica eqüina**. I Fórum de Gastroenterologia Eqüina, 1, 1994. Curitiba, PR. 1994. p. 38-48.

MAGNUSSON, U.; HOLST, H. Assaying granulocyte phagocytosis by chemiluminescence: effect of storage time and temperature of blood samples. **Zentralbl Veterinarmed B**, v. 45, n. 4, p. 217-222, 1998.

MANSTON, R.; WHITLOCK, R. H.; YOUNG, E. R. A comparison of anticoagulant for the analysis of glucose concentration and for haematological measurements in bovine blood. **J. Comp. Path.**, v. 84, n. 1, p. 59-65, 1974.

MARLIN, D. J.; NANKERVIS, K. Indicators of performance. In: MARLIN, D. J.; NANKERVIS, K. (Ed.) **Equine exercise physiology**. Great Britain: Blackwell, 2002, p. 245-260.

MARLIN, D. J.; SCOTT, C. M.; SCHROTER, R. C.; HARRIS, R. C.; HARRIS, P. A.; ROBERTS, C. A.; MILLS, P. C. Physiological responses in monheat acclimated horses performing treadmill exercise in cool (20(C/40%RH), hot dry (30(C40%RH) and hot humid (30(C80%RH) conditions. **Equine Vet. J.**, Suppl. 22, p. 70-84, 1996.

McDOWELL, D. M. Ragwort poisoning in horses. **Vet Rec.**, v. 145, n. 5, p. 148, 1999.

MESSER, N. T. The use of laboratory tests in equine practice. **Vet. Clin. Pathol.**, v. 11, n. 3, p. 345-350, 1995.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinária**: interpretação e diagnóstico. 1. ed. São Paulo: Roca, 1995. 308 p.

MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. Laboratory medicine testing: specimen interferences and clinical enzymology. In: MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. (Ed.) **Veterinary laboratory medicine**: interpretation and diagnosis. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1998. Cap.1, p. 3-21.

MICHELL, A. R. Understanding fluid therapy. **Arish Vet. J.**, v. 37, n. 1, p. 94-103, 1983.

MILNE, D. W. Biochemical parameters for assessment of conditioning in the horse. In: ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRATITIONERS, 28., 1982, Atlanta. **Proceedings**… Atlanta: AAEP, 1982, p. 49-54.

MILNE, D. W.; SKARDA, R. T.; GABEL, A. A.; SMITH, L. G.; AULT, K. Effects of training on biochemical values in standardbred horses. **Am. J. Vet. Res.**, v. 37, n. 3, p. 285-290, 1976.

MOORE, J. N.; OWEN, R. R.; LUMSDEN, J. H. Clinical evaluation of blood lactate levels in equine colic. **Equine Vet. J.**, v. 8, n. 2, p. 49-54, 1976.

MORRE, D. A.; VARGA, G. BUN and MUN: urea nitrogen testing in dairy cattle. **Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v. 18, n. 6, p. 712-721, 1996.

MORRIS, J. D.; FERNANDEZ, J. M.; CHAPA, A. M.; GENTRY, L. R.; THORN, K. E.; WEICK, T. M. Effects of sample handling, processing, storage, and hemolysis on measurements of key energy metabolites in ovine blood. **Small Rumin. Res.**, v. 43, n. 1, p. 157-166, 2002.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica**: princípios e interpretações – Aminoácidos e proteínas, 2003, v. 8, p. 63-89, Disponível em: <www.autolab.f2s.com/infomed/Bioq.Clinica%20-%20Aminoacidos%20e%20Proteinas.PDF>. Acesso em: 19 abril 2006.

MULLEN, P. A.; HOPES, R.; SEWELL, J. The biochemistry, haematology, nutrition and racing performance of two-year-old thoroughbreds throughout their training and racing season. **Vet. Rec.**, v. 104, n. 5, p. 90-95, 1979.

MUNDIM, A. V.; TEIXEIRA, A. A.; GALO, J. A.; CARVALHO, F. S. R. Perfil bioquímco e osmolalidade sanguínea de equinos utilizados para trabalho em centros urbanos. **Biosci. J.**, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2004.

NAYLOR, J. R. J.; BAYLY, W. M.; SCHOTT, H. C.; GOLLNICK, P. D.; HODGSON, D. R. Equine plasma and blood volumes decrease with dehydration but subsenquently increase with exercise. **J. Appl. Physiol**., v. 75, n. 2, p. 1002-1008, 1993.

OGILVIE, G. K.; ENGELKING, L. R.; ANWER, M. S. Effects of plasma sample storage on blood ammonia, bilirrubin, and urea nitrogen concentrations: cats and horses. **Am. J. Vet. Res.**, v. 46, n. 12, p. 2619-2622, 1985.

O'NEILL, S. L.; FELDMAN, B. F. Hemolysis as a factor in clinical chemistry and hematology of the dog. **Vet. Clin. Pathol.**, v. 18, n. 3, p. 58-68, 1989.

ONO, T.; KITAGUCHI, K.; TAKEHARA, M.; SHIIBA, M.; HAYAMI, K. Serum-constituints analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. **Clin. Chem.**, v. 27, n. 1, p. 35-38, 1981.

PARRY, B. W. Normal Clinical pathology data. In: Robinson, N.E. (Eds) **Current therapy in equine medicine**. 5. ed. St. Louis: Saunders, 2003. Appendix. 2, p. 870-884.

PERSSON, S. G. B. Analysis of fitness and state of training. Evaluation of exercise tolerance and fitness in the performance horse. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY, 1., 1982, Oxford. **Proceedings**… Cambridge: Burlingto Press, 1982. p. 441-457.

PINSENT, P. J. N.; EDDY, R. G. Diagnosis and diferential diagnosis in the cow. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Bovine medicine**: diseases and husbandry of cattle. London: Blackwell Sci., 2004. Cap. 11, p. 135-157.

POULSEN, J. S. D.; SURYNEK, J. Acid-base status of cattle blood. Sampling and storing. **Nordisk Veterinaermedicin**, v. 29, n. 6, p. 271-283, 1977.

RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G.; HOUSTON, D. M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 591 p.

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. **Fisiologia animal**. 4. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2000. Cap. 15, p. 611-612.

REIF, A. E. The ammonia content of blood and plasma. **Analytic. Biochem.**, v. 1, n. 1, p. 351-370,1960.

REINHOLD, J. G.; CHUNG, C. C. Formation of artifactual ammonia in blood by action of alkali. **Clin. Chem**., v. 7, n. 1, p. 54-69, 1961.

REHAK, N. N.; CHIANG, B. T. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. **Clin. Chem.**, v. 34, n. 1, p. 2111-2114, 1988.

RIBEIRO FILHO, J. D. **Tratamento da compactação experimental do cólon maior de eqüinos com sene, fluidoterapia enteral e parenteral**. 2003. 130 f. Tese (Doutorado em Patologia e Ciências Clínicas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2003.

RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; HENCKEL, P. Perfil bioquímico del músculo Gluteus medius en eqüinos con distinto historial en carreras de resistência. **Arch. Méd. Vet.**, v. 30, n. 1, p. 23-30, 1998.

ROSALKI, S. B. An improved procedure for serum creatine phosphokinase determination. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 4, n. 69, p. 696-705, 1967.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. Hematology and biochemistry In: ___. **The athletic horse**. Philadelphia: Saunders, 1994, Cap. 2, p. 63-78.

ROSE, R. J. **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia: Saunders, 1992. 847 p.

ROSE, R. J.; HENDRICKSON, D. K.; KNIGHT, P. K. Clinical exercise testing in the normal Thoroughbred racehorse. **Aust. Vet. J.**, v. 67, n. 10, p. 345-348, 1990.

ROSE, R. J.; ALLEN, J. R.; HODGSON, D. R.; STEWART, J. H. Responses to submaximal treadmill exercise in the horses: Changes in hematology,

arterial blood gas and acid base measurements, plasma biochemical values and heart rate. **Vet. Rec.**, v. 113, n. 26-27, p. 612-618, 1983.

ROSE, R. J. A physiological approach to fluid and electrolyte therapy in the horse. **Equine Vet. J.**, v. 13, n. 1, p. 7-14, 1981.

ROSE, R. J.; ILKIW, J. E.; SAMPSON, D.; BACKHOUSE, J. W. Changes in blood gas, acid-base and metabolic parameters in horses during three-day event competition. **Res. Vet. Sci.**, v. 28, n. 3, p. 393-395, 1980.

RUDOLPH, W.; COUBLE, R.; MIRANDA, J.; CORREA, J.; DONOSO, F. Actividad plasmática de las enzimas AST, CK, LDH. Y ALP en equinos F.S.C. smetidosa entrenamiento. **Arch. Med. Vet.**, v. 18, n. 1, p. 37-42, 1986.

SALIM, A. N.; JOSHI, H. C. Clinico-haematological and biochemical findings in some cardiac disorders of bovines. **Int. J. Anim. Sci.**, v. 8, n. 1, p. 69-72, 1993.

SARTOR, F. I.; JACOBSON, R. G. S.; KOHAYAGAWA, A.; MACHADO, M. A.; CURI, P. S. Determinações bioquímicas de fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase, alamino aminotransferase, proteínas totais, albumina e bilirrubina total e direta no soro de eqüinos da raça quarto de milha. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 37, n. 3, p. 229-239, 1985.

SCHALM, O. W.; JAIN, N. C.; CARROLL, E. J. **Veterinary hematology**. 3. ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1975. 807 p.

SCHALM, O. W. Equine hematology. III. Significance of plasma fibrinogen concentration in clinical disorders in horses. **Equine Pract.**, v. 1, n. 1, p. 24-25, 1979.

SCHEFFER, J. F.; GONZÁLEZ, F. H. D. **Enzimologia clínica em medicina veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, 2003. Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/bioquimica>. Acesso em: 31 ago. 2005.

SCHIMDT, E.; SCHIMDT, F. W. **Brief guide to pratical enzime diagnosis**, 2. ed. Mannhein: Boehringer monnhein Gmbh., 1976.

SEEHERMAN, H. J.; MORRIS, E. A. Methodology and repeatability of the standardized treadmillexercise test for clinical evaluation of fitness in horse. **Equine Vet. J. Suppl.**, v. 9, p. 20-25, 1990.

SHAW, L. M. Methods of enzymatic analysis In: BERGMEYER, V.; BERGMEYER, J.; GRABL, M. (Ed.) **Verlag Chemie**. 3. ed. Florida: Deerfield Beach, 1983. v. 3, p. 349-364.

SHULMAN, G.; BAKER, D.; STEWART, N. C.; LILES, B. A. Validity of testing alanine aminotransferase in refrigerated whole blood. **Transfusion**, v. 28, n. 5, p. 444-445, 1988.

SICILIANO, P. D.; LAWRENCE, L. M.; DANIELSEN, K.; POWELL, D. M.; THOMPSON, K. N. Effect of conditioning and exercise type on serum creatinekinase and aspartate aminotransferase activity. **Equine Vet. J.**, Suppl. 18, p. 243-247, 1995.

SINGH, D. V.; SODHI, S. P. S. Effect of shock on certain biochemical profiles of blood in calves. **Indian J. Anim. Sci.**, v. 62, n. 11, p. 1031-1036, 1992.

SLESINGR, L. Effect of temperature and time on the stability of aminotransferase, aldolasis, dehydrogenasis and leuicineaaminopeptidasis in blood serum of horses, cows and cocks. **Vet. Med.**, v. 14, n. 42, p. 483-489, 1969.

SMITH, J. E.; KANEKO, J. J. Rate of heme and porphyrin synthesis by bovine porphyric reticulocytes in vitro. **Am J. Vet Res.**, v. 27, n. 119, p. 931-940, 1966.

SNOW, D. H. Assessment of fitness in the horses. **In Practice**, v. 9, p. 26-29, 1987.

SNOW, D. H.; KERR, M. G.; NIMMO, M. A.; ABBOTT, E. M. Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse. **Vet. Rec.**, v. 110, n. 16, p. 377-384, 1982.

SOMMER, H. *et al*. The influence of transportation and storage of samples on experimental results. Research and results in clinical chemistry of domestic animals. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE ACB, 1., 1983. Sommer, Bonn. **Proceedings**... Sommer: ACB. p. 65-77.

SOUZA, R. M.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; AYRES, M. C. C.; BIRGEL, E.H. Influência dos fatores raciais na função hepática de bovinos da raça Holandesa e Jersey. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 41, n. 5, p. 306- 312, 2004.

SPEIRS, V. C. O sistema alimentar. In: __. **Exame clínico de eqüinos**. Philadelphia: Saunders, 1999. Cap. 11, p. 269-306.

SPINHA DE TOLEDO, P.; DOMINGUES JÚNIOR, M.; FERNANDES, W. R.; MAGONE, M. Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gama-glutamil transferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça PSI submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Rev. Bras. Ciên. Vet.**, v. 8, n. 2, p. 73-77, 2001.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **User's guide**. Version 8.1.1999-2000. Cary: SAS Institute. Inc., 2000.

STEWART, P. A. Modern quantitative acid-base chemistry. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 61, n. 12, p. 1444-1461, 1983.

STEWART, R. H. Considerations in fluid and electrolyte therapy In: __; REED, S. M.; BAYLY, W. M. (Ed.) **Equine internal medicine**. Philadelphia: Saunders, 1998, Cap. 4, p. 192-198.

STOCKHAM, S. L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. **Vet. Clin. North. Am. Equine Pract**., v. 11, n. 3, p. 391-414, 1995.

STOKKE, O. Preservation of gamma-glutamyl transpeptidase activity in human urine. **Clin Chim Acta**, v. 57, n. 2, p. 143-148, 1974.
SWENSON, M. J. **Dukes** – Fisiologia dos animais domésticos. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856 p.

SZENCI, O.; BESSER, T. Change in blood gas acid-base values of bovine venous blood during storage. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 197, n. 4, p. 471-474, 1990.

SZENCI, O.; BRYDL, E.; BAJCSY, C. A. Effect of storage on measurement of ionized calcium and acid-base variables in equine, bovine, ovine and canine venous blood. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 199, n. 9, p. 1167-1169, 1991.

TASKER, J. B. Studies on the use of coulter chemistry in the veterinary laboratory: day-to-day reproducibility and the effects of storage, hemolysis, lipemia, hyperbilirubinemia and anticoagulants on test results. **Cornell. Vet.**, v. 68, n. 4, p. 480-505, 1978.

TASKER, J. B. Fluids, electrolytes and acid-base balance. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals.** 5. ed. New York: Academic Press, 1997. Cap. 17, p. 441-484.

TAYLOR, F. G. R.; HILLYER, M. H. **Diagnostic techniques in equine medicine**. 1. ed. Philadelphia: Saunders, 1997. 348 p.

TEIXEIRA, P. P.; PADUA, J. T. Avaliação dos níveis de cortisol, tiroxina, triiodotironina e glicose como indicativos de estresse em cavalos puro sangue inglês de corrida, antes e após competição. **Ciên. An. Bras.**, v. 3, n. 1, p. 39-48, 2002.

TEIXEIRA-NETO, A. R.; FERRAZ, G. C.; MATAQUEIRO, M. I.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Reposição eletrolítica sobre variáveis fisiológicas de cavalos em provas de enduro de 30 e 60 km. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1505-1511, 2004.

THOMASSIAN, A. Concentrações de lactato sangüíneo e determinação do V4 de cavalos da raça árabe durante teste de exercício progressivo em esteira de alta velocidade. **Arch. Vet. Sci.**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 2005.

THOMPSON, J. C.; PAULI, J. V. Colostral transfer of glutamiltranspeptidase in calves. **N. Z. Vet. J.**, v. 29, n. 1, p. 223-226, 1992.

THORESEN, S. I.; TVERDAL, A.; HAVRE, G.; MORBERG, H. Effects of storage time and freezing temperature on clinical chemical parameters from canine serum and heparinized plasma. **Vet. Clin. Pathol.**, v. 24, n. 4, p. 129-133, 1995.

THORESEN, S. I.; HAVRE, G. N.; MORBERG, H.; MOWINCKEL, P. Effects of storage time on chemistry results from canine whole blood, heparinized whole blood, serum and heparinized plasma. **Vet. Clin. Pathol.**, v. 21, n. 3, p. 88-94, 1992.

THRALL, M. A. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Williams e Wilkins, 2004. 518 p.

TOLLERSRUD, S. Stability of some serum enzymes in sheep, cattle, and swine during storage at different temperatures. **Acta Vet. Scand.**, v. 10, n. 4, p. 359-371, 1969.

TYLER, R. D.; COWELL, R. L.; CLINKENBEARD, K. D.; Mac ALLISTER, C. G. Hematologic values in horses and interpretation of hematologic data. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, v. 3, n. 3, p. 461-484, 1987.

UNDERWOOD, B. A. Marginal malnutrition and reproductive performance. **Prog. Clin. Biol. Res.**, v. 77, p. 247-259, 1981.

VÄIHKÖNEN, L. K.; HYYPPA, S.; PÖSÖ, A. R. Factors affecting accumulation of lactate in red blood cells. **Equine Vet. J. Suppl.**, v. 30, p. 443-447, 1999.

VALBERG, S.; GUSTAVSSON, B. E.; LINDHOLM, A.; PERSSON, S. G. B. Blood chemistry and skeletal muscle metabolic responses during and after different speeds and durations of trotting. **Equine Vet. J.**, v. 21, n. 2, p. 91-95, 1989.

Van HEERDEN, J.; DAUTH, J.; DREYER, M. J.; NICHAS, E.; MARSHALL, C.; WALL, D. T. Selected laboratory parameters of thoroughbreds. **J. South Afric. Vet. Assoc.**, v. 61, n. 4, p. 155-158, 1990.

WEAVER, A. D. Lameness above the foot. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Bovine medicine**: diseases and husbandry of cattle. London: Blackwell Sci., 2004. Cap. 31, p. 435-467.

WEISSMAN, M.; KLEIN, B. Evaluation of glucose determinations in untreated serum samples. **Clin. Chem.**, v. 4, v. 5, p. 420-422, 1958.

WHITE, N. A. **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia: Saunders, 1987. Cap. 1, p. 18.

WHITE, N. A. **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia: Lea and Febiger, 1990. Cap. p. 145.

WILLIAMS, K. M.; WILLIAMS, A. E.; KLINE, L. M.; DODD, R. Y. Stability of serum alamine aminotransferase activity. **Transfusion**, v. 27, n. 5, p. 431-433, 1987.

WITTWER, F.; BOHNWALD, H.; KLAASEN, R. Efecto del tiempo, temperatura de conservacion y del anticoagulante (EDTA/NaF) en nuestras para perfiles metabolicos. **Arch. Med. Vet.**, v. 18, n. 1, p. 43-51, 1986.

XIMENES, L. A.; SBERNARDORI, U.; ZEDDA, L. A. Indagine su costanti ematochimiche di equine anglo-arabo-sarde. **La Clinica Veterinaria**, v. 107, n. 2, p. 49-51, 1984.

YAMAOKA, S.; TAKAGI, Y.; OKADA, T.; SAITO, Y. Relationship of serial measurements of cerebral hemodynamics to prognosis in patients with hypertension and cerebrovascular disease. **Stroke**, v. 1, n. 3, p. 57-66, 1972.

YOUNG, D. S.; BERMES JR., E. W. Specimen collection and processing: Sources of biological variation. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. (Ed.) **Tietz textbook of clinical chemistry**. 3. ed. Philadelphia: Saunders, 1999. Cap. 1, p. 41-72.

YOUNG, R. L.; SNYDER, J. R.; PASCOE, J. R.; OLANDER, H. J.; HINDS, D. M. A comparison of three techniques for closure of pelvic flexure enteromies in normal equine colon. **Vet. Surg.**, v. 20, n. 3, p. 185-189, 1991.

ZALOGA, G. P.; WILKENS, R.; TOURVILLE, J.; WOOD, D.; KLYME, D. M. A simple method for determining physiologically active calcium and magnesium concentrations in critically ill patients. **Crit. Care Med.**, v. 15, n. 9, p. 813-816, 1987.

ZHANG, D. J.; ELSWICK, R. K.; MILLER, W. G.; BAILEY, J. L. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. **Clin. Chem.**, v. 44, n. 6, p. 1325-1333, 1998.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Tabela 1A – Métodos analíticos utilizados nas análises dos constituintes sangüíneos

Avaliação Laboratorial			
Constituinte (unid.)	**Método**	**Fabricante**	**Referência**
PPT (g/dL)	Biureto	Bioclin	(9)
Albumina (g/dL)	Verde de Bromocresol–VCB	Bioclin	(9)
Fibrinogênio (mg/dL)	Precipitação de 56-58°C Segundo Jain (1993)	---	---
Na (mmol/L)	Espectofotometria de chama	Corning/Merck	(7.13)
K (mmol/L)	Espectofotometria de chama	Corning/Merck	(7.13)
Cl (mmol/L)	Colorimétrica	Bioclin	(9)
Glicose (mg/dL)	Enzimática colorimétrica – GOD – PAP	Bioclin	(9)
Lactato (mmol/L)	Enzimático colorimétrico - LOD – PAP	Katal	(10)
Bilirrubina total (mg/dL)	Sims – Hom	Bioclin	(9)
Mg (mg/dL)	Mann Yoe	Bioclin	(9)
Uréia (mg/dL)	Enzimático colorimétrico	Bioclin	(9)
Creatinina (mg/ dL)	Cinética colorimétrica	Bioclin	(9)
FA (U/L)	Cinética	Bioclin / Synermed	(9. 11)
GGT (U/L)	Szasz modificado	Bioclin	(9)
AST (U/L)	Cinética – UV	Bioclin / Synermed	(9. 11)
CK (U/L)	Cinética – UV	Bioclin	(9)
LDH (U/L)	Cinética	Bioclin	(9)

APÊNDICE B

Tabela 1B – Valores de referência dos constituintes sangüíneos

Valores de Referência de Parâmetros Bioquímicos								
Constituintes (unidades)	**KANEKO *et al.* (1997)**	**COLES (1984)**	**EADES e BOUNOUW (1997)**	**MEYER *et al*. (1995)**	**BLOOD e STUDDERT (2002)**	**RADOSTITS *et al*. (2002)**	**CARLSON (1993)**	**PARRY (2003)**
PPT (g/dL)	5,8 – 8,7	6,72	5,6 – 7,6	5,2 – 7,9	6,0 - 7,7	6,0 - 7,7	5,7 – 7,9	5,3 – 7,4
Albumina (g/dL)	2,6 – 3,7	2,60	2,6 – 4,1	2,6 – 3,7	2,9 – 3,8	2,9 – 3,8	2,3 – 3,9	2,7 – 3,4
Fibrinogênio (mg/dL)	100- 400	100- 500	100 - 400	200 - 400	100 – 400	200 - 400	100 - 400	110 – 450
Na (mmol/L)	132- 146	132- 146	128 - 142	132 – 146	132- 150	132- 146	132 - 146	137 - 143
K (mmol/L)	2,4 – 4,7	2,4 – 4,7	2,9 – 4,6	2,4 – 4,7	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0	2,4 – 4,7	2,9 – 4,4
Cl (mmol/L)	99 – 109	99 – 109	98 - 109	99 – 109	98 – 110	98 - 110	99 - 109	96 - 102
Glicose (mg/dL)	75 – 115	66 – 100	62 - 134	75 - 115	60 – 100	75 – 115	75 - 115	63 – 101
Lactato (mmol/L)	1,11 - 1,78	-	-	-	-	1,11 – 1,78	1,11 – 1,78	0,46 – 1,22
Bilirrubina total (mg/dL)	1,0 – 2,0	0,81 - 2,07	0 – 3,2	0 – 2,0	0,2 – 6,0	1,0 – 2,0	0 – 2,0	0,9 – 2,9
Mg (mg/dL)	2,2 – 2,8	2,08 – 2,72	1,4 – 2,3	-	1,8 – 2,5	2,2 – 2,8	2,2 – 2,8	1,7 – 2,2
Uréia (mg/dL)	10 - 24	10 – 20	11 - 27	10 – 24	10 – 20	10 – 24	10 - 24	8 – 14
Creatinina (mg/dL)	1,2 – 1,9	1,0 – 1,9	0,4 – 2,2	1,2 – 1,9	1,2 – 1,9	0,9 – 1,9	1,2 – 1,9	0,9 – 1,7
FA (U/L)	143- 395	97 – 209	-	143 – 395	83 – 283	140 – 400	143 - 395	000
GGT (U/L)	4,3– 13,4	-	6 - 32	4 – 13,4	11 – 44	4 – 44	4 - 13	9 – 29
AST (U/L)	226- 366	121 – 195	160 - 412	226 – 366	153 – 411	220 – 600	226 - 366	123 – 789
CK (U/L)	2,4- 23,4	-	60 - 330	86 – 140	92 – 307	145 – 380	2,4 – 23,4	18 – 217
LDH (U/L)	162- 412	-	-	162 – 412	-	160 – 410	162 - 412	125 – 349

APÊNDICE C

Tabela 1C – Resultados concluídos com as médias dos dez animais

Constituinte (unid.)	TA				R5			C20				C76			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
PPT (g/dL)								↑	↓	↓		↑	↑		
Albumina (g/dL)	↓	↓	↓		↓	↓									↓
Fibrinogênio (mg/dL)	↑	↑	↑					↓							
Na (mmol/L)			↑	↑											
K (mmol/L)						↓	↓								
Cl (mmol/L)								↑		↓		↑		↓	
Glicose (mg/dL)*															
Lactato (mmol/L)				↓											
Bilirrubina total (mg/dL)							↑								
Mg (mg/dL)*															
Uréia (mg/dL)							↑								
Creatinina (mg/Dl)										↑					↓
FA (U/L)				↓						↓	↓		↑	↓	↓
GGT (U/L) *															
AST (U/L)						↓	↓								
CK (U/L)*															
LDH (U/L)						↓	↓			↓	↓				

***** Manteve-se estável por toda a fase experimental.
- Lacunas em branco: os constituintes mantiveram-se estáveis, sem variações significativas.
↑ - Aumentou em relação aos valores médios, variação significativa.
↓ - Diminuiu em relação aos valores médios, variação significativa.

APÊNDICE D

Tabela 1D – Tempo e temperatura, nos quais os constituintes estudados se mantiveram estáveis

Constituintes(unid.)	Tempo	Temperatura
PPT (g/dL)	12, 24, 36 e 48 horas 7, 15 e 30 dias 180 dias 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Albumina (g/dL)	48 horas 30 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60 e 90 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Fibrinogênio (mg/dL)	48 horas 7, 15 e 30 dias 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Sódio (mmol/L)	12 e 24 horas 7, 15 e 30 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Potássio (mmol/L)	12, 24, 36 e 48 horas 7 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Cloreto (mmol/L)	12, 24, 36 e 48 horas 7, 15 e 30 dias 90 e 180 dias 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Glicose (mg/dL)	12, 24, 36 e 48 horas 7, 15 e 30 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Lactato (mmol/L)	12, 24 e 36 horas 7, 15 e 30 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Bilirrubina total (mg/dL)	12, 24, 36 e 48 horas 7 e 15 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Mg (mg/dL)	12, 24, 36 e 48 horas 7, 15 e 30 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Uréia (mg/dL)	12, 24, 36 e 48 horas 7 e 15 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
Creatinina (mg/dL)	12, 24, 36 e 48 horas 7, 15 e 30 dias 30, 60 e 180 dias 30, 60 e 90 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)

Continua...

Tabela 1D, Cont.

Constituintes(unid.)	Tempo	Temperatura
FA (U/L)	12, 24 e 36 h horas 7, 15 e 30 dias 30 e 60 dias 30 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
GGT (U/L)	12, 24, 36 e 48 horas 7, 15 e 30 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
AST (U/L)	12, 24, 36 e 48 horas 7 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
CK (U/L)	12, 24, 36 e 48 horas 7, 15 e 30 dias 30, 60, 90 e 180 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)
LDH (U/L)	12, 24, 36 e 48 horas 7 dias 30 e 60 dias 30, 60, 90 e 180 dias	TA – (16,6 A 29,6°C) R5 – (5°C) C20 – (-20°C) C76 – (-76°C)

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo