

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**Faculdade de Agronomia e Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal**

**A INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO NA ADAPTAÇÃO  
ÓSSEA DE PURO SANGUE ÁRABE PRATICANTES DE  
ENDURO EQUESTRE**

**MARIANA DAMAZIO RAJÃO**

**DOUTORADO EM SAÚDE ANIMAL**

**BRASÍLIA/DF**  
**FEVEREIRO/ 2018**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**A INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO NA ADAPTAÇÃO  
ÓSSEA DE PURO SANGUE ÁRABE PRATICANTES DE  
ENDURO EQUESTRE**

**MARIANA DAMAZIO RAJÃO**

**DOUTORADO EM SAÚDE ANIMAL**

**BRASÍLIA/DF  
MARÇO/2018**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**A INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO NA ADAPTAÇÃO  
ÓSSEA DE PURO SANGUE ÁRABE PRATICANTES DE  
ENDURO EQUESTRE**

**MARIANA DAMAZIO RAJÃO**

**ORIENTADOR: EDUARDO MAURÍCIO MENDES DE LIMA**

**DOUTORADO EM SAÚDE ANIMAL**

**PUBLICAÇÃO: \_\_\_\_\_**

**BRASÍLIA/DF  
MARÇO/2018**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

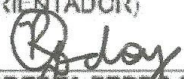
**A INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO NA ADAPTAÇÃO  
ÓSSEA DE PURO SANGUE ÁRABE PRATICANTES DE  
ENDURO EQUESTRE**

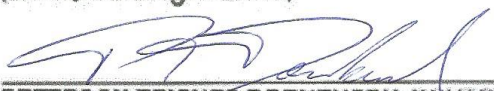
**MARIANA DAMAZIO RAJÃO**


TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO  
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM  
SAÚDE ANIMAL, COMO PARTE DOS  
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO  
GRAU DE DOUTOR EM SAÚDE ANIMAL

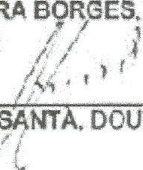
APROVADA POR:

  
EDUARDO MAURÍCIO MENDES DE LIMA, DOUTOR (UnB)  
(ORIENTADOR)

  
ROBERTA FERREID DE GODOY, DOUTOR (UCL)  
(EXAMINADOR EXTERNO)

  
PETERSON TRICHES DORNBUSCH, DOUTOR (UFPR)  
(EXAMINADOR EXTERNO)

  
JOSÉ RENATO JUNQUEIRA BORGES, DOUTOR (UnB)  
(EXAMINADOR INTERNO)

  
MARCELO ISMAR SILVA SANTA, DOUTOR (UnB)  
(EXAMINADOR INTERNO)

BRASÍLIA/DF, 20 de março de 2019

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

RAJÃO, M. D. **A influência do treinamento na adaptação óssea de puro sangue árabe praticantes de enduro equestre.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2018, 56p. Tese de Doutorado.

Documento formal, autorizando reprodução desta tese de doutorado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Rajão, Mariana Damazio

**A INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO NA ADAPTAÇÃO ÓSSEA DE PURO SANGUE ÁRABE PRATICANTES DE ENDURO EQUESTRE/ Mariana Damazio Rajão** orientação de Eduardo Maurício Mendes de Lima – Brasília, 2018. 56p.: il.

Tese de Doutorado (M) – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2015.

1. Enduro equestre. 2. Exercício. 3. Osso.
  4. substância compacta. 5. substância esponjosa
- I Lima, E.M.M. II. Doutor

**Dedico as pessoas mais importantes da  
minha vida, Fernando, Dudu, meus pais e  
aos Cavalos.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por iluminar minha vida em toda a minha trajetória pessoal e profissional.

Aos meus pais por me apoiarem incondicionalmente em todas as minhas escolhas e por serem meu porto seguro.

A toda a minha família por todos os momentos de diversão e carinho.

Aos meus sogros por me acolherem em um momento importante da minha vida.

Ao meu companheiro de vida, melhor amigo e marido, Fernando, por todo carinho, dedicação e apoio. Não posso colocar em palavras o que você representa para mim.

Ao meu orientador Dr. Eduardo Maurício Mendes de Lima, por ter me acolhido no mestrado e aberto a porta para algo muito maior. Muito obrigado por todos os ensinamentos e dedicação ao longo desta caminhada. Você é um verdadeiro mestre!

A Dra. Roberta Ferro de Godoy, por ter colaborado na criação do trabalho e por ser parte tão importante da minha formação.

Aos amigos Carol Leite e Kaique Nogueira por me ajudarem na efetivação do trabalho, tanto a campo quanto na leitura dos dados.

Às sócias Dra. Cinthia Beatriz Dumont e Msc. Fernanda Fonseca por cederem o equipamento para efetivação do trabalho e pela ajuda na coleta das imagens.

Aos tratadores e responsáveis pelos animais, meu muito obrigado.

Aos cavalos atletas, razão de todo o estudo e dedicação profissional na minha vida.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
CAPÍTULO I	
The bone response to long-term exercise.	1
Abstract	1
Introduction	2
Materials and methods	3
Results	6
Discussion	7
Conclusion	10
References	11
Figures	14
Tables	16
Anexo 1	17
Anexo 2	18
Anexo 3	19
Anexo 4	22
Anexo 5	23
CAPÍTULO II	
Remodelamento em puro sangue árabe praticantes de enduro equestre	24
Resumo	24
Introdução	25
Material e Métodos	27
Resultados	31
Discussão	32
Conclusão	38
Referências	39
Tabelas	41



## LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem/ percentages
AcC	Acessório do Carpo/ Accessory carpal
Calc	Calcâneo/ Calcaneus
DMO/BMD	Densidade Mineral Óssea/ Bone mineral density
G1	Grupo um/ Group one
G2	Grupo dois/ Group two
G3	Grupo três/ Group three
G4	Grupo quatro/ Group four
GC	Grupo controle/ control group
GE/EG	Grupo exercitado/ Exercise group
mg/cm <sup>3</sup>	Miligrama por milímetro cúbico
mm	Milímetros/ millimetres
mm <sup>2</sup>	Milímetro quadrado/ square millimetre
mmAl	Milímetro de alumínio/ millimetres of aluminium
Mtc	Metacarpico terceiro/ Third metacarpal
R	Rádio/ Radius

## LISTA DE TABELAS

		Página
<b>TABLE 1.1</b>	Radiographic technique used to capture images according to the different bones evaluated.	16
<b>TABLE 1.2</b>	Means and standard deviations of the cortical thickness in millimetres (mm) of the radius, third metacarpal, calcaneus and accessory carpal bone. Different letters between the columns indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ). GC=Control group, GE= Exercise group.	16
<b>TABLE 1.3</b>	Means and standard deviations of the cortical density in millimetres of aluminium (mmAl) of the radius, third metacarpal, calcaneus and accessory carpal bone. Different letters between the columns indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ). GC=Control group, GE= Exercise group.	16
<b>TABLE 1.4</b>	Means and standard deviations of the trabecular bone percentage (%) of the radius, third metacarpal, calcaneus and accessory carpal bone. Different letters between the columns indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ). GC=Control group, GE= Exercise group.	16
<b>TABELA 2.1</b>	Distribuição dos grupos de acordo com o tipo de treinamento em que o animal foi submetido e a faixa etária de idade.	41
<b>TABELA 2.2</b>	Técnica radiográfica utilizada para capturar imagens de acordo com os diferentes ossos avaliados. Rádio (R), Metacárpico III (Mtc), Calcâneo (Calc) e Acessório do Carpo (AcC).	41
<b>TABELA 2.3</b>	Médias e desvio padrão em mm da espessura da substância compacta dos ossos Rádio (R), Metacárpico III (Mtc), Calcâneo (Calc) e Acessório do Carpo (AcC), entre os diferentes grupos, usando o GC como parâmetro para comparar com os demais grupos. Letras diferente entre as colunas significam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao GC, para o teste Anova.	41
<b>TABELA 2.4</b>	Médias e desvio padrão em mmAl da densidade da substância compacta dos ossos Rádio (R), Metacárpico III (Mtc), Calcâneo (Calc) e Acessório do Carpo (AcC), entre os diferentes grupos, usando o GC como parâmetro para comparar com os demais grupos. Letras diferente entre as colunas significam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao GC, para o teste Anova.	42

**Tabela 2.5** Médias e desvio padrão em porcentagem (%) da densidade da substância esponjosa dos ossos Rádio (R), Metacárpico III (Mtc), Calcâneo (Calc) e Acessório do Carpo (AcC), entre os diferentes grupos, usando o GC como parâmetro para comparar com os demais grupos. Letras diferentes entre as colunas significam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao GC, para o teste Anova. 42

## LISTA DE FIGURAS

		Página
<b>FIGURE 1</b>	Radiographic image of the radius, showing step-by-step how the calibration and measurement of the cortical thickness were performed at pre-determined points, using the penetrometer as a reference measurement, with images in the ProgRes® Capture Pro 2.5 software.	14
<b>FIGURE 2</b>	Radiographic image of the radius (A), metacarpal III (B), calcaneus (C), and carpal accessory (D) bones, showing the measurement point in rectangular area (orange), compared to the density at the 10 <sup>th</sup> step of a penetrometer (E).	15
<b>FIGURE 3</b>	Cross-sections of the trabecular bone of the radius (A), metacarpal III (B), calcaneus (C), and carpal accessory (D), obtained using Adobe Photoshop CS6.	15

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar as adaptações ósseas sofridas em equinos praticantes de enduro equestre através da avaliação da espessura e densidade óssea, visando reconhecer tanto o tipo de adaptação sofrida, quando o momento em que elas ocorrem e como a idade e o treinamento influenciam nestas adaptações. No primeiro estudo foram selecionados 14 cavalos puro sangue árabe adultos e divididos igualmente em grupo controle (GC) composto por animais que nunca haviam praticado atividade física e grupo exercitado (GE), composto por animais atletas. No segundo estudo foram avaliados 24 cavalos puro sangue árabe e foram divididos de acordo com a sua idade e nível de treinamento em 5 grupos, na seguinte forma: grupo controle (GC) com a idade entre 8 a 10 anos, que nunca haviam sido domados ou treinados, grupo 1 (G1) com idade entre 3 e 4 anos, que não eram domados ou trabalhados, grupo 2 (G2), com idade entre 4 e 5 anos domados em início de treinamento, grupo 3 (G3), com idade entre 6 e 7 anos, cavalos que participaram de provas de curta distância (40 a 60km) e grupo 4 (G4) com idade entre 8 e 10 anos, cavalos que participaram de provas de longa distância (120 a 160 km). Radiografias dos ossos Rádio, Metacárpico III, Calcâneo e Acessório do Carpo foram realizadas utilizando sistema digital e penetrômetro. Foi avaliada a espessura da substância compacta através do programa ProgRes® Capture Pro 2.5, densidade da substância compacta através do Adobe Photoshop CS6 e densidade das trabéculas ósseas através do Image-Pro Plus 4. De modo geral foram evidenciadas alterações ósseas decorrente da idade e do exercício nos animais avaliados. Ocorreu aumento da densidade e da espessura da substância compacta, em relação ao grupo controle, para os ossos avaliados. Para ossos curtos o aumento da densidade da substância esponjosa foi uma diferença observada. O treinamento mostrou-se benéfico para que ocorresse adaptações ósseas importantes. As adaptações observadas foram consideradas fatores importantes para que ocorressem um aumento da resistência óssea diante do exercício. As alterações estruturais evidenciadas estiveram relacionadas a uma resposta morfofuncional do tecido ósseo como um todo.

Palavras chave: enduro equestre, exercício, osso, substância compacta, substância esponjosa.

## ABSTRACT

The objective of this study was to determine the bone response of equine that practising endurance through the assessment of bone thickness and density, looking to recognise the type of adaptation and the moment that they start, and how the age and exercise influences in those adaptation. In the first experiment, 14 Arabian horses were selected and divided equally in two groups, a control group (CG) formed by animals that had never practised physical activity nor been tamed and an exercise group (EG) formed by athlete animals. In the second experiment, twenty-four pure Arabian horses were evaluated. The animals were divided into five groups. The control group (CG) consisted of seven adult animals, age between 8 to 10 years, that had never been tamed nor had practised any type of physical activity during their lives. The group one (G1) consisted of three young unbroken horses, with age between 3 to 4 years. The others groups was exercise and was divided according to the age and type of work. The group two (G2) consisted of thee young tamed horses that had never did a race before, with age between 4 to 5 years. The third group (G3) was about horses that have participated from a short race (40 to 60 km) during 2016, with age between 6 to 7 years. The forth group (G4) consisted of horses that were undergoing a training programme and participating in endurance races of long distances (120 and 160 km) sponsored by the International Equestrian Federation (FEI) during 2016, with age between 6 to 7 years. Radiographs of the radius, third metacarpal bone, accessory carpal, and calcaneus bones were obtained using a digital radiography system and penetrometer. The radiographs were stored and later processed to determine cortical bone thickness using the ProgRes® Capture Pro 2.5 (Jenoptik, Germany), cortical bone density using Adobe Photoshop CS6 (version 6.0, Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA), and trabecular bone density using the Image-Pro Plus 4.1 (Media Cybernetics Inc. Silver Springs, MD). In general, the results showed that the changes observed between the groups resulted from the age and exercise training. There was an increase in the compact substance density and thickness, compared to the control group, for the evaluated bones. For short bones, the increase in the density of the trabecular bone substance was an observed difference. The training proved to be beneficial for important bone adaptations. The adaptation observed were considered an important factor increasing bone resistance to exercise. These structural changes are related to a morphofunctional response by the bone tissue as a whole.

**KEY WORDS:** Endurance, exercise, bone, cortical, trabecular.

## CAPÍTULO I

### The bone response to long-term exercise.

Rajão, M. D.; Leite, C. S.; Nogueira, K.; Godoy, R. F.; Lima, E. M. M.

**ABSTRACT** - The objective of this study was to determine the bone response of adult horses to exercise. For this purpose, 14 Arabian horses were selected and divided equally in two groups, a control group (CG) formed by animals that had never practised physical activity nor been tamed and an exercise group (EG) formed by athlete animals. Radiographs were obtained using a digital radiography system and penetrometer. The radiographs were stored and later processed to determine cortical bone thickness using the ProgRes® Capture Pro 2.5 (Jenoptik, Germany), cortical bone density using Adobe Photoshop CS6 (version 6.0, Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA), and trabecular bone density using the Image-Pro Plus 4.1 (Media Cybernetics Inc. Silver Springs, MD). The EG presented an increase in cortical bone density and thickness compared to the control. This adaptation of the cortical bone in the exercised horses is an important factor increasing bone resistance to exercise. These structural changes are related to a morphofunctional response by the bone tissue as a whole.

INDEX TERMS: Adaptation, densitometry, equine, bone

## INTRODUCTION

The musculoskeletal structure of horses is adapted to maximize the efficiency of locomotion (FIRTH, 2006). Several modifications are required, such as cardiovascular, muscular, and skeletal conditioning, so that a horse can undergo high-performance training. Among these, bone conditioning is the most difficult to achieve (NIELSEN *et al.*, 1997). Bone mineral density (BMD), defined as the mineral concentration per bone volume, is altered during the bone remodelling process. The minerals are incorporated into the organic matrix of the skeleton to increase hardness and rigidity and are also directly related to bone material properties and histological characteristics (MCCLURE *et al.*, 2001).

Stress is required to maintain bone mass and to optimize load capacity during exercise; however, the stress causes micro-fractures that activate osteoclasts and osteoblasts, thus leading to bone remodelling (NIELSEN *et al.*, 1997, GONG *et al.*, 2010). This process is characterized by the dynamic result of the formation and resorption of bone tissue called remodelling.

During the growth phase, the mass of the skeleton increases, since the formation exceeds the resorption rate. These changes in bone tissue may also be induced by exercise (FIRTH, 2006); therefore, when dealing with animal athletes, understanding the adaptations of equine bone structure is important to prevent bone lesions and protect other structures of the skeletal muscle system as well.

Radiographic examination is the most commonly used method for quantifying the evolution of bone changes and to estimate BMD changes in horses *in vivo* because it is practical, inexpensive and non-invasive (NIELSEN *et al.*, 1997, REICHMANN *et al.*, 2004) and can be used routinely. To this end, the objective of the present work was to investigate how the bones of adult equines respond to long-term exercise of moderate intensity by comparing endurance-trained athlete and non-athlete horses. The study evaluated cortical bone thickness and density, as well as the trabecular bone percentage in the radius, metacarpal III, accessory carpal and calcaneus bones of horses that participated in endurance (120 and 160 km) competitions and then compared the data to those of non-trained horses.



## MATERIALS AND METHODS

### *Experimental design*

The study was conducted in a stud farm where the horses were reared free on pasture. The horses were fed commercial concentrate at a 1% live weight ratio and Tifton 85 grass, while mineral salt and water were supplied *ad libitum*. Fourteen Arabian horses, three castrated males and eleven females, between 8 and 10 years old, were evaluated. The animals were divided into two groups. The control group (CG) consisted of seven animals raised on pasture that had never been tamed nor had practised any type of physical activity during their lives. The exercise group (EG) consisted of seven athlete horses also raised free on pasture that were undergoing a training programme during at minimum 4 years and participating in 120 and 160 km endurance competition organized by the International Equestrian Federation (FEI) during 2016. The experimental procedures followed the guidelines of the Ethics Committee for Animal Use (CEUA) from University of Brasilia, protocol number 160100/2013.

Only non-lame animals took part in the experiment. A specific clinical examination of the locomotor system was performed to verify the health status of the animals, as described by Keegan *et al.* (2010).

### *Radiographic evaluations*

Radiographs of the right and left thoracic and pelvic limbs were performed using a digital radiography system (Xamaru® 1210PCB Direct Radiology, Rayence Co., Ltd. - Vatech, South Korea), with a 60-cm focus-film distance, measured by the focus of the X-ray machine (Orange® 8016HF). An aluminium alloy penetrometer (VARANDA *et al.*, 2016) was placed medially and dorsally to the limb to obtain the dorsopalmar and lateromedial images, respectively. The images were captured in the dorsopalmar and lateromedial projections of the third metacarpal bone and lateromedial of the radius, accessory carpal, and calcaneus bones in the projections indicated in Table 1.1.

For comparison purposes, the bones were divided into two groups according to their morphological classification: long bones, including the radius and metacarpal III, and short bones, represented by the accessory carpal and calcaneus bone. The obtained images were stored as DICOM for further analysis.

## *Quantitative evaluations of bones*

### *Cortical bone thickness*

The images captured in the lateromedial projections were processed in the ProgRes® Capture Pro 2.5 software (Jenoptik, Germany), according to methods described by Zarski *et al.* (2011). This software allowed standardizing a certain distance within the image: the "measure" tool in millimetres (mm) was used to standardize the penetrometer width and, consequently, the evaluated images. This procedure was necessary so that the film focus distance of approximately 60 cm, obtained from a distance determined by the projector, would not influence data reading. From this, the cortical bone width was measured at different points (Figure 1).

### *Cortical bone density*

The radiographic optical densitometry was evaluated using the specific aluminium alloy penetrometer, with 25 steps, measuring 5x18 mm (frontal area) each. The steps started at 1 mm thick, increasing 1 mm each step up to the 25<sup>th</sup> (Varanda *et al.*, 2016). The penetrometer was positioned medially and dorsally in the dorsopalmar and lateromedial images, respectively.

The captured images were processed in the Adobe Photoshop CS6 software (version 6.0, Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA), according to Varanda *et al.* (2016). On the open image, a standard rectangle measuring 20x10 pixels was selected and dragged over an area of interest for the analysis (Figure 2). The histogram tool was used to measure the radiographic density (mean and standard deviation) of the cortical bones at different points, which appears in different shades of grey. Subsequently, the rectangular shape was moved to the step corresponding to 10 mm of aluminium (10<sup>th</sup> step/degree), and the radiographic density (mean and standard deviation) corresponding to 10 mm of aluminium (mm Al) was measured. The bone area density in mm Al was calculated by the simple rule of three.

The diaphyseal cortical thickness was measured in six, four and three points in the radius and metacarpal III, calcaneus and carpal accessory bones, respectively, using the lateromedial images. A descriptive analysis of the data was conducted to determine the mean and standard deviation.

### *Trabecular bone density*

The captured images were processed in Adobe Photoshop CS6 (version 6.0, Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA), according to Mahl *et al.* (2006). Cross-sectional scan slices, representing the trabecular tissue of the long and short bones, were obtained from the lateromedial images of the radius, accessory carpal and calcaneus bones, and the dorsopalmar images of metacarpal III. Three cross-sections were performed for each image (Figure 4) and processed in the Image-Pro Plus 4.1 software (Media Cybernetics Inc., Silver Springs, MD) according to Blatt *et al.* (2004). Each cross-section was processed in Image-Pro Plus 4.1, using the "Perform Segmentation" tool to determine the mean and the standard deviation of the evaluated segment.

### *Statistical analysis*

Descriptive analysis was applied to obtain the mean and standard deviation. Normality was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test. The parameters was non-parametric and were evaluated by the Mann-Whitney test. The analysis was performed using Sigma-Stat 3.5 software at  $p \leq 0.05$ .

## RESULTS

### *Evaluation of the cortical thickness*

The cortical thickness of the radius and metacarpal III increased ( $p \leq 0.05$ ) significantly compared to control. However, the short bones were not significantly different between the horses of the exercise and control groups (Table 1.2)

### *Evaluation of the cortical and trabecular bone density*

The densitometry of the long bones showed that the cortical bone density of metacarpal III increased significantly ( $p \leq 0.05$ ) in the exercised animals compared to the control group. The radius was not significantly different between the two groups. For the short bones, the cortical bone density in the calcaneus and accessory carpal increased ( $p \leq 0.05$ ) in the horses of the exercise group compared to the control (Table 1.3).

The mean trabecular percentages (%) of the long and short bones were not significantly different between groups (Table 1.4).

## DISCUSSION

Studies have documented the response to short-duration exercise of up to six months of training (BOYDE, 2003; HILLER *et al.*, 2003, FIRTH, 2006, FIRTH *et al.*, 2011). However, to our knowledge, there are no studies comparing the effects of long-term exercise on the bones of horses undergoing long-duration training periods of about five years. Thus, the ways the bone responds to exercise were evaluated in endurance horses conditioned and subjected to long-distance and moderate intensity exercise. The results were compared to those of horses not submitted to any training programme to determine and understand the modifications that exercise could promote in different bones.

For this, the bones were chosen by considering the positioning, morphology, and ossification type (endochondral or epiphyseal) in addition to their accessibility for obtaining the images (SKEDROS *et al.*, 2009, FIRTH *et al.*, 2011). Skedros *et al.* (2009) stated that the radius represents long curved bones that are subject to torsion or flexion, whereas metacarpal III represents long straight bones that twist, while the calcaneus is a short bone subject to flexion. Other authors have used the accessory carpal bone to standardize efficiently the measurement of bone mineral density in athlete horses because it is an easily accessible bone (VULCANO and SANTOS, 2003). In the present work, the radius and metacarpal III represent the long bones while the accessory carpal and calcaneus bones represent the short ones.

In general, physical exercise promotes bone adaptations (HILLER *et al.*, 2003, FIRTH, 2006, GONG *et al.*, 2010, FIRTH *et al.*, 2011). The cortical thickness of the long bones of endurance horses increased 7.89% ( $p \leq 0.05$ ) in the radius and 28.28% in metacarpal III compared to the non-athletes of the control group. Similarly, Firth *et al.* (2011) and Firth *et al.* (2012) reported greater cortical bone thickness in the metacarpal III of English Thoroughbred horses submitted to exercise. It is believed that the bone remodelling characteristics were controlled primarily by micro-lesions caused in regions subject to intense stresses due to exercise (GONG *et al.*, 2010).

Functionally and morphologically, considering the long bones used in this study, the greater cortical bone thickness observed in animals submitted to exercise contributed to increasing the resistance to flexion and torsion as proposed by Firth (2006). This greater cortical thickness increased the cortical area in the transversal axis, causing an increase in mineral bone density and bone resistance to the pressure

as well. Therefore, we believe that the increased cortical bone quantity/density and quality conferred greater resistance to athlete horses compared to the animals of the control group by increasing the bone resistance to the stress arising from imposed exercise.

The cortical bone density increased 18.27% ( $p \leq 0.05$ ) in metacarpal III, 34.23% in the calcaneus and 22.82% in the carpal accessory ( $p \leq 0.05$ ) of the athlete horses (EG) compared to the controls. Gong *et al.* (2010) suggested that, in general, this process of increasing bone density in certain bones and bone regions occurs throughout the entire life of the animal and is an important way of renewing and maintaining bone mass. Hiller *et al.* (2003) evaluated the metacarpal III of exercised animals and reported that exercise was able to inhibit osteoclastic bone absorption, thus establishing a compensatory mechanism of the organism to deposit more and lose less bone mass, leading to increased local mineral bone density. This increase in bone density was important to increase bone strength and decrease bone susceptibility to injury.

The trabecular bone percentage was not significantly different between the horses of both groups. Likewise, other studies comparing the metacarpal III, proximal phalanx, and carpal III of Thoroughbred horses, with and without forced exercise, reported no increased trabecular bone tissue as a response or adaptation to exercise (FIRTH *et al.* 2011, FIRTH *et al.*, 2012). Firth *et al.* (2011) evaluated racehorses reared on pasture, with and without forced exercise, and observed smaller trabecular bone in exercised horses along with a larger cortical bone area. From these findings, Firth *et al.* (2011) concluded that the external part of the bone of athlete horses was more rigid and protected the centre of the bone, resulting in less pressure and, therefore, a reduced response to the tissue mineralization of the central part of the bone.

In contrast, Boyde (2003) evaluated the metacarpal III of English Thoroughbred horses, exercised and not exercised, and reported that the exercise significantly increased the trabecular bone, which acted as a compensatory mechanism in the exercised group compared to the control. In the present study, the similar trabecular bone observed between the two groups can be understood as proposed by Firth *et al.* (2011): the trabeculae acted as a deposit for the bone matrix, guaranteeing an increase in the cortical thickness, with no difference between them.

In general, to our knowledge, the literature search on studies regarding bone adaptations as a response to exercise showed a lack of research using adult animals

between eight and ten years old. Moreover, the bone response to exercise corroborated the results reported for young animals (BOYDE, 2003; HILLER *et al.*, 2003, FIRTH *et al.*, 2011). Bogers *et al.* (2014) suggested that the effect of long-term exercise did not promote a significant change compared to the changes observed at the beginning of exercise, thus suggesting that these modifications occurred as a result of physical exercise, regardless of animal age.

## CONCLUSION

The results showed that the changes observed between the exercised group and the control group resulted from a long-term exercise training of moderate intensity. The most significant change was observed for the cortical bone thickness of long bones and density of third metacarpal and short bones; the cortical bone thickness and density increased in exercised animals compared to the control. On the other hand, the trabecular bone was similar between the groups. It is believed that the cortical bone may have shielded the trabecular bone, thus restraining its movement and load, limiting its adaptation. However, further studies are recommended to elucidate which factors led to these results. It is concluded that physical effort changed the quantity and quality of the cortical bones of athlete horses that competed in 120-160 km endurance races, without, however, modifying the structure of the trabecular bone. These changes are related to a morphofunctional response of the bone tissue as a whole.



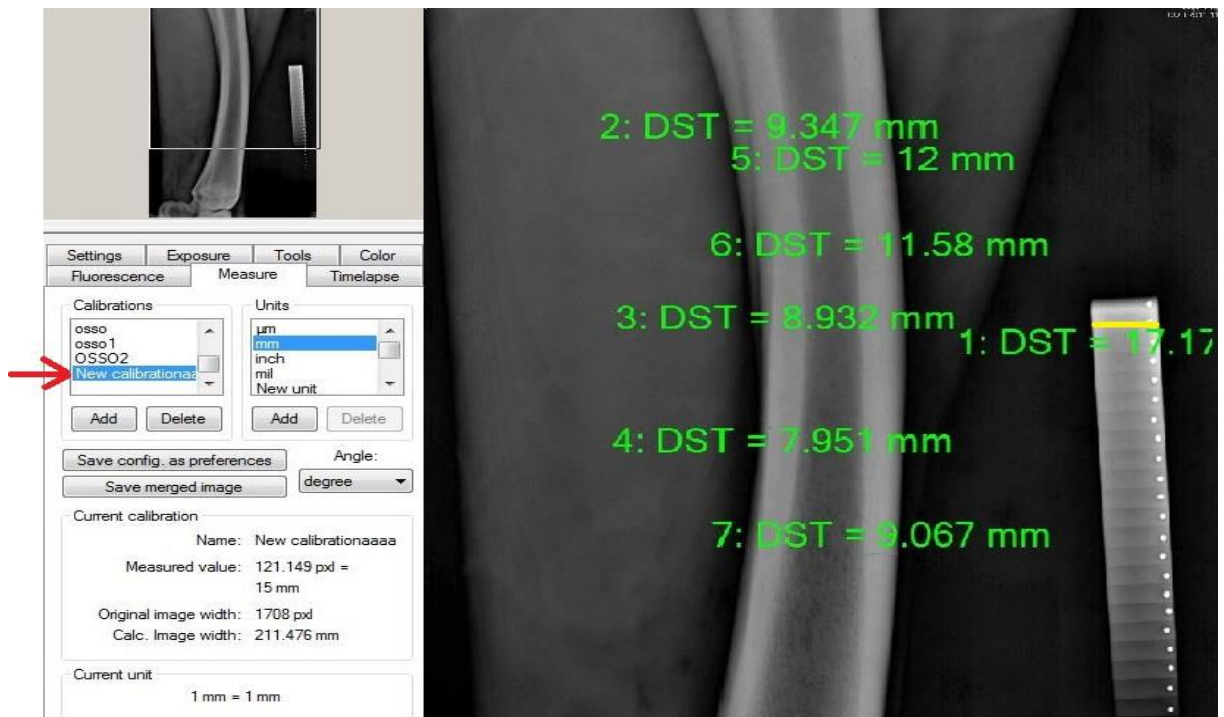
## REFERENCES

- Blatt RJ, Clark AN, Courtney J, Tully C, Tucker AL. Automated quantitative analysis of angiogenesis in the rat model using Image-Pro Plus 4.1. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 2004;75: 75-79.
- Bogers SH, Rogers CW, Bolwell CF, Roe WD, Gee EK, McIlwraith CW. Impact of race training on volumetric bone mineral density and its spatial distribution in the distal epiphysis of the third metatarsal bone of 2-year-old horses. *The Veterinary Journal*. 2014; 201:353–358.
- Boyde A. The real response of bone to exercise. *J Anat*. 2003;203: 173-189.
- Firth EC, Rogers CW, Van Weeren PR, Barneveld A, McIlwraith CW *et al.* Mild exercise early in life produces changes in bone size and strength but not density in proximal phalangeal, third metacarpal and third carpal bones of foals. *The Vet Journal*. 2011;190: 383–389.
- Firth EC, Rogers CW, Van Weeren PR, Barneveld A, McIlwraith CW *et al.* The effect of previous conditioning exercise on diaphyseal and metaphyseal bone to imposition and withdrawal of training in young Thoroughbred horses. *The Vet Journal*. 2012;192: 34–40.
- Firth EC. The response of bone, articular cartilage and tendon to exercise in the horse. *J Anat*. 2006;208: 513-526.
- Gong H, Zhu D, Gao J, LV L, Zhang X. An adaptation model for trabecular bone at different mechanical levels. *BioMedical Engineering OnLine*. 2010;9:32:1-17.
- Hiller LP, Stover SM, Gibson VA, Gibeling JC, Prater CS *et al.* Osteon pullout in the equine third metacarpal bone: Effects of ex vivo fatigue. *J Orthop Res*, 2003;21:481–488.

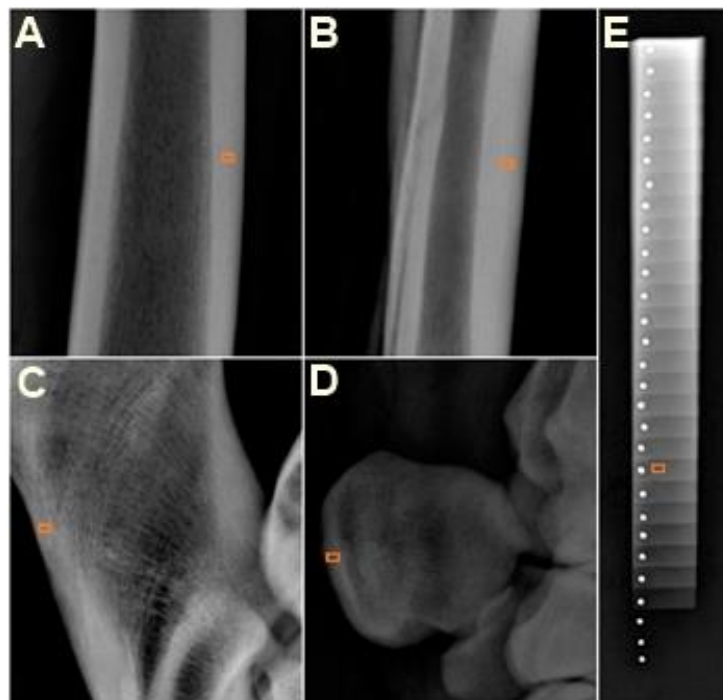
- Keegan KG, Dent EV, Wilson DA, Janicek J, Kramer J, *et al.*. Repeatability of subjective evaluation of lameness in horses. *Eq Vet Journal*. 2010;42: 92-97.
- Mahl CRW, Fountoura FG, Borelli PV, Silva IL, Fontanella V. Mandible's Radiographic and Histomorphometric Assessment in Female Rats Medicated with Glucocorticoid and Biphosphonate. *Rev. Fac Odontol*. 2006;50: 16-19.
- McClure RS, Glickman LT, Glickman NW, Weaver CM. Evaluation of dual energy x ray absorptiometry for in situ measurement of bone mineral density of equine metacarpi. *AJVR*, 2001; 62, 5: 752-756.
- Nielsen BD, Potter GD, Morris EL, Odom TW, Senor DM, Reynolds JÁ, Smith WB, Martin MT. Changes in the third metacarpal bone and frequency of bone injuries in young quarter horses during race training - observations and theoretical considerations. *Journal of Equine Veterinary Science* 1997; 17,10: 541-549.
- Reichmann P, Moure A, Gamba HR. Bone Mineral Content of the Third Metacarpal Bone in Quarter Horse Foals From Birth to One Year of Age. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2004; 24, 9: 391,396.
- Skedros JG, Mendenhall AD, Kiser C, Winet H. Interpreting cortical bone adaptation and load history by quantifying osteon morphotypes in circularly polarized light images. *Bone*. 2009;44: 392-403.
- Varanda LFO, Moraes JM, Mota ALAA., Barreto-Viana, ARC., Nogueira K *et al.* Osteogenic effect of percutaneous implantation of mononuclear cell fraction in horse with experimental bone fracture. *Asinan J Anim Vet Adv*. 2006; 11: 198-203.
- Vulcano LC e Santos FAM. Determination and padronization of normal values of bone mineral density (BMD) of the acessory carpus bone in young Thoroughbred horse using optical densitometry in radiographic image. *Braz Jour of Vet Res Animal Science*. 2003;40: 54-61.

Zarski D, Targonska K, Krejszeff SK, Kwiatkowski M, Kupren, K *et al.* Influence of stocking density and type of feedon the rearing of crucian carp, *Carassius carassius* (L.), larvae under controlled conditions. *Aquacult Int*, 2011; 19: 1105-1117.

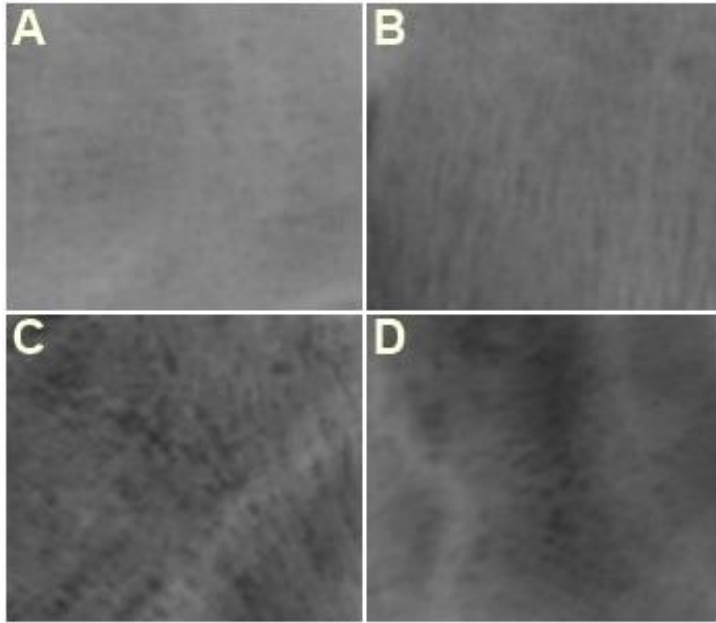
## FIGURES



**FIGURE 1.** Radiographic image of the radius, showing how the calibration and measurement of the cortical thickness were performed at pre-determined points, using the penetrometer as a reference measurement, with images in the ProgRes® Capture Pro 2.5 software.



**FIGURE 2.** Radiographic image of the radius (A), metacarpal III (B), calcaneus (C), and carpal accessory (D) bones, showing the measurement point in rectangular area (orange), compared to the density at the 10<sup>th</sup> step of a penetrometer (E).



**FIGURE 3.** Cross-sections of the trabecular bone of the radius (A), metacarpal III (B), calcaneus (C), and carpal accessory (D), obtained using Adobe Photoshop CS6.

## TABLES

**TABLE 1.1** Radiographic technique used to capture images according to the different bones evaluated.

Bone	Technique	
	dorsopalmar	lateromedial
Radius	-	76 kv/ 4.00 mAs
Third metacarpal	74 kv/ 3.20 mAs	74 kv/ 2.50 mAs
Calcaneus	-	74 kv/ 3.20 mAs
Accessory carpal	-	76 kv/ 4.00 mAs

**TABLE 1.2** Means and standard deviations of the cortical thickness in millimetres (mm) of the radius, third metacarpal, calcaneus and accessory carpal bone. Different letters between the columns indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ). GC=Control group, GE= Exercise group.

Cortical thickness		
	GC	GE
Radius	$6.46 \pm 1.40^a$	$6.97 \pm 1.20^b$
Third metacarpal	$4.49 \pm 2.38^a$	$5.76 \pm 2.38^b$
Calcaneus	$3.41 \pm 1.24^a$	$3.85 \pm 1.4^a$
Accessory carpal	$4.0 \pm 1.11^a$	$3.6 \pm 0.90^a$

**TABLE 1.3** Means and standard deviations of the cortical density in millimetres of aluminium (mmAl) of the radius, third metacarpal, calcaneus and accessory carpal bone. Different letters between the columns indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ). ). GC=Control group, GE= Exercise group.

Cortical density		
	GC	GE
Radius	$300 \pm 64.36^a$	$327.2 \pm 108.5^a$
Third metacarpal	$157.6 \pm 21.69^a$	$186.4 \pm 27.41^b$
Calcaneus	$151.6 \pm 28.19^a$	$203.5 \pm 84.56^b$
Accessory carpal	$149.4 \pm 25.26^a$	$183.5 \pm 55.71^b$

**TABLE 1.4** Means and standard deviations of the trabecular bone percentage (%) of the radius, third metacarpal, calcaneus and accessory carpal bone. Different letters between the columns indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ). ). GC=Control group, GE= Exercise group.

Trabecular bone percentage		
	GC	GE
Radius	$54.54 \pm 10.66^a$	$51.21 \pm 11.28^a$
Third metacarpal	$45.4 \pm 13.34^a$	$45.50 \pm 13.38^a$
Calcaneus	$53.95 \pm 14.7^a$	$54.91 \pm 11.37^a$
Accessory carpal	$45.63 \pm 9.36^a$	$49.90 \pm 8.77^a$



AMERICAN JOURNAL EXPERTS

## EDITORIAL CERTIFICATE

This document certifies that the manuscript listed below was edited for proper English language, grammar, punctuation, spelling, and overall style by one or more of the highly qualified native English speaking editors at American Journal Experts.

### Manuscript title:

THE BONE RESPONSE TO LONG-TERM EXERCISE

### Authors:

Rajão, M. D., Leite, C. S., Nogueira, K., Godoy, R. F.; Lima, E. M. M

### Date Issued:

November 20, 2017

### Certificate Verification Key:


C4F2-CF24-2A04-63C8-89A0



This certificate may be verified at [www.aje.com/certificate](http://www.aje.com/certificate). This document certifies that the manuscript listed above was edited for proper English language, grammar, punctuation, spelling, and overall style by one or more of the highly qualified native English speaking editors at American Journal Experts. Neither the research content nor the authors' intentions were altered in any way during the editing process. Documents receiving this certification should be English-ready for publication; however, the author has the ability to accept or reject our suggestions and changes. To verify the final AJE edited version, please visit our verification page. If you have any questions or concerns about this edited document, please contact American Journal Experts at [support@aje.com](mailto:support@aje.com).

American Journal Experts provides a range of editing, translation and manuscript services for researchers and publishers around the world. Our top-quality PhD editors are all native English speakers from America's top universities. Our editors come from nearly every research field and possess the highest qualifications to edit research manuscripts written by non-native English speakers. For more information about our company, services and partner accounts, please visit [www.aje.com](http://www.aje.com).

## ANEXO 2

 **Open Veterinary Journal** <ovj@ejmanager.com>  
para mim ▾ 30 de jan ☆ ↶

inglês ▾ > português ▾ Traduzir mensagem Desativar para: inglês ×

Dear Mariana Rajão,  
Your submission entitled **THE BONE RESPONSE TO LONG-TERM EXERCISE** (Manuscript Number: OVD-2018-01-021) has been received by Open Veterinary Journal.  
You could follow status of your manuscript by login to your author account at [www.ejmanager.com](http://www.ejmanager.com).  
Thank you for submitting your work to our journal.  
Best regards,  
Editor  
Open Veterinary Journal  
<http://www.openveterinaryjournal.com>  
.....

<http://www.scopemed.org>  
[Author Login Page](#)  
[Reviewer Login Page](#)  
[Follow scopemed/ejmanager on twitter](#)



## ANEXO 3

### AValiação da substância compacta em exercício de longa duração

#### Evaluation of the compact substance to long-term exercise

Rajão, M. D.<sub>1</sub>; Leite, C. S. <sub>1</sub>; Nogueira, K. <sub>1</sub>; Godoy, R. F. <sub>2</sub>; Lima, E. M. M.<sub>1</sub>.

1. Departamento de Anatomia Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (UnB), ICC Ala Sul, Campus Darcy Ribeiro, Cx. Postal 4508, Brasília, DF 70760-701, Brasil. Autor: mdamazior@gmail.com
2. Institute of Orthopaedics and Musculoskeletal Science, National Orthopaedics Hospital, University College of London, Brockley Hill Stanmore, HA7 4LP

#### Resumo

O presente trabalho teve como objetivo determinar as adaptações ósseas em equinos adultos exercitados. Para tanto foram selecionados 14 equinos da raça Puro Sangue Árabe e divididos igualmente em grupo controle (GC) composto por animais que nunca haviam praticado atividade física e grupo exercitado (GE), composto por animais atletas. Foram realizadas imagens com sistema de radiografia digital e auxílio de penetrômetro. O GE apresentou aumento transversal e de densidade de substância compacta. Esta adaptação da substância compacta do GE foi um fator importante para aumentar a resistência óssea diante do exercício.

**Palavras-Chave:** Adaptação, densitometria, equino, osso

#### Abstract

The present work had as objective to determine the bone adaptations in exercised adult horses. For this purpose, 14 Arabian horses were selected and divided equally into a control group (CG) consisted of animals that had never practiced physical activity and exercise group (GE) consisted of athletes animals. Images were performed using a digital radiography system and penetrometer. The GE presented transverse increase and density of compact substance. This adaptation of the GE compact substance was an important factor to increase the bone resistance face to exercise.

**Keywords:** Adaptation, densitometry, equine, bone

#### Introdução

A densidade mineral óssea (DMO) é o resultado de um processo dinâmico de formação e reabsorção do tecido ósseo chamado de remodelação. Quando o animal está em fase de crescimento a formação excede a reabsorção e a massa do esqueleto aumenta. Em geral, o exercício leva a um aumento da DMO após meses de treinamento (Firth, 2006).

O presente trabalho teve como anseio prático determinar as adaptações ósseas em equinos adultos exercitados. Para tanto, o objetivo do trabalho foi quantificar a substância compacta de animais atletas.

## **Materiais e métodos**

O experimento foi realizado com equinos da raça Puro Sangue Árabe. Foram avaliados quatorze equinos, três machos castrados e onze fêmeas, da raça Puro Sangue Árabe, com idade entre oito a dez anos. Os animais foram divididos em dois grupos. Um grupo controle (GC) composto de sete animais que nunca haviam praticado atividade física durante toda a vida e outro grupo exercitado (GE), composto por sete animais atletas, ativos em programa de treinamento e competindo em provas longa distância de enduro equestre (120 e 160km).

Foram realizadas radiografias dos membros torácicos direito e esquerdo do osso rádio e metacárpico III, com sistema de radiografia digital (Xamaru® 1210PCB Direct Radiology, Rayence Co., Ltd – Vatech, Coreia do Sul) com emissor (Orange® 8016HF), distância foco-filme 60 cm. Para obtenção das imagens, foi fixado um penetrômetro de liga de alumínio (Varanda *et al.*, 2016).

Foi realizada análise de espessura de substância compacta através do programa ProgRes® Capture Pro 2.5 (Jenoptik, Germany) de acordo com Zarski *et al.* (2011). A densidade da substância compacta foi mensurada pela técnica de densitometria óptica radiográfica, de acordo com Varanda *et al.* (2016) utilizando o programa Adobe Photoshop CS6 (versão 6.0, Adobe Systems Inc., San Jose, CA, EUA).

Foi aplicada análise descritiva para obtenção da média e desvio padrão. A normalidade foi avaliada a partir da aplicação do teste Kolmogorov-Smirnov. Os parâmetros paramétricos foram avaliados com o teste *one-way*, ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey's e os parâmetros não paramétricos foram avaliados com o teste de Mann-Whitney. A análise foi realizada com auxílio do programa Sigma-Stat 3.5 e adotando  $p \leq 0,05$  como significante para todos os dados.

## **Resultados e discussão**

A escolha dos ossos levou em conta o posicionamento e acessibilidade para obtenção das imagens (Skedros *et al.*, 2009; Firth *et al.* 2011). Na avaliação da espessura de substância compacta o GE apresentou aumento de 7,89% da sua espessura do osso rádio e 28,28% do osso metacárpico III quando comparado com GC ( $p \leq 0,05$ ). Acredita-se que as características de remodelação óssea foram controladas, dentre outros fatores, de forma primária, por microlesões causadas em regiões sujeitas a estresses intensos decorrentes do exercício (Gong *et al.*, 2010 e Firth *et al.* 2011).

A densitometria óssea apontou aumento de 18,27% ( $p \leq 0,05$ ) da densidade de substância compacta do osso metacárpico III dos animais exercitados em relação ao grupo controle. Não houve diferença estatística entre os grupos para as análises do osso rádio. A maior espessura de substância compacta encontrada em animais submetidos ao exercício contribuiu de forma efetiva para aumentar a resistência à flexão e à torção, como proposto por Firth (2006). Favorecendo desta forma um aumento da resistência do osso à pressão, devido ao aumento da área de substancia compacta no eixo transversal e ainda aumento da densidade óssea mineral.

Houve adaptação óssea ao exercício de longa duração e moderada intensidade. O esforço físico atuou sobre a quantidade da substância compacta dos ossos dos equinos praticantes de provas de 120-160 km. O aumento da espessura e densidade mineral óssea foi importante para aumentar a resistência óssea e diminuir a susceptibilidade dos ossos às injúrias.

## Referências Bibliográficas

- FIRTH E. C.; ROGERS C. W., P.; VAN WEEREN R.; BARNEVELD A.; MCILWRAITH C. W.; KAWCAK C. E.; GOODSHIP A. E.; SMITH R. K.W. Mild exercise early in life produces changes in bone size and strength but not density in proximal phalangeal, third metacarpal and third carpal bones of foals. *The Veterinary Journal*, v. 190, p. 383–389, 2011.
- FIRTH, E. C. The response of bone, articular cartilage and tendon to exercise in the horse. *J. Anat.*, v. 208, p. 513-526, 2006.
- GONG, H.; ZHU, D.; GAO J. L. V. L.; ZHANG X. An adaptation model for trabecular bone at different mechanical levels. *BioMedical Engineering OnLine*, v.9 n. 32, p.1-17, 2010.
- SKEDROS, J. G.; MENDENHALL, A. D.; KISER, C. J.; WINET, H. Interpreting cortical bone adaptation and load history by quantifying osteon morphotypes in circularly polarized light images. *Bone*, v. 44, p. 392-403, 2009.
- VARANDA, L. F. O.; MORAES, J. M.; MOTA, A. L. A. A. M.; BARRETO-VIANA, A. R. C.; NOGUEIRA, K.; GODOY, R. F., LIMA, E. M. M. Osteogenic Effect of Percutaneous Implantation of Mononuclear Cell Fraction in Horses with Experimental Bone fracture. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* V. 11, n. 3, p. 198-203, 2016
- ZARSKI D.; TARGONSKA K.; KREJSZEFF S. K.; KWIATKOWSKI M.; KUPREN, K. et al. Influence of stocking density and type of feedon the rearing of crucian carp, *Carassius carassius* (L.), larvae under controlled conditions. *Aquacult Int*, n. 19, p. 1105-1117, 2011.

# ANEXO 4



Universidade de Brasília  
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária



## AVALIAÇÃO DA SUBSTÂNCIA COMPACTA EM EXERCÍCIO DE LONGA DURAÇÃO

Rajão, M. D.<sup>1</sup>; Leite, C. S.<sup>1</sup>; Nogueira, K.<sup>1</sup>; Nóbrega, A. B.<sup>2</sup>; Godoy, R. F.<sup>3</sup>; Lima, E. M.<sup>1</sup>.

1. Departamento de Anatomia Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (UnB), ICC Ala Sul, Campus Darcy Ribeiro, Cx. Postal 4508, Brasília, DF 70760-701, Brasil. Autor: [mdamazior@gmail.com](mailto:mdamazior@gmail.com)
2. Departamento de Clínica e Cirurgia de Grandes Animais da União Pioneira da Integração Social (UPIIS), Fazenda Lagoa Bonita BR 020 KM 12, DF 335, KM 4,8 Planaltina/DF
3. Institute of Orthopaedics and Musculoskeletal Science, National Orthopaedics Hospital, University College of London, Brockley Hill Stanmore, HA7 4L.

### RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo determinar as adaptações ósseas em equinos adultos exercitados. Para tanto foram selecionados 14 equinos da raça Puro Sangue Árabe divididos igualmente em grupo controle (GC), composto por animais que nunca haviam praticado atividade física, e grupo exercitado (GE), composto por animais atletas. Foram realizadas imagens com sistema de radiografia digital e auxílio de penetrômetro. O GE apresentou aumento transversal e de densidade de substância compacta. Esta adaptação da substância compacta do GE foi um fator importante para aumentar a resistência óssea diante do exercício.

### ABSTRACT

The present work had as objective to determine the bone adaptations in exercised adult horses. For this purpose 14 Arabian horses were selected and divided equally into a control group (GC) consisted of animals that had never practiced physical activity and exercise group (GE) consisted of athletes animals. Images were performed using a digital radiography system and penetrometer. The GE presented transverse increase and density of compact substance. This adaptation of the GE compact substance was an important factor to increase the bone resistance face to exercise.

### INTRODUÇÃO

A densidade mineral óssea (DMO) é o resultado de um processo dinâmico de formação e reabsorção do tecido ósseo chamado de remodelação. Quando o animal está em fase de crescimento a formação excede a reabsorção e a massa do esqueleto aumenta. Em geral, o exercício leva a um aumento da DMO após meses de treinamento (Firth, 2006).

O presente trabalho teve como anseio prático determinar as adaptações ósseas em equinos adultos exercitados. Para tanto, o objetivo do trabalho foi quantificar a substância compacta de animais atletas.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com equinos da raça Puro Sangue Árabe. Foram avaliados quatorze equinos, três machos castrados e onze fêmeas, com idade entre oito a dez anos. Os animais foram divididos em dois grupos. Um grupo controle (GC) composto de sete animais que nunca haviam praticado atividade física durante toda a vida e outro grupo exercitado (GE), composto por sete animais atletas, ativos em programa de treinamento e competindo em provas longa distância de enduro equestre (120 e 160km).

Foram obtidas radiografias dos membros torácicos direito e esquerdo do osso rádio e metacárpico III (tabela 1), com sistema de radiografia digital (figura 1 e 7) com distância foco-filme 80 cm. Para obtenção das imagens, foi fixado um penetrômetro de liga de alumínio (figura 2) (Varanda et al., 2016). As imagens foram armazenadas no formato DICOM para posterior avaliação (figura 5 e 6).

OSSO	TÉCNICA	
	Dorso-palmar	Látero-medial
Metacárpico III	74 kv/ 3,20 mAs	74 kv/ 2,50 mAs
Rádio	-	76 kv/ 4,00 mAs

Tabela 1. Técnica radiográfica utilizada para captura das imagens de acordo com os ossos avaliados.

As análises de espessura de substância compacta foram realizadas de acordo com Zarski et al. (2011) (figura 3). A densidade da substância compacta foram mensuradas pela técnica de densitometria óptica radiográfica, de acordo com Varanda et al. (2016) (figura 4).

#### Análise estatística:

- Análise descritiva (média e desvio-padrão).
- Teste de Kolmogorov-Smirnov.
- Teste one-way, ANOVA.
- Mann-Whitney
- Sigma-Stat 3.5 (p<0,05).



Figura 1. Placa do raio x digital.



Figura 2. Penetrômetro.

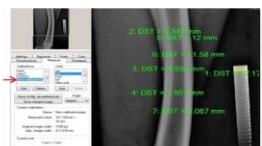


Figura 3. Análise da espessura da substância compacta com Programa ProgRes® Capture Pro 2.5 (Jenoptik, Germany), Zarski et al. (2011).

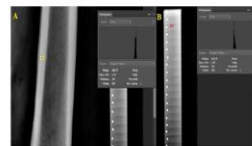


Figura 4. Análise da densidade da substância compacta pelo programa Adobe Photoshop CS6 (versão 6.0, Adobe Systems Inc., San Jose, CA, EUA), Mahl, et al. (2006)

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escolha dos ossos levou em conta o posicionamento e acessibilidade para obtenção das imagens (Skedros et al., 2009; Firth et al., 2011). Na avaliação da espessura de substância compacta o GE apresentou aumento de 7,89% da espessura do osso rádio e 28,28% do osso metacárpico III quando comparado com GC (p < 0,05) (tabela 2). Acredita-se que as características de remodelação óssea foram controladas, dentre outros fatores, de forma primária, por microlesões causadas em regiões sujeitas a estresses intensos decorrentes do exercício (Gong et al., 2010 e Firth et al., 2011).

#### ESPESSURA DE SUBSTÂNCIA COMPACTA

	GC	GE
	Rádio	6,46 ± 1,40 <sup>a</sup>
Metacárpico III	4,49 ± 2,38 <sup>a</sup>	5,76 ± 2,38 <sup>b</sup>

Tabela 2. Médias e desvios padrões das espessuras da substância compacta dos ossos rádio e metacárpico III do grupo controle (GC) e do grupo exercitado (GE). Letras entre as colunas significam diferença estatística (p<0,05), quando aplicado do teste de Mann-Whitney.

A densitometria óssea apontou aumento de 18,27% (p < 0,05) da densidade de substância compacta do osso metacárpico III dos animais exercitados em relação ao grupo controle. Não houve diferença estatística entre os grupos para as análises do osso rádio (tabela 3). A maior espessura de substância compacta encontrada em animais submetidos ao exercício contribuiu de forma efetiva para aumentar a resistência à flexão e à torção, como proposto por Firth (2006). Favorecendo desta forma um aumento da resistência do osso à pressão, devido ao aumento da área de substância compacta no eixo transversal e ainda aumento da densidade óssea mineral.

#### DENSIDADE DA SUBSTÂNCIA COMPACTA

	GC	GE
	Rádio	300,0 ± 64,36
Metacárpico III	157,6 ± 21,69 <sup>a</sup>	186,4 ± 27,41 <sup>b</sup>

Tabela 3. Médias e desvios padrões das densidades da substância compacta dos ossos rádio e metacárpico III do grupo controle (GC) e do grupo exercitado (GE). Letras entre as colunas significam diferença estatística (p<0,05), quando aplicado do teste de Mann-Whitney.



Figura 5. Radiografia digital na projeção dorso-palmar do osso metacárpico III.



Figura 6. Radiografia digital na projeção látero-medial do osso rádio.



Figura 7. Sistema Digital Xamaru® 1210PCB Direct Radiology, Rayence Co., Ltd - Vatech, Coreia do Sul. Emissor Orange® 8016HF.

### CONCLUSÃO

Houve adaptação óssea ao exercício de longa duração e moderada intensidade. O esforço físico atuou sobre a quantidade da substância compacta dos ossos dos equinos praticantes de provas de 120-160 km. O aumento da espessura e densidade mineral óssea foi importante para aumentar a resistência óssea e diminuir a susceptibilidade dos ossos às injúrias.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FIRTH E. C.; ROGERS C. W. P.; VAN WEEEREN R.; BARNEVELD A.; MCILWRAITH C. W.; KAWCAK C. E.; GOODSHIP A. E.; SMITH R. K.W. Mild exercise early in life produces changes in bone size and strength but not density in proximal phalangeal, third metacarpal and third carpal bones of foals. *The Veterinary Journal*, v. 190, p. 383-389, 2011.
- FIRTH E. C. The response of bone, articular cartilage and tendon to exercise in the horse. *J. Anat.*, v. 208, p. 513-526, 2006.
- GONG, H.; ZHU, D.; GAO J. L. V. L.; ZHANG X. An adaptation model for trabecular bone at different mechanical levels. *BioMedical Engineering OnLine*, v.9 n. 32, p.1-17, 2010.
- SKEDROS, J. G.; MENDENHALL, A. D.; KISER, C. J.; WINET, H. Interpreting cortical bone adaptation and load history by quantifying osteon morphotypes in circularly polarized light images. *Bone*, v. 44, p. 392-403, 2009.
- VARANDA, L. F. O.; MORAES, J. M.; MOTA, A. L. A. A. M.; BARRETO-VIANA, A. R. C.; NOGUEIRA, K.; GODOY, R. F.; LIMA, E. M. M. Osteogenic Effect of Percutaneous Implantation of Mononuclear Cell Fraction in Horses with Experimental Bone fracture. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* v. 11, n. 3, p. 198-203, 2016
- ZARSKI D.; TARGONSKA K.; KREJSZEFF S. K.; KWIAKOWSKI M.; KUPREN, K. et al. Influence of stocking density and type of feedon the rearing of crucian carp, *Carassius carassius* (L.), larvae under controlled conditions. *Aquacult Int.* n. 19, p. 1105-1117, 2011.

VIII SIMPÓSIO INTERNACIONAL DO CAVALO ATLETA

20, 21 e 22 de Abril de 2017  
Belo Horizonte - MG



# CERTIFICADO



Certificamos que **Rajão, M. D.; Leite, C. S.; Nogueira, K.; Godoy, R. F.; Lima, E. M. M** apresentaram o trabalho em pôster intitulado

**“AVALIAÇÃO DA SUBSTÂNCIA COMPACTA EM EXERCÍCIO DE LONGA DURAÇÃO”**, durante o **VIII Simpósio**

**Internacional do Cavalo Atleta** realizado no período de 20 a 22 de abril de 2017.

**Belo Horizonte/MG, 22 de abril de 2017.**



PROF. ARMANDO DE MATTOS CARVALHO  
COORDENADOR

PROFA. ANDRESSA SILVEIRA XAVIER  
COORDENADORA

PROF. GERALDO ELENO SILVEIRA ALVES  
COORDENADOR

PROF. RAFAEL RESENDE FALÉIROS  
COORDENADOR

## CAPÍTULO II

### Remodelamento ósseo em puro sangue árabe praticantes de enduro equestre

**RESUMO** - O objetivo deste estudo foi determinar as adaptações ósseas sofridas em equinos praticantes de enduro equestre, visando reconhecer tanto o tipo de adaptação sofrida, quando o momento em que elas ocorrem e como a idade e o treinamento influenciam nestas adaptações. Para isto 24 cavalos árabes, entre machos castrados e éguas, foram divididos entre 5 grupos. O grupo controle (GC) com a idade entre 8 a 10 anos, que nunca haviam sido domados ou treinados, grupo 1 (G1) com idade entre 3 e 4 anos, que não eram domados ou trabalhados, grupo 2 (G2), com idade entre 4 e 5 anos domados em início de treinamento, grupo 3 (G3), com idade entre 6 e 7 anos, cavalos que participaram de provas de curta distância (40 a 60km) e grupo 4 (G4) com idade entre 8 e 10 anos, cavalos que participaram de provas de longa distância (120 a 160 km). Radiografias do osso Rádio (R), Metacárpico III (Mtc), Calcâneo (Calc) e Acessório do Carpo (AcC) foram tiradas realizadas utilizando sistema digital e penetrômetro. Foi avaliada a espessura da substância compacta através do programa ProgRes® Capture Pro 2.5, densidade da substância compacta através do Adobe Photoshop CS6 e densidade das trabéculas ósseas através do Image-Pro Plus 4. Os grupos apresentaram aumento da espessura substância compacta em relação ao GC. A densidade da substância compacta aumentou ou diminuiu em relação ao GC e a densidade da substância esponjosa aumento em relação ao GC apenas para o AcC. O treinamento mostrou-se benéfico para que ocorresse adaptações ósseas importantes. Pequenas diferenças na estrutura ou composição óssea podem causar uma diferença substancial nas propriedades mecânicas, levando ao aumento da resistência óssea frente ao exercício.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** enduro-equestre, adaptação, osso, treinamento.

## INTRODUÇÃO

O Enduro Equestre é considerado a segunda maior modalidade equestre praticada no mundo. Nos últimos 20 anos ocorreram modificações na modalidade em várias partes do mundo, onde a mais importante é o aumento de velocidade, que excede 25 km/h em provas de longa distância (120/160 km) (NAGY *et al.* 2012).

Devido à demanda imposta pelo exercício a claudicação é a causa mais comum de eliminação (69,2%), seguido de problemas metabólicos (23,5%) (NAGY *et al.*, 2012). O aumento da velocidade nas competições vem sendo uma constante fonte de discussão. As injúrias musculoesqueléticas são a causa mais comum de perda de cavalos em corridas (PERKINS *et al.*, 2004; BOLWELL *et al.*, 2012). Como em cavalos de corrida, a alta velocidade no enduro equestre leva ao aumento das injúrias ósseas, resultando em claudicação (NAGY *et al.* 2012).

Durante exercícios de alta velocidade o metacárpico III é submetido a altas forças compressivas que resultam em perda de cartilagem, remodelação da região das epífises e aumento da densidade óssea mineral (RIGGS, 2002; FIRTH *et al.*, 2005). Com o aumento da velocidade das provas de enduro os tipos de injúrias mudaram e aumentaram de severidade, de forma que já foram documentadas fraturas que anteriormente apenas eram observadas em cavalos de corrida (MISHEFF, 2010). Como um agravante, os animais de enduro equestre são submetidos a longos treinos em solo duro, com pouco período de recuperação, induzindo a micro fraturas, que podem progredir para uma injúria maior, com consequências catastróficas.

Nas competições canceladas pela Federação Equestre Internacional (FEI) as raças árabes e os anglo-árabes são predominantes. Sobretudo são limitadas as informações sobre as injúrias ortopédicas em cavalos de enduro, bem como, as modificações morfológicas decorrentes do exercício, treinamento ou prova, que ocorrem ao longo da vida destes animais. Revelando assim um desafio para os veterinários envolvidos em diagnosticar e tratar as causas destas injúrias e investigar métodos de prevenção de forma que sejam minimizados os prejuízos aos animais (NAGY *et al.* 2012).

Neste sentido, o presente trabalho teve como anseio determinar as adaptações ósseas sofridas em equinos praticantes de enduro equestre, visando reconhecer tanto o tipo de adaptação sofrida, quando o momento em que elas ocorrem e como a idade e o treinamento influenciam nestas adaptações. Para tanto, o objetivo do trabalho foi

quantificar a espessura da substância compacta, determinar a densitometria óssea e ainda a quantidade de trabéculas ósseas da substância esponjosa dos ossos rádio (R), metacárpico III (Mtc), acessório do carpo (AcC) e calcâneo (Calc) em equinos de diferentes idades e graus de treinamento para enduro equestre.



## MATERIAL E MÉTODOS

### *Delineamento experimental*

O experimento foi realizado em haras de criação de equinos da raça Puro Sangue Árabe, onde todos os animais ficavam soltos em piquetes. A alimentação destes animais foi baseada em concentrado comercial, na proporção de 1% do peso vivo, e pasto de Tifton 85, além de sal mineral e água à vontade. Foram avaliados 25 equinos, entre machos castrados e fêmeas, da raça Puro Sangue Árabe. Os animais foram divididos em 5 grupos, a saber: grupo controle (GC) composto de sete animais de 8 a 10 anos, que nunca haviam sido domados ou treinados; grupo um (G1) composto de três animais de 3 a 4 anos, que nunca haviam sido domados ou treinados; grupo dois (G2) composto por cinco animais de 4 a 5 anos domados; grupo três (G3) composto por três animais de 6 a 7 anos, em treinamento por pelo menos 2 anos e que participaram de provas de curta distância (40 a 60km) no ano de 2016; grupo 4 (G4) composto por sete animais de 8 e 10 anos em treinamento por pelo menos 4 anos e que participaram de provas de longa distância (120 a 160 km) de enduro equestre ao longo do ano de 2016, chanceladas pela Federação Equestre Internacional (FEI) (Tabela 2.1). O Experimento foi realizado em conformidade com a Comissão de Ética de Uso Animal (CEUA).

Apenas animais não claudicantes foram submetidos ao experimento. Para verificar o seu estado de higidez, foi realizado exame clínico específico do sistema locomotor, como descrito por Keegan *et al.* (2010).

### *Avaliação radiográfica*

Foram realizadas radiografias dos membros torácicos e pélvicos direito e esquerdo, com sistema de radiografia digital (Xamaru® 1210PCB Direct Radiology, Rayence Co., Ltd – Vatech, Coreia do Sul), distância foco-filme 60 cm, mensurada por foco do projetor do emissor (Orange® 8016HF). Para obtenção das imagens, foi fixado um penetrômetro de liga de alumínio (VARANDA *et al.*, 2016) medial ao membro nas imagens dorso-palmares e dorsal nas imagens látero-mediais. Foram capturadas imagens nas projeções dorso-palmar e látero-medial do osso metacárpico III e látero-medial dos ossos rádio, acessório do carpo e calcâneo, nas projeções indicadas pela Tabela 2.2.

Para as projeções dorso palmares a placa foi posicionada contra o aspecto palmar do membro e o feixe de raio x foi direcionado paralelo ao solo e perpendicular ao osso. Nas projeções látero-mediais a placa foi posicionada no aspecto medial do membro e o feixe também foi direcionado paralelo ao solo e perpendicular ao osso. As imagens obtidas foram armazenadas no formato de DICOM, para posterior análise.

### ***Avaliações quantitativas dos ossos***

#### *Espessura da substância compacta*

As imagens capturadas nas projeções látero-mediais foram processadas no programa ProgRes® Capture Pro 2.5 (Jenoptik, Germany) de acordo com Zarski *et al.* (2011). Este programa foi escolhido para a leitura da espessura da cortical, pois permitiu que ocorra a padronização de uma determinada distância dentro da imagem. Para realizar a uniformização das imagens, foi utilizada a ferramenta “*measure*” em milímetros (mm) para tornar padrão a largura do penetrômetro e, portanto, padronizar das imagens avaliadas. Esta uniformização foi necessária para que a distância foco filme, que foi obtida pela distância determinada pelo projetor de aproximadamente 60 cm, não influenciasse na leitura dos dados. A partir disto foram realizadas as mensurações da largura da substância compacta dos ossos em pontos distintos.

As seleções das regiões ósseas analisadas foram feitas a partir das imagens látero-mediais, onde 6 pontos distintos da substância compacta da diáfise do osso rádio e osso metacárpico III, 4 do osso calcâneo e 3 pontos do osso acessório do carpo. Sendo assim, foram analisados 72 pontos da substância compacta do osso rádio e metacarpo, 48 do osso calcâneo e 36 do osso acessório do carpo.

#### *Densidade da substância compacta*

Para avaliação da densitometria óptica radiográfica, foi utilizado um penetrômetro de liga de alumínio específica, com 25 degraus, medindo 5x18mm (área frontal) cada. Numerados de 1 a 25, sendo que o primeiro degrau tem 1 mm de espessura, acrescentando-se a seguir 1 mm para cada degrau, até o vigésimo quinto (VARANDA *et al.*, 2016). O penetrômetro foi posicionado medialmente nas imagens dorso-palmares e dorsalmente nas imagens látero-mediais.

As imagens capturadas foram processadas no programa Adobe Photoshop CS6 (versão 6.0, Adobe Systems Inc., San Jose, CA, EUA), de acordo com Varanda *et al.* (2016). Sobre a imagem aberta para análise foi selecionado de forma

padronizada um retângulo no tamanho 20x10 pixels. Em seguida o retângulo criado foi arrastado para cima de uma área de interesse para a análise. Com o auxílio da ferramenta histograma foi possível medir a densidade radiográfica (média e desvio padrão) de diferentes pontos da substância compacta dos ossos, em tons de cinza. Em seguida a forma retangular foi movida para o degrau correspondente a 10 mm de alumínio (10° degrau) e foi medida a densidade radiográfica (média e desvio padrão) correspondente a 10 mm de alumínio (mmAl). A densidade da área óssea em mmAl foi calculada por regra de três simples.

As seleções das regiões ósseas foram feitas a partir das imagens látero-mediais, onde seis pontos distintos da substância compacta da diáfise do osso rádio e Metacárpico III, quatro do osso calcâneo e três pontos do osso acessório do carpo foram selecionadas para análise. Destes pontos foi realizada uma análise descritiva para avaliação de média e desvio padrão.

#### *Densidade das trabéculas ósseas dispostas na substância esponjosa*

As imagens capturadas foram processadas no programa Adobe Photoshop CS6 (versão 6.0, Adobe Systems Inc., San Jose, CA, EUA), de acordo com Mahl, *et al.* (2006). Usando as projeções látero-medial para o osso rádio, calcâneo e acessório e dorso-palmar para o osso metacárpico III, foram realizados cortes que representassem a substância esponjosa dos ossos longos e dos ossos curtos. Para os ossos rádio, metacarpo e acessório do carpo realizados 3 cortes na região trabecular do osso; para o osso calcâneo foram realizados 6 cortes distintos. Os cortes obtidos foram processados no programa Image-Pro Plus 4.1 (Media Cybernetics Inc. Silver Springs, MD) de acordo com Blatt, *et al.* (2004). Para tanto cada corte da imagem foi aberto no programa Image-Pro Plus 4.1 e empregando a ferramenta “*Perform Segmentation*” foi possível mensurar a média e desvio padrão, do segmento avaliado.

#### *Análise estatística*

Foi aplicada análise descritiva para obtenção da média e desvio padrão. A normalidade foi avaliada pelo teste Kolmogorov-Smirnov. Os dados não-paramétricos foram avaliados pelo teste Anova e os dados paramétricos pelo teste t de Student, usando o GC como parâmetro para comparar com os demais grupos. A análise foi

realizada com auxílio do programa Sigma-Stat 3.5 e adotando  $p \leq 0,05$  como significativo para todos os dados.

## RESULTADOS

### *Avaliação da espessura da substância compacta*

O teste Anova mostrou uma diferença da espessura da substância compacta nos ossos R, Mtc e Calc ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 2.3). Em todos os casos foi observado um aumento significativo dos grupos avaliados em relação ao CG. No R a diferença foi em relação ao G2 e ao G4, no MtC foi em todos os grupos e no Calc a diferença foi em relação ao G1 e ao G2. O osso AcC não apontou nenhuma diferença estatística em relação ao GC.

### *Avaliação da densidade da substância compacta*

A densidade da substância compacta foi significativamente menor no R, para G1 e G2 e no Calc para G1 ( $p \leq 0,05$ ). Ocorreu um aumento da densidade da substância compacta para animais exercitados no Mtc (G3 e G4) e para o AcC (G4) ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 2.4).

### *Avaliação da densidade das trabéculas ósseas substância esponjosa*

Para a densidade da substância esponjosa ocorreu um aumento significativo no G1 e G3 do AcC. Para os demais grupos avaliados não foi possível observar diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 2.5).

## DISCUSSÃO

Problemas musculoesqueléticos em equinos são a maior causa de perda de cavalos de esporte, diante deste fato a observação e avaliação das estruturas relacionadas e a possibilidade de inferir e minimizar estas perdas revela-se de grande importância. Para cavalos de corrida são comuns fraturas de ossos distais (VERHEYEN *et al.* 2006), para cavalos de enduro os estudos sobre injúrias ortopédicas mostraram-se limitados (NAGY *et al.*, 2012). A redução das injúrias está diretamente ligada ao aumento da resistência do aparato musculoesquelético (FIRTH, 2012). Neste sentido, os autores tentam determinar qual é a resposta óssea diante do exercício e em qual ponto o osso se remodela (BOYDE, 2003; HILLER *et al.*, 2003; FIRTH, 2006; FIRTH *et al.* 2011). A maioria dos estudos avaliaram cavalos Puro Sangue Inglês jovens em treinamento para corrida, no entanto, nenhum deles observou as modificações ósseas evidenciada em cavalos jovens e adultos, exercitados por longos períodos, para saber sobre os efeitos do exercício a longo prazo. De outra forma, no presente estudo foram avaliados equinos da raça árabe, todos selecionados para enduro equestre em diferentes faixas etárias e condicionamento físico, no intuito de entender quando e como ocorreram as modificações impostas pelo o exercício, determinando ainda como este seria capaz de atuar em diferentes ossos.

Para isto, a escolha dos ossos levou em conta o posicionamento, morfologia e tipo de ossificação, endocondral ou epifisária, além da acessibilidade para obtenção das imagens (SKEDROS *et al.*, 2009; FIRTH *et al.* 2011). De acordo com Skedros *et al.* (2009) o osso rádio representou ossos longos curvos, que estiveram sujeitos à torção ou a alguma flexão, já o osso metacárpico III representou ossos longos retos que sofreram certa torção e o osso calcâneo foi um osso curto sujeito a flexão. Outros autores utilizaram o osso acessório do carpo de forma eficiente para padronização da densidade mineral óssea em cavalos atletas por ser um osso de fácil acesso (VULCANO e SANTOS, 2003).

Ocorreu aumento ( $p \leq 0,05$ ) na espessura da substância compacta quando comparados os diferentes grupos com o GC. Para o osso R a primeira diferença ocorreu em animais que já eram domados e estavam iniciando um programa de treinamento (G2), com um aumento de 9,20%, no entanto a maior variação ocorreu apenas em animais que já haviam corrido provas de longa distância, apontando um

aumento de 11,96% da espessura no G4 em relação ao controle. O exercício, por mais que tenha sido leve, já é suficiente para modificar a espessura da substância compacta (SIMITH e GOODSHIP, 2008, FIRTH *et al.* 2011). Sobretudo animais que foram exercitados desde jovens tem ossos dos membros mais fortes comparado a equinos que não sofreram condicionamento prévio e este aumento da espessura está relacionado ao aumento da resistência óssea à deformação (FIRTH *et al.* 2012).

Para o osso Mtc ocorreu aumento de 27,39% da espessura da substância compacta logo no início da vida no grupo G1 antes mesmo de os animais terem iniciado o treinamento, e perdurou por toda sua vida atlética dos animais avaliado, com aumento de 27,08% em G2, 29% em G3 e 28,30% em G4. Para Calc o aumento ocorreu em 33,13% para G1 e em 31,96% para G2. Esse aumento em relação aos animais jovens, sem trabalho, no Mtc e Calc pode ser explicado devido ao equino permanecer a pasto, sendo que este fato já caracteriza um trabalho leve, sobretudo não foi possível quantificar a carga deste tipo de esforço em exercícios animais não confinados (FIRTH, 2003). Portanto, para o exercício leve foi suficiente para que ocorresse o aumento da espessura óssea.

Vários autores concordam que o exercício controlado é ideal para que ocorram as modificações necessárias para a prevenção de injúrias na vida atlética do equino (BOYDE, 2003; FIRTH, 2003; SIMITH e GOODSHIP, 2008; FIRTH *et al.* 2012), no entanto, a quantidade de exercício para que ocorram estas modificações e a idade ideal para iniciar o treinamento sem que ocorram lesões ainda é desconhecida (FIRTH, 2003). Kawcak *et al.* (2010) testaram a diferença do exercício forçado em cavalos puro sangue inglês, soltos a pasto. Eles exercitaram um grupo de potros desde as três semanas de idade até os 18 meses e comparam com um grupo controle de cavalos da mesma idade soltos a pasto. Como resultado observaram uma menor quantidade de lesões e maior densidade óssea no grupo exercitado (densidade grupo exercitado  $0.00039 \pm 0.000022$  mm/d, grupo controle  $0.00024 \pm 0.000011$  mm/d). De acordo com o autor o exercício que foi imposto na idade jovem foi seguro e não induziu a danos musculoesqueléticos. Com esses resultados os autores concluíram que o grupo de animais submetidos a treinamento provavelmente se exercitou menos livremente por causa de sua rotina diária do exercício, diminuindo assim a possibilidade de lesões, devido sim ao fortalecimento das articulações, devido ao exercício repetitivo e diário. Considerando que este esforço foi menos prejudicial para as estruturas articulares do que o exercício à pasto e aleatório. Desta forma o exercício

de rotina pode ser menos prejudicial ao osso subcondral do que o exercício aleatório no pasto (KAWCAK *et al.*, 2010).

O desenvolvimento ósseo em animais jovens também foi investigado em cavalos Puro Sangue Inglês. Potros ao nascimento foram divididos em três, um grupo foi confinado, outro foi confinado e exercitado diariamente e terceiro grupo foi mantido a pasto. Foram feitas análises as 5 e aos 11 meses de idade. Na idade de 5 meses, utilizando a técnica de tomografia computadorizada, foi observado um aumento significativo da área de secção da substância compacta do osso metacárpico III no grupo de animais soltos a pasto, comparado aos confinados (grupo confinado:  $509 \pm 41 \text{ mm}^2$  x grupo a pasto:  $562 \pm 42 \text{ mm}^2$ ), no entanto esta diferença desapareceu nos potros aos 11 meses de idade. Neste mesmo grupo a média da densidade do metacárpico III foi menor para animais de 11 meses de idade (média 5 meses:  $1150 \pm 17 \text{ mg/cm}^3$  x média 11 meses:  $1136 \pm 18 \text{ mg/cm}^3$ ). Os autores concluíram que o confinamento até 5 meses de idade resultou em uma retardação de desenvolvimento normal, que foi compensado quando a restrição ao exercício foi retirada. Houve indicação de que o exercício levou a uma superestimulação de osso, resultando em deposição mineral menos ativa em longo prazo (CORNELISSEN *et al.* 1999). Por esses resultados foi possível inferir que o exercício a pasto deve ser considerado como positivo, porém não é suficiente para que condicione os ossos para a carga imposta ao longo da vida atlética do equino.

A densidade da substância compacta foi maior ( $p \leq 0,05$ ) para o osso Mtc para animais adultos trabalhados, 19,64% para G3 e 16,57% para G4 e para o AcC essa foi maior apenas para o G4 com aumento de 21,36 %. Esses achados corroboram com Boyde (2003) que achou uma maior densidade mineral em grupos que eram exercitados, comparados ao controle, tanto mensurando através de tomografia computadorizada quanto pela densitometria radiográfica. Essa diferença encontrada por ele foi observada em equinos jovens, de 18 meses e 2 anos de idade. Neste sentido o exercício foi um diferencial para que ocorresse maior deposição de massa óssea, o que confere uma maior resistência do osso às injúrias (BOYDE, 2003; SIMITH e GOODSHIP, 2008). No cavalo adulto, densidade óssea e estrutura podem ser influenciadas pelo mecanismo de carga, o que leva ao aumento de massa óssea e força. (CORNELISSEN *et al.* 1999)

O osso R teve uma diminuição ( $p \leq 0,05$ ) da densidade de substância compacta em relação ao GC nos grupos jovens, de 28,3% para G1 e 19,53% para o G2. O Calc



apresentou diminuição ( $p \leq 0,05$ ) apenas para o G1 de 13,28%. Avaliando estes dados podemos entender que o avançar da idade (6- 10 anos) foi suficiente para que ocorresse uma maior deposição de massa óssea na substância compacta do R dos cavalos avaliados. Foi observado que a diferença foi mais expressiva para animais sem trabalho, sendo que sofreu uma diminuição a partir da imposição do exercício, revelando ainda uma maior densidade óssea avaliada a partir da imposição do exercício forçado. Assim, o treinamento, além da idade, também foi um fator determinante para o aumento da densidade mineral óssea, que perdurou por toda a vida do animal.

Para a substância esponjosa o único osso que sofreu diferença entre grupos ( $p \leq 0,05$ ) foi o AcC que teve um aumento em relação ao controle em G1 de 17,81% e em G3 de 17,31%. Esses achados foram interpretados como sendo uma caracterização peculiar dos grupos avaliados. Firth *et al.* (2011), que, também avaliando metacárpico III, acharam que os equinos não exercitados tinham uma maior densidade de substância esponjosa (controle  $263 \pm 7.7$ , exercitado  $293.1 \pm 8.8$ ). Boyde (2003) em um estudo retrospectivo com metacárpico III de cavalos considerou que a maior mudança causada pelo exercício foi o aumento da quantidade de osso depositado no espaço medular. Essas diferenças foram encontradas em exames de imagem de densitometria óssea e de tomografia computadorizada. No presente estudo para aferição da densidade das trabéculas foi utilizado o programa the Image-Pro Plus 4.1 (Media Cybernetics Inc., Silver Springs, MD) de acordo com Blatt *et al.* (2004), que identificou a diferença entre os tons de cinza para quantificar a densidade das trabéculas do espaço mensurado. De acordo com Sarmiento (2000), diferenças sutis na quantidade de tecido ósseo determinam significativas mudanças no nível de cinza de imagens digitalizadas. De certa forma, a acurácia da técnica merece ressalvas, visto que as diferenciações, devido à grande gama de oscilações não permitiu precisamente o estabelecimento a partir deste parâmetro. No entanto, não inviabiliza a respeitabilidade e divulgação dos dados, pois determinou a partir de então a proposta de uma nova metodologia.

Fazendo uma comparação entre ossos e os resultados encontrados observamos que para o osso Mtc, comparando a espessura da substância compacta com a densidade, a espessura foi maior para os cavalos jovens (G1, G2, G3 e G4) e a densidade só aumentou a partir do trabalho de condicionamento destes animais (G3 e G4). Para R e Calc a espessura da substância compacta foi inversamente

proporcional a espessura da substância compacta. A densidade da esponjosa não sofreu modificação com o treinamento imposto e/ou maturação do animal para esses ossos. Já o AcC apresentou diferença nas densidades, tanto da substância compacta, quanto da esponjosa e não foi observado diferença estatística quanto a espessura.

Foi possível observar que cada osso reagiu de uma forma particular frente ao mesmo estímulo. Esses achados corroboram com Kawcak, C. E, 1999, que avaliou osso subcondral do carpo e metacárpico III em cavalos de corrida de 2 anos de idade e achou que o osso subcondral respondeu de modo diferente para cada osso avaliado, diante do mesmo estímulo. Isto porque cada sítio do osso recebe uma carga distinta induzindo a pequenas injúrias no local que irão culminar na adaptação óssea (SIMITH e GOODSHIP, 2008). Skedros *et al.* (2009) foi mais além e comparou diferentes áreas de um mesmo osso, para metacárpico III, rádio e calcâneo, e através da observação da morfologia dos ósteons relatou que a remodelação ocorre de forma regional dentro do mesmo osso e depende da carga aplicada, se no local o osso sofreu tensão ou compressão.

Em equinos, pelas características de sua estrutura músculo esquelética, a energia é dissipada de forma diferente no membro na parte mais proximal até a sua extremidade distal. Neste caso, o membro age como um pêndulo onde a maior força está depositada na parte mais distal do membro, levando a uma adaptação particular desses ossos, nos locais nos quais devem ocorrer uma maior resistência às fraturas (SIMITH e GOODSHIP, 2008). Um programa de exercícios adequado leva a uma melhora das propriedades da estrutura músculo esquelética durante o crescimento ou treinamento de cavalos jovens, sendo esta a forma mais eficiente de reduzir fraturas por estresse, que é a maior categoria de injúrias que afetem os cavalos atletas (VERHEYEN e WOOD, 2004). De acordo com Cornelissen *et al.* 1999 pequenas diferenças na estrutura ou composição óssea podem causar uma diferença substancial nas propriedades mecânicas, sendo que as propriedades biomecânicas variam com o processo de maturação do esqueleto e a influência do treinamento.

De forma geral existem muitos benefícios do treino em animais jovens, levando a adaptações em todo o esqueleto, principalmente em suas propriedades geométricas e na sua massa. Estudos apontaram que o exercício durante o crescimento dos equinos pode impactar na resistência dos ossos longos a fraturas, no entanto, este exercício, deve ser introduzido em um adequado período de tempo, de forma gradual, para evitar prejuízos ao animal (CORNELISSEN *et al.* 1999, MCILWRAITH, 2000,

SIMITH e GOODSHP, 2008). Cavalos que são utilizados em eventos exteriores (“outside”), que é o caso do enduro equestre, deveriam ter exercício induzidos desde jovens, pois a arquitetura do esqueleto pode influenciar tanto no crescimento destes animais, quanto na adaptação para resistir a injúrias e fraturas na idade adulta (SIMITH e GOODSHP, 2008).

## CONCLUSÃO

Ocorrem adaptações na substância compacta dos ossos rádio, metacárpico III e calcâneo e alterações da substância compacta e esponjosa para o acessório do carpo. Essas alterações tiveram ligação com a idade e com o grau de treinamento dos equinos avaliados. Sendo então possível inferir que o condicionamento do cavalo desde jovem favorece a ocorrência de uma resposta óssea, levando ao estabelecimento de uma remodelação das estruturas e conseqüentemente uma redução de injúrias frente ao exercício ao longo da vida atlética para equinos de enduro.

## REFERÊNCIAS

- Blatt RJ, Clark AN, Courtney J, Tully C, Tucker AL. Automated quantitative analysis of angiogenesis in the rat model using Image-Pro Plus 4.1. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 2004; 75: 75-79.
- Bolwell CF, Rogers CW, French NP, Firth EC. Risk factors for interruptions occurring before the first trial start of 2-year-old Thoroughbred racehorses in training. *New Zealand Veterinary Journal* 2012; 60: 241–246.
- Boyde A. The real response of bone to exercise. . *J Anat*. 2003; 203:173-189.
- Cornelissen BPM, van Weeren PA, Ederveen AGH, Barneeveld A (1999) Influence of exercise on bone mineral density of immature cortical and trabecular bone of the equine metacarpus and proximal sesamoid bone. *Equine Vet J Suppl*. 1999; 31: 79–85.
- Firth EC, Rogers CW. Musculoskeletal responses of 2-year-old thoroughbred horses to early training. 7. Bone and articular cartilage response in the carpus. *New Zealand Veterinary Journal*. 2005; 53: 113–122.
- Firth EC, Rogers CW, Van Weeren PR, Barneveld A, McIlwraith CW *et al.*. Mild exercise early in life produces changes in bone size and strength but not density in proximal phalangeal, third metacarpal and third carpal bones of foals. *The Vet Journal*. 2011;190: 383–389.
- Firth EC, Rogers CW, Van Weeren PR, Barneveld A, McIlwraith CW *et al.* The effect of previous conditioning exercise on diaphyseal and metaphyseal bone to imposition and withdrawal of training in young Thoroughbred horses. *The Vet Journal*. 2012;192: 34–40.
- Firth EC. The response of bone, articular cartilage and tendon to exercise in the horse. *J Anat*. 2006; 208: 513-526.
- Hiller LP, Stover SM, Gibson VA, Gibeling JC, Prater CS *et al.*. Osteon pullout in the equine third metacarpal bone: Effects of ex vivo fatigue. *J Orthop Res*, 2003; 21:481–488.
- Kawcak CE, Norrdin RH, McIlwraith CW, Trotter GW. Subchondral Bone Reaction to Exercise. *AAEP Proceedings*. 1999; 45: 151-152.
- Keegan KG, Dent EV, Wilson DA, Janicek J, Kramer J, *et al.*. Repeatability of subjective evaluation of lameness in horses. *Eq Vet Journal*. 2010; 42: 92-97.
- Mahl CRW, Fountoura FG, Borelli PV, Silva IL, Fontanella V,. Mandible's Radiographic and Histomorphometric Assessment in Female Rats Medicated with Glucocorticoid and Biphosphonate. *Rev. Fac Odontol*. 2006; 50: 16-19.

- McIlwraith CW. Global Equine Research Alliance to reduce musculoskeletal injury in the equine athlete – 21–22 February 2000, Mt. Maunganui, New Zealand. *Equine Veterinary Education*. 2000; 12: 260–262.
- Misheff MM. Lameness in endurance horses. In: *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*, Second Ed. Elsevier Saunders, St. Louis. MO, USA, pp. 2010; 1137–1148.
- Nagy, A.; Dyson, S.; Murray, J. A veterinary review of endurance riding as an international competitive sport. *The Veterinary Journal*. 2012; 194: 288-293.
- Perkins NR, Reid SWJ, Morris RS. Effect of training location and time period on racehorse performance in New Zealand. 2. Multivariable Analysis. *New Zealand Veterinary Journal* 2004; 52: 243–249.
- Riggs CM. Fractures – a preventable hazard of racing Thoroughbreds? *The Veterinary Journal* 2002;163: 19–29.
- Sarmiento, VA. Diagnóstico Radiográfico de Alterações Periapicais de Origem Endodôntica através da Determinação do Nível de Cinza em Imagens Digitalizadas: estudo experimental em ratos. 2000. 284 f..Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Simith RKW e Goodship AE. The effect of early training and the adaptation and conditioning of skeletal tissues. *Veterinary Clinics Equine Practice*. 2008; 37-51.
- Skedros JG, Mendenhall AD, Kiser C, Winet H. Interpreting cortical bone adaptation and load history by quantifying osteon morphotypes in circularly polarized light images. *Bone*. 2009; 44: 392-403.
- Varanda LFO, Moraes JM, Mota ALAA, Barreto-Viana, ARC, Nogueira K *et al.* Osteogenic effect of percutaneous implantation of mononuclear cell fraction in horse with experimental bone fracture. *Asinan J Anim Vet Adv*. 2006; 11: 198-203.
- Verheyen KLP, Wood JLN. Descriptive epidemiology of fractures occurring in british thoroughbred racehorses in training. *Equine Vet J* 2004; 36: 167–173.
- Verheyen K, Price J, Lanyon L, Wood J Exercise distance and speed affect the risk of fracture in racehorses. *Bone*. 2006; 39: 1322–1330.
- Vulcano LC e Santos FAM. Determination and padronization of normal values of bone mineral density (BMD) of the accessory carpus bone in young Thoroughbred horse using optical densitometry in radiographic image. *Braz Jour of Vet Res Animal Science*. 2003; 40: 54-61.
- Zarski D, Targonska K, Krejszeff SK, Kwiatkowski M, Kupren, K *et al.* Influence of stocking density and type of feedon the rearing of crucian carp, *Carassius carassius* (L.), larvae under controlled conditions. *Aquacult Int*, 2011; 19: 1105-1117.

## TABELAS

**Tabela 2.1** Distribuição dos grupos de acordo com o tipo de treinamento em que o animal foi submetido e a faixa etária de idade.

Grupo	Domado	Em programa de treinamento	Idade
GC	Não	Não	8-10
G1	Não	Não	3-4
G2	Sim	Não	4-5
G3	Sim	Sim	6-7
G4	Sim	Sim	8-10

**Tabela 2.2** Técnica radiográfica utilizada para capturar imagens de acordo com os diferentes ossos avaliados. Rádio (R), Metacárpico III (Mtc), Calcâneo (Calc) e Acessório do Carpo (AcC).

Osso	Técnica	
	dorsopalmar	lateromedial
R	-	76 kv/ 4.00 mAs
Mtc	74 kv/ 3.20 mAs	74 kv/ 2.50 mAs
Calc	-	74 kv/ 3.20 mAs
AcC	-	76 kv/ 4.00 mAs

**Tabela 2.3** Médias e desvio padrão em mm da espessura da substância compacta dos ossos Rádio (R), Metacárpico III (Mtc), Calcâneo (Calc) e Acessório do Carpo (AcC), entre os diferentes grupos, usando o GC como parâmetro para comparar com os demais grupos. Letras diferente entre as colunas significam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao GC, para o teste Anova.

ESPESSURA DE SUBTÂNCIA COMPACTA					
	GC	G1	G2	G3	G4
R	6,46 ±1,39 <sup>a</sup>	6,97 ±1,32 <sup>a</sup>	7,06 ±1,32 <sup>b</sup>	6,53 ±1,09 <sup>a</sup>	7,23 ±1,20 <sup>c</sup>
Mtc	4,49 ±2,38 <sup>a</sup>	5,72 ±2,52 <sup>b</sup>	5,7 ±2,64 <sup>c</sup>	5,8 ±2,39 <sup>d</sup>	5,76 ±2,38 <sup>e</sup>
Calc	3,41 ±1,24 <sup>a</sup>	4,54 ±1,5 <sup>b</sup>	4,5±1,5 <sup>c</sup>	3,97 ±1,35 <sup>a</sup>	3,85 ±1,4 <sup>a</sup>
AcC	3,48 ±0,99 <sup>a</sup>	3,59 ±1,41 <sup>a</sup>	3,27 ±0,94 <sup>a</sup>	3,56±0,95 <sup>a</sup>	3,6 ±0,86 <sup>a</sup>

**Tabela 2.4** Médias e desvio padrão em mmAl da densidade da substância compacta dos ossos Rádio (R), Metacárpico III (Mtc), Calcâneo (Calc) e Acessório do Carpo (AcC), entre os diferentes grupos, usando o GC como parâmetro para comparar com os demais grupos. Letras diferente entre as colunas significam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao GC, para o teste Anova.

<b>DENSIDADE DA SUBTÂNCIA COMPACTA</b>					
	<b>GC</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>
<b>R</b>	300 ±64,36 <sup>a</sup>	215 ±33,64 <sup>b</sup>	241,4 ±46,82 <sup>c</sup>	301,5 ±96,74 <sup>a</sup>	326,3 ±105,9 <sup>a</sup>
<b>Mtc</b>	159,8 ±20,33 <sup>a</sup>	176,5 ±36,59 <sup>a</sup>	166,8 ±21,63 <sup>a</sup>	191,2 ±34,31 <sup>b</sup>	186,4 ±27,41 <sup>c</sup>
<b>Calc</b>	146,7 ±23,73 <sup>a</sup>	129,5 ± 14,09 <sup>b</sup>	136,6 ±15,40 <sup>a</sup>	156,2 ±23,70 <sup>a</sup>	180,4 ±82,19 <sup>a</sup>
<b>AcC</b>	151,2 ±27,54 <sup>a</sup>	135 ±23,98 <sup>a</sup>	153,5 ±34,14 <sup>a</sup>	153,2 ±34,14 <sup>a</sup>	183,5 ±60,72 <sup>b</sup>

**Tabela 2.5** Médias e desvio padrão em porcentagem (%) da densidade da substância esponjosa dos ossos Rádio (R), Metacárpico III (Mtc), Calcâneo (Calc) e Acessório do Carpo (AcC), entre os diferentes grupos, usando o GC como parâmetro para comparar com os demais grupos. Letras diferentes entre as colunas significam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao GC, para o teste Anova.

<b>DENSIDADE DA SUBTÂNCIA ESPONJOSA</b>					
	<b>GC</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>
<b>R</b>	51,66 ± 9,51 <sup>a</sup>	49,86 ±7,90 <sup>a</sup>	57,86 ±12,39 <sup>a</sup>	57,17±11,94 <sup>a</sup>	54,87±11,28 <sup>a</sup>
<b>Mtc</b>	45,55 ± 13,34 <sup>a</sup>	43,14 ± 10,15 <sup>a</sup>	50,35±15,06 <sup>a</sup>	45,09±10,35 <sup>a</sup>	45,50 ±13,38 <sup>a</sup>
<b>Calc</b>	54,97 ± 14,29 <sup>a</sup>	58,90 ± 12,39 <sup>a</sup>	58,35 ±13,33 <sup>a</sup>	59,95 ±13,07 <sup>a</sup>	53,63 ±11,10 <sup>a</sup>
<b>AcC</b>	45,63 ± 9,36 <sup>a</sup>	53,76 ± 11,68 <sup>b</sup>	51,32 ±10,80 <sup>a</sup>	53,53 ±5,8 <sup>c</sup>	49,58 ±8,80 <sup>a</sup>