



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DETERMINACIÓN DE ALGUNAS VARIABLES SANGUÍNEAS Y SU  
RELACIÓN CON EL EJERCICIO EN EQUINOS FINA SANGRE DE  
CARRERA EN ENTRENAMIENTO COMPETITIVO**

**Francisco Javier Guevara Ortúzar**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias Clínicas

PROFESOR GUÍA: ADOLFO F. GODOY PINTO  
Departamento de Ciencias Clínicas  
Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE  
2015



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DETERMINACIÓN DE ALGUNAS VARIABLES SANGUÍNEAS Y SU  
RELACIÓN CON EL EJERCICIO EN EQUINOS FINA SANGRE DE  
CARRERA EN ENTRENAMIENTO COMPETITIVO**

**Francisco Javier Guevara Ortúzar**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias Clínicas

NOTA FINAL:.....

Firma

Profesor Guía: Adolfo Godoy Pinto

.....

Profesor Corrector: Ana María Ramírez

.....

Profesor Corrector: Bessie Urquieta M.

.....

SANTIAGO, CHILE

2015

## **AGRADECIMIENTOS**

Dedico esta tesis a:

Mis padres, Fernando y Cecilia, quienes con mucho cariño me han entregado su apoyo incondicional y gracias a su esfuerzo tuve la posibilidad de acceder a una educación privilegiada.

A mi hermana, María José, por la compañía, apoyo y respaldo que solo un hermano(a) puede dar.

A mi profesor guía, Adolfo Godoy, a quien agradezco la confianza y todos los consejos basados en su experiencia de vida que fueron más allá de lo meramente académico, apuntando siempre a destacar como persona y profesional.

A mis profesores correctores, en especial a la Dra. Ana María Ramírez, quien ha sido un apoyo fundamental en todo momento y que con paciencia supo guiarme.

A mis amigos Felipe, Pipe, Pablo, María José, Magdalena, Eduardo, Nathaly, Esteban, Alex, Valentina, Cata, Christian, Jose por estar presentes en los buenos y malos momentos y en especial a Fernando Coloma, Hernán Tagle, Carolina Gutiérrez, Loreto Azócar, Connie Kalwitz, Paulina Macías, Sofía Amor, Claudia Rojas y José Liberona a quienes considero parte de mi familia de vida y están presentes siempre.

A Alejandra Peralta, compañera de vida, viajes e inolvidables momentos, quien con su apoyo incondicional ha sido un pilar fundamental en esta etapa universitaria y de vida.

“Los que renuncian son más numerosos que los que fracasan”

- Henry Ford

## RESUMEN

Se evaluaron las concentraciones sanguíneas de glucosa, cortisol y la relación neutrófilo:linfocito (N:L) en equinos Fina Sangre de Carrera (FSC) sometidos a dos tipos de ejercicio en el curso del entrenamiento. Un total de 15 ejemplares fueron distribuidos según el tipo de trabajo realizado en 3 grupos de 5 animales cada uno, Grupo (Gr.) I: control, sin ejercicio desde hace 60 días por no encontrarse aún incorporados al plan de trabajo del corral, el Gr. II: galope de 1000 metros y Gr. III: trabajo competitivo, galope de 600 metros seguido en forma inmediata de 400 metros a velocidad supramaximal. De cada animal se extrajeron 2 muestras de sangre por punción yugular, una antes del ejercicio (T0) y otra a las 2 horas (T1). Se determinaron las concentraciones plasmáticas de cortisol (RIA) y glucosa (espectrofotometría por técnica enzimática), y se realizó un recuento leucocitario (contador hematológico automático). Los valores se expresaron mediante media y D.E.. Las variaciones por efecto del tiempo, grupo e interacción grupo por tiempo, se determinaron con ANDEVA con un intervalo de confianza de 95% y nivel de significancia de  $p \leq 0,05$ . La intensidad del ejercicio fue la suficiente para generar un aumento significativo de la glicemia en los Gr. II y III al T1; sólo el grupo III fue significativamente mayor al Gr. I al T1. La concentración plasmática de cortisol dentro de grupo, presentó una disminución significativa para el T1 del Gr. II, respecto de su T0. En cuanto a la relación N:L, los valores entre grupos al T0 presentaron que el Gr. II fue significativamente mayor que los otros grupos; al comparar los valores dentro de grupo, mostraron una disminución significativa en el Gr. II. El grupo que presenta la mayor concentración basal de cortisol y la mayor relación N:L es el grupo II, que precisamente se encuentra en un tipo de trabajo intermedio del entrenamiento. Además, al tener un mayor descenso del cortisol plasmático y de la relación N:L en T1 respecto de T0, refleja que la intensidad del ejercicio al que fue sometido es inferior al del grupo III. Los resultados descritos permitirían concluir que la respuesta del organismo al ejercicio físico tiene directa relación con el tipo de trabajo al cual es sometido el animal y la adaptación de éste al entrenamiento.

Palabras clave: equinos, FSC, cortisol, glicemia, relación N:L

## **ABSTRACT**

Fifteen thoroughbred racing horses were evaluated for plasma concentrations of glucose and cortisol, and blood neutrophil:lymphocyte (N:L) ratio. According to their training work, they were separated into three groups of five animals each: control group (GI), 1000m gallop training group (GII) and competitive work group (GIII). Blood samples were obtained from jugular vein at resting (T0) and 2 hours after wards (T1). Plasma glucose and cortisol, and total leukocyte counts were expressed as mean and SD. Group and time effect variations and group-time interactions were determined by ANOVA with 95% confidence interval and  $p \leq 0.05$  significance level. The intensity of this exercise was enough for generate a notable glycemia increase on GII and GIII on T1; only GIII was significantly greater than GI on T1. The plasma cortisol concentration inside the group presents a significant decrease for T1 of GII, in relation to their T0. About the N:L ratio, values between groups on T0 demonstrate that GII was significantly greater than other groups; if comparing values inside the group the results shown a significant decrease on GII. The group that presents greater cortisol basal concentration and N:L ratio is GII, which precisely has done an intermediate work training when comparing with GIII. In addition, having a greater decrease of plasma cortisol and N:L ratio on T1 respect T0 shows that intensity of exercise which was subjected was inferior than GIII exercise. The results described allow conclude that the answer of organism to physic exercise have an direct relation with the kind of job which is subjected the animal and their training.

Keywords: horses, FSC, cortisol, glucose, N: L

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	2
2.1 Glucosa .....	3
2.2 Cortisol .....	4
2.3 Relación Neutrófilo:Linfocito (N:L) .....	4
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	6
3.1 Objetivo general .....	6
3.2 Objetivos específicos .....	6
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	7
4.1 Material biológico .....	7
4.2 Materiales para obtención y procesamiento de muestras .....	7
4.3 Métodos .....	7
4.4 Diseño experimental .....	8
4.5 Obtención y manejo de muestras .....	8
4.6 Análisis de muestras para las variables sanguíneas .....	9
4.7 Análisis estadístico .....	11
4.7.1 Base de datos .....	11
4.7.2 Estadísticas descriptivas .....	11
4.7.3 Modelos estadísticos .....	11
4.7.4 Comprobación de los supuestos de los modelos .....	12
4.7.5 Análisis de varianza .....	12
4.7.6 Comparaciones múltiples .....	12
<b>5. RESULTADOS</b> .....	13
<b>6. DISCUSIÓN</b> .....	14
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	17
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	18

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla Nro.1: Media y Desviación Estándar (D.E.) y su significancia estadística respecto a la interacción de los distintos grupos y Tiempos .....	13
---	----

## **1. INTRODUCCIÓN**

El equino de deporte en general y el de carrera en particular, requieren durante su entrenamiento un proceso de adaptación de su organismo al ejercicio, de tal manera que, si bien es cierto éste constituye en sí una situación de estrés, no debe transformarse en un estado de diestrés, ya que de ser así llevará a daño e incluso a una eventual invalidez atlética del ejemplar. Lo anterior es posible de evitar con un adecuado nivel de entrenamiento y, a su vez, considerando que la exigencia a la cual se someta el animal no supere sus reales capacidades atléticas (Barra, 2007).

Se sabe que el manejo al que es sometido el equino de carrera condiciona una serie de situaciones que obligan a su organismo a poner en marcha mecanismos que compensen, o a lo menos minimicen, el eventual daño que este fenómeno pudiese producir. Estos mecanismos son producto de la domesticación del caballo y las condiciones creadas por el hombre, ya que dicha situación rara vez ocurre en la naturaleza (Art y Lekeux, 2005).

Diversos estudios han permitido demostrar que el caballo tiene ventajas fisiológicas para realizar un mayor trabajo físico que el resto de las especies y, como resultado de éste, ocurren variaciones bioquímicas y hematológicas que reflejan el nivel de esfuerzo y adaptación que presenta el ejemplar en respuesta al ejercicio al que se ve enfrentado (Barra, 2007).

Frente al estrés el individuo tiene una respuesta adaptativa que involucra múltiples hormonas y mecanismos que interactúan, conllevando de manera directa a la afección de su salud y bienestar. La mayoría de estas respuestas pueden ser cuantificadas a modo de prever un sobre entrenamiento que perjudique el futuro rendimiento del ejemplar (Reinartz y Echeverri, 2007).

En la hípica nacional existen diferentes formas de entrenamiento, la mayoría de las cuales se realizan en forma empírica y son propias muchas veces de conocimiento exclusivo de cada entrenador. Dado que en general en nuestro medio existe poco conocimiento con respecto a cómo éstas afectan al caballo, se hace necesario determinar algunas variables que tienen directa relación con el estrés que implica el tipo de ejercicio al que se exponen, durante su preparación atlética para enfrentar futuras competencias.



## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El entrenamiento de caballos deportivos implica la utilización de ejercicios periódicos que causan cambios estructurales, funcionales y de comportamiento, preparándolos para las competencias. Una respuesta eficaz a la formación deportiva depende de la utilización de estímulos adecuados, que deben guiarse por el principio de la sobrecarga de trabajo, que se compone de tres variables clásicas representadas por la tríada intensidad, duración y frecuencia. El ejercicio repetido induce una multitud de adaptaciones fisiológicas y anatómicas en el caballo, las que actúan para reducir el efecto de la tensión producida por los factores de estrés fisiológicos asociados al ejercicio, en donde adicionalmente a estas modificaciones físicas, hay cambios en los componentes bioquímicos sanguíneos (Ferraz *et al.*, 2010; Piccione *et al.*, 2010).

Estos cambios producidos alteran el equilibrio homeostático del cuerpo, por lo que el individuo se encuentra bajo estrés y, en el intento del organismo por restablecer el equilibrio, éste responde con la secreción de una serie de hormonas. Luego de la restauración, los procesos regenerativos continúan, pero si se imponen nuevamente los mismos factores de estrés, como en el caso del entrenamiento, los mecanismos homeostáticos no se desplazarán en igual medida, lo que resulta en una sobrecompensación, la cual es vista como estrés positivo. El problema es que si no se da el tiempo suficiente para que ocurra la fase recuperativa, el atleta estará en peligro de sobreentrenamiento y desequilibrio. Este estrés desarrolla una serie de ajustes orgánicos que involucran a todos los sistemas del individuo (De Graaf-Roelfsema *et al.*, 2007; Mircean *et al.*, 2008).

El sistema nervioso autónomo y el hipotálamo son los encargados de modular la respuesta al estrés, por este motivo se logra explicar la influencia que existe sobre los sistemas respiratorio, vascular y hormonal, entre otros. Esta respuesta tiene su inicio en el cerebro como una actividad neural, para luego ser integrada en el hipotálamo, el que produce una serie de hormonas que son las encargadas de regular la función de la adenohipófisis, para que ésta a su vez libere hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y actúe sobre la glándula adrenal estimulando la síntesis y liberación de cortisol. Son conocidas dos hormonas

relacionadas con la secreción de ACTH en equinos, la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y hormona antidiurética (HAD) (Reinartz y Echeverri, 2007).

Entre los métodos que sirven para evaluar los niveles de estrés se encuentran cambios en las variables fisiológicas y sanguíneas. Dentro de las segundas, las concentraciones de glucosa, cortisol y el leucograma han sido bastante utilizadas en su determinación, con el fin de poder entregar u obtener evidencia indirecta del estado del animal (Rojas, 2010; Flores, 2010).

Por otro lado es sabido que gran parte de las funciones orgánicas, como el gasto cardíaco y la producción hormonal entre otras, muestran valores que oscilan de manera cíclica. Debido a esto es importante conocer acerca de las fluctuaciones de los parámetros hematológicos a evaluar, puesto que puede determinar el momento adecuado para la toma de muestra sanguínea, siendo todo esto relevante del punto de vista diagnóstico, terapéutico y médico (Castillo *et al.*, 2006).

## **2.1 Glucosa**

La digestión de carbohidratos entrega como resultado glucosa, monosacárido que se usa como combustible metabólico básico y, a pesar de existir otros, éste es el único ocupado por el sistema nervioso central (Rojas, 2010; Flores, 2010).

La concentración sanguínea de glucosa, glicemia, es dependiente de diversos factores que la regulan, por lo que es el resultado neto del equilibrio que existe entre los valores de entrada y salida de glucosa de la sangre (Werner y Gallo, 2009).

En casos de estrés, como resultado de éste se liberan catecolaminas y glucocorticoides, lo que a su vez produce un aumento en las concentraciones de glucosa sanguínea, situación dada mayoritariamente gracias a la glicogenólisis. Por lo anteriormente descrito, se establece que la concentración de glucosa sanguínea es un buen indicador indirecto de estrés (Rojas, 2010; Romero *et al.*, 2011).

## **2.2 Cortisol**

El cortisol es una hormona córtico adrenal, perteneciente al grupo de los glucocorticoides y es sintetizado a partir de dos precursores que son la 17 $\alpha$ -hidroxipregnenolona y la progesterona (Flores, 2010).

Este glucocorticoide posee un patrón de producción de tipo ritmo circadiano, alcanzando sus mayores concentraciones en sangre entre las 6:00 y 9:00 horas y las menores entre las 19:00 y 23:00 horas, pudiendo verse alterado frente a la más mínima perturbación, como podría ser su movilización fuera de su ambiente normal, lo que se ve reflejado en un aumento de la concentración de cortisol (Barra, 2007; Rojas, 2010; Flores, 2010).

Existe la premisa que la relevancia de la medición de cortisol como respuesta al estrés es debida a la íntima relación con las manifestaciones conductuales frente a un agente estresante, ya que sus receptores están ubicados en hipotálamo, hipófisis y sistema límbico; en donde este último tiene una participación preponderante en las conductas emocionales (Flores, 2010).

Todas estas respuestas de adaptación, ocasionadas por una gran diversidad de estímulos estresantes, son un intento del organismo por mantener su homeostasis y su óptimo rendimiento (Reinartz y Echeverri, 2007).

## **2.3 Relación Neutrófilo:Linfocito (N:L)**

### Relación

El estrés afecta en direcciones opuestas el número de neutrófilos y el de linfocitos, lo que permite utilizar la relación neutrófilo: linfocito como una de las formas para medir la respuesta al estrés, pudiendo ser relacionado con la dimensión del estresor y con la concentración de glucocorticoides circulantes (Romero *et al.*, 2011).

Entre el perfil de leucocitos y la concentración de glucocorticoides plasmáticos existe una estrecha relación durante el estrés fisiológico. Tomando en cuenta esto, frente a situaciones de estrés se libera cortisol, el cual puede llevar a que el animal curse con neutrofilia y linfopenia, incrementándose así la relación neutrófilo:linfocito (Werner y Gallo, 2009; Romero *et al.*, 2011).

Se ha reportado que este coeficiente N: L sería un indicador más confiable de estrés que la concentración de cortisol (Barra, 2007; Werner, 2006).

### Neutrófilos

Luego de un ejercicio intenso se presenta una neutrofilia moderada, que corresponde a una leucocitosis fisiológica, causada principalmente por la temprana liberación desde el *pool* de almacenaje de la médula ósea y, de menor manera, por la disminución que existe en la marginación y emigración desde la sangre, produciendo así que los neutrófilos circulen por mayor tiempo (Werner y Gallo, 2009).

### Linfocitos

Animales sometidos a entrenamiento extenuante, competición intensiva o que están bajo terapia de corticoides presentan leucograma en los que se distingue una linfopenia, la que es producida principalmente por un secuestro temporal de las células en tejidos linfoides. Esta retención está dada por un mecanismo que involucra la marginación y redistribución de los linfocitos entre el sistema linfático y una marcada y acelerada apoptosis (Werner y Gallo, 2009; Barra, 2007).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los niveles sanguíneos de algunas variables bioquímicas y hematológicas en equinos FSC sometidos a dos modalidades de ejercicio.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar los cambios en las concentraciones plasmáticas de glucosa y cortisol en equinos FSC sometidos a dos modalidades de ejercicio.
2. Determinar los cambios en la relación neutrófilo:linfocito en equinos FSC sometidos a dos modalidades de ejercicio.
3. Comparar las variables estudiadas entre grupos.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Material biológico**

En el presente estudio se utilizaron 15 equinos de raza Fina Sangre de Carrera (FSC), ubicados en la comuna de Pirque, Santiago, Región Metropolitana. La edad de los animales fluctuó entre los dos y tres años.

### **4.2 Materiales para obtención y procesamiento de las muestras**

Para la medición de las variables sanguíneas propuestas, obtención de las muestras de sangre y procesamiento de las mismas, se utilizaron los siguientes materiales:

1. 90 tubos para extracción de muestras sanguíneas, sin sistema de vacío (30 con Fluoruro de Sodio y 60 con ácido etilen-diamino-tetra acético(EDTA))
2. 90 microtubos *Eppendorf*®
3. 30 jeringas de 12mL
4. 60 jeringas de 5mL
5. 90 agujas de 21G x 1½”
6. “Cooler” más “ice-packs”
7. Gradillas
8. Centrífuga ultra-8v (Equilab®)
9. Contador hematológico automático Abacus Junior Vet (Amilab®)
10. Espectrofotómetro Microlab 100 (Merck®)
11. Contador radioactividad gamma (IsoData®)

### **4.3 Métodos**

El estudio se llevó a cabo en dos jornadas, 02 y 04 de Septiembre del 2014, en las dependencias del centro de entrenamiento “Corral Propio”, ubicado en la comuna Pirque, Provincia Cordillera, Ciudad de Santiago, Región Metropolitana, Chile.

#### **4.4 Diseño experimental**

Los ejemplares fueron distribuidos en tres grupos experimentales de cinco ejemplares clínicamente sanos cada uno, entendiendo como tales aquéllos que mostraron sus parámetros fisiológicos dentro de los rangos normales para la especie, raza y edad, como así mismo sus exámenes de sangre (hemograma y perfil bioquímico), siendo descartados aquellos caballos que no cumplían con estos requisitos.

Los grupos experimentales quedaron conformados, según el tipo de trabajo que realizaban, de la siguiente manera:

Grupo I, control, integrado por equinos que no se encontraban en ejercicio en los últimos 60 días, por no estar aún incorporados al plan de trabajo del corral.

Grupo II, animales con trabajo de galope parejo de 1000 metros.

Grupo III, animales con trabajo de galope de 600 metros y en forma inmediata y continua velocidad supramaximal de 400 metros.

Cada grupo corresponde a un tipo de trabajo por cual deben pasar los ejemplares durante su entrenamiento deportivo, partiendo por el grupo I, seguido del grupo II y finalmente el grupo III. La determinación del tipo de trabajo que debe realizar el animal está dada por el desempeño y adaptación observada por el preparador físico, la cual es de exclusivo conocimiento de este último.

Cabe destacar que cada uno de los grupos fue formado al azar de la población de equinos que clasificaban para cada distribución.

#### **4.5 Obtención y manejo de muestras**

Para la obtención de muestras, para cada equino se consideraron 2 tiempos: un Tiempo 0 (T<sub>0</sub>) a las 8:00 am pre entrenamiento y un Tiempo 1 (T<sub>1</sub>) a las 11:00 am (2 horas post ejercicio). Los mismos horarios de los tiempos T<sub>0</sub> y T<sub>1</sub> fueron respetados para el grupo control, que no realizaba ejercicio.

La toma de muestras fue llevada a cabo mediante venopunción yugular, extrayendo 10 mL de sangre en cada ocasión (T<sub>0</sub> y T<sub>1</sub>) en un lapso no mayor a 15 segundos, a modo de reducir o evitar al máximo posibles cambios inducidos por el estrés de la punción.

Según la medición a realizar, la muestra de 10 mL de sangre de cada animal fue distribuida y manejada de la siguiente manera para su posterior análisis:

#### Glicemia

Se destinaron 2 mL de sangre a un tubo graduado con fluoruro de sodio, el cual fue centrifugado a 1325 g por un tiempo de 15 minutos, para la posterior extracción de plasma. El plasma extraído se traspasó a un tubo *Eppendorf*®, que debido a la distancia con el laboratorio fue ubicado en una gradilla y puesto en un “cooler”, con “ice packs” manteniendo una cadena de frío (0-4°C) para su traslado y pronto análisis.

#### Cortisol

Se utilizaron 4 mL depositados en un tubo graduado con EDTA, siendo centrifugado antes de una hora a 1325 g durante 15 minutos, para luego extraer el plasma y traspasarlo en partes iguales a dos tubos *Eppendorf*®, a modo de muestra y contra muestra, posteriormente ubicados en una gradilla y colocados en un “cooler” con “ice packs” para mantener una cadena de frío (0-4°C) durante su traslado y finalmente congelados (-20±2°C) en el laboratorio para su posterior análisis.

#### Relación Neutrófilo: Linfocito (N:L)

De los 10 mL totales de sangre, 4 mL se traspasaron a un tubo graduado con EDTA, el que fue ubicado en una gradilla y puesto en un “cooler” con “ice packs” para su traslado posterior y análisis en el laboratorio.

### **4.6 Análisis de muestras para las variables sanguíneas**

El análisis de las muestras se llevó a cabo en los laboratorios de Bioquímica Clínica y de Fisiología ubicados en las dependencias de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.



Glicemia: fué analizada utilizando el espectrofotómetro Microlab 100 (Merck®), por medio de un sistema enzimático, mediante el método de punto final, utilizando el reactivo Glucosa Liquiform (Labtest®).

Cortisol: La concentración plasmática de cortisol fue determinada mediante radioinmunoanálisis (RIA) utilizando reactivos (Coat-a-Count; Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Los Angeles CA) y técnica previamente validada para su uso en equinos.

Relación Neutrófilo:Linfocito: Se llevó a cabo mediante el contador hematológico automático Abacus Junior Vet (Amilab®).

## 4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 4.7.1 Base de datos

La base de datos fue obtenida a partir de los resultados entregados por los análisis de las muestras sanguíneas, registrando además el grupo y el tiempo de medición de las muestras.

### 4.7.2 Estadística descriptiva

Se presentarán tablas con estadígrafos de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar) de las variables glicemia (GL), cortisol promedio (CP) y relación neutrófilo:linfocito (N:L), según grupo y tiempo de medición.

### 4.7.3 Modelos estadísticos

Se diseñaron modelos mixtos para describir la variación de GL, CP y N:L, utilizando la identificación del animal como efecto aleatorio y como efectos fijos el grupo y tiempo de medición.

$$y_{ijk} = \mu + G_i + T_j + GT_{ij} + a_{ijk} + e_{ijk}$$

Donde:

$y_{ijk}$  =ijk-ésima medición de GL/CP/NL,  $N \sim (\mu, \sigma^2)$ .

$\mu$  = Promedio de GL/CP/NL.

$G_i$  = Efecto fijo del i-ésimo grupo. Donde i = control, galope, trabajo competitivo.

$T_j$  = Efecto fijo del j-ésimo horario. Donde j = Tiempo 0, Tiempo 1.

$GH_{ij}$  = Efecto fijo de la interacción del i-ésimo grupo con el j-ésimo horario.

$a_{ijk}$  = Efecto animal aleatorio de la ijk-ésima medición de GL/CP/NL,  $N \sim (0, \sigma_a^2)$ .

$e_{ijk}$  = Efecto residual aleatorio de la ijk-ésima medición de GL/CP/NL,  $N \sim (0, \sigma_e^2)$ .

#### **4.7.4 Comprobación de los supuestos de los modelos**

El supuesto de normalidad de distribución de los residuales fue evaluado utilizando la prueba de Shapiro-Wilks. Además, la homocedasticidad de varianza de los residuales fue evaluada utilizando la prueba de Levene. Por otro lado, se asume la falta de independencia de las observaciones debido a que los animales presentan mediciones a distintos tiempos.

#### **4.7.5 Análisis de varianza**

Se realizaron análisis de varianza (ANDEVA) para realizar inferencia estadística sobre los efectos fijos de los modelos mixtos utilizados para cada variable dependiente, utilizando el *software Infostat*<sup>®</sup>. Con ello se determinó si existían diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre los promedios de los grupos, de los tiempos de medición y de las interacciones grupo-tiempo de medición.

#### **4.7.6 Comparaciones múltiples**

Se realizaron pruebas de comparaciones múltiples de Tukey en todos los efectos fijos del modelo de ANDEVA. De esta manera, se determinó qué parejas de promedios dentro del efecto grupo, tiempo de medición e interacción grupo-tiempo de medición, presentaban diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre sí.

## 5. RESULTADOS

En la tabla Nro. 1 se presentan los valores de la media y desviación estándar (D.E) para la variable glicemia, cortisol y relación N:L obtenidos en los grupos I, II y III al T0 y T1. Se observa que para las interacciones de la variable glicemia, los valores en el T1 presentaron diferencias significativas entre el grupo I y III, siendo mayor el valor de este último; las medias de los grupos II y III en el T1, post ejercicio, aumentaron en comparación a sus respectivos valores basales. Respecto a las interacciones de la variable cortisol, los ejemplares del grupo II, que se encuentran en un tipo de ejercicio intermedio, presentaron un valor superior al observado en el grupo I y III en el T0; en el grupo II, dentro de grupo, se observó una disminución significativa al T1, post ejercicio. Finalmente las interacciones para la relación N : L muestran que para el T0 existieron diferencias significativas entre el grupo II y los otros grupos, siendo mayor el valor del grupo II; para el T1 los grupos II y III presentan valores significativamente mayores con respecto al grupo I; en el grupo II, dentro de grupo, se observó una disminución significativa al T1 post ejercicio.

Tabla Nro.1: Media y Desviación Estándar (D.E.) y su significancia estadística respecto a la interacción de los distintos grupos y Tiempos.

Grupo (n=5)	Tiempo	Variables					
		Glicemia (mg/dL)		Cortisol promedio (µg/dL)		Relación N : L.	
		Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
I	0	95,00 <sup>a b</sup>	14,49	8,27 <sup>ab</sup>	5,15	1,54 <sup>a</sup>	0,18
I	1	94,40 <sup>ab</sup>	5,64	7,38 <sup>ab</sup>	5,43	1,50 <sup>a</sup>	0,28
II	0	92,60 <sup>a</sup>	3,91	10,25 <sup>c</sup>	3,05	3,04 <sup>d</sup>	0,48
II	1	102,20 <sup>bc</sup>	7,12	3,94 <sup>a</sup>	0,86	2,39 <sup>c</sup>	0,26
III	0	98,40 <sup>a b</sup>	6,84	7,61 <sup>a b</sup>	2,47	1,77 <sup>a b</sup>	0,79
III	1	111,20 <sup>c</sup>	15,71	4,48 <sup>a</sup>	1,38	2,22 <sup>b c</sup>	0,80

Medias con una letra en común, no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) para la interacción. El grupo control no realiza ejercicio, pero respeta Tiempo de medición del grupo galope y trabajo competitivo.

## 6. DISCUSIÓN

La glicemia para los grupos experimentales de equinos abordados en este estudio reflejó que sólo los grupos II y III presentaron un aumento de glucosa sanguínea estadísticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ) en el T1. Este resultado no coincide con el estudio realizado por Gómez *et al.* (2004), quienes no encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en esta variable ya que trabajaron con animales que fueron sometidos a un ejercicio de menor intensidad. La razón de esta diferencia podría radicar en que para producir un aumento significativo de la glicemia se requiere de un ejercicio que lleve a un nivel de estrés suficiente para producir la liberación de catecolaminas y glucocorticoides que desencadene como respuesta la activación de la glicogenólisis y gluconeogénesis responsables de hiperglicemia (Rojas, 2010; Romero *et al.*, 2011).

Las concentraciones de glucosa plasmática en el T1 muestran que el grupo III, que realizó la mayor intensidad de ejercicio, fue significativamente mayor al grupo I, lo cual no se observó al realizar la misma comparación con el grupo II, quienes fueron sometidos a una intensidad intermedia y por lo tanto menor de exigencia. Esto podría explicarse por el efecto intensidad del trabajo a la que se enfrentan ambos grupos experimentales, lo cual se describe, tiene relación con el grado de actividad simpática; quedando en evidencia que se requiere una intensidad suficiente, como la realizada por el grupo III, para incrementar significativamente la glicemia (McGowan y Hogdson, 2013; Gordon *et al.*, 2007). Además considerando la fisiología del animal, la mayor intensidad de ejercicio sumado al poco suministro de oxígeno, inicia la respuesta primaria del organismo en cuanto a abastecimiento energético se refiere. Esta respuesta consiste en la transformación de glucógeno, almacenado en hígado y músculos, en glucosa mediante glicogenólisis (McKeever y Gordon, 2008a). Lo anterior coincide con los resultados del estudio realizado por Yoo *et al.* (2007), quienes trabajaron con caballos de carrera enfrentados a diferentes distancias, demostrando que se requirió un trabajo a velocidad supramaximal para producir una respuesta significativa en la glicemia. Otros autores señalan (McKeever *et al.*, 2013) que el aumento en la intensidad del ejercicio y el mayor nivel de entrenamiento tienen directa relación con el aumento de la liberación de glucagón a circulación sanguínea y el aumento de la sensibilidad de su respuesta, mejorando su capacidad de movilizar glucosa

durante el trabajo deportivo. Así mismo (McKeever y Gordon, 2008a; McKeever y Gordon, 2008b; Rivero y Piercy, 2014) sostienen que la concentración de glucosa plasmática no presenta un aumento sostenido en el tiempo; siendo éste, en la medida que se prolonga el ejercicio, parcial y gradualmente reemplazado por el aporte energético proveniente de los ácidos grasos no esterificados, permitiendo que éste sea sostenible en una segunda fase más aeróbica. Resultaría interesante de evaluar en futuros estudios estos aspectos y donde se considere la realización de trabajos progresivamente mayores en intensidad.

Las medias de la variable cortisol observadas en el T0 para los grupos que realizaron ejercicio en este estudio, presentaron un mayor valor para el grupo II, que se encuentra en un tipo de trabajo de inferior intensidad en relación al del grupo III. Este resultado es concordante con lo descrito por Mircean *et al.* (2008), quienes estudiaron animales con diferentes niveles de preparación física y sometidos a intensidades de trabajo similares a las de nuestros ejemplares experimentales. Sus resultados muestran que animales con mejor rendimiento y con un mayor nivel de preparación presentan menores concentraciones de cortisol respecto de aquellos con bajos rendimientos y menos entrenados. Esta situación que refleja lo descrito en diversos estudios, expone el cambio del eje Hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) frente al entrenamiento, caracterizado por la disminución de sensibilidad de la glándula adrenal frente a la ACTH y la disminución de sensibilidad de la glándula pituitaria frente a los glucocorticoides. Así, los ejemplares más entrenados presentan mayores valores de ACTH y menores valores de cortisol, explicando de esta manera el orden decreciente en la concentración de cortisol desde el menos al más entrenado (De Graaf-Roelfsema *et al.*, 2007).

Los datos obtenidos post ejercicio (T1), coinciden con lo descrito por Schmidt *et al.* (2010), quienes trabajaron con equinos de salto, con un nivel de intensidad de ejercicio similar al cual fue sometido el grupo experimental II. En ambos estudios se observó una disminución en la concentración de cortisol plasmático en la medición realizada a las 2 horas post actividad física. Estos resultados podrían correlacionarse con otros hallazgos que indican que el “*peak*” de cortisol ocurre entre los 5 a 30 minutos post ejercicio y tiene una vida media de 70-100 minutos (Zobba *et al.*, 2011; Rojas, 2010), explicando de esta manera el descenso encontrado.

Con respecto a la relación N:L el grupo II presentó una disminución significativa post ejercicio; lo que se condice con el estudio realizado por Zobba *et al.* (2011), quienes trabajaron con equinos sometidos a una intensidad similar a la de este grupo, observando la misma tendencia registrada en nuestro estudio. Estos valores, en virtud del cambio en la proporción de células en el “*pool*” circulante, podría ser ocasionado por el estrés producto del ejercicio, correspondiendo así a una pseudoleucocitosis (Bhatti y Shaikh, 2007; Rovira *et al.*, 2008). El resultado observado en el grupo II, podría deberse a la liberación de catecolaminas, donde el principal aumento estaría ocasionado por el número de linfocitos que pasan a la sangre periférica; lo que probablemente refleja la liberación de grandes cantidades de éstos a circulación. Se describe que esto ocurre en asociación con la movilización del depósito de eritrocitos durante la contracción esplénica y, en menor medida, por los que provienen de la médula ósea y ganglios linfáticos (Kingston, 2004; Krumrych, 2006; Piccione *et al.*, 2007; Mckeever y Gordon, 2008c).

Al relacionar las diferentes variables de los grupos II y III en el T0, podemos observar como los ejemplares que llevan mayor tiempo de entrenamiento (grupo III) y, que ya han pasado por el tipo de ejercicio realizado por el grupo II, presentan un menor valor de cortisol junto a un menor valor de relación N:L. Esta situación se explica por la ya mencionada alteración del eje HPA, en donde se plantea, según Cayado *et al.* (2006), que el nivel de respuesta que induce el ejercicio sobre el eje HPA es inversamente proporcional al nivel de entrenamiento que tenga el ejemplar. Lo anterior también explicaría que el mayor valor de cortisol observado se encuentre en el grupo II, lo que a su vez se traduce en una mayor relación N:L, ya que a mayor concentración de cortisol, mayor es la cantidad de neutrófilos y menor la de linfocitos (Islas *et al.*, 2007).

## 7. CONCLUSIONES

- El tipo de ejercicio realizado en ambos grupos de animales experimentales fue suficiente para producir una respuesta reflejada en el aumento de la glicemia post trabajo.
- A menor nivel de entrenamiento mayor es la concentración basal de cortisol y de la relación N:L.
- A menor intensidad de ejercicio, mayor es la disminución de cortisol y de la relación N:L post trabajo.
- El tiempo transcurrido entre la toma de muestras por sí solo no es relevante para las variables glicemia, cortisol y relación N:L, no así el efecto del tipo de ejercicio realizado.
- A la luz de las observaciones realizadas en este trabajo, se recomienda en futuros estudios contar con más animales, que presenten distinto nivel de entrenamiento y trabajen a diferentes intensidades, los que siendo sometidos a una distancia de carrera de 1000 metros y a una intensidad de trabajo supramaximal acorde a ésta, permitan comparar la influencia del tipo de entrenamiento de cada grupo en el desempeño deportivo y como este se ve relacionado con las variables sanguíneas a estudiar como son cortisol, glicemia y relación N:L.



## 8. BIBLIOGRAFÍA

- **ART, T.; LEKEUX, P.** 2005. Exercise-induced physiological adjustments to stressful conditions in sports horses. *Livestock Production Sci.* 92(2): 101-111.
  
- **BARRA, M.** 2007. Evaluación del hemograma, concentración sanguínea de cortisol y glucosa en equinos sometidos a un ejercicio estandarizado en treadmill. Chillán, Chile. Memoria Título Médico Veterinario. U. de Concepción, Fac. Medicina Veterinaria, Depto. Ciencias Clínicas. 43 p.
  
- **BHATTI, R.; SHAIKH, D.** 2007. The effect of exercise on blood parameters. *Pakistan Journal of Physiology* 3(2). 3p.
  
- **CASTILLO, J.; RODRÍGUEZ, O.; CASANOVA, R.; QUIÑONES, R.; MONTEAGUDO, E., SILVEIRA, E.** 2006. Parámetros hematológicos en equinos de tracción. *Rev Prod Anim.* 18 (2): 127-130.
  
- **CAYADO, P.; MUÑOZ- ESCASSI, B.; DOMINGUEZ, C.; MANLEY, W.; OLABARRI, B.; MUELAS, M.; CASTEJO, F.; MARANON, G.; VARA, E.** 2006. Hormone response to training and competition in athletic horses. *Equine Vet J.* 38(36): 274-278.
  
- **DE GRAAF-ROELFSEMA, E.; KEIZER, H.; VAN BREDA, E.; WIJNBERG, I; VAN DER KOLK, J.** 2007. Hormonal responses to acute exercise, training and overtraining a review with emphasis on the horse. *Vet Quarterly* 29(3): 82-101.
  
- **FERRAZ, G.; SOARES, O.; FOZ, N.; PEREIRA, M.; QUEIROZ, A.** 2010. The workload and plasma ion concentration in a training match session of high goal (elite) polo ponies. *Equine Vet J.* 42(38): 191-195.
  
- **FLORES, D.** 2010. Indicadores de estrés en equinos sometidos a orquiectomía tratados con analgesia preventiva en base a tramadol o fenilbutazona. Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. 39 p.
  
- **GÓMEZ, C.; PETRÓN, P.; ANDAUR, M.; PÉREZ, R.; MATAMOROS, R.** 2004. Medición post-ejercicio de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas en equinos de salto Holsteiner. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 14(3): 244-253.
  
- **GORDON, M.; MCKEEVER, K.; BETROS, C.; MANSO, H.** 2007. Exercise induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses. *The Vet J.* 173(3): 532-540.
  
- **ISLAS, A.; MERINO, V.; MORA, G.; QUEZADA, M.; KRAUSHAAR, R.; ALVAREZ, J.; ARAYA, H.** 2007. Evaluación de estrés en equinos en entrenamiento para participar en prueba de resistencia. *Agrociencia* 23(2): 73-78.

- **KINGSTON, J. 2004.** Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training. **In:** McKeever, K. (Eds.). *Equine Sport Medicine and Surgery*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 939-949.
- **KRUMRYCH, W. 2006.** Variability of clinical and haematological indices in the course of training exercise in jumping horses. *Bull Vet Inst Pulawy*. 50(3): 391-396.
- **MCGOWAN, C.; HODGSON, D. 2013.** Hematology and Biochemistry. **In:** *The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine*. Elsevier Health Sciences. 2<sup>a</sup> ed. Elsevier Health Sciences. Missouri, Estados Unidos. pp. 56-68.
- **MCKEEVER, K.; GORDON, M. 2008a.** The horse as an athlete: physiological overview. **In:** Hinchkliff, K.; Geor, R.; Kaneps, A. (Eds.). *Equine Exercise Physiology: The science of exercise in the athletic horse*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 2-11.
- **MCKEEVER, K.; GORDON, M. 2008b.** Endocrine alterations in the equine athlete. **In:** Hinchkliff, K.; Geor, R.; Kaneps, A. (Eds.). *Equine Exercise Physiology: The science of exercise in the athletic horse*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 274-300.
- **MCKEEVER, K.; GORDON, M. 2008c.** Immunological responses to exercise and training. **In:** Horohov, D. (Eds.). *Equine Exercise Physiology: The science of exercise in the athletic horse*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 274-300.
- **MCKEEVER, K.; ARENT, S.; DAVITT, P. 2013.** Endocrine and Immune Responses to Exercise and Training. **In:** *The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine*. Elsevier Health Sciences. 2<sup>a</sup> ed. Elsevier Health Sciences. Missouri, Estados Unidos. pp. 88-107.
- **MIRCEAN, M.; GIURGIU, G.; MIRCEAN, V.; ZINVELIU, E. 2008.** Serum cortisol variation of sport horses in relation with the level of training and effort intensity. *Bull USAMV-CN* 64(1-2): 488-492.
- **PICCIONE, G.; CASELLA, S.; GIANNETTO, C.; MESSINA, V.; MONTEVERDE, V., CAOLA, G., & GUTTADAURO, S. 2010.** Haematological and haematochemical responses to training and competition in standardbred horses. *Comp Clin Pathol*. 19(1): 95-101.
- **PICCIONE, G.; GIANNETTO, C.; FAZIO, F.; DI MAURO, S.; & CAOLA, G. 2007.** Haematological response to different workload in jumper horses. *Bulg J Vet Med*. 10(4): 21-28.
- **REINARTZ, M.; ECHEVERRI, A. 2007.** Efecto del estrés generado por el ejercicio de alto rendimiento sobre las concentraciones de cortisol y testosterona en caballos pura sangre inglés. *Rev Fac Nac Agr Medellín*. 60 (2): 3985-3999.

- **RIVERO, J.; PIERCY, R.** 2014. Muscle physiology: responses to exercise and training. **In:** Hinchcliff, K.; Kaneps, A.; Geor, R. (2<sup>a</sup>ed). Equine Sports Medicine: Surgery Basic and clinical sciences of the equine athlete. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 2-11.
  
- **ROJAS, M.** 2010. Indicadores sanguíneos de estrés en equinos sometidos a orquiectomía, tratados en base a fenilbutazona o a la combinación de fenilbutazona y tramadol. Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. 40 p.
  
- **ROMERO, M.; URIBE, L.; SÁNCHEZ, J.** 2011. Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. Biosalud 10(1): 71 – 87.
  
- **ROVIRA, S.; MUNOZ, A.; BENITO, M.** 2008. Effect of exercise on physiological, blood and endocrine parameters in search and rescue trained dogs. Veterinarni Medicina 53 (6): 333-346.
  
- **SCHMIDT, A.; AURICH, J.; MÖSTL, E.; MÜLLER, J.; AURICH, C.** 2010. 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: 628-636.
  
- **WERNER, M.** 2006. Efectos del transporte y manejo pre-sacrificio sobre las concentraciones de algunos constituyentes sanguíneos relacionados con estrés en equinos. Tesis Magister en Ciencias, Mención Salud Animal. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. 204p.
  
- **WERNER, M.; GALLO, C.** 2009. Bienestar animal en equinos destinados al sacrificio: transporte, reposo y aturdimiento. **In:** Mota, D.; Guerrero, I. (Eds.). Bienestar animal y calidad de la carne. BM Editores, México. pp. 85-101.
  
- **YOO, I.; LEE, H.; YOON, S.; HONG, H.; LEE, S.** (2007). Study on changes in racehorses' metabolites and exercise-related hormones before and after a race. Asian Aust J Anim Sci. 20(11): 1677-1683.
  
- **ZOBBA, R.; ARDU, M.; NICCOLINI, S.; CUBEDDU, F.; DIMAURO, C.; BONELLI, P.; DEDOLA, C.; VISCO, S.; PINNA, M.** 2011. Physical, hematological and biochemical responses to acute intense exercise in polo horses. J Equine Vet. Sci. 31: 542-548.