

ANA SOFIA BROTAS ALMEIDA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DE BIOMARCADORES DE
BEM-ESTAR EM RESPOSTA A UM PROTOCOLO
DE TREINO DE SEIS SEMANAS EM CAVALOS
PURO SANGUE LUSITANO**

Orientadora: Professora Doutora Joana Simões

Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2022

ANA SOFIA BROTAS ALMEIDA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DE BIOMARCADORES DE
BEM-ESTAR EM RESPOSTA A UM PROTOCOLO
DE TREINO DE SEIS SEMANAS EM CAVALOS
PURO SANGUE LUSITANO**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 16 de Dezembro de 2022, com o Despacho de nomeação do Júri N^º 8/2022, de 05 de dezembro de 2022, com a seguinte composição:

Presidente: Professor Doutor Eduardo Marcelino, por delegação da Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Professora Doutora Michelle Serafim

Orientadora: Professora Doutora Joana Simões

Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2022

Ana Sofia Brotas Almeida da Silva

Caracterização de biomarcadores de bem-estar em resposta a um protocolo de treino de seis semanas em cavalos Puro Sangue Lusitano.

Dedicatória

Ao meu Tio João.

Agradecimentos

Ao João, o meu porto de abrigo, o meu apoio incondicional, o meu para sempre, o meu “segue, que vou contigo”, o meu melhor amigo eterno.

Aos meus pais por terem virado o mundo do avesso para me darem aquilo porque sempre sonhei. Á minha querida mãe por ser sempre a minha maior cúmplice. Ao meu pai pela oportunidade que me proporcionou.

Ao meu irmão por me ter passado a paixão dos cavalos e primeiro responsável por despertar o bichinho da veterinária, por vibrar comigo em todas as histórias que lhe conto que tenham cavalos à mistura, por serem a minha maior paixão e o meu apoio incondicional. Á minha Jo, porque desde o primeiro dia que entrou na minha vida sempre ficou para me ouvir até ao fim, mesmo quando levava uma eternidade a acabar uma história. Á minha Oli por ser a pulga pela qual sempre sonhei.

Aos primos que todos querem ter, mas são só meus, porque são cada um de sua maneira a gargalhada, a festa e cumplicidade garantida. Disseram-me um dia sobre eles “A relação que se tem com eles não se pode deixar perder”, e não pode mesmo. Á Patrícia por ser a eterna princesa bailarina da família que tem o coração mais doce deste mundo e nunca me deixa sem colo. Ao Pedro por mostrar que existe sempre um plano B até mesmo para o mini, ele é determinação, perseverança e responsável pelas minhas melhores gargalhadas. Ao André..., ao André pelas brincadeiras de infância, todas, as quintinhas, os teatros, e pela partilha de sonhos de futuro, por ser dos maiores exemplos de quando se quer, lutamos e conseguimos. Á Fufi, por ser a Bawuca mais bawuca deste mundo, por ser para sempre a minha companheira, por ser a força e a coragem em menina, por ser o meu orgulho. Ao João Pedro por ser o Viking forte, por ser firmeza, por ser mais à frente. Ao António Pedro, por ser no silêncio a cumplicidade, a proximidade e o companheirismo. Aos emprestados, à Jessy por ser o carinho e por me ter deixado entrar na sua vida e por partilharmos a melhor cumplicidade de todas, ao Pestinha por ser o primo grande de há tanto tempo e me oferece todo o amor desde início, por ser proteção e família. À Nene porque cresceu comigo, porque estive todos os dias lá, porque é minha confidente, porque me ensinou o que é partilha desde pequena, por me dar o braço e o “bora”. Ao Joãozinho por ser o orgulho desde coração de prima, pelas gargalhadas asmáticas.

Aos tios, todos os tios, os que estão e os que foram mais cedo, fui buscar força a todos, nunca estive sozinha, tive todos por perto, até mesmo na saudade arranjei forma de estarem orgulhosos dos meus feitos. Obrigada pelo colo.

Aos avôs, ao avô Brotas por hoje ainda sorrir para mim e sentir orgulho da sua neta ser “Doutora Veterinária”, à avó Nita por me ter ensinado que os animais independentemente do tamanho ou espécie serão sempre para cuidar, à avó Carmo por todas as histórias da sua experiência com cavalos e garantir que a paixão por cavalos era partilhada, ao avô JÓ por ter os melhores abraços do mundo, ainda hoje os sinto, por ter deixado amor.

À minha segunda casa, Coudelaria e Picadeiro D’Arrábida por me apoiar e deixar que todo o projeto seja também um bocadinho meu. D. Sofia Spínola o meu maior obrigada!

À Rita, ao Mário e à Francisca por me ter acolhido durante estes 4 meses e por darem todo o apoio nesta jornada, obrigada pelos ensinamentos, obrigada pela amizade.

Às minhas orientadoras pela partilha, ajuda, paciência e apoio neste percurso. Obrigada pela dedicação. Durante esta caminhada não se ficaram só pela orientação, construímos uma linda amizade e serão sempre o meu apoio.

À Marta, ao Carlos e à Dani pela amizade, foi sem dúvida a melhor coisa que a Praxe me deixou, que sejamos eternos.

Aos Too cool for School, à Kika, à Capucho, ao Tomás e à Lara, pela partilha de sofrimento, mas também por serem uma lufada de ar fresco mesmo nos momentos mais difíceis.

Às 4 meninas, à Bé, à Tatiana, à Mariana, à minha surpresa querida Ana Paula, com quem partilhei os dois últimos anos de curso, mas que foram sem dúvida os melhores por vos ter comigo.

Aos de sempre e para sempre, minha Ga e meu João, por tudo porque é impossível descrevê-lo por palavras.

RESUMO

A avaliação do bem-estar animal tem ganho uma importância significativa nas classificações atribuídas em provas de disciplinas equestres e passou a fazer parte de muitas discussões técnicas, tanto a nível de projetos científicos como na esfera da medicina veterinária. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi investigar a resposta fisiológica de um protocolo de treino de 6 semanas em cavalos jovens Puro Sangue Lusitanos de *Dressage* com base em dois biomarcadores principais: o cortisol sérico e o leucograma. Para avaliação dos efeitos do programa de treino, todos os indivíduos alvo de estudo – 9 cavalos em condições semelhantes a nível de saúde, treino e trato – com 4 anos de idade, foram submetidos a dois testes de simulação de *dressage* intervalados em 6 semanas por um protocolo de treino que incluiu 40-80 minutos de exercícios de intensidade ajustada e respeitando os limites individuais de cada animal. Em ambos os momentos os cavalos foram examinados antes e imediatamente após os testes de simulação de *dressage*, bem como aos 30 e 240 minutos de recuperação. Com o presente estudo conclui-se por meio de evidência empírica que a diminuição dos valores do leucograma e do cortisol sérico está diretamente relacionada com a melhoria da performance desportiva.

Palavras-chaves: Bem-estar, Cortisol, Leucograma, Treino, Lusitanos

ABSTRACT

The assessment of animal welfare has gained significant importance in the classifications awarded in tests of equestrian disciplines and has become part of many technical discussions, both in the context of scientific projects and in the veterinary medicine domain. In this context, the aim of this study was to investigate the physiological response of a 6-week training protocol in young Lusitano Dressage horses based on two main biomarkers: serum cortisol and leukogram. In order to evaluate the effects of the training program, all the individuals under study – 9 horses in similar health, training and grooming conditions – aged 4 years old, were submitted to two dressage simulation tests with an interval of 6 weeks under a training protocol that included 40-80 minutes of exercise with an individual-adjusted intensity too each animal. In both moments, the horses were examined before and immediately after the dressage simulation tests, as well as at 30 and 240 minutes of recovery. With the present study, it is concluded through empirical evidence that the decrease in leukogram and serum cortisol values is directly related with the improvement of sports performance.

Keywords: Welfare, Cortisol, Leukogram, Training, *Lusitanos*

GLOSSÁRIO

μL – microlitros

% - percentagem

A – Adrenalina

AAEP - American Association of Equine Practitioners

ACTH – Hormona adrenocorticotrófica

APSL – Associação Portuguesa de Criadores do Cavalo Lusitano

avp – arginina vasopressina

bat/min ou bpm – batimentos por minutos

CEBEA-FMV-ULHT - Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

CK – Creatinaquinase

CRH – Corticotrofina

DWB – Danish Warmblood

EDTA - Ácido etileno-diamino-tetracético

FC – Frequência Cardíaca

FCmax – Frequência cardíaca máxima

FCmed – Frequência cardíaca média

FEI – Federação Equestre Internacional

FEP – Federação Equestre Portuguesa

FR – Frequência Respiratória

GnRH – Hormona de crescimento

GPS – Global Positioning Systems

HPA – eixo hipotalâmico-pituitária-adrenal

Kg – Quilogramas

km/h – quilometro por hora

KWPN - Koninklijke Warmbloed Paardenstamboek Nederland

Leuco – Leucócitos

Linfo – Linfócitos

m – metro

M1/M2 – Momento 1/Momento 2

min – minuto

mmol/L – milimole por litro

NA – Noroadrenalina

Ne – Neutrófilos

nmol/L – nanomole por litro

°C – grau Celsius

OLDBG – Oldenburger

PMN – polimorfonucleares

PRE – Pura Raça Espanhol

PSL – Puro Sangue Lusitano

rpm – respirações por minuto

seg – segundos

SNA – Sistema Nervoso Autónomo

T0/T1/T2/T3 – tempo 0/1/2/3

TC – Temperatura Corporal

TSA – teste de simulação de dressage

UI/L – Unidade Internacional por litro

VG – Volume globular (hematócrito)

Vmax – Velocidade máxima

Vmed – velocidade média

Vx (p.e: V200) – velocidade em que se regista os 200 batimentos por minuto

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	18
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
1. CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA DA RAÇA PURO SANGUE LUSITANO	20
2. O CAVALO LUSITANO E O DESPORTO EQUESTRE	21
3. TIPO DE CAVALO PARA A DRESSAGE.....	23
4. FATORES QUE INFLUENCIAM A APTIDÃO DESPORTIVA	26
5. TESTES A CAMPO: AVALIAÇÃO DE PERFORMANCE E DE PROGRAMA DE TREINO	28
6. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS LIGADOS A PERFORMANCE E BEM-ESTAR EM CAVALOS.....	32
6.1.1 CORTISOL	36
6.1.2 LEUCOGRAMA.....	38
II. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
III. RESULTADOS	48
VI. DISCUSSÃO	54
V. CONCLUSÃO	60
VI. BIBLIOGRAFIA.....	61
VII. APÊNDICES	I

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. PROTOCOLO DE TESTE A CAMPO UTILIZADO PARA AVALIAR CAVALOS DE DRESSAGE. ADAPTADO DE MUNSTERS ET AL. (2014).....	31
TABELA 2. PROGRAMA DE TREINO ESTIPULADO PARA AS 6 SEMANAS ENTRE OS TESTES DE SIMULAÇÃO DE DRESSAGE.	43
TABELA 3. SEQUÊNCIA DE MOVIMENTOS A SEREM REALIZADOS NO TESTE A CAMPO DE UMA PROVA DE ENSINO.....	45
TABELA 4. PARÂMETROS FISIOLÓGICOS (MÉDIAS $\pm$ DESVIOS PADRÃO) DOS EQUINOS EM TSD, USADOS NA AVALIAÇÃO DE UM TREINO FÍSICO DE 6 SEMANAS.	49
TABELA 5. PARÂMETROS HEMATIMÉTRICOS (MÉDIAS $\pm$ DESVIOS PADRÃO) DOS EQUINOS EM TSD, USADOS NA AVALIAÇÃO DE UM TREINO FÍSICO DE 6 SEMANAS.	50
TABELA 6. CORTISOL SÉRICO EM EQUINOS EM TSD, USADOS NA AVALIAÇÃO DE UM TREINO FÍSICO DE 6 SEMANAS.....	51
TABELA 7. AVALIAÇÃO DO MONITOR CARDÍACO (M430 POLAR) DOS EQUINOS PSL EM TSD PARA AVALIAÇÃO DO PROGRAMA DE TREINO FÍSICO DE 6 SEMANAS.....	52
TABELA 8. GLICÉMIA E LACTACIDÉMIA (MÉDIAS $\pm$ DESVIOS PADRÃO) DOS EQUINOS EM TSD, USADOS NA AVALIAÇÃO DE UM TREINO FÍSICO DE 6 SEMANAS.	53
TABELA 9. PADRÃO DA RAÇA PURO SANGUE LUSITANO. ADAPTADO DE APSL (2022B).....	I

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. DISTRIBUIÇÃO DA CASUÍSTICA DE ESTÁGIO POR ÁREA CLÍNICA.	13
FIGURA 2. DISTRIBUIÇÃO DA CASUÍSTICA DE ESTÁGIO POR ESPECIALIDADES.	14
FIGURA 3. MEIOS DE DIAGNÓSTICO MAIS UTILIZADOS DURANTE O ESTÁGIO.	16
FIGURA 4. TRATAMENTOS UTILIZADOS DURANTE O ESTÁGIO.	17
FIGURA 5. PISTA DE ENSINO COM IDENTIFICAÇÃO DOS PERCURSOS ATRAVÉS DE LETRAS	44
FIGURA 6. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA TABELA 5.	49
FIGURA 7. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA TABELA 6.	50
FIGURA 8. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA TABELA 7.	51
FIGURA 9. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA TABELA 8.	52
FIGURA 10. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA TABELA 9.	53

CASUÍSTICA DE ESTÁGIO

O estágio curricular para conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias foi dividido em duas partes. A primeira parte do estágio decorreu entre Setembro de 2021 e Janeiro de 2022, com estes quatro meses de estágio incidindo na sua totalidade na prática clínica de medicina equina em regime ambulatorio. A última parte do estágio incidiu na recolha de amostras e prática laboratorial, como suporte para o estudo e elaboração do projeto de investigação da presente dissertação. Totalizando uma carga horária de 925 horas de trabalho incluindo a preparação da presente dissertação.

A orientadora externa e responsável pelo acompanhamento dos primeiros quatro meses de estágio foi a Doutora Rita Rocha Pires (*Esquina Latina Equestrian Services, LDA*). Durante todo o período de estágio foi possível seguir a equipa veterinária e assistir a variados casos de Medicina Desportiva Equina. Na parte do projeto de investigação todo o processo foi gentilmente acompanhado e orientado pela Professora Doutora Clarisse Coelho e pela Professora Doutora Joana Simões.

O objetivo do estágio compreendia a consolidação dos conceitos adquiridos durante o percurso académico, bem como a aquisição de novos conhecimentos no âmbito da prática clínica e laboratorial de diferentes metodologias, procedimentos e tratamentos disponíveis.

1.1 Atividades desenvolvidas

Todos casos observados durante o estágio em regime ambulatorio foram meticulosamente estudados e descritos, começando com uma abordagem generalizada com recurso a um exame físico detalhado e posteriormente a um exame dirigido.

A área de maior atuação foi no diagnóstico e tratamento de doenças ortopédicas e músculo-esqueléticas, com uma avaliação inicial por meio de um exame estático e dinâmico e, posteriormente, com recurso a meios de diagnóstico complementares como os bloqueios perineurais, a radiologia e a ecografia. Os tratamentos incidiram maioritariamente na resolução de lesões do sistema locomotor, por meio de infiltrações articulares e perfusão loco-regionais, ozonoterapia, mesoterapia e tratamento sistémico. Neste âmbito, foi ainda assegurado todo o acompanhamento clínico de equinos atletas de alta competição.

Adicionalmente, foram também observadas doenças do sistema dermatológico, respiratório, oftalmológico e digestivo.

Durante o tempo de estágio foram por outro lado avaliadas diferentes urgências, com maior incidência na resolução de Síndrome de abdómen agudo (cólicas) e de lacerações/feridas, com necessidade de realização de suturas e/ou pensos.

A medicina preventiva foi outra das áreas de maior ênfase e englobou a vacinação, desparasitação e a realização de dentisteria e remoção de dentes, maioritariamente dos primeiros pré-molares (comumente conhecidos como “dentes de lobo”). Neste âmbito foram ainda realizados diversos exames de ato de compra.

Na área de cirurgia ambulatoria foi possível assistir a algumas castrações em estação de animais saudáveis, sendo as mesmas realizadas apenas por questões comportamentais ou por venda.

Na segunda parte do estágio, referente ao projeto de investigação, foi possível participar na conceptualização e desenho metodológico do mesmo. Adicionalmente, foram realizadas todas as colheitas amostrais posteriormente processadas e analisadas em laboratório. Os métodos utilizados e resultados obtidos serão descritos e apresentados nesta dissertação.

1.2 Representação estatística da amostra do estágio

No decorrer dos 4 meses de estágio curricular em regime ambulatorio foram observados 452 casos na área de Medicina Desportiva Equina, sendo que os equinos atendidos eram praticantes de distintas modalidades desportivas como endurance, dressage e obstáculos.

Os dados apresentados nas seguintes figuras foram realizados consoante o número de casos, ou seja, o mesmo equino pode ter diferentes consultas realizadas em diferentes áreas, admitindo assim a possibilidade de repetição de equinos.

A representação estatística foi ainda dividida por casuística, área clínica, meios de diagnóstico e tratamentos maioritariamente utilizados.

1.2.2 Casuística

Os dados casuísticos são primeiramente apresentados segundo o motivo de consulta. A contabilização foi feita a partir do número de casos observados e não pelo número de equinos, permitindo uma melhor descrição da casuística observada.

A área clínica que apresentou um maior número de observações foi a de medicina desportiva, nomeadamente a especialidade de ortopedia, seguida da especialidade de medicina preventiva que engloba a vacinação, desparasitação, dentisteria e exames de ato de compra. Por

fim, segue-se toda a área de clínica cirúrgica ambulatorial com maior incidência nas castrações em estação, e a medicina de urgência em resposta ao Síndrome de abdómen agudo e sutura de lacerações (Figura 1).

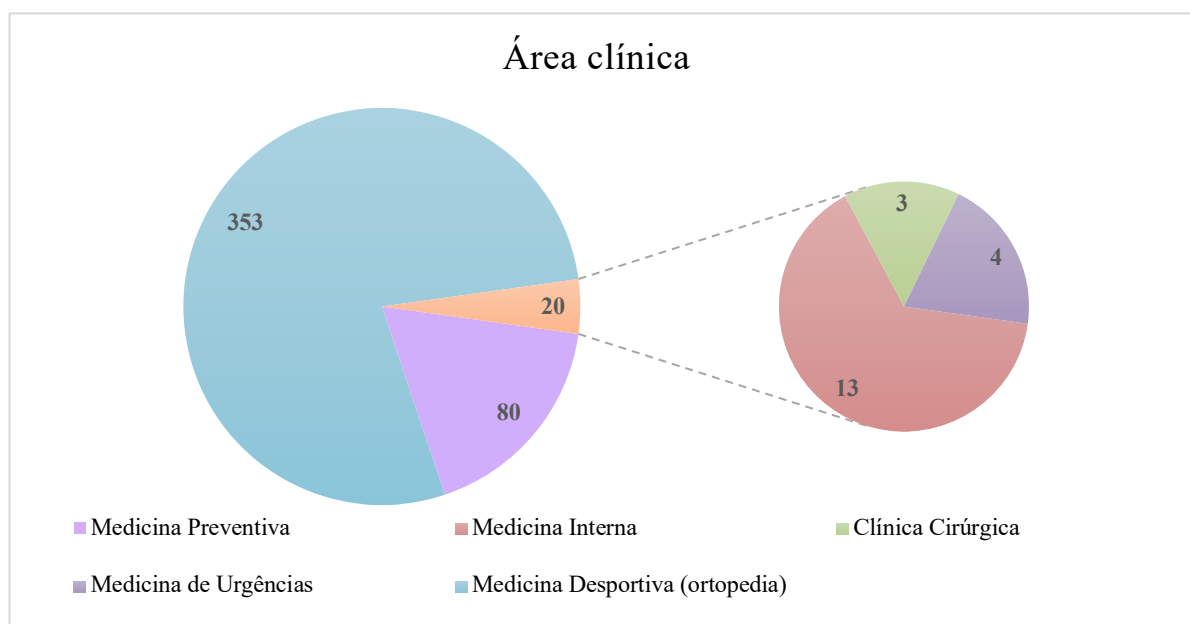


Figura 1. Distribuição da casuística de estágio por área clínica.

1.2.3 Especialidades

A área de medicina interna engloba a especialidade de Gastroenterologia, Oftalmologia, Dermatologia e Respiratória. Da medicina desportiva faz parte a especialidade de Ortopedia, precisamente a área que teve uma maior expressão na globalidade de casos assistidos, uma vez que se trata da especialidade da equipa seguida durante o estágio. Foram assim acompanhadas diversas lesões em ligamentos, tendões e músculos (*e.g.*, desmopatias, calcificações); em articulações com diagnóstico de osteocondrite dissecante (OCD), artroses, sinovite, diminuição do espaço articular; fraturas e deformidades ósseas (*e.g.*, exostoses metacarpianas, enteseófitos, *kissing spines*); abscessos e doença da linha branca do casco.

A Gastroenterologia foi a segunda especialidade com maior expressão durante o estágio, estando diretamente incluída no número de urgências atendidas, visto que a maioria era decorrente de Síndrome do abdómen agudo (cólicas) por impactação gástrica. Foi observado também um caso de encarceramento no espaço nefroesplénico. Nos casos diagnosticados com Síndrome de abdómen agudo, a intervenção passou pelo manejo médico, incluindo a realização de entubação nasogástrica para remoção do conteúdo gástrico e consequente avaliação (quantitativa e qualitativa) do refluxo quando presente, e administração de medicação para

controlo de dor. Foi também possível assistir a uma consulta de avaliação da resposta ao tratamento médico de um cavalo previamente diagnosticado com ulceração gástrica por meio de endoscopia.

Todos animais que se apresentaram com sinais de doença respiratória foram diagnosticados com Síndrome de asma equina. Os mesmos foram medicados farmacologicamente consoante as suas necessidades e aconselhadas todas as alterações de manejo essenciais para o controlo da doença.

Na área de dermatologia foi possível assistir ao acompanhamento de equinos com diferentes patologias como a alergia à picada do mosquito ou a dermatofilose (vulgarmente conhecida por “arestins”), e ainda à monitorização de melanomas.

Por fim, na área de oftalmologia, por meio do teste de fluoresceína, foram diagnosticadas úlceras na córnea tanto em cavalos jovens como adultos. Todos foram medicados e acompanhados consoante a severidade da doença.

A figura 2 ilustra em percentagem as diferentes especialidades assistidas ao longo do estágio.

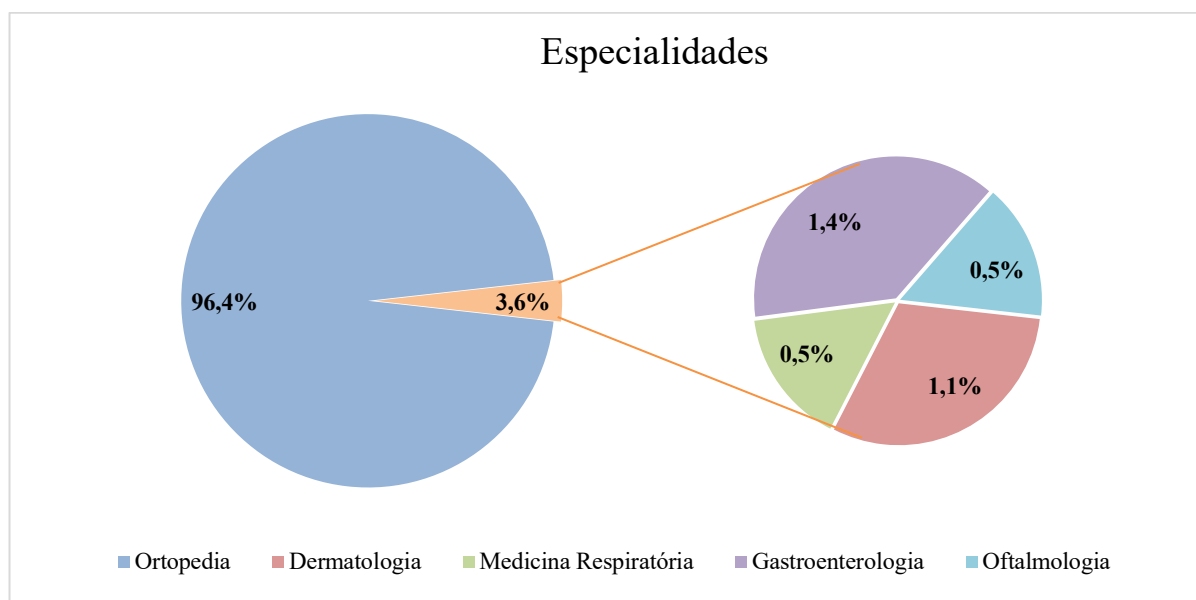


Figura 2. Distribuição da casuística de estágio por especialidades.

1.2.4 Meios de diagnóstico

Todos os animais, independentemente do motivo de consulta, passaram por uma avaliação clínica minuciosa com início num exame de estado geral com auscultação cardíaca e respiratória e medição da temperatura corporal. Como a maioria dos casos observados estavam

relacionados com Medicina Desportiva, após um exame de estado geral seguiu-se o exame estático, o exame dinâmico, testes de flexão, localização de lesões por bloqueios anestésicos e, por fim e mais direcionado ao local da lesão, o exame imagiológico conveniente.

O exame clínico metódico e sistemático passava pelo exame estático em que se avaliava posição, conformação, identificação de zonas de edema ou atrofia, aumento da sensibilidade, temperatura, tumefação e pulso. A sensibilidade do casco era também avaliada com a pinça de cascos.

O exame dinâmico realizado consistia na identificação e determinação da intensidade do grau de claudicação que os animais apresentavam durante dois dos 3 andamentos, passo e trote em linha reta e em círculos, em piso duro e mole. A mesma claudicação era classificada segundo a escala da Associação Americana de Médicos Veterinários de Equinos (AAEP, *American Association of Equine Practitioners*), de zero (0 – ausência de claudicação) a cinco (5 – supressão de apoio do membro afetado, relutância do cavalo em se movimentar). Após a observação dinâmica do cavalo foram realizados os testes de flexão durante 1 minuto em determinadas regiões anatómicas e uma vez exercida a tensão o cavalo era trotado em linha reta por forma a observar a resposta a essa tensão. Os testes de flexão eram normalmente executados primeiramente nos membros anteriores e de seguida nos membros posteriores, sempre da zona mais distal para a zona proximal. Estes testes permitem exacerbar claudicações mais ténues e de difícil identificação.

Os bloqueios anestésicos perineurais e intrassinoviais foram outros meios de diagnóstico muitas vezes utilizados para facilitar e/ou confirmar, após o exame dinâmico, qual a estrutura anatómica afetada. Nos casos de supressão de apoio do membro e/ou suspeita de fraturas iniciava-se, após o exame clínico, o estudo imagiológico com recurso ao exame radiológico, sem a realização de bloqueio anestésicos prévios devido aos riscos associados, como por exemplo o agravamento da lesão uma vez que lhes é suprimido o grau de dor.

Os exames imagiológicos utilizados nas diferentes áreas durante o estágio foram a radiologia e a ecografia. A radiologia foi utilizada principalmente no diagnóstico de fraturas nos membros anteriores e posteriores, doença de Osteocondrite Dissecante (OCD), quistos ósseos e em exames de ato de compra. O exame ecográfico foi utilizado na área reprodutiva assim como na área desportiva, principalmente no diagnóstico de lesões em tendões, ligamentos e articulações. No sistema digestivo, a auscultação dos quatro quadrantes abdominais de ambos os lados era usada nos casos de Síndrome de abdómen agudo para avaliação da motilidade intestinal e o recurso à palpação retal para avaliação das ansas intestinais.

Os meios de diagnóstico acima referidos estão representados estatisticamente na figura 3.

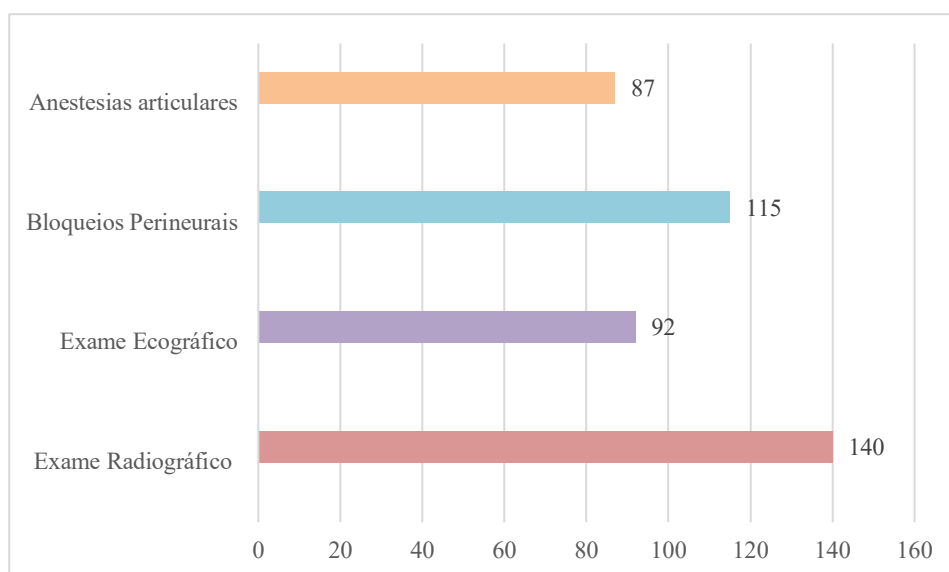


Figura 3. Meios de diagnóstico mais utilizados durante o estágio.

1.2.4 Tratamentos

Os tratamentos realizados durante o estágio incidiram na sua maioria na área de medicina desportiva (Ortopedia), embora tenha também sido contabilizado o manejo médico de Síndrome de abdómen agudo, de abscessos de casco, de uveítes, de feridas/lacerações e de controlo de crises asmáticas.

O tratamento de doenças articulares (sinuvites, pós-cirúrgico de OCD, artroses) por meio de infiltrações foi o mais utilizado durante o estágio, com o objetivo de resolução e/ou analgesia das mesmas. Estas infiltrações eram realizadas com recurso a ácido hialurónico combinado com corticosteroídes (*e.g.*, acetonido de triancinolona) e, caso necessário, com antibióticos como a ampicacina.

A ozonoterapia foi também um dos tratamentos de eleição devido ao seu poder anti-inflamatório e analgésico com efeito prolongado e sem efeito de *doping*. O ozono foi maioritariamente utilizado em cavalos atletas com queixas de dorsalgia. Este tratamento, assim como a mesoterapia, era muitas vezes complementar à infiltração com ácido hialurónico na mesma região.

Foi também possível acompanhar uso de medicações mais específicas tais como a perfusão loco-regional com ácido tiludrónico (*Tildren®*), terapia escolhida para lesões onde estaria presente uma remodelação óssea deficiente, nos casos de predisposição a uma

osteoartrose. De igual modo, houve também recurso à utilização de um sistema de proteína autóloga (*Pro-Stride®*), que consiste num tratamento regenerativo completo capaz de reduzir a dor e a inflamação associada a doenças degenerativas articulares.

A radiofrequência e as ondas de choque foram tratamentos adicionais às terapêuticas anteriores. Apesar de menos usadas, ambas são indicadas para reduzir o tempo de recuperação e o retorno ao trabalho de cavalos atletas lesionados. A terapia com radiofrequência tem como benefícios a recuperação acelerada de lesões crónicas e agudas como tendinites, bursites e desmites, sendo que durante o estágio foi utilizada maioritariamente em casos de tendinites. O tratamento com ondas de choque é também uma terapêutica complementar em desmites do ligamento suspensor do boleto, exostoses metársicas/ metacárpicas ou interfalângicas. Estes foram precisamente os casos do estágio nos quais foi aplicada este tipo de terapia de modo a proporcionar o alívio da dor (efeito analgésico e terapêutico). A figura 4 representa graficamente a distribuição do tipo e meio de tratamentos realizados durante o estágio.

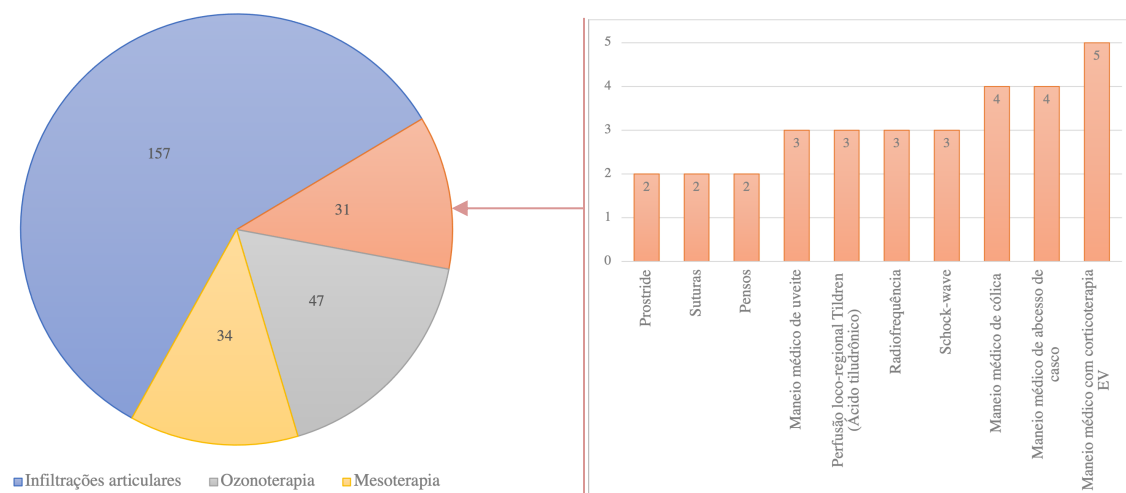


Figura 4. Tratamentos utilizados durante o estágio.

I. INTRODUÇÃO

O bem-estar animal tem cada vez mais peso nas modalidades equestres. A consciencialização da importância de assegurar melhores parâmetros de saúde e bem-estar animal com vista à obtenção de bons resultados desportivos tem vindo a ganhar relevância. O desempenho desportivo está intimamente relacionado com o bem-estar uma vez que para atingir máximos desportivos é necessário um correto funcionamento e interação do organismo para dar resposta ao estímulo recebido (Graaf-Roelfsema, Keizer, Breda, Wijnberg & van der Kolk, 2007).

Um dos aspetos que maior impacto pode causar no bem-estar animal é precisamente o nível de *stress*, presente em todos os desportos de competição. Neste caso, por *stress* entende-se a resposta fisiológica do organismo que irá afetar a homeostasia do mesmo, gerando reações a um determinado estímulo (exercício, transporte, alteração de ambiente, etc.) (Ferlazzo, Cravana, Fazio & Medica 2020).

Esta resposta fisiológica causada pelo *stress* também ocorre nos desportos equestres. Tanto cavaleiros como cavalos podem ser afetados por *stress* (ansiedade) em vários níveis. O *stress* nem sempre é prejudicial e por isso é classificado de duas formas: o *stress* positivo, chamado de “*eustress*”, que é até necessário para a adaptação ambiental como seja na captação de recursos, por exemplo, para atuar em competições; e o *stress* negativo, o “*distress*”, quando causa efeitos nocivos na saúde, bem-estar e/ ou desempenho físico. O *distress* pode surgir quando um indivíduo é confrontado com um estímulo agudo ou crónico que supera as suas capacidades de adaptação (Peeters, Closson, Beckers & Vandenheede, 2013; Moberg, 2000).

O principal objetivo no exercício de cavalos é aumentar a mobilização de energia para o sistema nervoso e para os músculos em atividade (Paes et al., 2012; Hyypä, 2005; Hackney & Walz, 2013). Para tal, são promovidos efeitos cardiovasculares como o aumento da frequência cardíaca (FC), e do volume sistólico e uma contração esplênica, dependente do esforço que aumenta a perfusão tecidual por meio de um aumento transitório de glóbulos vermelhos circulantes (eritrócitos) (Hunka et al., 2018; Djokovic, Markovic, Djermanovic & Trailovic, 2021). O exercício físico pode levar a uma leucocitose (Lopes, Batista, Dias & Soto-Blanco, 2009). Esta mobilização de leucócitos ocorre de diferentes formas: enquanto o cortisol induz neutrofilia e linfopenia e consequente aumento do rácio N:L, conhecido como leucograma de stress, a adrenalina promove uma mobilização de neutrófilos e linfócitos periféricos para a *pool*

circulante, aumento conhecido como leucograma fisiológico – por neutrofilia e linfocitose (Paes et al., 2012; Djokovic et al., 2021).

Geralmente, um protocolo de treino é planeado individualmente, tendo sempre em consideração os objetivos do atleta visando atingir o máximo físico para um determinado desporto (Graaf-Roelfsema, Keizer, Breda, Wijnberg & van der Kolk, 2007). O mesmo caracteriza-se pela prática sistemática e contínua de exercícios físicos com aumento gradual de intensidade, intercalados com períodos de descanso (Cayado et al., 2006). Está descrito que em humanos há um benefício do bem-estar emocional e cognitivo com a prática de exercício físico (Bridgeman, Pretty & Tribe, 2006). Assim, os fatores emocionais também devem ser considerados na preparação para exercícios ou competições a fim de garantir o bem-estar dos cavalos e das pessoas envolvidas nas diferentes modalidades equestres (Henshall, Randle, Francis & Freire, 2022).

No caso concreto do presente estudo, o objetivo passou por investigar as respostas fisiológicas de um protocolo de treino de 6 semanas em cavalos jovens Lusitanos utilizados para *dressage*. A hipótese deste projeto foi que o protocolo de treino proposto melhora a aptidão física, enquanto garante o bem-estar desses animais ao reduzir os preditores de *stress*.

Revisão bibliográfica

1. Contextualização histórica da Raça Puro Sangue Lusitano

As primeiras referências ao cavalo Lusitano surgem em figuras rupestres no Escoural, no Alentejo, datadas entre 17.000 e 13.000 a.C., mas apenas reveladas em 1963. A seleção desta raça foi realizada inicialmente com intuito de obtenção de um cavalo de guerra. Anos mais tarde, a seleção passou para a busca de um animal apto ao toureio a cavalo, com base na sua força muscular e andamentos progressivos e com competência de reduções e disparos bruscos (Cordeiro, 1997).

Em 1748, D. João V, rei de Portugal, fundou a Coudelaria de Alter com objetivo de criar cavalos de raça Puro Sangue Lusitanos destinados ao serviço real. Esta coudelaria iniciou-se com um efetivo reprodutor de 40 éguas. No século XIX, a coudelaria sofreu um processo de decadência e, em 1862, Mário Soares, na altura Diretor-general da Agricultura em Portugal, afirmava que embora a raça fosse considerada das melhores da Europa não tinham sido realizados os meios necessários para a sua melhoria e conservação (Costa Ferreira, 2005). A primeira intervenção do estado na criação coudélica dá-se em 1887 com a criação de um banco semental e o registo de éguas reprodutoras em 1891 (Ferraz da Costa, 2005).

A responsabilidade do início do aperfeiçoamento da raça em Portugal é atribuída a quatro grandes nomes: Eng.º Manuel Tavares Veiga; Dr. Ruy d'Andrade; Fernando Sommer de Andrade; João Núncio. Hoje, juntamente com a fiscalização do Ministério da Agricultura, a Associação Portuguesa de Criadores do Cavalo Puro Sangue Lusitano (APSL) é responsável pelo controlo da raça e detentora do *Stud Book*. O continuo melhoramento e aperfeiçoamento da raça é assegurado por esta mesma associação que garante que apenas sejam admitidos como reprodutores aqueles que são descendentes de animais já inscritos no *Stud Book* e aprovados com base nas características da raça com a pontuação exigida (Cordeiro, 1997).

O *Stud Book* foi criado em 1889 com o objetivo de tornar obrigatório o registo dos animais que se tinha iniciado em 1856 aquando da criação das Coudelarias Nacionais. Inicialmente não havia separação do registo por raças, apenas se iniciando essa distinção em 1899 (Costa Ferreira, 2005). O Livro Genealógico do Cavalo da Raça Puro Sangue Lusitano ou *Stud Book* da Raça Puro Sangue Lusitano tem como objetivo garantir a conservação e o melhoramento da raça avaliando os seus reprodutores, assegurando assim o aperfeiçoamento zootécnico da raça (APSL, 2022).

As características morfofuncionais do cavalo de raça Puro Sangue Lusitano (PSL) são muito idênticas às do cavalo de Pura Raça Espanhol (PRE). O cavalo ibérico é o cavalo típico da zona sul da Península Ibérica e é conhecido como cavalo Lusitano em Portugal, um nome que vem da região da Lusitânia da época romana, hoje conhecida como Portugal. A Lusitânia é uma grande parte do atual território português e parte do território espanhol (Monteiro, 1983).

O mesmo tipo de cavalos criados na Espanha é conhecido como cavalo espanhol (Pura Raça Espanhol) ou Andaluz, da região da Andaluzia. Globalmente eram conhecidos como espanhóis, hispânicos, ibéricos ou cavalos da Península. A designação de Lusitano surge em 1942 e é adaptada para cavalos que, nascidos em Portugal, pudessem apresentar características morfológicas e funcionais da raça, possuindo uma genealogia conhecida que os autoriza e aceita o uso dessa designação (Monteiro, 1983).

2. O cavalo Lusitano e o desporto equestre

O cavalo Lusitano, desde os primórdios da sua utilização na caça e combate, passou durante milhares de anos por uma seleção exigente (Vicente, Carolino & Gama, 2014). Nesta seleção sempre se considerou a morfologia e a conformação do cavalo aspetos principais na criação de equinos, sendo que está intimamente relacionada com a morfologia a amplitude de movimentos, aptidão funcional, desempenho desportivo, saúde e longevidade (Preisinger, Wilkens & Kalm, 1991; Vicente, Carolino & Gama, 2014; Vicente, Carolino & Gama, 2016).

Ao longo dos anos, criadores e proprietários de PSL selecionam machos e/ ou fêmeas para utilizarem como reprodutores que possam transmitir características desejáveis aos descendentes e assim continuar a melhoria e conservação dos padrões da raça (Vicente et al., 2014).

O cavalo Puro Sangue Lusitano é um cavalo extremamente procurado por todo o mundo equestre, seja para efeitos de lazer ou desporto, sendo considerado um exemplo de cavalo de sela capaz de envolver a beleza e a harmonia da sua conformação com o temperamento dócil e compassivo. Assim, é um cavalo com andamentos ágeis e cómodos, equilibrado, com capacidade de adaptação a qualquer modalidade equestre e terreno climático. A versatilidade desta raça permite que a mesma esteja presente nas mais diferentes atividades equestres, nomeadamente na *dressage*, equitação de trabalho, atrelagem, alta escola e obstáculos (Cordeiro, 1997; Monteiro, 1983).

A seleção de reprodutores é essencialmente concebida a partir da avaliação fenotípica (morfologia e andamentos) e genealógica por parte dos criadores ou proprietários. A inclusão

de outros objetivos de melhoria que traduzam a funcionalidade do animal seria também interessante e importante neste processo de seleção, já que para a melhoria de uma determinada população se pretende selecionar um conjunto de características, sendo a seleção tão mais eficaz se for exercida com base no valor genético das mesmas (Vicente et al., 2014).

O reprodutor transmite à descendência metade dos seus genes; já as condições ambientais a que foi sujeito não são hereditárias e, por isso, é do interesse do criador conhecer o valor genético dos animais reprodutores, ou seja, o que um determinado animal pode transmitir à descendência que vise o melhoramento da população. Assim, é de extrema importância saber que o valor fenotípico de um animal para determinado registo, aquando da sua aprovação (por exemplo, altura ao garote, avaliação da cabeça e pescoço) pode ser um indicador do seu valor genético, mas reflete também as condições ambientais (alimentação, criador, ano, método de treino, etc.) a que o mesmo foi sujeito, incluindo até mesmo o ambiente uterino (Cano, Vivo, Miró, Morales & Galisteo, 2001; Vicente et al., 2014; Vicente et al., 2016).

O valor genético de um cavalo corresponde ao seu valor como reprodutor e pode ser interpretado como a sua superioridade ou inferioridade genética para a característica em causa, cuja metade desta será transmitida à descendência. Este valor é essencialmente comparativo entre animais. Assim, a seleção de reprodutores é feita segundo um determinado valor genético superior que se queira perpetuar durante muitas gerações como, por exemplo, a sua aptidão desportiva para *dressage*, um forte indicador do seu mérito genético (Vicente et al., 2014; Vicente et al., 2016).

Após concretizada a seleção dos animais candidatos a reprodutores pelos criadores, estes passam a uma aprovação, podendo esta ser uma prova pública (no caso dos machos) ou em propriedade do criador (no caso das fêmeas). Esta aprovação para o “Livro de Reprodutores” da raça PSL, é realizada por um conjunto de juizes licenciados para o efeito. Todos os animais propostos a aprovação devem seguir as regras estipuladas no “Regulamento do livro genealógico do cavalo da raça Lusitana” de 2022, publicado pela Associação Portuguesa de Criadores do Cavalo Puro Sangue Lusitano (APSL) no site da mesma (APSL, 2022a). Neste método de avaliação é realizada uma apreciação da morfologia e dos andamentos do cavalo candidato e, assim, ser-lhe-á atribuída a classificação de reprodutor para permitir a produção de descendentes que possam ser inscritos como animais da raça no “Livro de Nascimentos”. A aprovação de reprodutores consiste na atribuição de notas numa escala de 1 a 10 em oito parâmetros (cabeça e pescoço; espádua e garrote; peitoral e costado; dorso e rim; garupa; membros; andamentos [passo, trote e galope]; conjunto e formas) em que a pontuação total (de

0 a 100) resulta da soma de todos os parâmetros avaliados (APSL, 2022a) multiplicados dos respetivos coeficientes.

A atribuição de pontuação tem sempre como base o padrão da raça (Tabela 9 dos anexos).

Os ângulos definidos pelos segmentos ósseos e pelas articulações do cavalo são extremamente importantes pois condicionam, por um lado, a qualidade dos andamentos e, por outro, o equilíbrio de forças exercidas sobre as estruturas anatômicas e absorção de impactos que a longo prazo podem comprometer o desempenho desportivo do animal, levando a lesões (Santos, 2008; Holmstrom & Philipsson, 1993).

O estudo realizado por Santos (2008) avaliou a morfologia e a funcionalidade (incluído os próprios andamentos) de cavalos Lusitanos de *dressage* e comparou com outras raças da mesma disciplina. O estudo concluiu que o Lusitano apresenta uma menor amplitude da passada, uma maior elevação do casco, uma maior extensão da escápula e uma maior flexão do boleto, revelando uma aptidão para andamentos reunidos, mas uma maior dificuldade para um bom *ground covering*.

As características morfométricas do cavalo PSL são relativamente semelhantes às de outras raças de cavalos de sela. No entanto, quando comparados com raças de cavalos de desporto, e particularmente com cavalos especializados em *dressage*, revelam-se algumas diferenças notáveis como o comprimento insuficiente do dorso e da garupa, a distância excessiva dos ângulos de inclinação do braço e da coxa ao plano horizontal, o comprimento curto da perna e o ângulo excessivamente fechado do curvilhão. O padrão biocinemático do trote no PSL é mais semelhante ao do cavalo PRE comparativamente ao de outras raças equinas de maior aptidão desportiva, sobretudo no que diz respeito às variáveis lineares (comprimento da passada, *ground covering*) e algumas variáveis angulares (ângulos máximos e mínimos de flexão e extensão das articulações) do membro torácico. Ambas as raças tendem a ter maior grau de flexão do que as raças de desporto europeias, o que afeta variáveis lineares, como o comprimento da passada (Santos, 2008).

Contudo, verifica-se uma crescente procura de utilização de cavalos PSL em provas internacionais de *dressage*, o que reflete um melhor desempenho atlético destes animais apesar das limitações anteriormente referidas.

3. Tipo de cavalo para a *dressage*

A *dressage* (ensino de competição) é um dos desportos equestres olímpicos praticados em vários países em que são utilizadas diferentes raças de cavalos. Nesta disciplina é exigido

que os três andamentos (passo, trote e galope) sejam realizados de diferentes formas, com alterações de velocidade e cadência, para se enquadrarem nas características estabelecidas para a realização dos exercícios da disciplina. Acredita-se que algumas dessas características possam ser selecionadas geneticamente, contribuindo para o desempenho do animal na disciplina equestre (Barrey et al., 2002). Em Espanha, os PRE têm vindo a ser selecionados para a disciplina de *dressage* desde o século XV. Estes cavalos eram inicialmente utilizados no trabalho militar, sendo preparados para as academias militares de Espanha, Itália, França e Áustria até ao século XVIII. Esta raça tem vindo a ser cruzada com raças de equinos, nomeadamente alemãs e holandesas, para melhorar a aptidão dos PRE para os andamentos mais curtos, impulsivos e explosivos. O padrão conformacional e de andamentos para a disciplina de *dressage* tem sido cada vez mais influenciado pelas raças Warmblood, como Hanoveriano, Oldenburger, Westphalian e Warmblood Holandês (KWPN, Koninklijke Warmbloed Paardenstamboek Nederland), sendo que nos *studbooks* destas raças se refere que o objetivo principal é a aptidão das mesmas para a *dressage* (Barrey et al, 2002).

Os andamentos realizados em competição são o passo, trote, galope, recuar, *passage* e *piaffer*. O passo, trote e galope têm várias variações que diferem na velocidade de progressão. Da mais lenta à mais rápida estas são: os andamentos reunidos, de trabalho, médios e em extensão. Os cavalos devem manter a frequência de passada (ritmo) durante as transições entre estes tipos de andamento, ou seja, devem mudar o comprimento da passada independentemente da frequência da mesma (Back & Clayton, 2013).

A entidade reguladora dos desportos equestres olímpicos, como a *dressage*, é denominada pela Federação Equestre Internacional (FEI). Esta entidade discriminou todas as características de andamentos (passo, trote, galope e todas as variações destas) e figuras a executar durante as provas, num regulamento publicado e de acesso público. Estas características são meticulosamente avaliadas e juradas com base no regulamento publico durante as provas de *dressage* (FEI, 2020).

De acordo com os resultados de competição internacionais do presente ano, cavalos de raças alemãs e holandesas são os melhores executantes nas competições de *dressage*, sendo essas as Oldenburger (OLDBG), KWPN e Danish Warmblood (DWB) (Anon, 2022).

A conformação dos cavalos é tradicionalmente utilizada para julgar e prever a aptidão dos cavalos para determinada disciplina equestre, não havendo quaisquer dúvidas de que existe uma correlação significativa entre a conformação e o desempenho desportivo destes animais.

Assim, é necessário conhecer os principais parâmetros a apreciar aquando deste tipo de avaliação, sendo eles: o grau de inclinação do ombro, pélvis e fémur; articulações do ombro, codilho, joelho e curvilhão (Holmstrom, 2013).

As diferenças de conformação entre as raças podem explicar algumas das diferenças nos andamentos, pois a velocidade, o comprimento e a frequência da passada estão relacionados com a altura ao garrote, comprimento dos segmentos dos membros e ângulos das articulações proximais. Os cavalos altos têm uma frequência de passada mais lenta e um comprimento da mesma mais longo, o que causa uma maior velocidade comparativamente a cavalos de menor altura ao garrote (Barrey et al., 2002; Holmström, 2013; Montepegado, 2017).

Segundo o estudo efetuado por Barrey et al. (2002), os cavalos alemães têm um perfil de locomoção mais adaptado para as competições de *dressage* quando comparados com outras raças, como Sela Francês e Pura Raça Espanhola. Os resultados obtidos neste grupo poderiam ser usados como referência para a criação de cavalos de ensino. A elasticidade do trote é consequência da grande amplitude de movimentos no eixo dorsoventral e longitudinal. Um grande deslocamento dorsoventral ativo e uma frequência lenta da passada dá uma boa impressão de elasticidade. Uma alta regularidade e ritmo da passada devem ser observados e tidos em conta nos andamentos da disciplina de *dressage*. A boa propulsão e atividade longitudinal, tanto no passo quanto no trote, é vantajosa em andamentos como a *passage* e *piaffer*. Neste estudo comparativo, entraram três diferentes cavalos: alemães (Hanoveriano, *Oldenburger* e *Westphalian*), sela francês e PRE (Andaluz, com maior aproximação ao cavalo PSL). Este estudo demonstrou que os cavalos alemães apresentam características de marcha mais adaptadas para competição de *dressage*, e que isso pode ser observado em cavalos em idade jovem. Os primeiros resultados obtidos nos cavalos alemães poderiam ser considerados como referência para a criação de cavalos de ensino. Os cavalos de PRE devem ser considerados como referência para andamentos reunidos utilizados no ensino de alta escola. Os testes de modelos, andamentos e conformação podem ser aplicados em planos de criação para detetar com maior precisão cavalos jovens com boa aptidão à *dressage*.

Os cavalos de *dressage* de elite tendem a ter pescoços curtos, o que talvez reduza a alavancagem da cabeça e pescoço e, assim, facilita os andamentos reunidos e a capacidade de se *ground covering* em exercícios elásticos. A fixação adequada da cabeça ao pescoço e do pescoço ao tronco é um fator importante para cavalos aptos à *dressage*. No membro anterior, a escápula é inclinada e a articulação do codilho tem um grande ângulo. Um úmero longo, um

ângulo de quadril pequeno e um fêmur longo e inclinado estão associados a altas pontuações de marcha. (Holmstrom, 2013).

4. Fatores que influenciam a aptidão desportiva

A capacidade desportiva, em qualquer espécie, é determinada por três fatores principais: a genética, o ambiente e o treino (Hodgson, McKeever & McGowan, 2014; Hodgson & Foreman, 2013).

Está comprovada que a forma mais efetiva de se obter um campeão atleta é ser rigoroso e seletivo na escolha dos progenitores (Hinchcliff, Geor & Kaneps, 2008; Barrey, 2013). Esta parece uma afirmação óbvia, uma vez que décadas, e para algumas raças até séculos, de criação têm como objetivo selecionar e criar cavalos com desempenho superior com base na suposição de que a capacidade atlética é hereditária. Embora os fatores genéticos determinem o limite máximo de desempenho de cada atleta, fatores ambientais e de treino determinam o quão próximo cada atleta se aproxima desse mesmo limite (Hodgson et al., 2014). No entanto, como acontece com qualquer característica que provavelmente seja controlada por mais do que um gene, a herdabilidade das características de desempenho não é particularmente forte, refletindo o efeito de fatores ambientais, mesmo os intrauterinos, sobre a capacidade atlética futura. Há um interesse considerável em identificar genes associados ao desempenho em atletas humanos e em identificar as variantes (alelos) que estão associadas ao desempenho superior ou inferior (Hinchcliff et al., 2008).

Como referido anteriormente, o ambiente é outro fator que poderá influenciar a capacidade atlética de um cavalo. Os materiais utilizados para participar no desporto (selas, cabeçadas, etc.), a superfície onde o cavalo irá competir (sílica, relvado, areia) e ainda o manejo nutricional do atleta são fatores que fazem parte do ambiente que influencia o desempenho final do cavalo. O cavaleiro é um elemento adicional a este conjunto de fatores que afeta também os resultados no desporto (Hodgson et al., 2014).

Por fim, mas não menos importante, o treino depois da genética é a variável mais importante para determinar o sucesso atlético de um desportista. Uma vantagem essencial dos treinadores de atletas humanos é que estes podem comunicar ideias e principalmente sensações aos seus treinadores. Infelizmente, o treinador de equinos não tem o benefício do *feedback* direto do cavalo e, por isso, é menos provável que os programas de treino sejam absolutamente específicos para as necessidades únicas de cada cavalo. Como o atleta de elite, seja humano ou cavalo, treina sempre entre o seu esforço máximo e o *overtraining*, a ausência desse *feedback*

dificulta a tarefa do treino nas disciplinas equestres. Segundo Hinchcliff et al. (2008), o *overtraining* é definido como uma perda da capacidade de desempenho – apesar da manutenção ou aumento do esforço de treino – que não pode ser explicada por nenhuma doença discreta. No entanto, cientistas especialistas em exercício desenvolveram técnicas para monitorizar os efeitos do treino nos atletas, incluindo a monitorização da frequência cardíaca (FC) e desempenho durante treinos específicos. Assim, é imprescindível que treinadores e fisiologistas do exercício trabalhem em conjunto para que esse conhecimento da experiência em medicina humana possa ser transferido e aplicado, com benefício, ao treino equestre. Com a aplicação dos princípios científicos estabelecidos em atletas humanos, o treinador e o fisiologista do exercício podem ultrapassar as barreiras de comunicação e desenvolver programas de treino específicos para cada cavalo que garantem que cada animal alcança o seu desempenho ideal em relação à sua herança genética (Hinchcliff et al., 2008; Hodgson et al., 2014; Padalino, Rubino, Centoducati & Petazzi, 2007).

O desempenho máximo de um atleta depende do funcionamento íntegro e coordenado de um conjunto de sistemas do corpo. Na maioria dos casos o desempenho máximo requer que esses sistemas corporais operem na sua capacidade máxima ou próximo desta. Os fatores que limitam a capacidade de exercício dos cavalos variam com o tipo e a duração do treino. No entanto, é importante compreender o que provavelmente limitará o desempenho de cada raça e tipo de uso do cavalo, não apenas para entender a fisiologia do exercício, mas também para determinar as prováveis causas do pior desempenho em animais com doença clínica (Hinchcliff et al., 2008; Marlin & Nankervis, 2013).

Para que o treino seja eficiente e assim possível chegar ao condicionamento desejado, a fase de treino passa sempre um período de excesso, o *over-reaching*. O *over-reaching* refere-se ao desempenho de uma atividade em intensidade e duração suficientes para induzir alguma tensão no organismo, já que sem esta não serão atingidos os efeitos desejados na preparação física. Esta fase deve ser controlada e seguida por treinadores, cavaleiros e veterinários competentes e conhecedores do funcionamento da fisiologia do exercício (Hinchcliff et al., 2008; Evans, 2007).

Cada cavalo é treinado especificamente para o tipo de desporto a desempenhar, ou seja, um cavalo treinado para competições de resistência (*endurance*) não está preparado para realizar uma prova de velocidade. Dada a especificidade de treino para cada tipo de modalidade desportiva assim como para cada atleta, existem três princípios de treino expressos para a fisiologia do exercício humano e extrapolado para a disciplina equestre: a repetição; a soma/

total; a duração. Para induzir um efeito de treino e condição física adaptada, deve haver repetição do estímulo de treino. O número de repetições varia com o tipo e a intensidade do exercício. A soma refere-se à quantidade total de trabalho realizado. Para atingir algum grau de evolução da capacidade desportiva, a quantidade total de trabalho realizado deve ser suficiente para induzir alguma tensão/ *stress* no organismo. Se os episódios de treino forem executados sem um tempo suficiente para uma recuperação substancial entre repetições, a carga de treino necessário para alcançar os resultados e resposta ao treino pretendidos deverá ser menor do que se os tempos de recuperação forem respeitados. Por fim, o treino deve ter duração suficiente para induzir um efeito e uma crescente condição física (Hinchcliff et al., 2008; Evans, 2007).

Estes princípios de treino devem ser utilizados de forma pensada e bem planeada para induzir a máxima resposta de treino e reduzir o risco de lesões nos atletas. Um treino eficaz envolve o uso criterioso de exercícios de várias intensidades e durações, a fim de induzir as adaptações ideais que permitirão uma competição bem sucedida, evitando lesões ou ocorrência de *overtraining* (Hinchcliff et al., 2008).

5. Testes a campo: avaliação de performance e de programa de treino

O Código de Conduta da FEI declara que durante todas as fases de preparação e treino dos cavalos de competição, o bem-estar deve prevalecer sobre todas as outras exigências e os cavalos devem estar aptos, competentes e de boa saúde antes de serem autorizados a competir. A frequência em competições e quaisquer outros fatores de risco devem ser cuidadosamente avaliados para minimizar quaisquer lesões. As disciplinas olímpicas variam consideravelmente nas exigências. Os cavalos de *dressage* são propostos a efetuar 4 a 8 minutos de diferentes exercícios e movimentos tecnicamente exigentes e sempre com valores de frequência cardíaca não excedentes de 150 batimentos/ min. (FEI, 2010).

A *dressage* requer um treino com exercícios submáximos, uma vez que foi demonstrado que durante o treino e competição a frequência cardíaca permanece dentro dos parâmetros aeróbios (62 – 160 batimentos/ min.), em cavalos de *dressage* nível elementar/ médio e grande prémio. Apesar dos níveis de oxigénio se manterem em parâmetros aeróbios, as exigências em termos de força e potência são elevadas em exercícios específicos, e o treino deve ser baseado tanto na força como na resistência. Assim, para os cavalos de *dressage* foram desenvolvidos testes de exercício submáximo adaptados para às exigências específicas da modalidade. O desenvolvimento destes teste prático contempla a possibilidade de serem realizados em

ambiente coberto ou ao ar livre (Munsters, van Iwaarden, van Weeren & van Oldruidenborgh-Oosterbaan, 2014).

A avaliação física de um atleta pode ser realizada de duas formas distintas: avaliar a performance física e/ ou aferir a capacidade clínica para prática de exercício. A utilização de testes de exercício de performance pode aumentar no futuro à medida que os proprietários/treinadores se tornam mais científicos na sua abordagem à aptidão e desempenho dos seus cavalos (Allen, van Erck-Westergren & Franklin, 2016).

A avaliação ao exercício físico pode ser executada a campo ou numa passadeira rolante automática. A avaliação a campo permite que os cavalos sejam testados no local onde usualmente trabalham e que o ambiente seja o mais aproximado ao de uma competição (o piso, os andamentos e a velocidade) – uma vantagem relativamente aos testes em passadeira. Os testes a campos permitem ainda avaliar os potenciais efeitos de fatores exteriores ao cavalo, como o cavaleiro ou o piso. Os custos de uma avaliação a campo tendem a ser mais baixos e os testes a serem executados podem ser integrados nos horários de trabalho do cavalo e cavaleiro, o que facilita a aceitação destas avaliações por parte dos proprietários. A principal desvantagem dos testes a campo passa pela dificuldade de padronização dos mesmos e do controlo de possíveis fatores exógenos que poderão ser potencialmente confusos e interpretados de forma tendenciosa (Evans, 2008; Couroucé, 1999; Marlin & Nankervins, 2013).

A avaliação em passadeira é imperativamente mais exata, uma vez que é possível realizar o controlo do ambiente onde o mesmo é executado, assim como a possibilidade de controlo da velocidade e duração de cada passada. O material utilizado é sempre mais sofisticado e preciso, o que permite uma maior precisão e exatidão na medição de um maior número de variáveis fisiológicas durante a avaliação de treino (Allen et al., 2016). No entanto, é importante que exista uma dessensibilização à passadeira dos cavalos que entram na avaliação, para que esse fator externo não tenha influência nos dados posteriormente recolhidos, como a frequência cardíaca e respiratória. Com efeito, a locomoção na passadeira é diferente e ainda que se executem exercícios que reproduzam uma frequência cardíaca e respiratória semelhantes à obtida em campo, as passadas e andamentos são diferentes. Assim a frequência da passada em velocidades idênticas de trote e galope são maiores em pista (Evans, 2008; Franklin, Van Erck-Westergren & Bayly, 2012).

Os testes de avaliação da condição física são normalmente realizados em animais saudáveis e fornecem informações sobre a aptidão física do cavalo ou do grupo em estudo e a

eficácia do programa de treino utilizado. Assim como em atletas humanos, no desporto equestre procuram-se resultados capazes de melhorar e monitorizar a capacidade física. Os testes contínuos são essenciais para otimizar o programa de treino, reduzir lesões e maximizar o desempenho desportivo (Newton, Lauren & Young, 2008).

Estes testes têm como principais aplicações a comparação de cavalos com o mesmo nível de ensino e previsão da sua futura aptidão desportiva, monitorizar individualmente um cavalo em série durante a época para avaliar a resposta ao treino, e assegurar que o programa de treino utilizado está a preparar adequadamente o cavalo para as competições (Allen et al., 2016).

Independentemente do motivo dos testes de exercício é necessário que os protocolos sejam padronizados para que os dados sejam comparados com testes subsequentes para o mesmo cavalo ou com medições de outros cavalos de tipo, modalidade, idade e nível de aptidão física semelhantes (Allen et al., 2016). Um protocolo de avaliação física correto deve apresentar determinadas características, como (1) a validade do mesmo, devendo assemelhar-se o mais possível aos exercícios que o cavalo está familiarizado no seu treino diário; (2) fiabilidade, o protocolo deve apresentar resultados semelhantes ao treino diário quando o teste não está a ser executado; (3) sensibilidade, o teste é capaz de detetar pequenas, mas importantes alterações o desempenho. No caso da avaliação clínica é importante conhecer a indicação para a realização do teste, a disciplina e a raça do animal a testar e o estado do cavalo (idade, nível de ensino, treino, história pregressa) (Currell & Jeukendrup, 2008).

Alguns clínicos integram os testes de exercício a campo nas sessões diárias de treino, pelo que o desempenho máximo pode não ser avaliado. Contudo, para os testes de exercício clínico é frequentemente necessário tentar replicar as condições de competição a fim de obter um diagnóstico, o que pode envolver a alteração do teste de exercício em relação ao de uma sessão normal de treino. Por exemplo, as alterações podem passar por velocidades mais rápidas ou distâncias mais longas do que as que são normalmente realizadas durante o treino de rotina (Allen et al., 2016).

Existem vários tipos de protocolos a campo já padronizados para avaliação das diferentes variáveis, que nos indicam a capacidade de resposta do cavalo ao exercício. Como delimitado por Muñoz et al. (2002), que avaliou as diferenças entre raças de cavalos utilizados na *dressage* (Tabela 1). É importante referir que cada protocolo deve seguir uma linha de objetivos individuais dos cavalos em estudo, assim como o protocolo de treino do presente Projeto foi planeado segundo o grupo de animais em estudo.

Tabela 1. Protocolo de teste a campo utilizado para avaliar cavalos de dressage. Adaptado de Munsters et al. (2014).

Cavalos	Pista	Etapas	Repouso
20 garanhões: 9 Andaluz, 7 Árabes, 4 Anglo-árabes	Piso de areia	Aquecimento: 800m a 0,7km/h 4 etapas: 1250m a 4,15 m/s; 1670m a 5,50 m/s; 2080m a 6,95 m/s; 2500m a 8,30 m/s	5 min. entre cada fase. Total de repouso 30 min.

Os valores obtidos durante os testes de exercício têm de ser interpretados sempre com base no ambiente, nas condições da pista e do comportamento do cavalo. As alterações comportamentais durante o exercício como a excitação, ansiedade, *stress* do cavalo podem levar a valores mais elevados de frequência cardíaca e dos valores de lactato. Os testes a campo são particularmente interessantes para a avaliação de cavalos de *dressage* e obstáculos, onde a velocidade e a duração do exercício não são necessariamente os fatores mais importantes a avaliar, como em cavalos de endurance, por exemplo. Em cavalos de *dressage* e obstáculos, a incorporação de aptidões técnicas específicas do desporto fornece informação importante (Allen et al., 2016).

As variáveis presentes na maioria dos protocolos de testes utilizados para avaliar a performance e a parte clínica do exercício são a medição de tempo necessário para completar determinada distância com recurso a um sistema de GPS (Global Positioning Systems), aferição da frequência cardíaca e respiratória durante o teste de treino, avaliação da capacidade aeróbica/anaeróbica por cálculo do consumo máximo de oxigénio, medição dos valores de lactato (Evans, 2008; Cabrera et al., 2021; Sodré, 2020).

A frequência cardíaca (FC) e o lactato são as bases de um protocolo de avaliação de aptidão física e podem ser usados para cálculo de índices de performance. A FC é normalmente expressa relativamente a uma velocidade constante submáxima, fornecendo o V200 (ou V140 e V170), que corresponde à velocidade em que a FC regista os 200 batimentos por minuto (bpm) (ou 140 e 170 bpm, respectivamente). O lactato é usualmente descrito com uma velocidade correspondente a uma concentração de lactato no sangue de 4 mmol/L (VL4), sendo este valor diretamente proporcional   aptidão física do atleta. A avaliação de potencial de performance pode passar pela medição de variáveis eletrocardiográficas ou ecocardiográficas em repouso; pela determinação de volume total de eritrócitos no sangue, para averiguar a capacidade de transporte de oxig nio; e o método mais invasivo a biopsia muscular, para

determinar o tipo de fibras musculares predominantes, tipo I (contração lenta, elevada capacidade aeróbica, mais adaptadas a disciplinas de endurance) ou tipo II (contração rápida, mais fortes, cavalos com elevada capacidade de sprints) (Evans, 2008; Hodgson et al., 2014).

A avaliação de aptidão física deverá idealmente dar resposta a determinadas questões dos cavaleiros, treinadores e proprietários como (1) se a capacidade física mudou com o treino, (2) se o cavalo está preparado para as futuras competições, (3) como se encontra fisicamente o cavalo A comparativamente ao cavalo B, (4) pode um protocolo de treino apropriado melhorar a condição física de um atleta, (5) pode um cavalo com uma fraca aptidão física ter alguma patologia associada ou existe alguma evidência de uma limitação cardíaca ou respiratória. Para dar resposta a estas questões é necessário avaliar a FC e FR, o consumo de oxigénio e ventilação pulmonar (Evans, 2008; Hodgson et al., 2014; Cabrera et al. 20221).

Durante o protocolo há determinadas características que deverão manter-se o mais possível, incluindo (1) a consistência da rotina de aquecimento antes do teste, (2) ritmos e distâncias de aceleração durante o exercício, (3) distâncias e tempos, (4) velocidade durante o exercício, (5) tempos de colheita de sangue, (6) atividade pós-exercício e (7) ambiente (temperatura e humidade) (Evans, 2008).

6. Avaliação dos parâmetros ligados à performance e bem-estar em cavalos

Uma boa performance está dependente de uma complexa interação de mecanismos fisiológicos envolvendo o sistema musculoesquelético, nervoso, respiratório e cardiovascular. O exercício exige uma imposição de elevadas cargas no sistema respiratório e cardiovascular para suportar os aumentos drásticos da taxa metabólica que ocorrem nos músculos aquando da contração dos mesmos durante o exercício. É essencial que as respostas de cada um desses sistemas sejam adequadamente integradas para garantir uma resposta fisiológica ideal. O desempenho atlético superior depende de uma forte integração de várias funções do corpo, sendo de se esperar que muitos atletas equinos de elite tenham características metabólicas que indiquem esse potencial de desempenho superior (Hodgson et al., 2014).

Os protocolos de avaliação de aptidão física e averiguação da capacidade física de um cavalo de desporto concedem cada vez mais informações relativamente ao bem-estar destes animais (Coelho et al., 2018; Caanitz, O'Leary, Houpt, Petersson & Hintz, 1991). Está descrito que a implementação de um sistema de avaliação de bem-estar poderá contribuir para um melhor acompanhamento dos cavalos em trabalho e assim ser possível registar uma evolução ao longo do plano de treino em qualquer uma das atividades equestres. O aumento do

rendimento desportivo depende de diferentes fatores psíquicos e físicos, alimentação e idade, sendo por isso necessário atribuir programas de treino e de nutrição para cada tipo de modalidade equestre. O bem-estar é cada vez mais tido em conta em todas as modalidades desde o maneio inicial assim como durante os treinos diários e competições, uma vez que no Código de Conduta da FEI o bem-estar de equinos deverá ser soberano sobre qualquer outro aspeto (Coelho et al., 2018; FEI, 2020).

A avaliação de bem-estar deve, como todos os parâmetros clínicos, basear-se em evidências científicas. Existem diferentes parâmetros e biomarcadores fisiológicos utilizados para avaliação da condição física e acompanhamento de treino e essas informações podem ser usadas na avaliação da saúde, conforto e satisfação do animal. A padronização de uma escala pode facilitar a compreensão do grau de bem-estar no qual o animal ou grupo de animais está a ser submetido e assim favorecer as práticas de criação/ reprodução e treino e competição de cavalos atletas (Coelho et al., 2018; Pawluski et al., 2017).

Alguns parâmetros e biomarcadores normalmente utilizados para a avaliação da condição física e do bem-estar são o índice de condição corporal (ICC), a frequência cardíaca, a frequência respiratória, a temperatura corporal, a concentração de leucócitos, a concentração de eritrócitos, a hemoglobina, volume globular, creatinaquinase (CK), cortisol, linfócitos, lactato, presença de ferimentos/ sangramentos/ escaras, dor/ claudicação (Coelho et al., 2018).

Existem duas escalas de atribuição do ICC, podendo oscilar de 0 a 9 (Henneke et al., 1983) ou de 0 a 5 (Carrol & Huntington, 1988), sendo o 0 atribuído a animais muito magros e o 5/ 9 a animais obesos. Apesar de ser um índice subjetivo é um perfeito indicador da eficiência do programa nutricional e intensidade de treino/ trabalho, e a cada cavalo deve ser atribuído um programa nutricional consoante o tipo de treino e modalidade em que este se encontra (Coelho et al., 2018; Abreu, Manso Filho & Manso, 2009; Kearns, McKeever, Kumagai & Abe, 2002).

Os ferimentos/ escaras e cicatrizes podem ser bons indicadores da má utilização de arreios ou de maus-tratos aos animais. A dor/ claudicação é um dos melhores indicadores qualificativos do bem-estar animal, uma vez que é provavelmente uma das principais causas da diminuição de rendimento ou perda da aptidão física. O diagnóstico passa por um exame físico realizado por um veterinário, estático e dinâmico, com a possibilidade de recurso a meios de diagnóstico, como radiologia, ecografia e bloqueios anestésicos. A claudicação tem também uma escala de atribuição de 1 a 5 (AAEP), em que 1 apresenta uma claudicação muito discreta e 5 pode apresentar supressão de apoio e relutância em andar (Back & Clayton, 2013; Coelho et al., 2018).

A frequência cardíaca em repouso e de recuperação é um dos parâmetros mais utilizados em protocolos de avaliação de performance e aptidão física. A FC ganhou uma relevância ainda maior quando a FEI passou a utilizar nas avaliações de bem-estar do atleta nas competições de endurance nas fases de recuperação. Os animais devidamente condicionados têm uma FC mais baixa comparando com cavalos sujeitos a uma menor carga de trabalho, o que contribui para uma melhor eficiência energética e prolonga o tempo até à exaustão e fadiga. A aferição da FC em repouso deve ser realizada num local calmo, como por exemplo com o cavalo desaparelhado ainda na box. A avaliação da FC em recuperação deve ser efetuada 30 minutos após o término do exercício, nas mesmas condições que a anterior (Coelho et al., 2018; Manso, McKeever, Duarte & Abreu, 2012; Jones, 1988).

A energia gerada pela prática do exercício físico em cavalos é suficiente para elevar a temperatura corporal em C 3° a C 5°. Se o exercício for prolongado e não for acompanhado de uma dissipação eficaz de calor, a temperatura retal pode exceder os C 42°, uma temperatura associada a um risco marcadamente acrescido de choque térmico e doenças. Um aquecimento ativo aumenta a temperatura corporal e muscular em cerca de C 1° como resultado do calor gerado durante a atividade muscular. O aquecimento melhora a oxigenação dos tecidos, porque a epinefrina (adrenalina) e a norepinefrina (noradrenalina) libertadas durante o aquecimento aumentam a frequência respiratória, o volume *tidal* e a frequência cardíaca, o que faz com que o baço se contraia e liberte os eritrócitos armazenados para a circulação e aumente o fluxo sanguíneo nos músculos esqueléticos. As catecolaminas também ativam a glicogenólise e a lipólise e, assim, aumentam o fornecimento de combustíveis energéticos ao músculo, enquanto a temperatura elevada diminui a energia de ativação das reações metabólicas. Uma temperatura mais elevada, mas controlada, também aumenta a elasticidade dos músculos, tendões e ligamentos, o que pode reduzir o risco de lesões e permitir amplitude total de movimento nas articulações (Hinchcliff et al., 2008; Soroko et al., 2019; Munsters et al., 2014).

A enzima muscular creatinaquinase (CK), é utilizada para aferição da saúde de cavalos atletas em competição. Esta enzima encontra-se livre no citoplasma das células musculares e são extravasadas quando há lesão ou aumento da permeabilidade do sarcolema, como acontece por estimulação do exercício, pois o mesmo provoca algum transporte desta componente enzimática (Klein, 2019). Quanto maior a lesão muscular, maior os valores de CK no sangue dos cavalos. Quando os valores se encontram acima dos 400-500 UI/L indicam uma lesão significativa e consequentemente a precisar de repouso (Walton, 2013). O valor de CK volta normalmente aos seus valores basais em 24h, daí ser necessário que a recolha de sangue seja

feita entre 4 a 6 horas após a prática do exercício físico (Harris, Snow, Greet & Rosedale, 1990; Allen et al., 2016; Costa et al., 2018; Coelho et al., 2018).

A contagem de eritócitos, determinação de hemoglobina e a aferição do hematócrito, são também dados normalmente utilizados neste tipo de protocolo (McGowan et al., 199). A recolha de sangue para monitorizar estes parâmetros deve ser realizada de manhã, ainda antes de qualquer manipulação do cavalo, para tubos com anticoagulante ácido etileno-diamino-tetraacético (EDTA). Quando iniciamos a interpretação dos resultados destes parâmetros é importante ter em conta algumas considerações relativamente à raça do animal que estamos a estudar. Cavalos Puro Sangue, por exemplo, apresentam um grande desenvolvimento do baço o que significa que qualquer movimento pode estimular a contração deste órgão, aumentando os valores de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito e volume globular. (Hodgson et al., 2014; Mattosinho et al., 2017) É importante considerar também a faixa etária, sexo, alimentação, tipo de esforço físico e condições climáticas em que os animais são criados. O número de linfócitos é um indicador importante na avaliação de bem-estar, uma vez que as linfopenias estão normalmente associadas ao stress e patologias inflamatórias graves e agudas (Tyler-McGowan, Golland, Evans, Hodgson, 1999; Coelho et al., 2018).

O lactato está diretamente relacionado com a intensidade do exercício e é durante uma atividade intensa que ocorre a acumulação do mesmo (Ferraz et al., 2010; Couroucé, 1999). O lactato é um indicador da atividade glicolítica no músculo esquelético e a magnitude do aumento está relacionada com a intensidade de esforço, condição física e níveis de treino (Hinchcliff et al., 2008). O valor de lactato indica qual a via de produção energética predominante num determinado treino, sendo que quando estes ultrapassam o valor de 4 mmol/L há um predomínio da via anaeróbia (Binda et al., 2016). Os valores deste parâmetro tendem a aumentar consoante a velocidade nos exercícios de alta intensidade, sendo ainda possível avaliar o grau de intensidade de treino de um cavalo a partir deste parâmetro. A análise deste metabólito é importante para ajudar a determinar a capacidade de depuração e o nível de condição física, uma vez que quando não ocorre a remoção desses substratos pela corrente sanguínea, o lactato e o hidrogénio (H^+) começam a acumular-se no músculo esquelético causando desequilíbrios enzimáticos por alteração do pH muscular, podendo reduzir a contração muscular e contribuir para uma acidose metabólica (McGowan, 2008; Sodré, 2020; Couroucé-Malblanc & van Erck-Westergen, 2013).

Os outros parâmetros laboratoriais mencionados anteriormente (leucócitos [leucograma] e cortisol) serão desenvolvidos no próximo capítulo dada a sua importância para o projeto.

6.1 Biomarcadores de Bem-estar

6.1.1 Cortisol

A atividade física induz uma alteração da homeostase corporal que necessita de uma resposta integrativa de todo o organismo. O exercício é uma condição indutora de *stress* que impõe todo um novo equilíbrio dinâmico e que requer uma resposta adaptada, pelo que o sistema hormonal está envolvido para ser possível uma correta resposta a esta adaptação (Ferlazzo, Cravana, Fazio & Medica 2020).

A atividade física em cavalos atletas gere uma resposta fisiológica, pois submete o organismo a desafios temporários na sua homeostase, embora possa ser considerado como um *stress* mental ou psicológico. Este tipo de *stress* fisiológico é a resposta a um conjunto de fatores externos e internos que alteram a homeostase, e provocam mudanças adaptativas decorridas em resposta a esses estímulos. Estas mudanças adaptativas podem ser cognitivas, comportamentais e corporais. Quando o limiar do esforço físico é ultrapassado, ocorre um efeito sistémico com um envolvimento do sistema nervoso periférico e central, através da ativação do sistema nervoso autónomo simpático e do eixo hipotálamo-hipófise/ pituitária-adrenal (Graaf-Roelfsema, Keizer, van Breda, Wijnberg & van der Kolk, 2007; Klein, 2013).

Quando o exercício é contínuo e sistemático, contemplando um aumento gradual e controlado da sua intensidade e intercalado por períodos de repouso, denomina-se de treino, sendo o principal objetivo do mesmo provocar adaptações fisiológicas que melhorem a capacidade física (Cayado et al., 2006; Ferlazzo et al., 2020).

O exercício normalmente produz um aumento de catecolaminas como a adrenalina (A) e a noradrenalina (NA), hormona adrenocorticotrófica (ACTH), cortisol, glucagon, hormona de crescimento (GnRH), arginina vasopressina (avp), e uma diminuição da insulina (por ação da adrenalina no pâncreas). A libertação destas hormonas deve-se à ativação do sistema nervoso simpático e do eixo hipotalâmico-pituitária-adrenal (HPA) (Ferlazzo et al., 2020; Graaf-Roelfsema et al., 2007; Hyypä, 2005). A atividade simpático-adrenal melhora o fornecimento de oxigénio: (1) estimulando o coração, (2) aumentando o débito cardíaco até 10 vezes, (3) aumentando o volume de eritrócitos em 4-12 L, devido à contração esplénica, (4) aumentando o fluxo sanguíneo para os músculos esqueléticos até 75 vezes, e (5) estimulando a respiração e relaxando os brônquios (Hyypä, 2005). A ativação do sistema nervoso autónomo (SNA) é o mais célere para facilitar o rápido ajustamento da função cardiopulmonar, e assim aportar

oxigénio aos músculos numa situação de luta ou fuga, *stress* ou exercício (Ferlazzo et al., 2020; Hyypä, 2005; Klein, 2013).

O cortisol (glucocorticoide) é excretado pelo córtex da adrenal. O exercício induz uma resposta ao hipotálamo com libertação da CRH (corticotrofina) que estimula a pituitária à libertação de ACTH que leva à secreção de cortisol por parte da adrenal, este processo funciona com base num *feedback* negativo (Ferlazzo et al., 2020; Hyypä, 2005). O cortisol é responsável por um largo espectro de funções metabólicas, como o controlo do metabolismo energético por meio da gliconeogénese, sendo a hormona responsável pela inibição da utilização de glicose pelos tecidos, priorizando a mobilização para o sistema nervoso central e permitindo que durante o exercício a glicémia permaneça constante. Esta função permite o retardar do início da fadiga central (Ferraz et al., 2010), estando a resposta do cortisol correlacionada com a duração do exercício. Assim, quando são verificadas elevações nas concentrações de cortisol durante o treino, estas podem indicar a atividade anti-inflamatória do cortisol, sendo um efeito benéfico e preventivo à ação de substâncias pró-inflamatórias (citocinas IL1, por exemplo) produzidas durante o exercício agudo (Ferraz et al., 2010; McKeever & Gordon, 2007).

Esta variável fisiológica poderá ser um indicador fidedigno para avaliação da aptidão física (Ferlazzo et al., 2020; Ferraz et al., 2010), sendo considerado um marcador de *stress* psicofísico. Então, para avaliar o *stress* induzido pelo exercício são normalmente avaliadas as hormonas produzidas pelo eixo HPA (Ferlazzo et al., 2020). Uma boa condição física potencializa a ação do cortisol, resultando num menor aumento de ACTH e cortisol pós-exercício. Assim, uma redução da sensibilidade da glândula adrenal pode indicar uma adaptação bem-sucedida ao programa de treino implementado (Ferraz et al., 2010; Graaf-Roelfsema et al., 2007). Por seu turno, alguns autores afirmam que apenas a resposta pós-exercício do cortisol, mas não a resposta do ACTH, pode servir como marcador para a avaliação do desempenho, desde que a intensidade do teste de exercício, e as diferenças no estado de treino, sejam suficientes (Hyypä, 2005; Marc, Parvizi, Ellendorff, Kallweit & Elsaesser, 2000).

O retorno à homeostase após um pico de *stress* provocado pelo exercício pode ser dividido em duas fases: (1) uma fase catabólica, com uma diminuição da tolerância ao esforço, restabelecimento bioquímico, mudanças hormonais e imunológicas, e (2) uma fase anabólica com uma maior capacidade adaptativa e um melhor desempenho desportivo (Ferlazzo et al., 2020). O tipo e extensão das mudanças/ alterações fisiológicas, proporcionais ao tipo de exercício executado, influenciam o tempo necessário para que o cavalo recupere. O cortisol tem

efeitos catabólicos nos músculos. Além disso, níveis elevados de cortisol após o exercício podem atenuar as respostas anabólicas da hormona de crescimento, da testosterona e insulina. A secreção normal de cortisol basal é restaurada em 24 horas após um aumento induzido pelo exercício (Hyypä, 2005).

Importante considerar que a atividade física faz variar a resposta do cortisol, sendo dependente da modalidade desportiva, da intensidade e da duração do exercício, do treino, do nível de aptidão, do estado nutricional e do local de colheita da amostra (Ferraz et al., 2010; Marc et al., 2000).

6.1.2 Leucograma

O leucograma, como o nome indica, representa o número de células brancas do sangue, os leucócitos. Estes são divididos em duas categorias principais: leucócitos polimorfonucleares (PMN)/ granulócitos e leucócitos mononucleares/ agranulócitos. Os granulócitos são os neutrófilos, eosinófilos e basófilos, produzidos na medula óssea. Os agranulócitos incluem os linfócitos, produzidos na medula óssea (fonte primária) e nos órgãos (timo, baço e linfonodos) e tecidos linfoides do intestino (placas de Peyer e tonsilas), e os monócitos produzidos na medula óssea (Walton, 2013; Klein, 2019).

Existem dois tipos de leucograma: o de stress e o fisiológico, influenciado por diferentes hormonas, o cortisol e a adrenalina, respetivamente. O córtex e a medula adrenal são os principais participantes na adaptação ao stress, libertando cortisol e adrenalina, respetivamente, que levam a um aumento da produção e desvio da glicose para o sistema nervoso central. A adrenalina também induz a mobilização de leucócitos do compartimento vascular marginal para o compartimento circulante, particularmente os neutrófilos e linfócitos, o que resulta na alteração denominada leucocitose fisiológica (leucocitose por neutrofilia e linfocitose). Os corticosteróides (cortisol) induzem uma neutrofilia, embora a ação ocorra por mecanismos diferentes: (1) libertação de neutrófilos da medula óssea, (2) menor migração destes para os tecidos e (3) diminuição da aderência à parede vascular. Os corticosteróides, ao contrário da adrenalina, induzem a linfopenia por meio da linfólise e da diminuição da recirculação dos linfócitos (leucocitose por neutrofilia e linfopenia) (Paes et al., 2012; Klein, 2019; Walton, 2013).

Assim, a Leucocitose ocorre devido a uma resposta fisiológica por alteração da homeostasia do organismo (DeNotta, Stokol & Divers, 2020) A leucopenia (diminuição do

número de leucócitos) surge normalmente quando há uma destruição ou sequestros de neutrófilos na microcirculação, no caso de endotoxémias, septicémias, infeções virais e pirexia (Klein, 2013).

Os neutrófilos distribuem-se entre a *pool* marginal e a *pool* circulante. O grupo marginal é formado por neutrófilos aderidos ao endotélio ao longo de toda a microvasculatura (pulmões, fígado e baço). O grupo circulante é a única parte da população total de neutrófilos que pode ser enumerada pela contagem de neutrófilos no sangue periférico (Samuelson, 2011; Soares, 2004).

Em repouso não é possível aferir a *pool* total intravascular de leucócitos, uma vez que o total corresponde ao valor de leucócitos circulantes e marginais, e estes últimos encontram-se sequestrados no baço. O valor em repouso representa aproximadamente 50% do valor real de leucócitos no organismo. Qualquer fator como catecolaminas (adrenalina) ou cortisol (por estimulação do eixo HPA que leva à libertação destas hormonas), excitação, exercício físico e transporte, que cause a mobilização destas células do *pool* marginal, irá aumentar o número de leucócitos circulantes. Portanto, quando é registada uma alteração no valor basal do leucograma esta pode representar a presença de uma doença subclínica ou resposta a um estímulo externo (por exemplo, exercício físico) proposto ao organismo (Hinchcliff et al., 2008; Hodgson et al., 2014; Miranda et al., 2011).

O exercício é um dos fatores que influenciará o valor do leucograma. Ocorre uma leucocitose fisiológica por haver uma mobiliação dos neutrófilos marginais para a circulação e uma marcada a moderada neutrofilia (neutrófilos segmentados). Nos cavalos a mobilização dos leucócitos por excitação e exercício pode ser mascarada pela contração esplénica, pode dever-se a uma contração por catecolaminas (leucocitose – linfocitose e neutrofilia) ou um aumento dos leucócitos provocada pelo aumento do cortisol/glucocorticóides endógenos (leucocitose por neutrofilia). Mesmo após um exercício intenso, pode não ocorrer um aumento imediato dos leucócitos circulantes, mas a excitação pré-trabalho demonstra uma redução do rácio N:L por ocorrer uma maior libertação de linfócitos do que neutrófilos pela contração esplénica. Esta alteração de rácio pode levar até 6 horas para retornar aos seus valores basais (Hodgson et al., 2014; Walton, 2013).

Em exercícios de baixa intensidade ocorre também uma alteração no leucograma com uma marcada leucocitose devido a uma neutrofilia, linfopenia. A contagem total de leucócitos pode aumentar entre 10-30% dependendo da intensidade e duração do exercício. Este é um resultado dos efeitos do cortisol associado ao exercício físico, que está intimamente relacionado

com o aumento do rácio N:L. As concentrações elevadas de cortisol, diminuem os neutrófilos marginais, aumentam a produção de neutrófilos pela medula óssea e levam à diminuição dos linfócitos e eosinófilos (Hodgson et al., 2014; Miranda et al., 2011; Rezende et al., 2014; Todo-Bom & Mota Pinto, 2007). Os exercícios aeróbios de alta intensidade ou prolongado submáximos podem induzir alterações similares suscetíveis de serem mais acentuadas que as induzidas pelos exercícios de resistência muscular (Snow et al., 1983; Todo-Bom & Mota Pinto, 2007).

Os leucócitos totais, particularmente os neutrófilos, mantêm-se elevados no período que se segue ao exercício intenso, normalmente durante 24 horas, enquanto os linfócitos retomam rapidamente a valores semelhantes ou inferiores aos observados no pré-exercício. Enquanto os neutrófilos vão gradualmente retomando os valores normais, os linfócitos podem passar a valores inferiores e só depois normalizar, o que sugere que a redistribuição de linfócitos e de neutrófilos durante e após o exercício pode ser influenciada por mecanismos diferentes (Todo-Bom & Mota Pinto, 2007; Walton, 2013; Klein, 2019).

A adaptação crónica ao exercício relativamente aos neutrófilos estará dependente da intensidade do treino. O exercício agudo a moderado provoca um aumento destas células que prolonga mesmo durante o repouso, já o exercício de alta intensidade recorrente provocará, pelo contrário, uma queda do número de neutrófilos (Todo-Bom & Mota Pinto, 2007; Klein, 2019).

A prática regular de exercício moderado induz um retorno à estabilidade basal da maioria dos parâmetros (Todo-Bom & Mota Pinto, 2007).

II. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho teve aprovação da Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (CEBEA-FMV-ULHT), sendo registado sob o número 112-2021 (aprovado a 18/11/2021).

Objetivos

O presente trabalho visa contribuir para a avaliação da resposta dos biomarcadores de bem-estar à implementação de um protocolo de treino de seis semanas direcionado para a modalidade equestre de *dressage* em cavalos jovens da raça PSL em início de carreira desportiva. Para esta finalidade foram avaliados um conjunto de biomarcadores de *stress* imediatamente antes e após o regime de treino com recurso a testes de simulação de *dressage*, de modo a aferir a resposta dos animais ao condicionamento físico e relacionar os indicadores obtidos com o bem-estar do grupo.

Assim este trabalho, tem como objetivos:

- Desenvolver um protocolo de teste de simulação de *dressage* aplicável a campo.
- Avaliar os valores de leucograma em resposta a um protocolo de 6 semanas de treino.
- Determinar a concentração de cortisol de um grupo de cavalos PSL em resposta a um protocolo de 6 semanas de treino.
- Determinar os valores de frequência cardíaca, respiratória e temperatura corporal associados a um regime de treino para a modalidade de *dressage*.
- Avaliar os níveis de glicémia e lactacidémia em resposta ao um regime de treino.
- Inferir sobre o grau de capacidade física e de bem-estar do grupo de cavalos PSL submetidos a um regime de treino.

Animais

No âmbito deste trabalho foram selecionados 9 equinos da raça Puro Sangue Lusitano, machos inteiros, com idade média de 4 anos e peso de $473,9 \pm 44,0$ kg, considerados clinicamente saudáveis (sem sinais de dor ou desconforto, com parâmetros vitais (FC, FR, TC e mucosas) dentro dos valores normais e com uma boa condição corporal [3/5]). Os animais eram pertencentes a um centro de treino, localizado em Caneças, Lisboa ($38^{\circ}49'12.2''N$ $9^{\circ}13'16.5''W$). Os animais foram submetidos ao mesmo tipo de manejo alimentar e sanitário, sendo mantidos em boxes individuais (4,0x3,5m). A base alimentar consistia em feno de azevém, duas porções diárias adequadas a cada indivíduo (peso corporal, condição corporal, nível de esforço físico), e água sempre à disposição. Alimento composto era fornecido na proporção de 1% do peso corporal, dividido em três refeições diárias (9h00, 12h30 e 18h00), com 13,0% de proteína bruta.

Os equinos incluídos no estudo encontravam-se em plena atividade física, com treino regular e semanal para a prática de *dressage* há pelo menos seis meses.

A fase inicial do treino (desbaste) destes cavalos deu-se no final dos 3 anos de idade e início dos 4 anos. Nos 6 meses anteriores, estes animais iniciaram o seu treino (desbaste), onde foram submetidos a uma série de exercícios de dessensibilização assim como iniciados o trabalho de baixa escola. Na rotina semanal da fase de desbaste, os cavalos eram trabalhados de 5 a 6 vezes, sendo cumprido um programa individual de treino específico para cada animal, o qual era modificado de acordo com as necessidades de cada indivíduo.

Programa de treino físico

Ao longo de seis semanas, os nove equinos usados foram treinados seis dias/semana, por um período diário de 40-80 minutos, durante os quais executaram atividades preparatórias para provas equestres de *dressage* (trabalho específico), com intensidade moderada (trabalho de resistência), alternadas com picos de maior exigência (trabalho de força), respeitando os limites físicos individuais de cada animal. Assim, a intensidade imposta era ajustada de acordo com cada indivíduo. No resto do dia, preferencialmente no turno oposto ao do trabalho, os animais foram soltos em *paddock* durante um período médio de 50 minutos. Aos domingos, não foram realizadas atividades físicas, de modo a que os animais tivessem um dia de descanso programado. O protocolo de treino foi executado sempre pelo mesmo cavaleiro, sendo mantido um registo diário em fichas de treino, incluindo informações obtidas pelo frequencímetro cardíaco. Na tabela 2 estão descritos os exercícios estipulados para as 6 semanas de treino.

Tabela 2. Programa de treino estipulado para as 6 semanas entre os testes de simulação de dressage.

Semana	Objetivos de treino
1	- Trabalhos de chão: - Aquecimento à guia (15 min) - Exercício montados (20 – 30 min) - Exercício de relaxamento - Familiarização com o picadeiro coberto - Exercícios cardiovasculares – com ou sem cavaleiro (5 min, 1-2x/semana)
2	- Trabalhos de chão: - Aquecimento à guia (15 min) - Exercício montados (20 – 30 min) - Exercício de relaxamento - Exercícios de andamentos: treino de retitude e regularidade - Exercício de foco em círculos e curvas - Exercícios cardiovasculares – com ou sem cavaleiro (5 min, 1-2x/semana)
3	- Trabalhos de chão: - Aquecimento à guia (15 min) - Exercício montados (20 – 30 min) - Exercício de relaxamento - Exercícios de andamentos: retitude, regularidade e cadencia do treino - Exercícios cardiovasculares – com ou sem cavaleiro (5 min, 1-3x/semana)
4	- Trabalhos de chão: - Aquecimento à guia (15 min) - Exercício montados (20 – 30 min) - Exercício de relaxamento - Exercício de foco em círculos e curvas - Exercício de andamentos: regularidade do treino - Exercícios cardiovasculares – com ou sem cavaleiro (5 min, 2-3x/semana)
5	- Trabalhos de chão: - Aquecimento à guia (15 min) - Exercício montados (20 – 30 min) - Exercício de relaxamento - Exercícios de andamentos: treino de energia e amplitude ao passo, trote e galope - Exercícios cardiovasculares – com ou sem cavaleiro (5 min, 2-3x/semana)
6	- Trabalhos de chão: - Aquecimento à guia (15 min) - Exercício montados (20 – 30 min) - Exercício de relaxamento - Exercício de foco em círculos e curvas - Exercícios de andamentos: variações de amplitude e energia - Exercícios de extensão da passada e exercícios reunidos - Exercícios cardiovasculares – com ou sem cavaleiro (5 min, 2-3x/semana)

Teste de simulação de dressage (TSD)

Para avaliar os efeitos do programa de treino os equinos foram submetidos a dois TSD, um realizado antes (M1) e outro após (M2) as seis semanas de treino. O teste foi executado num picadeiro coberto de 15mx30m. Antes da execução do TSD, os animais foram aquecidos à guia durante um tempo médio de 20 minutos, seguidos de 15 minutos montados, com o intuito de prepará-los para a execução do TSD e alcançar o máximo de descontração durante o trabalho montado.

No TSD, cavalo e cavaleiro executaram uma sequência de exercícios físicos próprios da modalidade de ensino de competição e com a qual ambos estavam familiarizados. A sequência

de exercícios e as suas respetivas diretrizes estão descritas na Figura 5 e Tabela 3. Todos os TSD duraram 5min ($\pm 32,6$ seg.) tendo sido percorrido em média 220m. Ao término os animais foram imediatamente avaliados. As letras indicadas na imagem são as mesmas colocadas no picadeiro e funcionam como directrizes.

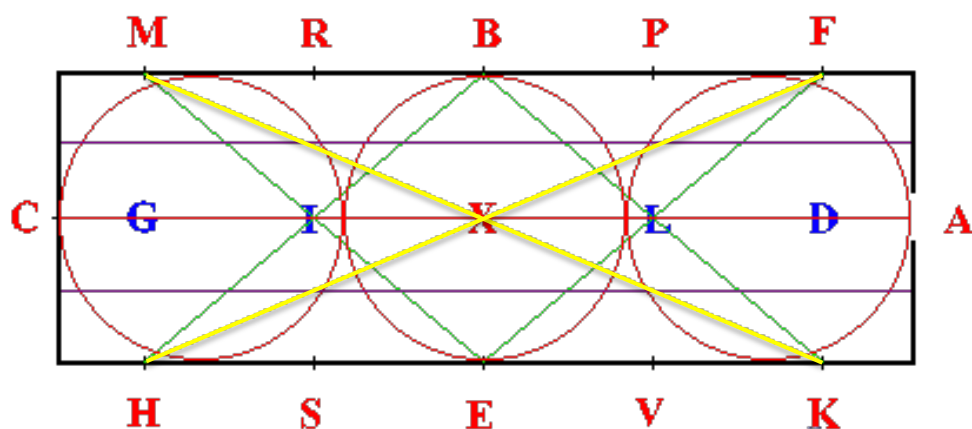


Figura 5. Pista de ensino com identificação dos percursos através de letras

Tabela 3. Sequência de movimentos a serem realizados no teste a campo de uma prova de ensino.

N	LETRA	EXERCÍCIO	DIRECTRIZES/ IDEIA CENTRAL
1	A – X	Entrada e Paragem	Rectitude, Transição na entrada Estabilidade do conjunto de frente (nuca) na paragem
2	X	Sair a trote de trabalho sentado	A transição, Rectitude
3	C	Pista para a direita	A encurvação, equilíbrio
4	M – X – K	Diagonal com algumas passadas a trote médio	Ritmo e cadência
5	K	Trote de trabalho	A transição
6	K – A – F	Trote de trabalho levantado	Ritmo e equilíbrio
7	F – M	Trote de trabalho sentado com algumas passadas concentrando o trote	A transição progressiva, equilíbrio e ritmo
8	C – A	Serpentina de 3 arcos a trote levantado	Regularidade, ritmo e rectitude
10	A	Trote sentado e Pista para a direita	Manutenção do ritmo e encurvação
11	K – H	Trote de trabalho sentado com algumas passadas concentrando o trote	A transição progressiva, equilíbrio e ritmo
12	C – A	Serpentina de 3 arcos a trote sentado	Regularidade, ritmo e rectitude
13	A	Pista para a esquerda	A encurvação, equilíbrio
14	F – X – H	Algumas passadas a trote médio	Regularidade, ritmo e rectitude
15	C – B	Passo médio	Transição em C, regularidade (fluidez)
18	B–K – A –F	Passo concentrado	Ritmo, regularidade e retitude (transições entre amplitudes)
19	F – H	Passo largo	
20	H	Passo médio	
22	C	Transição ao trote e círculo de 15 metros	Rectitude, ritmo
23	M-F -A-K	Galope de trabalho	A transição
24	K – M	Algumas passadas a galope médio	A transição, ritmo
25	Antes de M	Transição ao trote	A transição, ritmo
26	C – E – A	Passo médio	A transição, ritmo e retitude
27	A	Transição ao trote e círculo de 15 metros	Rectitude, ritmo
28	F– M– C–H	Galope de trabalho	A transição
29	H – F	Algumas passadas a galope médio	A transição, ritmo
30	F – A	Galope ao revés	Ritmo, equilíbrio, regularidade
31	A	Paragem e imobilidade 4seg	A paragem, estabilidade, submissão
32	A	Trote sentado e círculo de 15 metros a direita	Rectitude, ritmo
33	K – B	Diagonal a trote de trabalho	Rectitude, ritmo
34	C	Círculo de 15 metros a esquerda	Rectitude, ritmo
35	H – K – A	Trote de trabalho	A transição, ritmo
36	A	Linha do meio	A encurvação, equilíbrio
37	X	Paragem e finalização	Estabilidade do conjunto de frente (nuca), a paragem

NOTA: as letras identificam o trajeto na pista conforme figura 5.

O protocolo foi realizado nos meses de agosto/setembro (estação de Verão), durante o período da manhã entre as 07h00 e 11h00, com temperatura média de 19,7°C, humidade relativa de 83,8% e os cavalos foram montados por um único cavaleiro. A pista de areia estava seca. Todo o protocolo experimental seguiu os preceitos de bem-estar animal descritos por Coelho et al. (2018), sendo eles a condição corporal, ferimentos por arreios ou acidentes, dor ou claudicação, FC (repouso, 30 minutos. De recuperação após exercício), concentração neutrófilos, anemia, Creatinaquinase (4 a 5 horas após exercício).

Monitorização cardíaca

Durante o exercício os animais utilizaram um monitor cardíaco (M430, Polar Electro, Lake Success, NY, EUA) com sistema de GPS . Após o teste a campo, os dados contidos no equipamento foram transferidos para o computador e analisados no Polar Flow Software para determinação da velocidade (média e máxima), frequência cardíaca (máxima e média) e distância percorrida.

Colheita e análise sanguínea

Os equinos foram avaliados em quatro tempos, sendo T0 referente ao período de repouso antes do exercício (ainda na box com o animal sem sela), T1 (imediatamente após a atividade física), T2 (com 30 minutos de recuperação) e T3 (com 240 minutos de recuperação). Em cada um desses tempos foi realizado o exame físico completo para aferição de frequências cardíaca e respiratória (usando estetoscópio) e a temperatura corporal retal (termómetro clínico digital). As amostras de sangue foram obtidas assepticamente através da punção da veia jugular com a utilização de agulhas descartáveis de 25mmx0,8mm no sistema de pressão negativa em tubos com capacidade de 4mL com anticoagulante EDTA para determinação do leucograma, e tubos com 10mL com activador de coágulo para a determinação sérica de cortisol (para essa variável sérica utilizaram-se amostras coletadas nos tempos T0, T1 e T3). As determinações sanguíneas do lactato e glucose foram feitas no ato da colheita de sangue utilizando aparelhos portáteis (Lactate Pro 2 LT-1730 da Arkray e Glucomen Areo da A.Menarini diagnostics, respetivamente). Todas as amostras foram enviadas sob refrigeração ao Laboratório Clínico Veterinário da FMV-ULHT, com um intervalo médio de 2-4 horas entre as colheitas de sangue e o processamento laboratorial. As amostras obtidas nos tubos sem anticoagulante foram imediatamente centrifugadas por 10 minutos (Hettich Universal 320 R) a 2.000g para separação de soro e congeladas em *eppendorfs* a -80°C (PHCbi Ultra-Low Temperature Freezer MDF-

DU502VH) até ao processamento das análises clínicas. O leucograma foi determinado com recurso a um analisador hematológico (IDEXX ProCyte Dx) no mesmo dia dos testes. A determinação de cortisol sérico foi feita através do analisador de imunoensaio por quimioluminescência.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada num programa computadorizado (PROC MIXED program, SAS 9.1, SAS Institute Inc., Cary, North Caroline, EUA). A normalidade das variáveis foi avaliada a partir do teste de Kolmogorov-Smirnov. Para avaliar a influência do exercício físico em M1 e M2 e influência do treino (M1 vs. M2), os dados foram submetidos à análise de variância para medidas repetidas seguido de uma comparação entre médias (teste-t e teste de Tukey). Os resultados foram expressos como médias $\pm$ desvios-padrão e a significância estabelecida em $p < 0,05$ em todos os casos.

III. RESULTADOS

A Tabela 4 apresenta os resultados de Frequência Cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR), e Temperatura Corporal (TC), na qual se observa a influência da atividade física sobre grande parte das variáveis analisadas em ambos os testes de campo de *dressage*. Em M2, ou seja, após 6 semanas de treino, observaram-se valores significativamente menores para FC e TC e valores significativamente maiores para FR. A Figura 6 é uma representação gráfica da Tabela 4.

Na Tabela 5 observam-se os resultados referentes ao leucograma e volume globular, no qual se destaca a influência do TSD apenas em M1 e uma redução significativa dos valores de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos após o treino (M2). A Figura 7 é uma representação gráfica da Tabela 5.

Na Tabela 6 estão apresentados os dados de cortisol sérico, que apresentaram valores significativamente menores após o treino (M2). A Figura 8 é uma representação gráfica da Tabela 6.

Toda a análise do frequencímetro está apresentada na Tabela 7, na qual se observa uma diferença significativa entre M1 e M2 apenas para a velocidade máxima registada. A Figura 9 é uma representação gráfica da Tabela 7.

Na Tabela 8 estão apresentados os dados de glicémia e lactato. Os valores de glicose apresentaram valores significativamente menores após o treino (M2) nos momentos T0, T1 e T2 e um aumento, embora não significativo, em T3. Os valores de lactato em M1 apresentam-se significativamente mais elevados em T0, T1, T2 e um decréscimo abrupto em T3. O mesmo parâmetro em M2 apresentou-se com valores menores, exceto em T3. A Figura 10 é uma representação gráfica da Tabela 8.

Tabela 4. Parâmetros fisiológicos (médias $\pm$ desvios padrão) dos equinos em TSD, usados na avaliação de um treino físico de 6 semanas.

Parâmetros	Tempos de avaliações				Valor de p	
	T0	T1	T2	T3	Exercício	Treino
FC, bpm						
M1	38,8 $\pm$ 17,2 ^b	76,4 $\pm$ 12,4 ^a	41,1 $\pm$ 4,8 ^b	39,8 $\pm$ 4,4 ^b	<0,0001	0,0283
M2	28,9 $\pm$ 4,5 ^b	71,0 $\pm$ 14,8 ^a	34,4 $\pm$ 2,9 ^b	38,1 $\pm$ 11,8 ^b	<0,0001	
FR, mrpm						
M1	20,8 $\pm$ 6,8 ^b	49,1 $\pm$ 9,6 ^a	18,0 $\pm$ 3,6 ^b	16,9 $\pm$ 4,4 ^b	<0,0001	0,0226
M2	19,1 $\pm$ 9,9 ^b	72,3 $\pm$ 28,7 ^a	18,5 $\pm$ 3,00 ^b	21,1 $\pm$ 4,1 ^b	0,0001	
TC, °C						
M1	37,6 $\pm$ 0,5 ^b	38,9 $\pm$ 0,3 ^a	37,9 $\pm$ 0,5 ^b	37,4 $\pm$ 0,3 ^b	<0,0001	<0,0001
M2	37,2 $\pm$ 0,5	37,6 $\pm$ 0,4	37,6 $\pm$ 0,4	37,1 $\pm$ 0,7	0,2143	

Nota: Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas na análise pelo tempo de colheita pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$); T0: repouso; T1: imediatamente após o exercício; T2: com 30 minutos de recuperação; T3, com 240 minutos de recuperação. FC, frequência cardíaca; FR, frequência respiratória; TC, temperatura corporal.

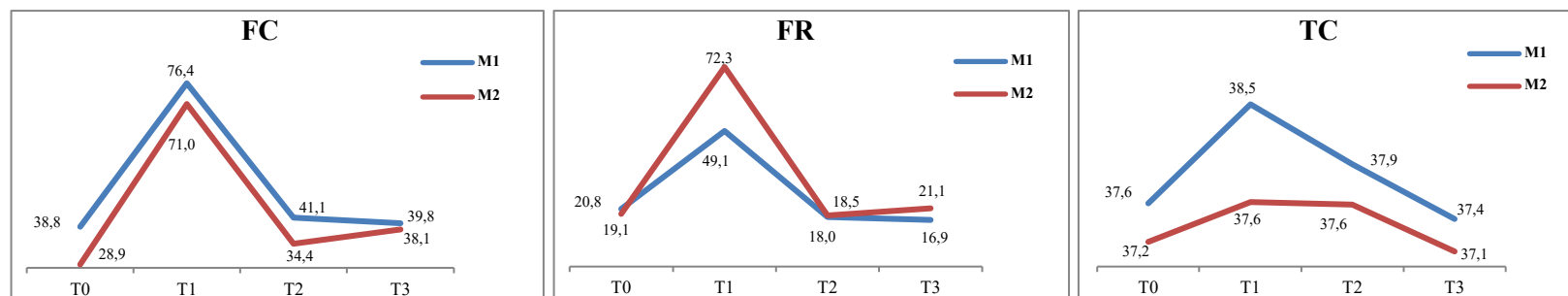
**Figura 6.** Representação gráfica da Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros hematométricos (médias $\pm$ desvios padrão) dos equinos em TSD, usados na avaliação de um treino físico de 6 semanas.

Parâmetros	Tempos de avaliações				Valor de p	
	T0	T1	T2	T3	Exercício	Treino
Leuco, $\times 10^3/\square L$						
M1	8,87 $\pm$ 0,76 ^b	10,41 $\pm$ 0,69 ^a	9,23 $\pm$ 0,90 ^b	9,69 $\pm$ 0,92 ^{ab}	0,0028	<0,0001
M2	7,59 $\pm$ 1,57	8,35 $\pm$ 0,88	7,97 $\pm$ 1,29	8,72 $\pm$ 1,64	0,4077	
Ne, $\times 10^3/\square L$						
M1	4,18 $\pm$ 0,30 ^b	4,59 $\pm$ 0,43 ^a	4,33 $\pm$ 0,48 ^{ab}	4,75 $\pm$ 0,30 ^{ab}	0,0182	<0,0001
M2	3,41 $\pm$ 0,85	3,51 $\pm$ 0,56	3,36 $\pm$ 0,47	4,12 $\pm$ 1,58	0,3840	
Linfo, $\times 10^3/\square L$						
M1	4,32 $\pm$ 0,66 ^b	5,40 $\pm$ 0,76 ^a	4,50 $\pm$ 0,66 ^{ab}	4,38 $\pm$ 0,85 ^b	0,0130	0,0341
M2	3,91 $\pm$ 0,96	4,54 $\pm$ 0,63	4,32 $\pm$ 1,10	4,13 $\pm$ 0,80	0,5424	
VG, %						
M1	38,32 $\pm$ 2,80 ^b	43,43 $\pm$ 2,69 ^a	37,22 $\pm$ 2,80 ^b	39,44 $\pm$ 3,35 ^b	0,0003	0,1857
M2	38,31 $\pm$ 2,17 ^{ab}	41,14 $\pm$ 3,44 ^a	37,03 $\pm$ 3,29 ^b	37,38 $\pm$ 2,37 ^b	0,0238	

Nota: Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas na análise pelo tempo de colheita pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$); T0: repouso; T1: imediatamente após o exercício; T2: com 30 minutos de recuperação; T3, com 240 minutos de recuperação. Leuco, contagem total de leucócitos; Ne, contagem total de neutrófilos; Linfo, contagem total de linfócitos; VG, volume globular

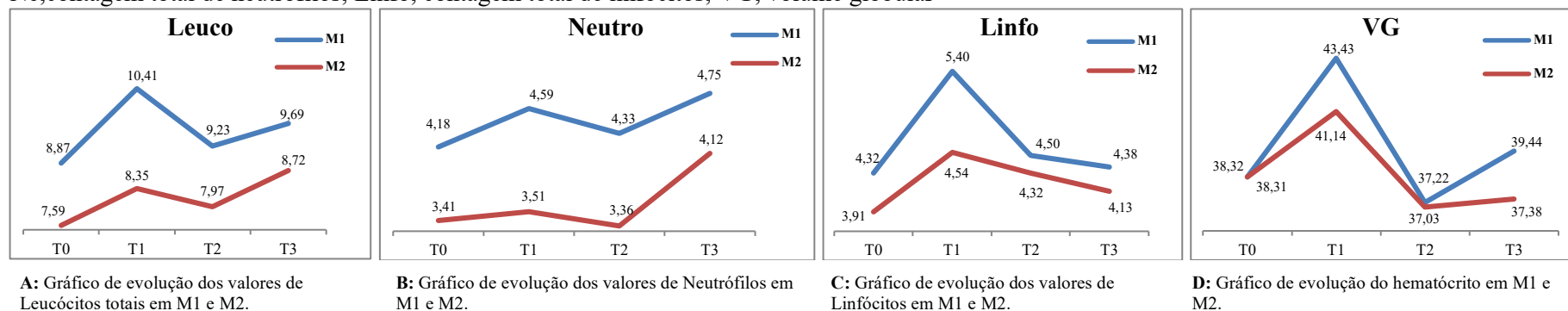
**Figura 7.** Representação gráfica da Tabela 6.

Tabela 6. Cortisol sérico em equinos em TSD, usados na avaliação de um treino físico de 6 semanas.

Parâmetros	Tempos de avaliações			p	
	T0	T1	T3	Exercício	Treino
Cortisol (nmol/L)					
M1	72,04 ± 14,09 ^b	114,04 ± 31,88 ^a	40,88 ± 21,65 ^c	<0,001	0,0133
M2	56,79 ± 37,85 ^b	76,99 ± 26,63 ^a	47,51 ± 22,80 ^a	0,0096	

Nota: Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas na análise pelo tempo de colheita pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$); T0: repouso; T1: imediatamente após o exercício; T3: com 240 minutos de recuperação.

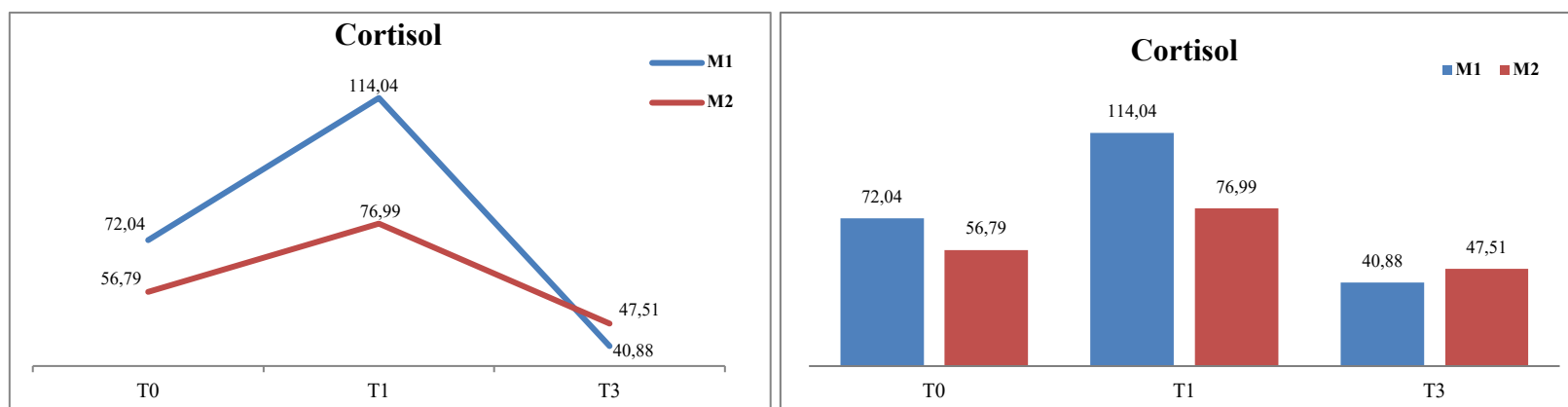
**A:** Gráficos de evolução dos valores de Cortisol em M1 e M2.**Figura 8.** Representação gráfica da Tabela 7.

Tabela 7. Avaliação do monitor cardíaco (M430 Polar) dos equinos PSL em TSD para avaliação do programa de treino físico de 6 semanas.

	M1	M2	p
FCmax, bpm	165,2±24,9	150,9±39,3	0,3766
FCmed, bpm	119,2±16,0	108,6±24,5	0,3021
Vmax (m/s)	5,81±0,94 ^b	7,36±1,15 ^a	0,0161
Vmed (m/s)	2,11±0,39	2,31±0,70	0,4676

Nota: Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste-t ($p \leq 0,05$) entre M1 e M2. FCmax, frequência cardíaca máxima; FCmed, frequência cardíaca média; Vmax, velocidade máxima; Vmed, velocidade média; M1, antes do protocolo de treino; M2, após protocolo de treino de 6 semanas.

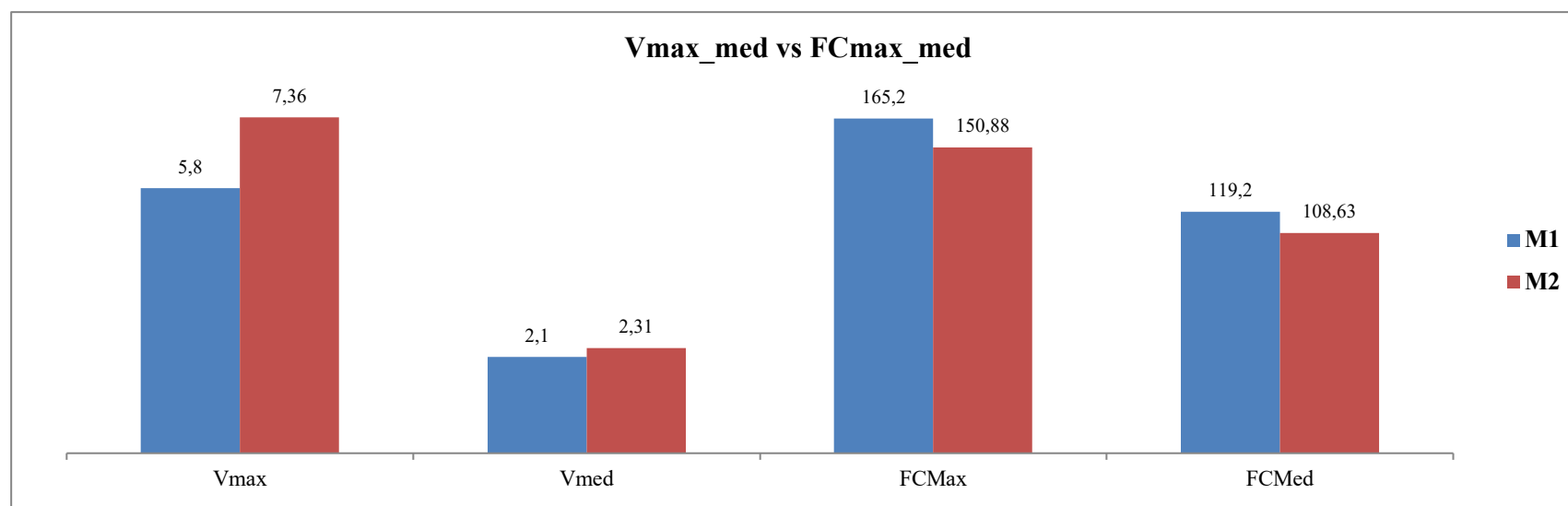
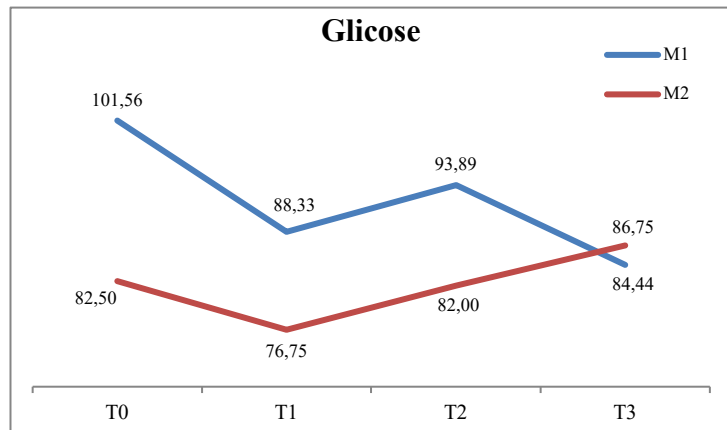
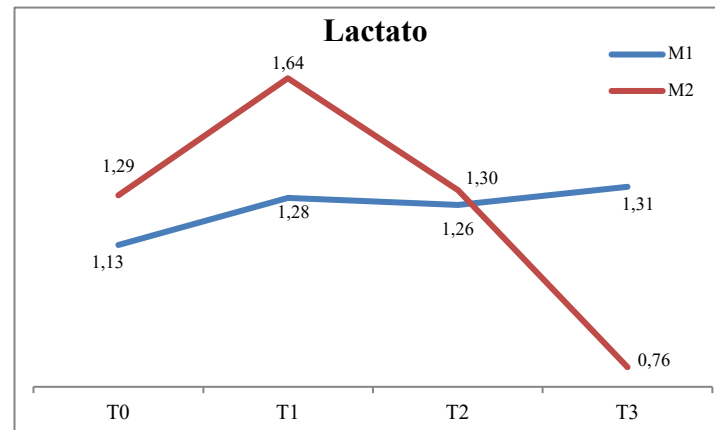
**A:** Gráfico de evolução dos valores de Velocidade máxima e média e da Frequência cardíaca máxima e média em M1 e M2.**Figura 9.** Representação gráfica da Tabela 8.

Tabela 8. Glicémia e Lactacidémia (médias $\pm$ desvios padrão) dos equinos em TSD, usados na avaliação de um treino físico de 6 semanas.

Parâmetros	Tempos de avaliações				Valor de p	
	T0	T1	T2	T3	Exercício	Treino
Glicose, mg/dL						
M1	101,6±8,1 ^a	88,3±6,4 ^b	93,9±7,7 ^{ab}	84,4±10,8 ^b	0,0009	<0,0001
M2	82,5±9,1	76,8±14,9	82,0±7,8	86,8±11,5	0,3754	
Lactato, mmol/L						
M1	1,13±0,19	1,28±0,77	1,26±0,25	1,31±0,15	0,8221	0,0433
M2	1,29±0,11	1,64±0,73	1,30±0,68	0,76±0,18	0,0536	

Nota: Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas na análise pelo tempo de colheita pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$); T0: repouso; T1: imediatamente após o exercício; T2: com 30 minutos de recuperação; T3, com 240 minutos de recuperação. FC, frequência cardíaca; FR, frequência respiratória; TC, temperatura corporal.

**A:** Gráfico de evolução dos valores de Glicose em M1 e M2.**B:** Gráfico de evolução dos valores de Lactato em M1 e M2.**Figura 10.** Representação gráfica da Tabela 9.

VI. DISCUSSÃO

A hipótese que o presente estudo visa testar, de melhoria da condição física dos equinos em resposta ao treino imposto, confirmou-se. Os biomarcadores de bem-estar utilizados neste projeto, cortisol e leucograma, demonstraram uma diminuição de valores na sequência do programa de treino de 6 semanas imposto. Foram descritos trabalhos prévios em humanos e animais (equinos) que apontam que quanto mais treinado um indivíduo, mais atenuada será a resposta do cortisol – caracterizando uma maior eficiência energética e a consequente prática de exercícios em nível submáximo superior (Caplin et al. 2021; Hackney & Walz, 2013). Segundo Graaf-Roelsema et al. (2007), a redução da sensibilidade da glândula adrenal pode indicar uma adaptação bem-sucedida ao programa de treino.

A regulação do cortisol, glicocorticoide endógeno, é realizada pelo córtex da glândula adrenal, estimulada pela libertação da ACTH pela hipófise que, por sua vez, é ativada pela hormona CRH secretada pelo hipotálamo quando estimulado pelo *stress*. Todo este processo é regulado por *feedback* negativo. Este processo é desde há muito conhecido, defendendo que quando existe alguma instabilidade na glândula adrenal que leve a um funcionamento deficiente da secreção de cortisol, existe um comprometimento da resposta à alteração homeostática do organismo (por exercício, ansiedade, etc.) (Hackney & Walz, 2013). Esse comprometimento, em cavalos atletas reflete-se no desempenho atlético nas provas às quais estão designados. Para provar a importância da integridade da glândula adrenal, Sellers et al. (1988) demonstraram que, em ratos adrenalectomizados, a ausência de resposta de glicocorticoides durante um exercício prolongado fez com que estes animais atingissem mais rapidamente a fadiga e a exaustão muscular, possivelmente devido a uma desregulação hormonal que leva a um descontrolo da mobilização energética necessária durante o exercício. Portanto, o cortisol mostra-se essencial para o desafio do exercício. Essa ação é dose-dependente da intensidade do exercício, para atender à necessidade metabólica dos músculos em atividade, seja em resposta a uma sessão de atividade física (efeitos agudos) (Peeters et al., 2013), ou em resposta a um programa de treino (efeitos crónicos) (Hackney & Walz, 2013). Tal facto confirmou-se na presente pesquisa visto que tanto em M1 ($p_{\text{exercício}} < 0,001$) como em M2 ($p_{\text{exercício}} = 0,0096$) foi possível observar um aumento da libertação de cortisol frente ao TSD ($p_{\text{treino}} = 0,013$), mesmo que em M2 tenha sido de menor magnitude, provavelmente em decorrência da adaptação do grupo ao nível de esforço imposto e a um stress positivo (“eustress”) à prática de exercício

físico. Foram observados por Peeters et al. (2013) efeitos semelhantes, que avaliaram a influência do exercício físico nos valores de cortisol numa competição de concurso de obstáculos em casa dos cavalos em estudo e observaram um aumento na sequência da prática de atividade física.

É sabido que o cortisol tem como objetivo a estimulação da gliconeogénese no fígado, que resulta de uma síntese de glicose de substratos não-carbohidratos como aminoácidos e glicerol da decomposição de triglicéridos (Ferraz et al., 2010; Hackney & Walz, 2013). Como surge uma adaptação ao nível do esforço físico imposto pelo treino, observa-se consequentemente uma menor necessidade de mobilização de energia (por ocorrer uma maior eficiência energética), fato esse que justifica uma diminuição de glicose em M2 em resposta concomitante à diminuição de cortisol.

Conforme Cayado et al. (2006) e Caplin et al. (2021) defendem, o exercício físico é o estímulo desregulador mais fisiológico, uma vez que desafia temporariamente a homeostasia do organismo, levando à libertação de cortisol, conforme discutido anteriormente; quando este se torna sistemático e contínuo com aumento gradual de intensidade e intercalado com períodos de repouso dá-se o nome de treino. Os objetivos de um programa de treino passam por produzir um *stress* metabólico significativo, com alterações fisiológicas e físicas que visam aprimorar a aptidão física e, assim, melhorar o desempenho desportivo de equinos (Hyppaa, 2005). Foi com esses conceitos em mente que se idealizou o programa de treino aos jovens Lusitanos incluídos no Projeto.

Os resultados de alguns estudos (Schmidt et al., 2010a, 2010b; Beck-Birck et al., 2013) vão de acordo com os presentes no atual Projeto. É possível observar uma adaptação ao treino dos animais de 3 anos presentes no estudo de Schmidt et al. (2010b), com uma diminuição dos parâmetros de cortisol conferindo igualmente uma ideia de dessensibilização ao treino imposto e aprimoramento físico. Schmidt et al. (2010a) estudaram a resposta de um grupo de animais a um transporte de longa duração e observaram um aumento do cortisol ainda nas boxes (já com caneleiras de transporte colocadas) como efeito premonitório do transporte, mas com posterior diminuição do mesmo ao longo dos dias seguintes por adaptação. O estudo de Beck-Birck et al. (2013) demonstra também uma ambientação dos cavalos ao ambiente de competição com uma diminuição visível dos níveis de cortisol. No presente estudo verificou-se uma diminuição do cortisol, sinalizando uma possível diminuição na libertação de cortisol como efeito crónico do exercício e, assim, apontando para a adaptação física.

Entretanto, existem trabalhos publicados que descreveram um aumento de cortisol sérico em resposta ao treino/ exercício físico, como nos estudos de Cayado et al. (2006) e Peeters et al. (2013). As avaliações dos equinos nos referidos projetos foram feitas em dia de competição, quando existem mais variáveis a influenciar tais resultados, diferente da presente pesquisa na qual os animais foram testados num dia rotineiro de atividades físicas. Apesar disso, Cayado et al. (2006), que compararam o treino de cavalos de obstáculos e *dressage*, observaram uma discrepância maior entre valores basais de cortisol e o pós-competição em animais menos experientes. Também Ferraz et al. (2010) demonstraram um aumento do cortisol durante o exercício físico, atribuindo tal elevação a uma possível inadaptação ao esforço físico imposto nos equinos da raça Árabe treinados em passeadeira.

A intensidade dos exercícios foi aumentada de acordo com a resposta de cada indivíduo, respeitando limites e sem gerar desconforto ou ansiedade que pudessem levar a um novo aumento de cortisol. Quando a carga aumenta em demasia, seja pelo tempo ou intensidade, seria esperado um aumento de cortisol para mobilizar mais energia. Outras causas para este aumento seriam o jejum ou a má alimentação prévia ao exercício, como descrito por Hackeney et al. (2013) que defende que uma dieta deficiente em carboidratos leva a um aumento do cortisol aquando de um exercício submáximo. Esse aumento não foi observado, pelo contrário, corroborando com a discussão acima.

O leucograma observado no presente programa apresentou uma diminuição de valores em M2 com influência do treino sobre contagem total de leucócitos ($p_{\text{treino}} < 0,0001$), número de neutrófilos ($p_{\text{treino}} < 0,0001$) e de linfócitos ($p_{\text{treino}} = 0,0341$). Em relação à influência do TSD, houve leucocitose em M1 - ($p_{\text{exercício}} = 0,0028$) - (devido a uma neutrofilia e linfocitose) e sem que tal se observasse em M2 ($p_{\text{exercício}} = 0,4077$), sugerindo que os animais neste último dia de avaliação apresentaram-se mais aptos ao exercício imposto por haver uma menor mobilização de leucócitos. O exercício e o *stress* gerado pelo mesmo estimula as glândulas adrenais como mencionado anteriormente. As glândulas adrenais são compostas internamente pela medula e externamente pelo córtex, diferentes estruturas no mesmo órgão com excreções hormonais diferentes, mas com funções semelhantes na resposta ao exercício físico. A medula adrenal é responsável pela libertação da adrenalina/ epinefrina (noradrenalina/ norepinefrina) denominadas de catecolaminas. O córtex adrenal é responsável pela excreção de glicocorticoides como cortisol, mineralcorticoides e androgénios. As catecolaminas apresentam funções semelhantes e complementares durante o exercício com (1) aumento da taxa de metabolismo, (2) aumento da glicogenólise no fígado e no musculo esquelético em exercício,

(3) aumento da contração do coração, (4) aumento da libertação de glicólise e ácido gordos livres para a corrente sanguínea, (5) vasodilatação em músculos em exercício e vasoconstrição nas vísceras e pele, e (6) aumento da pressão arterial e respiração. O nível das catecolaminas sobe durante o exercício, a epinefrina aumenta em função da intensidade e duração do exercício de modo exponencial e a norepinefrina aumenta conforme a duração do exercício. De igual modo, o treino faz com que o valor de catecolaminas diminua por adaptação (Canali & Kruehl, 2001). Está bem reconhecido o processo que ocorre durante um estímulo de *stress*, como o exercício, com o aumento da concentração de cortisol juntamente com a libertação de catecolaminas levam a uma mobilização de células do pool marginal, alterando o número de leucócitos no pool circulante (Hinchcliff, Kaneps & Geor, 2013). A adrenalina e o cortisol induzem uma neutrofilia por meio de diferentes mecanismos: a adrenalina induz uma mobilização de leucócitos do compartimento vascular marginal para o circulante (mais neutrófilos e linfócitos) que dá origem a uma leucocitose fisiológica (por neutrofilia e linfopenia); o cortisol, liberta neutrófilos a partir da medula óssea, com menor migração destes para os tecido e diminuição da capacidade de aderência à parede vascular, denomina-se de leucograma de stress por neutrofilia e linfocitose (Scott & Stockham, 2013).

No programa de treino imposto não é possível diferenciar se a leucocitose expressa, e esperada, em ambos os momentos de avaliação se ficou a dever à atuação da adrenalina ou do cortisol, pois apenas foi avaliado o segundo parâmetro. Podemos afirmar que independentemente de não ter havido uma avaliação da adrenalina para justificação do aumento dos leucócitos, é possível observar que o aumento do cortisol é diretamente proporcional ao da leucocitose. Está descrito por Lopes et al. (2009) que o aumento dos leucócitos após uma competição de vaquejada (desporto equestre tradicional do Brasil) é, de igual modo, diretamente proporcional ao aumento de cortisol no momento após competição. O mesmo autor justifica e corrobora que o cortisol é responsável pela leucocitose (por neutrofilia e linfocitose) descrita no pós-competição. No entanto, no estudo com bovinos por Oliveira Paes et al. (2012), na avaliação do leucograma como indicador de elevados níveis de ansiedade no desmame e transporte destes animais, está descrita também uma leucocitose provocada pelo *stress* gerado pelos dois eventos em estudo e o autor justifica que este aumento de leucócitos se deve à ação da adrenalina (leucocitose – neutrofilia e linfocitose) e do cortisol (neutrofilia, linfopenia e eosinopenia).

Dado que os valores de cortisol e leucograma sofreram uma diminuição durante o período de treino podemos verificar uma adaptação ao estímulo (Caplin et al., 2021) e, assim, o grupo

tornou-se mais apto ao esforço físico imposto, diminuindo o stress físico e, possivelmente psicológico, imposto pelo teste a campo.

Durante o treino de 6 semanas foi também observado uma melhoria da prestação cardiovascular, com a redução significativa da FC em M2 ($p_{\text{treino}} = 0,0283$). Juntamente com a avaliação do cortisol, a FC e a variabilidade da FC (*beat-to-beat*) são parâmetros fisiológicos de avaliação preditores de fatores de ansiedade (*stress*) (Becker-Birck et al., 2013). Ainda, a FC aumenta por ação da adrenalina em resposta a uma alteração homeostática juntamente com a exigência física (Ille et al., 2013). O treino aumenta a capacidade cardíaca, assim como o volume sistólico, para que o organismo consiga adaptar-se e responder de forma positiva ao exercício imposto. A redução tal qual foi observada na FC reflete uma melhor contratilidade e menor esforço cardíaco na execução de um esforço físico de igual intensidade. Por consequência do treino e desse desenvolvimento cardiovascular, é possível observar um aumento da velocidade atingida (V_{max}) com uma FC mais baixa (Allen et al., 2016).

Foi observado um aumento significativo de lactato em M2 devido à intensificação do treino, com influência do mesmo ao fim de 6 semanas de treino ($p_{\text{treino}} = 0,0433$), sinalizando um maior uso dessa fonte de energia (Ferraz et al., 2009). O lactato é um indicador da atividade glicolítica no musculo esquelético e a magnitude do aumento está relacionada com a intensidade de esforço, condição física e níveis de treino (Hinchcliff et al., 2008). Apesar do suposto maior uso dessa fonte de energia, os valores registados em T3 de M2 foram menores comparativamente ao T3 de M1, sugerindo uma redução mais eficiente do lactato e, portanto, uma maior adaptação ao treino e a melhoria da recuperação do organismo após o exercício ($p \leq 0,05$). A intensificação do treino (com valores mais elevados em M2) pode dever-se ao facto dos animais estarem a iniciar a preparação para exercício de *dressage* mais intensos e sob maior pressão (como alongamentos de trote e galope) e a mobilização dessa fonte de energia acontece principalmente quando existem momentos em que a energia deve ser gerada de forma rápida. Apesar disso, o exercício em si (efeito agudo) não alterou os parâmetros de lactato em M1 e M2, mantendo-se sempre dentro dos limites aeróbios.

Apesar da influência do exercício (TSD) nos dois dias de teste ($p \leq 0,05$) sobre o volume globular, não foi observada influência do treino sobre essa variável. Em função da adaptação dos cavalos ao treino ao fim de 6 semanas seria expectável uma diminuição da contração esplénica no segundo teste de esforço. Um estudo com cavalos esplenectomizados, demonstraram hematócritos mais baixos durante o exercício que alteravam hemodinamicamente estes animais, incluído uma diminuição da pressão sanguínea no átrio

direito do coração e artéria pulmonar e consequentemente uma redução evidente à capacidade física ao exercício (Hinchcliff et al., 2008). É sabido também que o baço é estimulado pela circulação de catecolaminas (adrenalina e epinefrina) e estudos farmacológicos provam que o relaxamento deste órgão ocorre aproximadamente entre 13-30 minutos após a cessação do estímulo de contração (McKeever, Hinchcliff, Reed & Robertson, 1993). Embora não tenha sido observada influência do treino sobre o VG, acredita-se numa contração esplênica esforço-dependente eficiente e ajustada ao nível imposto de exercício, concordando com os resultados das demais análises feitas.

Pode sugerir-se que a continuidade da resposta eficiente de treino para esses animais após as 6 semanas seria uma intensificação de carga, o que levaria a maior ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (e consequentemente novo *stress* – maior secreção de cortisol), objetivando condição física superior. Tal poderia ser considerado, sem gerar sobrecarga, visto os ajustes cardiovasculares obtidos ao fim das 6 semanas em que é possível observar uma adaptação ao treino com influência do mesmo nos valores de FC e velocidade. Essa adaptação ao treino irá depender dos objetivos do treinador para o nível de condição física a alcançar.

V. CONCLUSÃO

A hipótese do presente estudo passava pela avaliação de um programa de treino de 6 semanas em equinos a iniciar a sua carreira desportiva e se este era eficiente para melhorar a aptidão física, ao mesmo tempo que é assegurado o bem-estar desses animais ao reduzir os fatores potenciadores de *stress*. Os resultados provaram que o programa de treino imposto foi suficiente e os cavalos terminaram as 6 semanas com uma melhor condição física comparativamente à observada no início do programa.

Os resultados demonstram, pois, uma redução dos parâmetros de *stress* (cortisol, leucograma e frequência cardíaca), sugerindo que o protocolo de 6 semanas de treino foi suficiente para promover a condição desportiva dos cavalos e consequentemente melhorar o bem-estar deste grupo.

Com este dados e resultados é possível defender e corroborar com outras hipóteses já descritas que o bem-estar é imprescindível para uma boa condição física e melhoria do desempenho de qualquer cavalo atleta.

VI. BIBLIOGRAFIA

- Abreu, J.M.G.; Manso Filho, H.C.; Manso, H.E.C.C.C. (2009) Composição corporal nos cavalos de trabalho. *Ciência Animal Brasileira*, 10 (4): 1122- 1127.
- Allen, K. J., van Erck-Westergren, E., & Franklin, S. H. (2016). Exercise testing in the equine athlete. *Equine Veterinary Education*, 28(2), 89-98.
- Anon (2022) The WBFSH Studbook Rankings June 2022: Studbook Ranking Dressage, World Breeding Federation for Sport Horses. Consultado em 22 de julho de 2022 (www.wbfs.org)
- APSL - Associação Portuguesa de Criadores do Cavalo Puro Sangue Lusitano, 2022a. Regulamento do livro genealógico do cavalo da raça lusitana. Consultado em 08 de julho de 2022. Disponível em [REGULAMENTO DO \(cavalo-lusitano.com\)](http://REGULAMENTO DO (cavalo-lusitano.com)).
- APSL - Associação Portuguesa de Criadores do Cavalo Puro Sangue Lusitano, 2022b. Padrão da raça. Consultado em 08 de julho de 2022. Disponível em [PADRÃO \(cavalo-lusitano.com\)](http://PADRÃO (cavalo-lusitano.com)).
- Back, W., & Clayton, H. M. (2013). *Equine locomotion*. Elsevier Health Sciences.
- Barrey, E., Desliens, F., Poirel, D., Biau, S., Lemaire, S., Rivero, J. L., et al., (2002). Early evaluation of dressage ability in different breeds. *Equine Veterinary Journal*, 34(S34), 319-324.
- Barrey, E. (2013). Biomechanics of locomotion in the athletic horse. *Equine Sports Medicine and Surgery-Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete*,, 189-211.
- Becker-Birck, M., Schmidt, A., Wulf, M., Aurich, J., von der Wense, A., Möstl, E., et al., (2013). *Cortisol release, heart rate and heart rate variability, and superficial body temperature, in horses lunged either with hyperflexion of the neck or with an extended head and neck position*. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 97(2), 322–330.
- Bridgeman, D.J.; Pretty, G.M.; Tribe, A. (2006) Heart rate synchronization of dressage horses and rider during warm up period for a competition dressage test. In: *Proceeding of Australian Equine Science Symposium*, Gold Coast, Queensland, Australia.

Caanitz, H., O'Leary, L., Houpt, K., Petersson, K., & Hintz, H. (1991). Effect of exercise on equine behavior. *Applied Animal Behaviour Science*, 31(1-2), 1-12.

Cabrera, A. M. Z., Soto, M. J. C., Aranzales, J. R. M., Valencia, N. M. C., & Gutiérrez, M. P. A. (2021). Blood lactate concentrations and heart rates of Colombian Paso horses during a field exercise test. *Veterinary and Animal Science*, 13, 100185.

Canali, E. S., & Kruehl, L. F. M. (2001). Respostas hormonais ao exercício. *Rev paul educ fis*, 15(2), 141-53.

Cano, M. R., Vivo, J., Miró, F., Morales, J. L. e Galisteo, A. M., 2001. Kinematic characteristics of Andalusian, Arabian and Anglo-Arabian horses: a comparative study. *Journal of Veterinary Science*. 71: 147-153.

Caplin, A., Chen, F. S., Beauchamp, M. R., & Puterman, E. (2021). The effects of exercise intensity on the cortisol response to a subsequent acute psychosocial stressor. *Psychoneuroendocrinology*, 131, 105336.

Carroll, C. L., & Huntington, P. J. (1988). Body condition scoring and weight estimation of horses. *Equine veterinary journal*, 20(1), 41-45.

Cordeiro, A. R. (1997). Lusitano Horse –Son of the Wind. Edições Inapa, Lisboa. 1-14

Couroucé-Malblanc, A., & van Erck-Westergren, E. (2013). Exercise testing in the field. *Equine sports medicine and surgery*, 25-42.

Cayado, P., Muñoz-Escassi, B., Dominguez, C., Manley, W., Olabarri, B., De La Muela, M. S., ... & Vara, E. (2006). Hormone response to training and competition in athletic horses. *Equine Veterinary Journal*, 38(S36), 274-278.

Coelho, C. S., Manso, H. E. C. D. C. C., Manso Filho, H. C., Ribeiro Filho, J. D., Abreu, J. M. G., Escodro, P. B., et al., (2018). *Escala para avaliação do bem-estar em equídeos atletas*. R. bras. Med. equina, 4-8.

Costa, G. B., de Barros, J. C., Araújo, P. H., Melo, I. H. S., Nascimento, M. R., Ribeiro, I. P., ... & Junior, D. P. (2018). Análise de parâmetros hematimétricos e bioquímicos em equinos da raça Quarto de Milha atletas pré e pós-treinamento. *Revista Acadêmica Ciência Animal*, 16(1), 1-7.

Costa Ferreira, J. (2005). *A raça Lusitana: pequena história da sua recuperação*, em: Campeões Lusitanos, Edições Inapa, pp. 19-49.

Couroucé, A. (1999). Field exercise testing for assessing fitness in French Standardbred trotters. *The veterinary journal*, 157(2), 112-122.

Couroucé-Malblanc, A., & van Erck-Westergren, E. (2013). Exercise testing in the field. *Equine sports medicine and surgery*, 25-42.

Currell, K., & Jeukendrup, A. E. (2008). Validity, reliability and sensitivity of measures of sporting performance. *Sports medicine*, 38(4), 297-316.

DeNotta, S. L., Stokol, T., & Divers, T. J. (Eds.). (2020). *Clinical Pathology for the Equine Practitioner*. Elsevier.

Djokovic, S.; Markovic, L.; Djermanovic, V.; Trailovic, R. (2021) Indicators of exhaustion and stress markers in endurance horses. *Med. Weter.*, 77, 331-336.

Evans, D. L. (2007). *Physiology of equine performance and associated tests of function*. Equine veterinary journal.

Evans, D. (2008). Exercise testing in the field. In Hinchcliff, K. W., Kaneps, A. J., & Geor, R. J. (Eds.). (2008). *Equine exercise physiology: the science of exercise in the athletic horse*. Elsevier Health Sciences.

Fazio, F., Assenza, A., Tosto, F., Casella, S., Piccione, G., & Caola, G. (2010). *Modifications of some acute phase proteins and the white blood cell count in thoroughbreds during training*. *Veterinary Record*, 167(10), 370-372.

FEI (2010) *Rules for Dressage*, Fédération Equestre Internationale (FEI).

- Ferlazzo, A., Cravana, C., Fazio, E., & Medica, P. (2020). *The different hormonal system during exercise stress coping in horses*. *Veterinary World*, 13(5), 847.
- Ferraz Da Costa, P. (2005). «Introdução», en: *Campeões Lusitanos*, Edições Inapa, pp. 7- 17.
- Ferraz, G. D. C., Teixeira-Neto, A. R., Pereira, M. D. C., Linardi, R. L., Lacerda-Neto, J. C. D., & Queiroz-Neto, A. D. (2010). *Influência do treinamento aeróbio sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62, 23-29.
- Franklin, S. H., Van Erck-Westergren, E., & Bayly, W. M. (2012). Respiratory responses to exercise in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 44(6), 726-732.
- Graaf-Roelfsema, E., Keizer, H. A., van Breda, E., Wijnberg, I. D., & van der Kolk, J. H. (2007). Hormonal responses to acute exercise, training and overtraining a review with emphasis on the horse. *Veterinary Quarterly*, 29(3), 82-101.
- Hackney, A. C., & Walz, E. A. (2013). Hormonal adaptation and the stress of exercise training: the role of glucocorticoids. *Trends in sport sciences*, 20(4), 165.
- Henneke, D. R., Potter, G. D., Kreider, J. L., & Yeates, B. F. (1983). Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine veterinary journal*, 15(4), 371-372.
- Henshall, C.; Randle, H.; Francis, N.; Freire, R. (2022) The effect of stress and exercise on the learning performance of horses. *Sci. Rep.*, 12, 1918.
- Hinchcliff, K. W., Kaneps, A. J., & Geor, R. J. (Eds.). (2008). *Equine exercise physiology: the science of exercise in the athletic horse*. Elsevier Health Sciences.
- Hinchcliff, K. W., Kaneps, A. J., & Geor, R. J. (2013). *Equine Sports Medicine and Surgery E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Hodgson, D. R., McGowan, C., & McKeever, K. (2014). *The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine*. Elsevier Health Sciences.

Hodgson, D. R., & Foreman, J. H. (2013). *Comparative aspects of exercise physiology*. In *The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine: Second Edition*. Elsevier Inc.

Holmström, M. (2013) *The effects of conformation*. In: *Equine Locomotion*, Eds: W. Back and H. Clayton, W.B. Saunders Co., London.

Holmström, M.; Philipsson, J., (1993). «Relationships between conformation, performance and health in 4 year-old Swedish Warmblood riding horses». *Livest Prod Sci*.

Hyypä S. (2005) *Endocrinal responses in exercising horses*. *Livest Prod Sci.*; 92(2):113–2

Hunka, M.M.; Souza, L.A.; Almeida, T.H.S.; Nery, P.C.R.; Manso, H.E.C.C.C.; Manso Filho, H.C. (2018) Metabolic and physiological changes during and after vaquejada exercise in horses. *Med. Vet.*, 12, 254-262.

Ille, N., Von Lewinski, M., Erber, R., Wulf, M., Aurich, J., Möstl, E., et al., (2013). Effects of the level of experience of horses and their riders on cortisol release, heart rate and heart-rate variability during a jumping course. *Animal Welfare*, 22(4), 457-465.

Jones, W.E. (1988) *Equine sports medicine*. Philadelphia: LEA & FEBIGER, 329p.

Kearns, C.F.; McKeever, K.H.; Kumagai, K.; Abe, T. (2002) Fat-free mass is related to one-mile race performance in elite standardbred horses. *The Veterinary Journal*, 163 (3): 260-266.

Klein, B. G. (2013). *Cunningham's textbook of veterinary physiology-E-book*. Elsevier Health Sciences.

Lopes, K. R. F., Batista, J. S., da Cunha Dias, R. V., & Soto-Blanco, B. (2009). Influência das competições de vaquejada sobre os parâmetros indicadores de estresse em equinos. *Ciência Animal Brasileira*, 10(2), 538-543.

Manso, H. E. C. C. C., McKeever, K. H., Duarte, S. R. R., & Abreu, J. M. G. (2012). *Heart rate responses of two breeds of four-gaited horses to a standardized field gaited test*. In *Comparative Exercise Physiology*, 8(1), 41-46

Mattosinho, R., de Almeida Sampaio, A. J. S., Balarin, M. R. S., Fiorato, C. A., Vasques, G. M. B., da Silva, A. L. Y., & Marcusso, P. F. (2017). Alterações hematológicas e bioquímica sérica de equinos atletas. *Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública*, 4(1), 082-091

Marc, M., Parvizi, N., Ellendorff, F., Kallweit, E., Elsaesser, F., 2000. Plasma cortisol and ACTH concentrations in the warmblood horse in response to a standardized treadmill exercise test as physiological markers for evaluation of training status. *J. Anim. Sci.* 78, 1936–1946.

Marlin, D., & Nankervis, K. J. (2013). *Equine exercise physiology*. John Wiley & Sons.

McGowan, C. (2008). Clinical pathology in the racing horse: the role of clinical pathology in assessing fitness and performance in the racehorse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 24(2), 405-421.

McKeever, K. H., & Gordon, M. E. (2008). *Endocrine alterations in the equine athlete*. In *Equine Exercise Physiology: The science of exercise in the athletic horse*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos, 274-300.

McKeever, K. H., Hinchcliff, K. W., Reed, S. M., & Robertson, J. T. (1993). Role of decreased plasma volume in hematocrit alterations during incremental treadmill exercise in horses. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 265(2), R404-R408.

Miranda, R. L. D., Mundim, A. V., Saquy, A. C. S., Costa, Á. S., Guimarães, E. C., Gonçalves, F. C., & Silva, F. O. C. (2011). *Perfil hematológico de equinos submetidos à prova de Team Penning*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31, 81-86.

Moberg, G. P. (2000). Implications for Animal Welfare. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*, 1.

Monteiro, J., 1983. *O cavalo lusitano: contributo para o seu estudo*. Boletim Pecuário. Ano 49: 3-205.

Montepgado, A. D. (2017). *Estudo preliminar sobre a influência da conformação no desempenho desportivo de cavalos de salto de obstáculos* (Master's thesis).hom

Muñoz, A., Riber, C., Santisteban, R., Lucas, R. G., & Castejón, F. M. (2002). *Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabian breeds*. Equine Veterinary Journal, 34(S34), 245-251.

Munsters, C. C., van Iwaarden, A., van Weeren, R., & van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M. S. (2014). *Exercise testing in Warmblood sport horses under field conditions*. The Veterinary Journal, 202(1), 11-19.

Newton, R. U., Laursen, P. B., & Young, W. (2008). *Clinical exercise testing and assessment of athletes*. Olympic textbook of medicine in sport, 160-199.

Oliveira Paes, P. R., Gonçalves, R. C., Barioni, G., Paes Leme, F. D. O., Melo, M. M., & Cruz, M. L. (2012). O leucograma como indicador de estresse no desmame e no transporte rodoviário de bovinos da raça Nelore. *Semina: Ciências Agrárias*, 305-311.

Padalino, B., Rubino, G., Centoducati, P., & Petazzi, F. (2007). *Training versus overtraining: evaluation of two protocols*. Journal of Equine Veterinary Science.

Peeters, M., Closson, C., Beckers, J. F., & Vandenheede, M. (2013). Rider and horse salivary cortisol levels during competition and impact on performance. *Journal of Equine Veterinary Science*, 33(3), 155-160.

PawluskI, J., Jegó, P., Henry, S., Bruchet, A., Palme, R., Cos- te, C., et al., (2017). *Low plasma cortisol and fecal cortisol metabolite measures as indicators of compromised welfare in domestic horses (Equus caballus)*. PLoS ONE 12(9)

Preisinger, R., Wilkens, J., & Kalm, E. (1991). *Estimation of genetic parameters and breeding values for conformation traits for foals and mares in the Trakehner population and their practical implications*. Livestock Production Science, 29(1), 77-86.

Rezende, H. H. C. D., Rezende, A. S. C. D., Lana, Â. M. Q., Santiago, J. M., Moss, P. C. B., Moura, R. S., et al., (2014). *Bioquímica sérica e leucometria de equinos Mangalarga Marchador suplementados com cromo e submetidos à prova de marcha*. Biosci. j.(Online), 219-225.

Samuelson, P. (2011). *Tratado de histologia veterinária*. Elsevier Health Sciences.

Santos R.I.D.G. (2008). *Caracterización genética de la aptitud deportiva del caballo pura sangre Lusitano a partir de variables biocinémáticas al trote*. PhD Tesis. Universidad de Córdoba. Spain

Schmidt, A., Biau, S., Möstl, E., Becker-Birck, M., Morillon, B., Aurich, J., et al., (2010a). Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport. *Domestic animal endocrinology*, 38(3), 179-189.

Schmidt, A., Aurich, J., Möstl, E., Müller, J., & Aurich, C. (2010b). Changes in cortisol release and heart rate and heart rate variability during the initial training of 3-year-old sport horses. *Hormones and Behavior*, 58(4), 628-636.

Scott, M. A., & Stockham, S. L. (2013). *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. John Wiley & Sons.

Sellers, T. L., Jaussi, A. W., Yang, H. T., Heninger, R. W., & Winder, W. W. (1988). Effect of the exercise-induced increase in glucocorticoids on endurance in the rat. *Journal of Applied Physiology*, 65(1), 173-178.

Snow, D. H., Ricketts, S. W., & Mason, D. K. (1983). *Haematological response to racing and training exercise in Thoroughbred horses, with particular reference to the leucocyte response*. *Equine Veterinary Journal*, 15(2), 149-154.

Soares, E. C. (2004). *Indicadores hematológicos e bioquímicos na avaliação da performance de equinos atletas*. Porto Alegre: UFRGS.

Sodré, T. (2020). *Influência de Testes de Simulação de Vaquejada sobre Biomarcadores em Equinos da Raça Quarto de Milha*. (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal da Bahia.

Tyler-McGowan, C. M., Golland, L. C., Evans, D. L., Hodgson, D. R., & Rose, R. J. (1999). Haematological and biochemical responses to training and overtraining. *Equine Veterinary Journal*, 31(S30), 621-625.

Todo-Bom, A., & Mota-Pinto, A. (2007). *Exercício físico: resposta imunoinflamatória*.

Walton, R. M. (Ed.). (2013). *Equine clinical pathology*. John Wiley & Sons.

Vicente, A. A.; Carolino, N. & Gama, L. (2014). *Avaliação genética para a funcionalidade no Lusitano: o caso de sucesso do cavalo Alter-Real em dressage*. Revista Equitação, v. 107: 60-62.

Vicente, A. A.; Carolino, N. & Gama, L. (2016). *Avaliação genética para a morfologia no cavalo Lusitano*. Revista Equitação, v. 107:38-42.

von Lewinski, M., Biau, S., Erber, R., Ille, N., Aurich, J., Faure, J. M., et al., (2013). *Cortisol release, heart rate and heart rate variability in the horse and its rider: Different responses to training and performance*. The Veterinary Journal, 197(2), 229-232.

VII. APÊNDICES

Tabela 9. Padrão da raça Puro Sangue Lusitano. Adaptado de APSL (2022b)

<i>Padrão da raça</i>	<i>Descrição</i>
<i>Tipo</i>	Eumétrico (peso cerca de 500Kg); mediolinio; subconvexilíneo (de formas arredondadas), de silhueta inscritevel num quadrado.
<i>Altura</i>	Média ao garrote, medida com hipómetro, aos 6 anos: fêmeas 1,55m machos 1,60m.
<i>Pelagem</i>	As mais frequentes são a ruça e a castanha, em todos os seus matizes.
<i>Temperamento</i>	Nobre, generoso e ardente, mas sempre dócil e sofredor.
<i>Andamentos</i>	Ágeis e elevados, projetando-se para diante, suaves, e de grande comodidade para o cavaleiro.
<i>Aptidão</i>	Tendência natural para a concentração, com grande predisposição para exercícios de Alta Escola e grande coragem e entusiasmo nos exercícios de Gineta (combate, caça, toureio, mancio de gado, etc.).
<i>Cabeça</i>	Bem proporcionada, de comprimento médio, delgada e seca, de ramo mandibular pouco desenvolvido e faces relativamente compridas, de perfil levemente subconvexo, fronte levemente abaulada (sobressaindo entre as arcadas supraciliares), olhos sobre o elíptico, grandes e vivos, expressivos e confiantes. As orelhas são de comprimentos médio, finas, delgadas e expressivas.
<i>Pescoço</i>	De comprimento médio, rodado, de crineira delgada, de ligação estreita à cabeça, largo na base, e bem inserido nas espáduas, saindo do garrote sem depressão acentuada.
<i>Garrote</i>	Bem destacado e extenso, numa transição suave entre o dorso e o pescoço, sempre levemente mais elevado que a garupa. Nos machos inteiros fica afogado em gordura, mas destaca-se sempre bem das espáduas.
<i>Peitoral</i>	De amplitude média, profundo e musculoso.
<i>Costado</i>	Bem desenvolvido, extenso e profundo, costelas levemente arqueadas, inseridas obliquamente na coluna vertebral, proporcionando um flanco curto e cheio.
<i>Espáduas</i>	Compridas, obliquas e bem musculadas.
<i>Dorso</i>	Bem dirigido, tendendo para o horizontal, servindo de traço de união suave entre o garrote e o rim.
<i>Rim</i>	Curto, largo, musculoso, levemente convexo, bem ligado ao dorso e à garupa, com a qual forma uma linha continua e perfeitamente harmónica.
<i>Garupa</i>	Forte e arredondada, bem proporcionada, ligeiramente oblíqua, de comprimento e largura de dimensões idênticas, de perfil convexo, harmónico, e pontas das ancas pouco evidentes, conferindo à garupa uma secção transversal elíptica. Cauda saindo no seguimento da curvatura da garupa, de crinas sedosas, longas e abundantes.
<i>Membros</i>	Braço bem musculado, harmoniosamente inclinado. Antebraço bem apumado e musculado. Joelho seco e largo. Canelas sobre o comprido, secas e com tendões bem destacados. Boletos secos, relativamente volumosos, e quase sem machinhos. Quartelas relativamente compridas e obliquas. Cascos de boa constituição, bem conformados e proporcionados, de talões não muito abertos e coroa pouco evidente. Nádega curta e convexa. Coxa musculosa, sobre o curto, dirigida de modo que a rótula se situa na vertical da ponta da anca. Perna sobre o comprido, colocando a ponta do curvilhão na vertical da ponta da nádega. Curvilhão largo, forte e seco. Os membros posteriores apresentam ângulos relativamente fechados.