

# CENTRO MEDICINA DEPORTIVA EQUINA



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

## FISIOPATOLOGÍA DEL EJERCICIO EN EL CABALLO DE RESISTENCIA

Pablo Trigo

TITULO: *Fisiopatología del ejercicio en el caballo de resistencia*

AUTOR: *Pablo Trigo*

---

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2011  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396  
14071 Córdoba

[www.uco.es/publicaciones](http://www.uco.es/publicaciones)  
[publicaciones@uco.es](mailto:publicaciones@uco.es)

---

ISBN-13: 978-84-694-1644-0



# FISIOPATOLOGÍA DEL EJERCICIO EN EL CABALLO DE RESISTENCIA

PATHOPHYSIOLOGY OF ENDURANCE EXERCISE IN THE HORSE.

Pablo Trigo  
Córdoba - 2010

---

---

---

## **D** **octorando**

*Pablo Trigo*  
Centro de Medicina Deportiva  
(CEMEDE), Universidad de Córdoba,  
España

## **Directores**

*Francisco Castejón Montijano*  
Centro de Medicina Deportiva  
(CEMEDE), Universidad de Córdoba,  
España  
Departamento de Biología Celular,  
Fisiología e Inmunología, Facultad de  
Veterinaria, Universidad de Córdoba,  
España

*Ana Muñoz Juzado*  
Centro de Medicina Deportiva  
(CEMEDE), Universidad de Córdoba,  
España  
Departamento de Medicina y Cirugía  
Animal, Facultad de Veterinaria,  
Universidad de Córdoba, España





**TÍTULO DE LA TESIS:**  
**Fisiopatología del ejercicio de resistencia en el caballo**

**DOCTORANDO/A:**  
**Pablo TRIGO**

**INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS**

Durante el desarrollo de la presente Tesis Doctoral, el doctorando Pablo Trigo ha superado con creces los objetivos planteados al comienzo de la misma. El estudio desarrollado constituye un aporte sustancial a la fisiología del ejercicio en el raid. Un total de 9 artículos se han publicado o están en vías de publicación en revistas indexadas. Asimismo, ha realizado aportes a numerosos congresos y ha participado en la redacción de un capítulo de libro.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral, y la considero idónea para su publicación en formato de compendio de publicaciones.

Córdoba, 5 de Octubre de 2010

Firma del/de los director/es

Fdo: Francisco Castejón Montijano    Fdo: Ana Muñoz Juzado



*A todos aquellos de aquí y allá, que en  
mis decisiones de vida han quedado o  
quedarán del otro lado.*



## ABREVIATURAS

ADP: Adenosina bifosfato  
AMP: Adenosina monofosfato  
ATP: Adenosina trifosfato  
AERC: American Endurance Ride Conference  
AMP: Adenosina monofosfato  
AST: Aspartato aminotransferasa  
ATP: Adenosina trifosfato  
AU: Ácido úrico  
BCAA: Aminoácidos de cadena ramificada  
Ca: Calcio  
CK: Creatín o creatina fosfoquinasa o fosfokinasa  
Cl: Cloro  
CoA: Coenzima A  
Cr: Creatinina  
ELDRIC: European Long Distance Rides Conference  
FA: Fosfatasa alcalina  
FEI: Federación Ecuestre Internacional  
GGT:  $\gamma$ - glutamil deshidrogenasa  
HTO: Valor hematócrito  
IDH: Iditol deshidrogenasa  
IMP: Inosina monofosfato  
IN: Irritabilidad neuronal

K: Potasio  
La: Lactato  
LDH: Lactato deshidrogenasa  
Mg: Magnesio  
MK: Enzima miokinasa  
Na: Sodio  
NAD: Nicotinamida adenina dinucleótido  
NADH: Nicotinamida adenina dinucleótido reducido  
PCr: Fosfocreatina  
PDH: Piruvato deshidrogenasa  
Pi: Fósforo inorgánico  
PP: Proteínas plasmáticas  
TNF $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral  
St CK: CK estandarizada a la distancia  
Sr AST: AST estandarizada a la distancia  
Sr LDH: LDH estandarizada a la distancia  
V: Velocidad  
VO<sub>2</sub>: Consumo de oxígeno  
VO<sub>2</sub>máx: Consumo máximo de oxígeno  
XOR: Enzima xantina oxido-reductasa

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA.....	pag
1. Volumen, importancia temporal y autores más destacados de las distintas áreas de la fisiología del ejercicio de raid.....	8
2. Composición de electrolitos (mEq/l) en plasma y sudor equino.....	13
3. Tiempos estimados de agotamiento de reservas musculares en un caballo de 500kg (a una intensidad de ejercicio del 60% del consumo máximo de oxígeno, VO <sub>2</sub> máx).....	16
4. Valor hematócrito (%) en caballos de raid según diferentes autores.....	20
5. Concentraciones de proteínas plasmáticas totales (g/dl) en caballos de raid según diferentes autores.....	22
6. Concentraciones de creatinina (mg/dl; en caso contrario se indican las unidades) en caballos de raid según diferentes autores.....	24
7. Concentraciones de lactato (mmol/l) en caballos de raid según diferentes autores.....	25
8. Concentraciones de ácido úrico (μmol/l y mg/dl) en caballos de raid según diferentes autores.....	26
9. Actividades de la enzima CK (U/l) en caballos de raid según diferentes autores.....	30
10. Actividades de la enzima AST (U/l) en caballos de raid según diferentes autores.....	30
11. Actividades de la enzima LDH (U/l) en caballos de raid según diferentes autores.....	30
12. Porcentaje de alteraciones laboratoriales en caballos de resistencia con aleteo diafragmático sincrónico frente a un grupo control.....	39
13. Patologías del esfuerzo prolongado.....	45
14. Porcentajes de finalización en carreras de raid.....	51
15: Actividades CPK, AST, LDH y AP en los diferentes ensayos.....	54
16. Concentraciones de ácido úrico, creatinina, lactato y proteínas plasmáticas en los diversos ensayo.....	55
17. Características de las competiciones incluidas.....	61
18. Valores laboratoriales tras competiciones de 80, 120 y 160 km en caballos con éxito deportivo (grupo E).....	63

TABLA.....	pag
19. Variables laboratoriales en caballos con éxito deportivo (E) al final de la competición (datos combinados para las tres distancias estudiadas, 80, 120 y 160 km) y en caballos eliminados por patologías metabólicas, obtenidas tras su eliminación (M post) y en el control veterinario previo a la eliminación (M Pre).....	64
20. Razón de verosimilitud, sensibilidad y especificidad de las variables individuales dicotomizadas .....	65
21. Categorías de factores de riesgo para la eliminación metabólica en caballos de raid.....	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA.....	pag
1. Trabajos publicados por año en fisiología del ejercicio de raid.....	9
2. Fisiopatología del desequilibrio hídrico .....	11
3. Fisiopatología del desequilibrio térmico .....	12
4. Fisiopatología del desequilibrio electrolítico .....	15
5. Secuencia de procesos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de un golpe de calor durante el ejercicio.....	35
6. Procesos fisiopatológicos que conllevan a un síndrome de extenuación .....	41
7. Correlación entre AU y CK en el ensayo 1 .....	56
8. Correlación entre AU y CK en el ensayo 2.....	56
9. Correlación entre AU y CK en el ensayo 3.....	57

# ÍNDICE

Abreviaturas .....	i
Índice de tablas.....	k
Índice de figuras .....	m

<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
------------------------	----------

<b>2. SUMMARY .....</b>	<b>3</b>
-------------------------	----------

<b>3. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>5</b>
--	----------

3.1. INTRODUCCIÓN .....	5
-------------------------	---

3.1.1. El deporte de resistencia.....	5
---------------------------------------	---

3.1.2. El formato actual de la competición.....	6
---	---

3.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
----------------------------------	---

3.2.1. Generalidades. La ciencia en el deporte de resistencia ecuestre .....	6
--	---

3.2.2. Mecanismos fisiopatológicos implicados en el ejercicio de resistencia.....	9
---	---

3.2.2.1. <i>Fisiopatología del desequilibrio hídrico</i> .....	9
--	---

3.2.2.2. <i>Fisiopatología del desequilibrio térmico</i> .....	11
--	----

3.2.2.3. <i>Fisiopatología del desequilibrio electrolítico</i> .....	12
--	----

3.2.2.4. <i>Fisiopatología del desequilibrio energético</i> .....	15
---	----

3.2.2.5. <i>Fisiopatología del desequilibrio ácido-base</i> .....	17
---	----

3.2.3. Modificaciones laboratoriales en carreras de resistencia .....	18
---	----

3.2.3.1. <i>Valor hematócrito</i> .....	18
---	----

3.2.3.2. <i>Proteínas plasmáticas totales y albúmina</i> .....	20
--	----

3.2.3.3. <i>Urea y creatinina</i> .....	22
---	----

3.2.3.4. <i>Lactato</i> .....	24
-------------------------------	----

3.2.3.5. <i>Ciclo de las purinas y ácido úrico</i> .....	25
--	----

3.2.3.6. <i>Enzimas musculares</i> .....	27
--	----

3.2.3.7. <i>Enzimas hepáticas</i> .....	32
---	----

3.2.4. Patologías asociadas al ejercicio en el caballo de raid.....	33
---	----

3.2.4.1. <i>Golpe de calor</i> .....	33
--------------------------------------	----

3.2.4.2. <i>Aleteo o flutter diafragmático sincrónico</i> .....	37
---	----

3.2.4.3. <i>Síndrome de extenuación</i> .....	40
---	----

3.3. INVESTIGACIÓN DEL DOCTORANDO SOBRE LA FISIOPATOLOGÍA DEL EJERCICIO .....	46
---	----

<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>49</b>
---------------------------	-----------

<b>5. METODOLOGÍA, RESULTADOS Y DISCUSIÓN CONJUNTA.....</b>	<b>51</b>
---	-----------

<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>69</b>
-----------------------------	-----------

<b>7. REFERENCIAS .....</b>	<b>71</b>
-----------------------------	-----------

<b>8. ARTÍCULOS PUBLICADOS O EN PROCESO DE PUBLICACIÓN.....</b>	<b>81</b>
---	-----------

8.1. RIB FRACTURE DURING AN ENDURANCE RIDE .....	83
--	----

8.1.1. Carta de aceptación del artículo (CVJ).....	87
--	----

8.2. URIC ACID RESPONSES TO ENDURANCE RACING AND RELATIONSHIPS WITH PERFORMANCE, PLASMA BIOCHEMISTRY AND METABOLIC ALTERATIONS.....	89
---	----

8.3. USE OF BIOCHEMICAL PARAMETERS TO PREDICT METABOLIC ELIMINATION IN ENDURANCE RIDES .....	99
--	----

8.3.1. Carta de aceptación del artículo (EVJ).....	113
--	-----

# 1. RESUMEN

El presente trabajo de tesis resume la investigación realizada durante años por un grupo multidisciplinar de investigadores en un intento de comprender el ejercicio de resistencia en el caballo desde un enfoque fisiopatológico. El objetivo es generar información que pueda ser utilizada por veterinarios, jinetes, entrenadores y organizadores para aumentar el nivel competitivo de los caballos, preservando al máximo su salud.

Para cumplir nuestro objetivo propuesto, hemos propuesto un compendio de 3 trabajos científicos.

El primer trabajo (*“Rib fracture during an endurance ride”*) describe la aparición y consecuencias de una patología ordinaria como una fractura costal en una situación excepcional como es una carrera, con unas manifestaciones no descritas previamente. En este ensayo se intenta hacer partícipe a la comunidad veterinaria de que, determinadas patologías, no asociadas con el ejercicio, y por lo tanto, no buscadas y diagnosticadas durante una competición, pueden tener consecuencias desastrosas para la vida del animal y no deben ser olvidadas. De hecho, se deben incluir dentro de los diagnósticos diferenciales de enfermedades derivadas de la actividad deportiva.

El siguiente trabajo (*“Uric acid responses to endurance racing and relationship with performance and metabolic elimination”*) es un ensayo bioquímico en carreras que intenta discriminar el éxito y fracaso deportivo mediante variables metabólicas. Los resultados mostraron incrementos significativos en los caballos con compromiso metabólico en creatinfosfokinasa, ácido úrico y proteínas plasmáticas, mostrando que los desequilibrios metabólicos en carreras de raid se producen principalmente por alteraciones hídricas, energéticas, o bien por una combinación de ambas.

El último trabajo presentado (*“Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides”*), es una aplicación práctica de los conocimientos recopilados por el anterior ensayo. En este caso, se intenta discriminar mediante biomarcadores aquellos caballos que serán eliminados por condiciones metabólicas de aquellos que culminan la prueba, una fase antes de la eliminación. El ácido úrico y la enzima creatinfosfokinasa mostraron ser capaces de realizar el diagnóstico temprano en uno de cada cuatro animales que sufrirán alteraciones metabólicas, con una especificidad superior al 95%. Estos resultados resultan alentadores y abren a los controles laboratoriales la posibilidad de colaboración con los controles clínicos veterinarios.

**PALABRAS CLAVE.** Bioquímica plasmática. Caballos. Ejercicio. Fisiopatología. Metabolismo. Resistencia.



## 2. SUMMARY

### ***Pathophysiology of the endurance exercise in the horse***

This work summarizes the research conducted by a multidisciplinary research group in an attempt to understand the prolonged exercise in the horse from a pathophysiological approach.

The aim is to generate useful information for veterinarians, jockeys, trainers and event managers to increase the competitive level of the horses, while preserving their health at maximum.

To fulfill our objective, we proposed a compendium of 3 scientific papers.

The first paper ("*Rib fracture during an endurance ride*") describes the occurrence and impact of a common disease such as a rib fracture in an exceptional situation such as an endurance race. In this paper, we try to extend to the veterinary community that, some diseases not associated with the exercise and therefore, not commonly diagnosed during a competition, can have disastrous consequences for the life of the horse and they should not be forgotten. Hence, they should be included within the differential diagnosis of diseases derived from the sport activity.

The following paper ("*Uric acid responses to endurance racing and relationship with performance and metabolic elimination*") is a biochemical assay performed in endurance races in an attempt to discriminate performance and metabolic disorders by using several biochemical variables. Results showed significant increases in horses with metabolic disturbances in creatin kinase activity, uric acid and plasma proteins, showing that metabolic imbalances during endurance raids, occur mostly because dehydration, energy exhaustion, or a combination of both.

The last paper ("*Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides*") represents a practical application of the results previously found in the other papers. In this case, we try to discriminate horses eliminated by metabolic disturbances (one phase before being eliminated) of those who successfully completed the raid. Uric acid and creatine phosphokinase activity have been shown to be able to make an early diagnosis in one of four animals that will suffer from metabolic disorders, with a specificity greater than 95%. Therefore, the laboratorial analysis could be used together with the clinical assessment of the veterinary commissions in order to perform a better prevention of metabolic conditions.

**KEY WORDS.** Endurance. Exercise. Horse. Metabolism. Pathophysiology. Plasma biochemistry.



## 3. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 3.1. INTRODUCCIÓN

#### 3.1.1. *El deporte de resistencia ecuestre*

Si bien existen varias disciplinas que ponen a prueba de una u otra forma la resistencia del caballo, el raid, enduro ecuestre o endurance es el único deporte practicado mundialmente con reglas similares, donde se desafía al máximo la resistencia del caballo.

Aunque probablemente haya habido carreras de resistencia desde la domesticación del caballo, y su importancia ha aumentado cuando la exploración y las guerras exigían cubrir largas distancias lo más rápidamente posible, como deporte es relativamente nuevo. El origen de las carreras de resistencia en particular, está ligado al papel que el caballo desempeñó en primer lugar, en la guerra y en segunda instancia, en la comunicación civil.

Por esta razón, esta disciplina hípica adopta un nombre militar: raid (incursión o ataque por sorpresa). Este es el motivo de que las distintas Academias de caballería comiencen a disputar carreras de raid o de resistencia ecuestre, y de esta forma se empieza a reglamentar la disciplina y a seleccionar y preparar caballos para este tipo de pruebas hípicas. De este modo, se dieron a principios del pasado siglo hazañas épicas, como cuando el 26º Regimiento Francés de Dragones, recorrió los 205 km. de Dijon a Lyon en 24 horas; o el comandante austriaco Zubowitz, que recorrió 1.515 km. entre Viena y París en 15 días; o el jinete francés Salví, que atravesó en cinco días los Cárpatos, 560 km., 400 de ellos por montaña.

Al igual que la mayoría de los deportes ecuestres, el raid nace de la necesidad de entrenar y reconocer el estado de forma de los caballos en los períodos no bélicos. Otras actividades de índole no militar como el pony Express fueron también de gran importancia en la formación de este deporte. Las primeras competiciones tienen orígenes militares, con participación restringida a las caballerías. A mediados de 1800 existían carreras reglamentadas realizadas en forma periódica en diversas caballerías. En 1913 se desarrollaron las dos primeras carreras civiles que se continúan realizando actualmente. La primera de ellas en Vermont, con 480km de distancia, y algunos meses más tarde, el 13 de octubre de 1913, en Sarandí (Uruguay), donde fallecieron la mayoría de los 13 caballos que tomaron la salida para recorrer 85km, en un formato muy similar al actual. En 1955, producto de una apuesta entre amigos, se organiza la primera carrera moderna. La apuesta desafiaba las audacias de las campañas militares y ponía a prueba la capacidad del caballo de recorrer 100 millas en menos de un día. El lugar elegido fue una antigua ruta de colonos de los estados del oeste de USA. Las paradas obligadas y las distancias de fases, se copiaron del reglamento de las pruebas de selección de reproductores de la caballería polaca y rusa, donde los animales debían cubrir en un día distancias de 150km llevando una carga de 140kg. Por primera vez colaboraron veterinarios para evitar el abuso en animales extenuados. Se

considera a esta prueba como el nacimiento del raid moderno, y es hoy con importantes modificaciones, la Tevis Cup. El deporte comenzó a extenderse por Oceanía, Europa, África y Oriente Medio de forma inmediata.

El raid es la disciplina hípica que ostenta mayor crecimiento mundial en los últimos 20 años. España goza de una gran tradición y un excelente presente en este deporte, habiendo ganado los tres últimos campeonatos mundiales.

Al igual que sucede en la ultra maratón, muchos participantes compiten buscando

mejorar su rendimiento anterior, sin rivalizar directamente con los otros jinetes, considerando cubrir la distancia como un triunfo. Sin embargo, entre el 20 y 70% de los participantes no culmina la carrera por diversos motivos: cojeras (40-70% de las eliminaciones), trastornos metabólicos (5-40%), y abandonos o retiradas (10-50%) (Rose, 1986). Adicionalmente es la disciplina donde se registran más muertes relacionadas con alteraciones metabólicas, y tras el concurso completo de equitación, donde más accidentes catastróficos encontramos (Foreman, 1998).

### **3.1.2. Formato actual de la competición**

El formato actual contempla carreras de 80, 120 y 160km en un día, y si bien aún se aceptan carreras de dos días, son cada vez más escasas. Es una prueba contra el reloj donde el jinete sigue una ruta marcada completando entre 3 y 6 fases que oscilan entre los 20 y 40km. Durante las fases tienen puntos de asistencia utilizados para beber y refrescar al animal, y tras cada fase los caballos deben

superar un control veterinario donde se evalúa su estado metabólico y locomotor. Posteriormente tienen un período de descanso obligatorio comprendido entre 20 y 50 min. El binomio jinete-caballo que primero cruza la meta y supera todos los controles veterinarios es el ganador de la prueba, después de haber culminado un auténtico reto mental, locomotor, físico y estratégico.

## **3.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **3.2.1. Generalidades. La ciencia en el deporte de resistencia ecuestre.**

Debido al prolongado tiempo en carrera, se producen fenómenos fisiológicos de una magnitud única que hacen del raid la competición deportiva con la mayor exigencia metabólica para el caballo

(Flaminio y Rush, 1998; Friend, 2000; Treiber *et al.*, 2006). Asimismo, los desequilibrios homeostáticos se presentan con una frecuencia superior a cualquier

otro deporte hípico (Foreman, 1998; Fielding *et al.*, 2009).

Motivada por una necesidad y el interés científico, la investigación en resistencia ha aumentado sustancialmente durante los últimos años llegando a su pico en el año 2002 (Figura 1). El punto de partida fue el trabajo de Cardinet *et al.* (1963), quienes evidenciaron diferencias en frecuencia cardíaca y respiratoria entre caballos exitosos y eliminados por su condición metabólica. Éste y los posteriores estudios del aparato respiratorio y sistema cardiovascular dieron sustento al reglamento veterinario de las competiciones e impusieron la conciencia del control de la frecuencia cardíaca como asesor del estado físico del animal (Orton 1977; Snow y Mackenzie 1977).

Las investigaciones en el campo de la nutrición tomaron protagonismo a principios de los años 90, produciendo un cambio radical en la formulación de las dietas que son ofrecidas hoy a los animales de raid, y suponen un aumento sustancial de su rendimiento deportivo (Harris, 2009).

Los estudios sobre el sistema muscular permitieron comprender la adaptación del músculo equino al entrenamiento de resistencia. Evidenciaron el incremento de la actividad enzimática del metabolismo aeróbico como las enzimas del ciclo de Krebs, de la cadena respiratoria mitocondrial y de la  $\beta$  oxidación lipídica, como la adaptación muscular más precoz y común al entrenamiento de resistencia, (Rivero *et al.*, 1995). Estos cambios están asociados con el incremento de mitocondrias y de la densidad capilar. Las respuestas adaptativas más tardías involucran la mejora en la difusión de  $O_2$  y en la eliminación de los desechos metabólicos.

La distribución de las fibras musculares como también de las cadenas de meromiosina pesada, está altamente influenciada por el entrenamiento. El rendimiento deportivo en raid se correlaciona con un incremento en el porcentaje de fibras de tipo I y IIA y una reducción de las fibras de tipo IIX, que se acompaña de la disminución de las cadenas de meromiosina-IIX y del aumento de las cadenas de meromiosina-IIA (Rivero *et al.*, 1995).

Estos conocimientos dieron soporte científico a las planificaciones y programas de entrenamiento actuales, mejorando la preparación y el rendimiento deportivo (Rivero *et al.*, 1995).

Los estudios sobre aclimatación y transporte dirigidos por el Dr. Marlin con motivo de la celebración de los JJ.OO. de Atlanta, evidenciaron las pérdidas hidroelectrolíticas en los deportes de resistencia, y su repercusión en animales no adaptados. Estos datos indujeron medidas de control y cambios en los sistemas de transporte, aclimatación y cuarentenas (Marlin *et al.*, 1999), minimizando las muertes en las competiciones debidas al transporte y aclimatación.

Los resultados de los trabajos basados en los cambios en bioquímica plasmática durante competiciones permitieron dimensionar el esfuerzo, mostrando situaciones que difícilmente pueden verse en otro deporte, como la alcalosis metabólica, exhaustivas pérdidas hídricas y electrolíticas, elevaciones enzimáticas, etc, dando base a los tratamientos veterinarios de animales con compromiso metabólico y proporcionando fundamentos para la reglamentación del deporte (Carlson y Mansmann, 1974; Snow y Mackenzie, 1977; Fielding *et al.*, 2009).

Además, las características extremas de este deporte, generan con una frecuencia importante condiciones patológicas que son excepcionales en la clínica equina, como el aleteo o flutter diafragmático sincrónico. Otras no habían sido descritas anteriormente, y de otras aún no se conoce su etiopatogenia, como un síndrome neurológico agudo letal (Schott *et al.*, 2006). El conocimiento de esta nueva información por los veterinarios de campo es esencial para evitar y/o minimizar morbilidad y mortalidad asociadas a enfermedades específicas del deporte (Foreman, 1998). En base a esta

información, se han modificado las medidas preventivas. En 1992, se documentó el primer caso de rotura de estómago durante una carrera. Inmediatamente las reglamentaciones recomendaron encarecidamente no permitir competir a ningún animal sin motilidad intestinal, independientemente de su estado general.

El volumen y la importancia temporal de las distintas áreas en la fisiología del ejercicio del raid se resumen en la tabla 1 y en la figura 1.

TABLA 1: Volumen, importancia temporal y autores más destacados de las distintas áreas de la fisiología del ejercicio de raid

Área	Publicaciones (n)	Período	Mayor actividad	Autores más destacados
Cardiorespiratorio	14	1966-2003	77-79 / 87-88 / 2002	Rose RJ, Hodgson D.
Hematología y bioquímica plasmática	43	1974-2010	77-82 / 2002 / 2006	Rose RJ, Muñoz A
Electrolitos, pH y ácido base	22	1974-2010	98-99 / 02-06	Schott HC2nd, Rose RJ, Lindinger MI,
Patología clínica	14	1975-2009	1980 / 1998	Fowler ME, Foreman J Rivero JL, Essen-Gustavsson B
Sistema muscular	16	1981-2004	91-96	Harris PA, Pagan J, Kronfeld DS
Nutrición	37	1988-2010	02-06	Marlin DJ, Geor R, McCutcheon LJ
Aclimatación y transporte	6	1996-2002	1996	Marlin DJ, Hargreaves BJ
Estrés oxidativo	16	2002-2010	2002	Muñoz A, Crook TC
Locomoción	5	2006-2010	2006	Barrey E
Expresión genética	3	2006-2009		Authie EC
Dopaje	1	2010		Orton RG
Epidemiológicos	2	1977	1977	

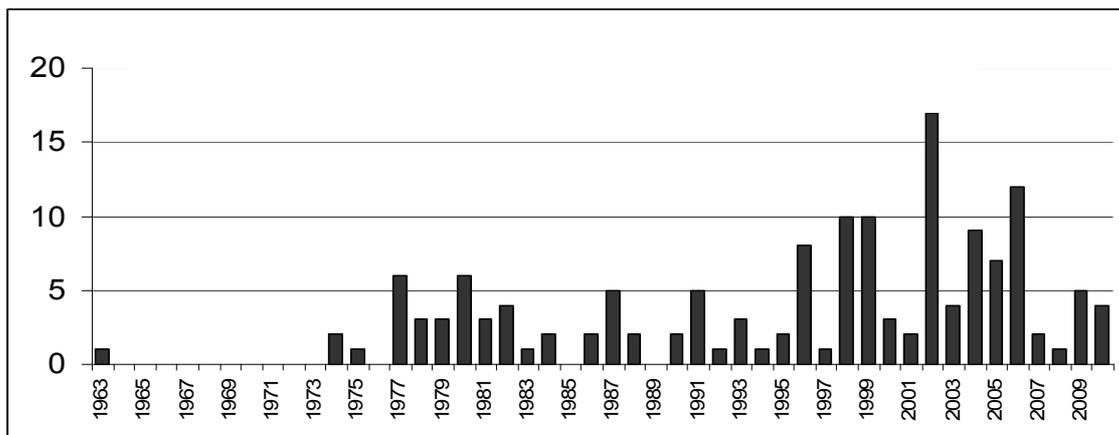
Se han creado dos entidades de importancia mundial para la organización, difusión y reglamentación del deporte de raid, como así también para la orientación, financiación, soporte y divulgación de los

conocimientos hasta el jinete y preparador. Ellas son *American Endurance Ride Conference* (AERC) fundada en 1972 y *European Long Distance Rides Conference* (ELDRIC) que

comenzó en 1979, se desmembró en 2003. La AERC constituye la base de datos y registro de incidencias más importante de este deporte, además de

facilitar medios financieros y técnicos para la investigación aplicada.

FIGURA 1. Trabajos publicados por año en fisiología del ejercicio de raid (Fuente Entrez Pubmed, sobre búsqueda endurance+horse)



El aumento del conocimiento de la fisiopatología del ejercicio aplicada al raid, sumado al incremento en la competitividad, dio por resultado un salto en las velocidades de carrera. Este aumento de intensidad se hace particularmente importante en los últimos

10 años, y propone un nuevo incentivo para la investigación en este deporte. Por otro lado, pone en tela de juicio la utilidad de los resultados de los trabajos de más de diez años de antigüedad (Schott et al, 2006).

## **3.2.2. Mecanismos fisiopatológicos implicados en el ejercicio de resistencia**

### **3.2.2.1. Fisiopatología del desequilibrio hídrico**

Para recorrer distancias prolongadas, el caballo debe realizar un sinnúmero de

contracciones musculares mediante un proceso de transformación de energía

química en energía mecánica dentro de la célula muscular. El aumento tan marcado del metabolismo por un lapso tan elevado de tiempo induce un consumo energético intenso, que puede dar lugar a depleciones graves de substratos metabólicos, desencadenando fatiga central y periférica (Essén-Gustavsson *et al.*, 1999; Bergero *et al.*, 2005). Por otro lado, la eficiencia de esta transformación energética es sólo del 25%, liberándose el 75% restante bajo la forma de energía calórica. La cantidad de calor producida en un raid de 160km es enorme dado el tiempo tan elevado que el caballo está en carrera, y se estima que es suficiente para elevar la temperatura del animal entre 15 y 20° (Marlin *et al.*, 1999). En estas circunstancias resulta vital poner en marcha diversos mecanismos fisiológicos para su disipación.

La sudoración en el equino es el mecanismo más importante de disipación de calor, aunque la ventilación pulmonar supondría un 15%. Gracias a ellos, un caballo puede disipar el calor producido en carrera y mantener el equilibrio térmico (Marlin *et al.*, 1999). Sin embargo, esto tiene un alto coste. El caballo no tiene tanta superficie específica como el humano, pero en contrapartida, puede sudar 3 y 4 veces más. De hecho pueden sudar más que cualquier otro animal que se haya estudiado (Jenkinson, 1973). Además, la sudoración equina se ve favorecida porque incluye una sustancia proteica surfactante denominada laterina, que facilita su distribución uniforme sobre la piel, optimizando el mecanismo de termólisis por evaporación cutánea. Las pérdidas de sudor de un caballo en ejercicio en condiciones adversas pueden ascender a 10 – 15 litros por hora (McCutcheon *et al.*, 2000). Más impresionantes aún son las pérdidas de electrolitos, debido a la hipertonidad del

sudor. Afortunadamente, estos animales son capaces de reponer fácilmente la mitad de los fluidos perdidos durante la carrera administrándole agua y electrolitos durante la prueba (Marlin *et al.*, 1999).

La pérdida hídrica disminuye la volemia, restringiendo la disponibilidad sanguínea para alcanzar a todos los órganos (Figura 2).

Por consiguiente:

a) Se reduce el volumen de sangre que llega a la piel, afectando la dispersión del calor corporal (Marlin *et al.*, 1999; Hess *et al.*, 2005).

b) Disminuye el flujo sanguíneo que llega a los músculos:

Interrumpiendo el suministro de energía y obligando a las células musculares a hacer uso exclusivo de las reservas energéticas intracelulares (Foreman 1998).

Interrumpiendo el suministro de O<sub>2</sub> y restringiendo la utilización de vías energéticas oxígeno-dependientes (Castejón *et al.*, 2006).

c) Se reduce la eliminación de calor y de otras sustancias tóxicas dentro de la célula muscular (Foreman 1998).

d) Desciende la perfusión del tracto gastrointestinal:

Disminuyendo la capacidad de absorción de agua, electrolitos y energía, lo que reduce las posibilidades de recuperación (Flaminio y Rush, 1998)

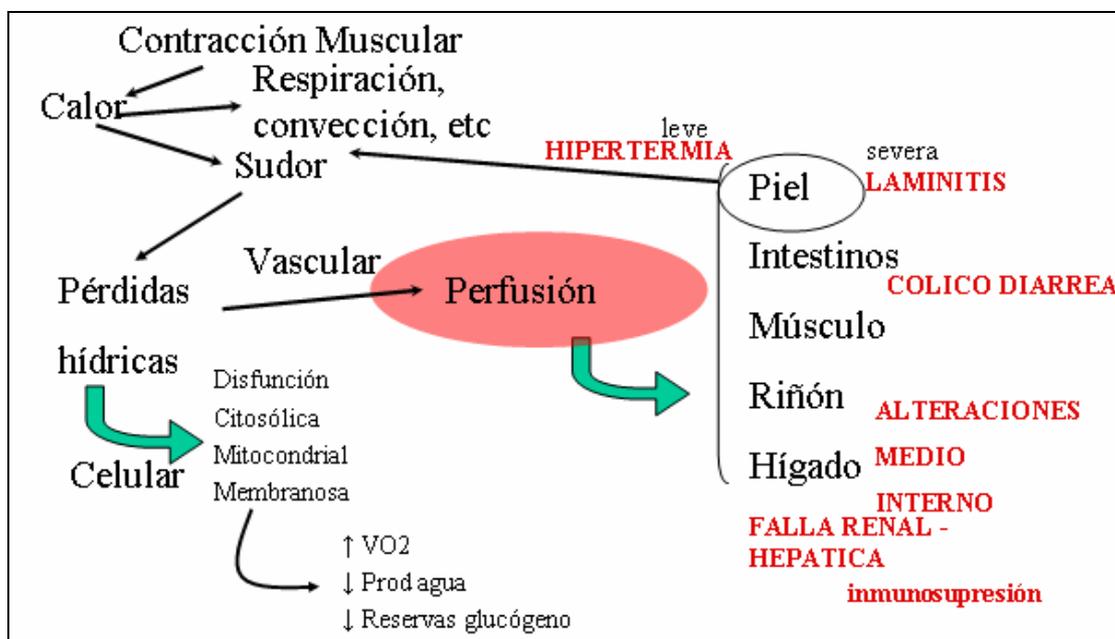
En combinación con trastornos de la conducción nerviosa, se altera la motilidad y tránsito en las distintas partes del tracto gastrointestinal, predisponiendo a cólicos y diarrea (Nieto *et al.*, 2004).

- e) La hipoperfusión a nivel laminar coriónico llega a producir isquemia regional, induciendo la laminitis o infosura. Además ésta se ve facilitada por las múltiples concusiones en suelo duro (Fowler 1980b).
- f) En un grado importante de deshidratación pueden verse complicados los flujos renal y/o

hepático, dando lugar a disfunción de estos órganos, que en caso de ser prolongada, puede conllevar a la muerte del caballo (Fowler 1980a).

Los cambios fisiopatológicos relativos al desequilibrio hídrico se muestran en la figura 2.

FIGURA 2. Fisiopatología del desequilibrio hídrico



### 3.2.2.2. Fisiopatología del desequilibrio térmico

La temperatura rectal normal de un caballo tras el ejercicio de resistencia oscila entre 38,5 a 39,4°C. Las temperaturas superiores a 39,7°C indican que la capacidad termolítica se ha desbordado (la máxima descrita es de 43,7°C) y el ejercicio debe suspenderse inmediatamente porque los ascensos térmicos se producirán invariablemente.

El caballo tiene una capacidad importante para disipar el calor. Sin embargo, en ambientes desfavorables (fundamentalmente húmedos), los animales no aclimatados, poco entrenados, obesos, estresados, se ven desbordados, poniendo en marcha la hiperventilación como un mecanismo termolítico de emergencia. Ésta se caracteriza por movimientos rápidos y poco profundos (jadeo) que a fines

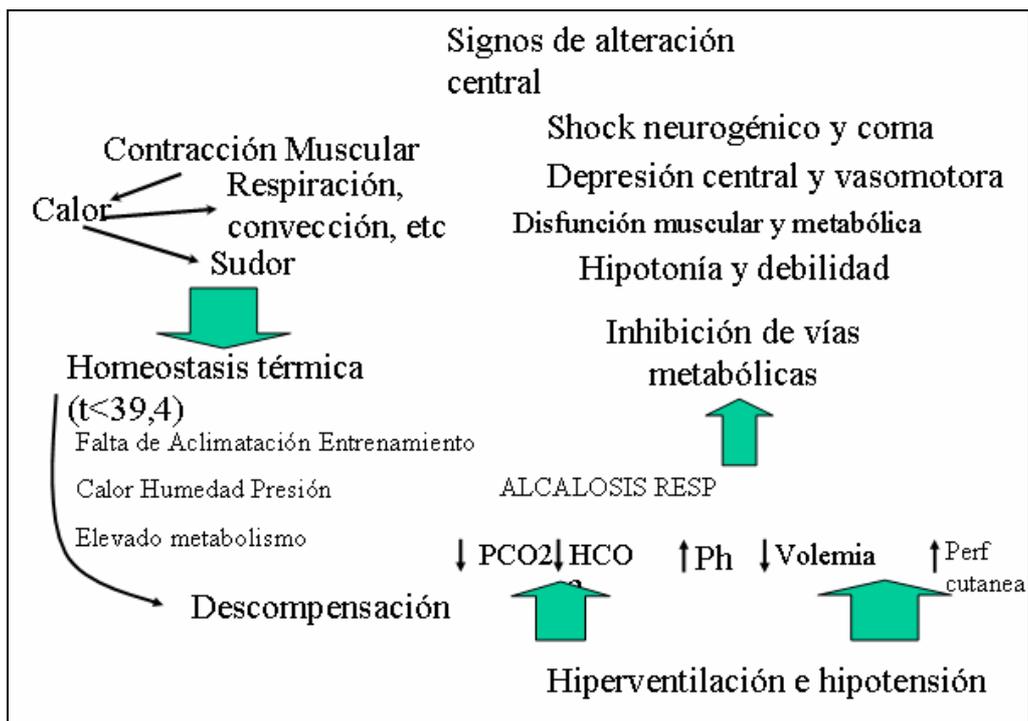
térmicos son más eficaces que los movimientos respiratorios normales. Las consecuencias del jadeo son el aumento del consumo energético por aumento del trabajo respiratorio, que adquiere una particular importancia cuando lo hace al galope, interrumpiendo el acoplamiento respiración- locomoción. Igualmente disminuye la disponibilidad de O<sub>2</sub> por mayor trabajo de los músculos respiratorios (son casi exclusivamente aerobios) y por ineficacia respiratoria. La hiperventilación induce una alcalosis respiratoria por descender la concentración de CO<sub>2</sub>, disminuyendo el

bicarbonato y consumiendo protones, y de esta forma se eleva el pH (figura 3).

La disfunción central con marcados cambios funcionales en las esferas psíquica y vasomotora, suele verse cuando las temperaturas superan los 40,5°C. Si el problema no se soluciona rápidamente (1hr), pueden quedar daños permanentes. Las temperaturas superiores inducen shock neurogénico y coma. La disfunción muscular, con debilidad mialgia y rabdomiólisis son frecuentes.

La figura 3 esquematiza la fisiopatología del desequilibrio térmico.

FIGURA 3. Fisiopatología del desequilibrio térmico



### 3.2.2.3. Fisiopatología del desequilibrio electrolítico

Las modificaciones electrolíticas condicionan mecanismos como la sed, la

contractilidad muscular y la transmisión nerviosa, además de alterar el equilibrio

ácido base, modificando la disponibilidad iónica (Carlson y Mansmann, 1974; Marlin *et al.*, 1999; Hess *et al.*, 2005).

Debido a la hipertonicidad del sudor equino, de forma paralela a la pérdida de

agua se produce una eliminación de electrolitos que es tan importante y desencadenante de las patologías del esfuerzo prolongado como la pérdida hídrica (Tabla 2).

TABLA 2: Composición de electrolitos (mEq/l) en plasma y sudor equino

	Na	K	Cl	Ca	Mg
Plasma	140	4	100	6	1,8
Sudor	131	53	174	6	4,6

Fuente: Carlson y Ocen (1979)

A medida que las depleciones son más importantes, las posibilidades de recuperación se minimizan, debido a que al moverse los electrolitos por gradientes de concentración, una concentración que en condiciones normales genera un gradiente adecuado para ser absorbida, resulta hipertónica, y de hecho debe sustraer agua del organismo para su absorción, generando dos problemas: pérdida relativa de agua y aumento del tiempo para la absorción.

Si bien la concentración de Na eliminada por sudoración es menor que la plasmática, a medida que el animal ingiere agua, se produce un efecto de dilución sobre los electrolitos plasmáticos. Por este motivo, se pueden observar patologías por la combinación de: hiponatremia, hipocalcemia, hipocloremia, hipocalcemia e hipomagnesemia. Si bien las separamos con fines didácticos, es importante resaltar que en ningún caso se dan aisladas.

Sodio, Na:

La disminución de Na está muy relacionada con el estado hídrico. El descenso de la natremia causa pérdida de la sensación de sed, reducción de la

osmolaridad plasmática dificultando la retención de agua, y alteración del equilibrio de membrana con hiperexcitabilidad neuromuscular. La hiponatremia se ha relacionado con incremento de la frecuencia cardíaca de trabajo, disminución de la presión, y llenado capilar prolongado. También se ha descrito un caso de edema cerebral con muerte en un caballo con hiponatremia, de forma similar a lo que ocurre en atletas humanos (Goudie *et al.*, 2005) y en perros (Hinchcliff *et al.*, 1997).

Afortunadamente la absorción de Na se produce a lo largo de todo el intestino delgado y colon por difusión simple y por la bomba Na-K. Secundariamente en el yeyuno se produce un cotransporte Na-glucosa, que en presencia de ésta, es sumamente eficiente. Por lo tanto, las soluciones orales constituyen una excelente forma de administrar Na en un caballo, mientras la irrigación y funcionalidad gastrointestinal sean aceptables. La adición de glucosa, si bien aumenta la osmolaridad de las soluciones, representa una ventaja importante para la absorción de Na (Sosa León *et al.*, 1995; Nyman *et al.*, 1996).

Cloro, Cl:

Las pérdidas de Cl son aproximadamente iguales a la suma de Na y K. Constituyen el mayor componente de la alcalosis metabólica observada en caballos de resistencia, porque activa un mecanismo de reabsorción tubular donde es co-transportado con bicarbonato. La alcalosis metabólica asociada con la retención de bicarbonato puede verse agravada por la alcalosis respiratoria, derivada de la hiperventilación como mecanismo de termólisis cuando el animal padece hipertermia. Sin embargo se presenta una aciduria paradójica debido al secuestro de bicarbonato de la orina. Además, colabora con la disminución de la osmolaridad plasmática. El Cl se absorbe fundamentalmente por el co-transporte  $1\text{Na } 1\text{K } 2\text{Cl}$ , y por intercambio colónico con bicarbonato. Por lo tanto se deben administrar soluciones poliiónicas para una óptima absorción de Cl, y su absorción es más limitada que la del Na (Nyman *et al.*, 1996; Marlin *et al.*, 1998).

Potasio (K), magnesio (Mg) y calcio (Ca):

La alteración del potencial de membrana provocando irritabilidad neuromuscular es la consecuencia más marcada de la deficiencia de estos electrolitos. Si bien la hipocalcemia se relaciona más con arritmias y la hipomagnesemia e hipocalcemia más con alteraciones musculares, en términos generales se los considera en forma conjunta al evaluar la estabilidad neuromuscular.

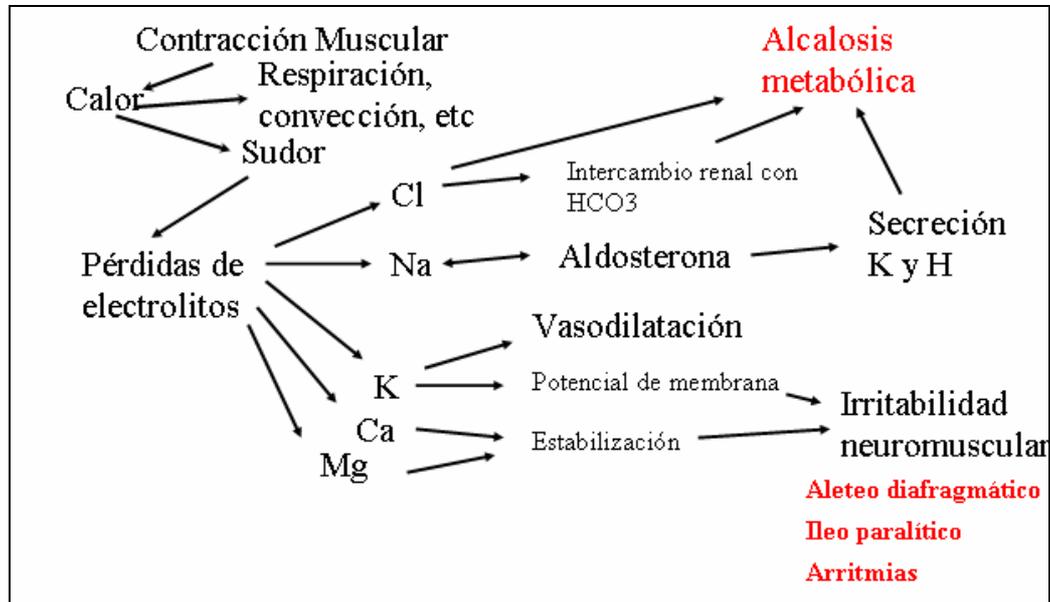
El K usualmente aumenta durante e inmediatamente después del esfuerzo, para disminuir en las dos horas siguientes paralelamente al aumento de glucosa y la recuperación de fluidos. Las pérdidas se incrementan con el estrés, por aumentar su concentración en sudor y en orina. Su

concentración sérica interviene en un mecanismo de vasodilatación indispensable para mantener la perfusión muscular durante el ejercicio, relacionándose con la isquemia muscular y la rabdomiólisis. Las concentraciones bajas de K se han correlacionado con una regulación negativa de la bomba Na-K en el músculo esquelético, alterando el potencial de membrana y la excitabilidad muscular. La alcalosis tiene un reflejo en la hipocalcemia. Un incremento de 0,1 en el valor pH representa una disminución de 0,5 mEq/l  $\text{K}^+$ , como resultado del intercambio de  $\text{K}^+$  extracelular con  $\text{H}^+$  intracelular para compensar la alcalosis. La combinación de estas dos entidades se ha relacionado con incrementos en la frecuencia cardíaca e íleo (Foreman, 1998).

A diferencia del K, que se absorbe eficazmente por los sistemas ya descritos, los otros dos electrolitos son de absorción limitada. El Ca se absorbe por transporte activo, facilitado por la vitamina D, y por difusión facilitada, en una pequeña porción del intestino delgado. La absorción del Mg es aún peor, aunque no está regulada por la vitamina D. Depende de la concentración calórica del contenido luminal, y compite con el Ca. Tanto el Ca como el Mg se pueden obtener mediante resorción ósea. Sin embargo un estudio ha mostrado una respuesta desigual de la hormona paratiroidea durante carreras de raid en caballos sanos, sugiriendo que esta vía puede no estar disponible en todos los animales que compiten (Aguilera-Tejero *et al.*, 2001).

La figura 4 esquematiza la fisiopatología del desequilibrio electrolítico.

FIGURA 4. Fisiopatología del desequilibrio electrolítico



### 3.2.2.4. Fisiopatología del desequilibrio energético

Otro punto crucial es el equilibrio energético. Recorrer 160km requiere un gran gasto energético, calculado en 400Mj (McMiken, 1983). Las fuentes más importantes de energía son las grasas y en segunda instancia, el glucógeno. La glucosa y los ácidos grasos libres se incrementan en sangre a los pocos minutos de haber comenzado el ejercicio, pero una vez degradado entre el 20 - 30 % del glucógeno almacenado en el

músculo se activa la Beta-oxidación (Helge *et al.*, 2001).

El aporte energético durante el ejercicio no deriva de una única vía metabólica sino que, hay una integración muy dinámica de todas las vías energéticas. La distribución es 20 a 1 dentro de la célula para el glucógeno y fuera para las grasas, habiendo un flujo de sustratos y formación constante.

TABLA 3. Tiempos estimados de agotamiento de reservas musculares en un caballo de 500kg (a una intensidad de ejercicio del 60% del consumo máximo de oxígeno,  $V_{O2Max}$ )

	Reservas (kJ)	Duración del ejercicio
ATP	38	3,3seg
PCr	188	16,3seg
Glucógeno	75300	109min
Grasa	640000	15,4hs

Fuente: McMiken (1983) (ATP: adenosina trifosfato; PCr: fosfocreatina)

Como puede verse en la tabla 3, el glucógeno es insuficiente para su utilización exclusiva durante una carrera, por lo que el metabolismo graso toma especial relevancia. Además, la producción de agua metabólica es mayor para las grasas, logrando de forma indirecta una hidratación celular (Kronfeld, 1996; Helge *et al.*, 2001).

El metabolismo graso tiene un componente genético (Barrey *et al.*, 2006), pero se estimula con una dieta apropiada (Harris, 2009), y un entrenamiento de baja intensidad y larga duración (Hodgson y Rose, 1987), induciendo cambios a nivel estructural, enzimático y fibrilar (Essén-Gustavsson *et al.*, 1984; Hodgson y Rose, 1987).

Existen varias limitantes del metabolismo graso durante la carrera, como la intensidad del ejercicio, los cambios de intensidad, y diversos factores hormonales.

La producción energética fundada en la Beta-oxidación grasa puede soportar cargas moderadas de trabajo, y requiere un tiempo de estabilidad para maximizar su producción (Hedge *et al.*, 2001). Además la relación glucagón / insulina limita de forma directa la movilización de ácidos grasos desde los depósitos (Ralston 1988). Adicionalmente, el estado

hídrico celular condiciona la utilización de sustratos dentro de la célula (Kronfeld, 1996; Hedge *et al.*, 2001).

El agotamiento de las reservas de glucógeno es una de las principales causas de fatiga en esfuerzos prolongados. Igualmente, se ha considerado la depleción de ácidos grasos séricos. Las reservas de glucógeno en un caballo son suficientes para producir 17MCal, mientras que las de grasa 150MCal. Las demandas de una carrera de 100 millas son 90MCal. La producción de energía por parte de las grasas varía en función del entrenamiento, alimentación, aclimatación, velocidad, estrés, estrategia, terreno, etc.; y fluctúa entre el 5 y 60%, resultando vital para el mantenimiento de los niveles de glucógeno muscular (Kronfeld, 1996).

El agotamiento de glucógeno muscular generalmente aparece enmascarado por signos de alteraciones hídricas y electrolíticas. La crisis energética a nivel celular compromete el transporte activo de iones, resultando en alteraciones de polaridad de membrana y dificultad para extraer el Ca del citosol, alterando la actividad muscular y mitocondrial. En algunos animales agotados, se puede hallar hipoglucemia al final de ejercicio, circunstancia que agravaría la fatiga

muscular al limitar el aporte de sustratos energéticos al músculo, y daría lugar a fatiga central por déficit de este compuesto a nivel encefálico. En casos graves de hipoglucemia pueden verse alteraciones centrales: ataxia, depresión y coma (Hall *et al.*, 1983).

El catabolismo proteico juega un papel importante en la fatiga central, junto con el descenso de la glucemia. La utilización de aminoácidos de cadena ramificada (BCAA) como fuente energética induce una disminución en su concentración plasmática, disminuyendo la relación BCAA/triptófano plasmática. El triptófano libre es capaz de pasar la barrera hematoencefálica utilizando el mismo transportador que los BCAA, por el que compete con ellos. Asimismo, el triptófano libre podría estar aumentado por competición con los ácidos grasos por la albúmina. Estas condiciones incrementan la disponibilidad de triptófano en el líquido

cefalorraquídeo. Esta circunstancia se traduce en una mayor producción de serotonina, principal neurotransmisor responsable de la fatiga central (Farris *et al.*, 1998; Assenza *et al.*, 2004).

Por último, resulta interesante que la producción de radicales libres durante el ejercicio de resistencia se produce fundamentalmente por la acción de la enzima xantino oxidoreductasa (XOR) que toma importancia cuando el equilibrio energético es importante (relación ADP, adenosina difosfato -ATP). El daño producido por los radicales libres en mitocondrias y membranas plasmáticas limitan el trabajo mitocondrial, entrando en un círculo vicioso que finalizaría con el daño muscular. Además, la disminución del pool de bases nitrogenadas puede suponer un limitante en la producción energética (Schuback y Essén-Gustavsson, 1998).

### 3.2.2.5. Fisiopatología del desequilibrio ácido-base

El ejercicio de resistencia en caballos muestra una especial predisposición para la manifestación de la alcalosis. El 65% de los caballos que presentan alteraciones metabólicas y el 26% de los que culminan satisfactoriamente una carrera de 100 millas tienen un pH superior a 7,42. Se han descrito varios mecanismos que intervienen en el desarrollo de esta entidad (Rose *et al.*, 1979).

Hipocloremia. Activa la retención renal de bicarbonato con propósito de mantener la electroneutralidad del líquido extracelular corporal.

Hiperaldosteronemia: Conlleva una gran reabsorción renal de Na, con secreción de K y protones. La secreción de H implica

un aumento del bicarbonato eliminado al líquido extracelular por los túmulos renales.

Debido a la combinación entre alcalosis respiratoria y metabólica, frecuentemente la concentración de bicarbonato no se altera. En algunos casos se presenta acidosis metabólica moderada que rápidamente se revierte, relacionada con fases muy rápidas, sprints y rabiomólisis en primeras fases. Una acidosis severa puede ocurrir en casos de shock (Barton *et al.*, 2003).

La alcalosis, además de los graves trastornos electrolíticos que ocasiona, se ha visto implicada como responsable de fatiga central por aumentar la

concentración de amoníaco en detrimento del amonio, vía acrecentada por la degradación de purinas. El incremento del amoníaco a nivel central es una causa de síntomas neurológicos en atletas

humanos de maratón con fatiga extrema (Banister y Cameron, 1990; Sahlin y Broberg, 1990)

### **3.2.3. Modificaciones laboratoriales en carreras de resistencia**

La metodología utilizada en la presente tesis, involucra fundamentalmente valores de diversos parámetros laboratoriales, en su mayoría bioquímicos. En este apartado

se presenta una revisión de los principales parámetros utilizados, los cambios con el ejercicio de resistencia y sus consideraciones fisiopatológicas.

#### **3.2.3.1. Valor hematócrito**

El valor hematócrito (HTO) basal se ve influido por numerosos factores en équidos, tanto exógenos (manejo y procesamiento de la muestra, alimentación, entrenamiento) como endógenos (temperamento, patologías, razas, edad, sexo...) (Rose y Hodgson, 1994; McGowan, 2008). Los caballos de raid suelen tener HTOs bajos en reposo, posiblemente causados por un mecanismo similar al de la pseudoanemia del deportista humano de maratón (Pate, 1983; Dang, 2001). Esta pseudoanemia deriva de una expansión del volumen plasmático por un mecanismo renal parcialmente dependiente de la aldosterona y con retención de Na. Se trata, por tanto, de un proceso de hemodilución, que cursa sin sintomatología clínica y sin deterioro del rendimiento deportivo y que incluso podría tener una acción positiva durante el ejercicio físico al limitar el aumento de la viscosidad sanguínea tras la pérdida de fluidos (Muñoz *et al.*, 1997; 1998; McKeever *et al.*, 2002). No obstante, previamente, algunos autores han

defendido la actuación de un agente hemolizante en la etiología de esta anemia (Boucher *et al.*, 1981). Más recientemente, se ha demostrado que los caballos de carreras, tanto Pura Sangre Inglés como trotones Standardbred, experimentan hemólisis durante el esfuerzo, como confirma el descenso de las concentraciones plasmáticas de haptoglobina (Chiradia *et al.*, 1998; Pellegrini-Masini *et al.*, 2003; Inoue *et al.*, 2005). En conocimiento de los autores, hasta la actualidad, este tema no ha sido investigado en el caballo de raid.

Por otro lado, diversos factores endógenos modifican significativamente el HTO en reposo. Entre ellos se encuentran temperamento, raza, sexo, edad y estado general del animal. De este modo, se sabe que la aproximación de personas desconocidas para el caballo y el procedimiento de la venipunción alteran significativamente el hemograma basal (Revington, 1983), con valores hematológicos inferiores en los animales más tranquilos. Estas modificaciones se instauran con mucha rapidez, de modo

que una duración de venipunción superior a 30 seg modifica el eritrograma y el leucograma, debido a la actuación del sistema nervioso simpático (Persson, 1967). En segundo lugar, la existencia de enfermedades subclínicas que cursan con reducción del rendimiento deportivo puede conducir a disminuciones transitorias o permanentes de los valores hematológicos en reposo (McGowan, 2008). La raza es otro factor a tener en cuenta, ya que los caballos de sangre caliente poseen un volumen sanguíneo total expresado en función del peso corporal superior a las razas pesadas (Marcilese *et al.*, 1964). Además, los valores hematológicos basales son ligeramente superiores en machos enteros, debido al efecto de las concentraciones superiores de andrógenos (Satué *et al.*, 2008). Sin embargo, ni la castración ni el sexo afectan el rendimiento deportivo, debido a que las hembras y los machos castrados establecen una relación hipocinética en comparación con los sementales. Esto indica una utilización periférica de oxígeno más eficiente y por tanto, una diferencia arteriovenosa de oxígeno mayor en hembras y machos castrados (Persson y Ullberg, 1974). Como último factor endógeno, hay que considerar la edad. Se ha documentado un incremento en la capacidad dimensional cardiovascular en las hembras hasta los 4 años y en los machos hasta los 5 años (Persson y Ullberg, 1974). La capacidad de reserva esplénica también se modifica con la edad (Persson, 1967).

El HTO se halla influido por la intensidad y por la duración del ejercicio que el caballo lleva a cabo. Durante una carga única de esfuerzo, el HTO se eleva con rapidez al inicio, debido a la adición del volumen sanguíneo rico en hematíes proveniente de la esplenotransfusión (Persson, 1967;

Pöso *et al.*, 1983; McKeever *et al.*, 1993; Muñoz *et al.*, 2006). La magnitud de esta respuesta es muy variable y parece venir parcialmente determinada por factores individuales, como edad, sexo, intensidad relativa de esfuerzo y grado de entrenamiento (Persson, 1967; Muñoz *et al.*, 1998).

Las competiciones de resistencia desencadenan una elevación del HTO proporcional al grado de deshidratación del caballo. El raid es un ejercicio de intensidad submáxima, de modo que no requiere una esplenotransfusión total, con liberación intensa de hematíes hacia la circulación periférica (Muñoz *et al.*, 2006). Así, Snow *et al.* (1982) señalaron que el aumento de HTO al inicio de una prueba de raid se debe a la salida de eritrocitos desde el bazo, mientras que las elevaciones siguientes son proporcionales a la pérdida del volumen plasmático. Según estas ideas, el HTO mostraría una evolución inversa al volumen plasmático (Persson, 1967; Cohen *et al.*, 1993; Andrews *et al.*, 1995). Los incrementos más evidentes aparecen durante los 40-60 km iniciales, hasta que el animal inicia el consumo voluntario de agua.

Este parámetro hematológico muestra una correlación positiva con la velocidad, de manera que se aprecian valores más elevados en los caballos más rápidos (Hoffman *et al.*, 2002). No obstante, los HTOs máximos se encuentran en caballos con deshidratación marcada y extenuación. Según los datos presentados por Carlson (1979), el HTO medio en caballos de resistencia que concluyeron de forma adecuada la competición fue de 44%, frente al 56% de los caballos con síntomas de extenuación y deshidratación marcada. Por el contrario, Fielding *et al.* (2009) no hallaron diferencias significativas en HTO entre los caballos

que necesitaron tratamiento médico tras la competición (HTO  $41,2\pm 4,4\%$ ) y caballos con éxito deportivo ( $45,2\pm 5,3$ ,  $43,6\pm 3,9$  y  $43,2\pm 4,1\%$  a los 58, 111 y 160 km).

Se ha documentado que no existen diferencias en HTO entre caballos que compiten en diversas distancias. Barton *et al.* (2003) observaron que, aunque el HTO aumentó durante la competición en comparación con los valores pre-ejercicio, no se apreciaron diferencias significativas entre competiciones sobre 48, 53 y 159km, llevadas a cabo en las mismas condiciones meteorológicas y de terreno. Esta investigación se realizó bajo la

hipótesis de que los animales que competían sobre distancias superiores tendrían un mejor estado de forma física, de modo que las modificaciones hematológicas y bioquímicas durante la competición serían inferiores. Sin embargo, los resultados no confirmaron esta hipótesis inicial. Igualmente, Schott *et al.* (2006) no hallaron diferencias significativas en HTO al comparar caballos élite en 160km frente a aquellos que no concluyeron la competición.

La tabla 4 muestra los HTOs encontrados por diversos autores en competiciones de raid sobre diferentes distancias.

TABLA 4. Valor hematocrito (%) en caballos de raid según diferentes autores

<b>Autores</b>	<b>Distancia (km)</b>	<b>Reposo</b>	<b>Tras ejercicio</b>
<b>Schott et al., 1997</b>	80	38,3±0,60	42,6±1,10
<b>Schott et al., 1997</b>	160	40,6±1,40	39,9±0,70
<b>Martínez et al., 2000</b>	42	37,0±3,21	54,3±6,90
<b>Barton et al., 2003</b>	48	35,4±5,10	40,6±4,50
<b>Barton et al., 2003</b>	83	36,0±4,00	40,2±5,60
<b>Barton et al., 2003</b>	159	36,4±5,50	40,2±3,50
<b>Schott et al., 2006</b>	160	37,4±4,60	46,6±3,70
<b>Hess et al., 2006</b>	80	39,0±0,50	50,0±1,00
<b>Muñoz et al., 2010</b>	30	36,2±1,79	41,6±4,34
<b>Muñoz et al., 2010</b>	53,6	36,2±1,79	41,4±1,34
<b>Muñoz et al., 2010</b>	76,2	36,2±1,79	45,2±4,03

### 3.2.3.2. Proteínas plasmáticas totales y albúmina

La proteinemia en reposo y durante el ejercicio es el resultado de la interacción de numerosos factores, como grado de filtración entre los espacios intra y extravascular, demandas metabólicas, control neuroendocrino, estado nutricional y equilibrio hídrico (Messer, 1995;

McGowan, 2008). Los rangos fisiológicos para la concentración de proteínas plasmáticas (PP), albúmina, globulinas y fibrinógeno son de 5,5-7,5 g/dl, 2,6-3,8 g/dl, 2,0-3,5 g/dl y menos de 0,4-0,4 mg/dl de modo respectivo (Rose y Hodgson, 1994; Muñoz *et al.*, 2006).

La hiperproteinemia se asocia a deshidratación, observándose en este caso una panhiperproteinemia, esto es, un aumento de las diversas fracciones que integran las PP (Ecker *et al.*, 1998; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999). Por este motivo, la medición de las PP es importante en caballos de deporte como indicador de estado hídrico. Por otro lado, la hipoproteinemia puede derivar de dos grandes grupos de causas: pérdida de proteínas (hemorragias, enteropatías, nefropatías) y reducción en su síntesis (hepatopatías, malabsorción, estados de caquexia y neoplasias) (Parraga *et al.*, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Kemper *et al.*, 2000; Pusterla *et al.*, 2005; Schott, 2007). Finalmente, hay que tener en cuenta que el fibrinógeno es una proteína de fase aguda, considerada como un indicador inespecífico de inflamación (Pollock *et al.*, 2005; Borges *et al.*, 2007). Por este motivo, su determinación es útil en el diagnóstico de pérdida de funcionalidad en caballos de deporte (Rose y Hodgson, 1994; Sloet Von Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; McGowan, 2008).

Las variaciones en la proteinemia en el curso de una prueba de resistencia son variables y dependen de las condiciones ambientales, dureza del recorrido y grado de aporte hídrico. Según los datos aportados por Hoffman *et al.* (2002), las PP se correlacionan de forma directa con la velocidad. Aunque investigaciones previas habían considerado que el incremento de la proteinemia o la reducción del volumen plasmático son perjudiciales durante un ejercicio prolongado, esta idea ha sido debatida (Kronfeld, 2001). Una elevación moderada tendría una acción positiva, ya que mejoraría el transporte de oxígeno hacia los tejidos. Sin embargo, un aumento

marcado representa una deshidratación intensa e hiperviscosidad sanguínea (Hoffman *et al.*, 2002).

La tabla 5 presenta las concentraciones de PP en caballos que participaron en competiciones de resistencia de diferente duración según varios autores.

El incremento en las concentraciones de PP y albúmina es un hallazgo común durante las pruebas de resistencia (Carlson y Mansmann, 1974; Lindinger y Ecker, 1995; Schott *et al.*, 1997; 2006; Barton *et al.*, 2003; Muñoz *et al.*, 2006; 2010). Se considera que estos parámetros son unos indicadores más exactos del grado de deshidratación que el HTO, debido a que éste último puede verse afectado por la contracción esplénica durante el ejercicio (Persson, 1983). Se ha documentado que aunque ambos parámetros (HTO y PP) suelen mostrar una evolución paralela, dicha tendencia no se observa en las primeras etapas, debido a la influencia del estrés con una esplenocntracción intensa (Muñoz *et al.*, 2006; 2010).

La deshidratación es uno de los factores más importantes en el síndrome del caballo extenuado, como se evidencia en la mejoría clínica y laboratorial del animal tras la fluidoterapia y restauración del volumen plasmático. Por otro lado, la deshidratación incrementa la retención de calor, debido al descenso del fluido extracelular disponible para eliminación de calor por la superficie corporal y para la producción de sudor. De hecho, la deshidratación puede ser tan severa como para inducir shock circulatorio e hipovolémico, resultando en una cascada de eventos que puede ser irreversible e incluso puede conducir a la muerte si no se procede a un tratamiento médico de urgencia (Flaminio y Rush, 1998; Foreman, 1998).

TABLA 5. Concentraciones de proteínas plasmáticas totales (g/dl) en caballos de raid según diferentes autores

<b>Autores</b>	<b>Distancia (km)</b>	<b>Reposo</b>	<b>Tras ejercicio</b>
<b>Rose et al., 1980</b>	40-50	6,50±0,70	7,60±0,70
<b>Rose et al., 1980</b>	80-100	6,50±0,70	8,90±0,70
<b>Snow et al., 1982</b>	40-50	6,70±0,90	8,40±0,10
<b>Snow et al., 1982</b>	80-100	6,70±0,90	8,20±0,30
<b>Lindinger y Ecker, 1995</b>	40-50	6,40±0,10	6,80±0,20
<b>Lindinger y Ecker, 1995</b>	80-100	6,40±0,10	6,80±0,20
<b>Schott et al., 1997</b>	80	6,85±0,11	7,36±0,16
<b>Schott et al., 1997</b>	160	6,96±0,16	6,67±0,19
<b>Martínez et al., 2000</b>	42	6,24±0,45	8,74±0,99
<b>Barton et al., 2003</b>	48	6,20±0,40	6,70±0,70
<b>Barton et al., 2003</b>	83	6,30±0,50	6,70±0,50
<b>Barton et al., 2003</b>	159	6,10±0,20	6,00±0,50
<b>Hess et al., 2006</b>	80	6,60±0,07	7,20±0,12
<b>Muñoz et al., 2010</b>	30	7,07±0,51	7,72±0,84
<b>Muñoz et al., 2010</b>	53,6	7,07±0,51	7,38±0,70
<b>Muñoz et al., 2010</b>	76,2	7,07±0,51	7,54±0,1,08

Finalmente, hay que tener en cuenta que la hemoconcentración, valorada a partir de los valores de PP, parece ser más intensa en la primera mitad de una competición prolongada (Schott *et al.*, 2006). El descenso de PP en la segunda mitad del raid se ha asociado a una reducción en la

intensidad de ejercicio (menor velocidad), pérdida de proteínas desde el espacio vascular y/o adición de agua hacia el espacio extracelular con hemodilución (Schott *et al.*, 2006).

### 3.2.3.3. Urea y creatinina

Las concentraciones plasmáticas de nitrógeno ureico en sangre o urea y de creatinina (Cr) se usan clínicamente en la evaluación de la funcionalidad renal, concretamente de la tasa de filtración glomerular (Schott, 2007). Las concentraciones de urea en sangre dependen de varios procesos: intensidad de su síntesis en los hepatocitos, dependiente de la funcionalidad hepática,

catabolismo endógeno, composición proteica de la dieta y velocidad de aclaramiento renal, la cual a su vez está supeditada a la tasa de filtración glomerular y al grado de reabsorción tubular (Stockham, 1995). Por otro lado, la Cr proviene del metabolismo de la creatina muscular y sus valores sanguíneos reflejan el equilibrio entre síntesis y eliminación renal. La síntesis,

generalmente, se mantiene constante, incluso en condiciones de actividad muscular máxima, si bien puede hallarse una liberación incrementada hacia plasma tras rotura miofibrilar o rhabdomiólisis. La excreción urinaria de Cr varía únicamente en función de la tasa de filtración glomerular, ya que no experimenta reabsorción tubular, al contrario de lo descrito para la urea (Stockham, 1995; Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999).

El descenso de la concentración plasmática de urea refleja una diuresis prolongada y/o intensa o bien, una disfunción hepática severa. Por el contrario, la reducción de los niveles circulantes de Cr carece de significado clínico. La azotemia o elevación de las concentraciones de ambos compuestos, se asocia a factores pre-renales, renales y post-renales. En el caballo de deporte, la azotemia pre-renal es un hallazgo laboratorial común, derivada de la hipovolemia inducida por el ejercicio y entrenamiento y de las dietas altas en proteínas. Los valores de referencia para caballos de deporte son 24-48 mg/dl para la urea y 1,1-1,8 mg/dl para la Cr (Stockham, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz *et al.*, 2006).

Un hallazgo laboratorial bastante común y constante durante un raid es el incremento de las concentraciones plasmáticas de ambos compuestos. Snow *et al.* (1982) confirmaron que este incremento está asociado al aumento del catabolismo proteico, junto a una reducción en el flujo

sanguíneo renal. Sin embargo, la tasa de excreción renal de urea no se modifica de forma significativa durante las competiciones de resistencia (Snow *et al.*, 1982). En atletas humanos, el incremento de urea durante actividades de maratón se asocia a un descenso en el flujo sanguíneo renal y por tanto, en la tasa de filtración glomerular, secundaria a la hipovolemia, aumento del catabolismo proteico y sangrado intestinal (Warburton *et al.*, 2002). Asimismo, el aumento de Cr durante este tipo de esfuerzo es proporcional a la liberación de Cr desde los músculos activos, grado de deshidratación y/o reducción del flujo sanguíneo renal y de la tasa de filtración glomerular (Warburton *et al.*, 2002). Hoffman *et al.* (2002) hallaron correlaciones negativas entre la velocidad durante un raid y la concentración plasmática de urea. Este resultado condujo a debates sobre la nutrición del caballo de resistencia. De acuerdo con las ideas descritas por los anteriores investigadores, la oxidación de los aminoácidos, ruta energética tradicionalmente considerada bastante ineficaz para la resíntesis muscular de ATP, podría ser importante para mantener velocidades de ejercicio comprendidas entre 10 y 14km/h (Hoffman *et al.*, 2002).

En relación a las concentraciones plasmáticas de Cr, Barton *et al.* (2003) no encontraron diferencias entre caballos que compitieron sobre distancias diferentes. Los valores de Cr descritos por varios autores en caballos de raid se describen en la tabla 6.

TABLA 6. Concentraciones de creatinina (mg/dl; en caso contrario se indican las unidades) en caballos de raid según diferentes autores

<b>Autores</b>	<b>Distancia (km)</b>	<b>Reposo</b>	<b>Tras ejercicio</b>
<b>Schott et al., 2006</b>	160	96,8±8,80 µmol/l	151,1±39,8 µmol/l
<b>Muñoz et al., 2010</b>	30	1,24±0,11	1,46±0,17
<b>Muñoz et al., 2010</b>	53,6	1,24±0,11	1,65±0,23
<b>Muñoz et al., 2010</b>	76,2	1,24±0,11	1,73±0,29

### 3.2.3.4. Lactato

En aquellos casos en los que la resíntesis energética no puede ser mantenida mediante la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos libres debido al consumo de oxígeno, se activa la glucólisis, dando lugar a acumulación de acetil coenzima A. Ello conduce a la inhibición de la enzima piruvato deshidrogenasa (PDH) y la elevación de los cocientes acetil Coa/CoA y NADH/NAD (nicotinamida adenina dinucleótido reducido/ nicotinamida adenina dinucleótido) activa a la PDH kinasa. Esta última enzima interviene en la fosforilación de la PDH hacia su forma inactiva y como consecuencia, el piruvato es reducido hacia La (Kronfeld *et al.*, 1999). Según estas ideas, el La es un metabolito proveniente de las rutas metabólicas anaerobias.

La acumulación de La en plasma o en sangre tras un ejercicio, así como la velocidad a la que se produce el umbral anaerobio, se han utilizado en medicina deportiva para caracterizar la intensidad de esfuerzo (Rose y Evans, 1987; Muñoz *et al.*, 1998; Gondim *et al.*, 2007), para predecir la capacidad atlética de un individuo o su nivel de entrenamiento (Muñoz *et al.*, 1998; 2002; Trilk *et al.*, 2002) y para determinar la demanda

metabólica de un determinado tipo de ejercicio o durante la competición (Amory *et al.*, 1993; Davie *et al.*, 2002).

Durante una prueba de resistencia, las concentraciones plasmáticas de este metabolito suelen ser reducidas, en muchos casos inferiores a 4 mmol/l, ya que la ruta metabólica utilizada de forma preferencial es la oxidativa o aerobia (Essén-Gustavsson *et al.*, 1984; 1999; Muñoz *et al.*, 2010) y además, existe un equilibrio entre la tasa de producción muscular, liberación hacia el torrente circulatorio y eliminación (Weber *et al.*, 1987). Además, se ha visto que las fases de ejercicio más rápidas se asocian a valores superiores de PP, La y HTO, datos que sugieren que los caballos de raid más rápidos se deshidratan con más intensidad y experimentan una activación de la glucólisis anaerobia (Barton *et al.*, 2003).

Fregin (1979) no encontró variaciones significativas en la lactacidemia tras un raid de 160km. Por el contrario, otros autores han mostrado aumentos en este parámetro bioquímico. Así, Deldar *et al.* (1982) hallaron valores tres veces superiores a los de reposo a los 100km de ejercicio. De estos datos se desprende

que, incluso en las actividades físicas con predominio aerobio, existe una intervención variada del metabolismo anaerobio. Esta actuación anaerobia adquiriría una mayor importancia cuantitativa en momentos de aceleración, cambios de ritmo, velocidades superiores o en subidas por terrenos ondulados o montañosos. Una segunda opción sería la actuación glucolítica tras una depleción energética e incapacidad de contracción de las fibras I y IIA. De hecho, durante una

prueba de resistencia en caballos, el patrón de depleción glucogénica sigue el orden I→IIA→IIX (Snow *et al.*, 1982). En general, se acepta que la velocidad a nivel del umbral anaerobio es más elevada en atletas de resistencia que en velocistas, debido a una mayor dependencia de las fuentes energéticas aeróbicas durante el ejercicio prolongado (Eaton, 1994).

La tabla 7 recopila las concentraciones de La en reposo y tras cubrir diferentes distancias según diversos autores.

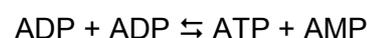
TABLA 7. Concentraciones de lactato (mmol/l) en caballos de raid según diferentes autores

<b>Autores</b>	<b>Distancia (km)</b>	<b>Reposo</b>	<b>Tras ejercicio</b>
<b>Schott et al., 1997</b>	80	0,84±0,09	1,36±0,11
<b>Schott et al., 1997</b>	160	0,61±0,06	0,82±0,05
<b>Martínez et al., 2000</b>	42	0,90±0,10	8,11±6,18
<b>Barton et al., 2003</b>	48	1,00±0,70	1,70±0,70
<b>Barton et al., 2003</b>	83	1,00±0,30	2,40±1,00
<b>Barton et al., 2003</b>	159	0,90±0,40	1,40±0,60
<b>Hess et al., 2006</b>	80	0,75±0,03	1,77±0,22
<b>Muñoz et al., 2010</b>	30	0,61±0,41	1,13±0,68
<b>Muñoz et al., 2010</b>	53,2	0,61±0,41	1,40±0,66
<b>Muñoz et al., 2010</b>	76,2	0,61±0,41	1,69±1,18

### 3.2.3.5. Ciclo de las purinas y ácido úrico

La contracción muscular requiere un aporte y resíntesis continuos de ATP, ya que los mecanismos contráctiles resultan en hidrólisis y desdoblamiento hacia ADP y Pi (fósforo inorgánico). Los niveles de ATP pueden mantenerse a través de la actuación de las vías aerobias, anaerobias alactácticas y anaerobias lactácidas. Cuando la demanda energética del

ejercicio supera la capacidad de resíntesis de ATP, se produce una acumulación muscular de ATP y Pi. La elevación de ADP activa la enzima miokinasa (MK), que cataliza la siguiente reacción:



La AMP (adenosina monofosfato) producida es posteriormente desaminada

hacia IMP (inosina monofosfato) y amoníaco, por la acción de la enzima AMP desaminasa (Snow *et al.*, 1985; Räsänen *et al.*, 1993; 1995; Essén-Gustavsson *et al.*, 1999). La intervención de esta enzima es esencial durante el ejercicio, ya que al mantener concentraciones musculares bajas de AMP, deriva la acción de la MK hacia la producción de ATP. No obstante, se produce una pérdida neta de nucleótidos de adenina (Essén-Gustavsson *et al.*, 1999). El músculo del caballo es muy rico en la enzima AMP desaminasa, en comparación con el humano. Además, se ha visto que esta enzima predomina en las fibras de contracción rápida tipo IIX y se ve activada por la acidosis muscular (Dudley y Terjung, 1985; Lowenstein, 1990; Moriwaki *et al.*, 1999; Machida y Booth, 2004).

El IMP formado es degradado a continuación hacia inosina, xantina e hipoxantina en el interior muscular. La hipoxantina es liberada hacia el torrente circulatorio, de modo que los productos finales del metabolismo de las purinas en

el caballo son el ácido úrico (AU) y la alantoína (Räsänen *et al.*, 1993; 1995).

La concentración plasmática de AU permanece relativamente baja durante un ejercicio de intensidad creciente hasta el momento del inicio de la fatiga. Schuback *et al.* (1999) determinaron los niveles de AU durante un test de intensidad incremental en cinta rodante en caballos trotones, hallando valores comprendidos entre 10,0 y 35,6  $\mu\text{mol/l}$  (0,168 a 0,598 mg/dl). Durante los 30 minutos iniciales de la recuperación, estos datos aumentaron hasta 213,2  $\mu\text{mol/l}$  (3,583 mg/dl). En este trabajo, además, se describió una correlación negativa entre las concentraciones intramusculares de ATP tras el ejercicio y la acumulación de AU en plasma a los 30 minutos de recuperación. Esta correlación indica que el ejercicio físico supone una pérdida irreversible de nucleótidos de adenina en el músculo (Schuback *et al.*, 1999). La tabla 8 recopila las concentraciones de AU halladas por diferentes autores en caballos de raid

TABLA 8. Concentraciones de ácido úrico ( $\mu\text{mol/l}$  y mg/dl) en caballos de raid según diferentes autores (n.e.: no especificado)

<b>Autores</b>	<b>Distancia (km)</b>	<b>Reposo</b>	<b>Tras ejercicio</b>
<b>Snow et al., 1982</b>	40	14,0 $\pm$ 2,0 $\mu\text{mol/l}$	36,0 $\pm$ 7,0 $\mu\text{mol/l}$
<b>Snow et al., 1982</b>	64	14,0 $\pm$ 2,0 $\mu\text{mol/l}$	79,0 $\pm$ 14 $\mu\text{mol/l}$
<b>Snow et al., 1982</b>	80	14,0 $\pm$ 2,0 $\mu\text{mol/l}$	140 $\pm$ 2,0 $\mu\text{mol/l}$
<b>Essén-Gustavsson</b>	y 160	139,7 $\pm$ 0,5 $\mu\text{mol/l}$	136,4 $\pm$ 0,9
<b>Jensen-Waern, 2002</b>			$\mu\text{mol/l}$
<b>Castejón et al., 2006</b>	121	17,1 $\pm$ 6,1 mg/dl	49,1 $\pm$ 23 mg/dl
<b>Castejón et al., 2006</b>	164	12,7 $\pm$ 4,1 mg/dl	46,2 $\pm$ 20,3
			mg/dl
<b>Trigo et al., 2010</b>	80	n.e.	42,0 $\pm$ 5,0 mg/l
<b>Trigo et al., 2010</b>	120	n.e.	45,0 $\pm$ 8,0 mg/l
<b>Trigo et al., 2010</b>	160	n.e.	47,0 $\pm$ 6,0 mg/l

En los ejercicios de resistencia, la concentración plasmática de AU se eleva, debido a la salida desde el músculo, por la degradación completa de los nucleótidos de purina (Essén-Gustavsson *et al.*, 1999). Aunque el metabolismo es predominantemente aerobio, como indica la escasa acumulación plasmática de La, existe una pequeña cantidad de energía producida a través del metabolismo anaerobio, confirmado por la elevación de AU en plasma (Essén-Gustavsson *et al.*, 1999; Essén-Gustavsson y Jensen-Waern, 2002).

Se ha sugerido que la respuesta del AU al ejercicio de resistencia podría ser útil en la evaluación del grado de fatiga metabólica. Muñoz *et al.* (2001) observaron que los caballos eliminados de competiciones de raid por causas metabólicas presentaron concentraciones de AU superiores a los eliminados por claudicación. Además, la uricemia estuvo correlacionada positivamente con la frecuencia cardiaca, tiempo de relleno capilar y sistema de graduación de coloración de las mucosas y negativamente con el grado de peristaltismo intestinal.

En caballos de carreras, Räsänen *et al.* (1995) encontraron una correlación

negativa entre la concentración de AU post-esfuerzo y el rendimiento deportivo, indicando una degradación de nucleótidos de purina inferior en los animales con mejor forma física. Este hallazgo coincide con lo presentado previamente para atletas humanos (Hellsten-Westing *et al.*, 1993). Por el contrario, Evans *et al.* (2002) hallaron un coeficiente bajo para esta correlación, de tal forma que sólo el 10% de la variación en el AU plasmático podría explicar las diferencias en rendimiento deportivo.

Se ha demostrado que la concentración máxima de AU en plasma se detecta a los 30 minutos de finalizar el ejercicio (Schuback *et al.*, 1999). En caballos de raid, se ha visto una reducción paulatina desde los 30 minutos iniciales de recuperación. No obstante, a las 4 h después de la prueba, aún no se habían conseguido los niveles basales. De este modo, Snow *et al.* (1982) mostraron las siguientes concentraciones medias de AU en caballos de raid: en reposo,  $14 \pm 2$   $\mu\text{mol/l}$ , a los 30 minutos de recuperación,  $130 \pm 22$   $\mu\text{mol/l}$ , a las 2 h de recuperación,  $64 \pm 12$   $\mu\text{mol/l}$  y finalmente, a las 4 h de recuperación,  $31 \pm 4$   $\mu\text{mol/l}$ .

### 3.2.3.6. Enzimas musculares

Las tres enzimas musculares utilizadas desde un punto de vista clínico para el diagnóstico de miopatías en el caballo son: creatín o creatina fosfoquinasa (CK), lactato deshidrogenasa (LDH) y aspartato aminotransferasa (AST).

La enzima CK se localiza a nivel citoplasmático y tiene tres isoenzimas: CK1, que se encuentra en cerebro,

nervios periféricos y líquido cefalorraquídeo, pero no pasa a circulación general, CK2, situada en el músculo miocárdico y CK3 que aparece tanto en el músculo cardiaco como en el esquelético y es la de mayor especificidad de las tres para el diagnóstico laboratorial de daño muscular. La CK es una proteína de un peso molecular relativamente bajo

(80.000 D), que es liberada en las horas iniciales tras el comienzo de la lesión muscular (Valberg *et al.*, 1993). Su vida media es variable según la literatura, con valores medios de 90 min (MacLeay *et al.*, 2000), 2 h (Siciliano *et al.*, 1995; Harris *et al.*, 1998) y 6-10 h (Cardinet *et al.*, 1963), con un pico máximo de actividad a las 6-12 h tras la rotura de las miofibras. Su actividad declina a las 24-48 h, si el daño muscular no sigue activo (Cardinet *et al.*, 1963; Clarkson y Ebbeling, 1988; Harris *et al.*, 1998; Cerón *et al.*, 2000).

La enzima AST se sitúa, tanto a nivel citosólico (ASTc) como mitocondrial (ASTm) y carece de la especificidad tisular de la enzima CK. De hecho, la AST muestra actividades elevadas en músculo esquelético, cardíaco, hígado y eritrocitos, si bien se trata de una enzima muy ubicua, que está presente en la mayor parte de los tejidos corporales. Su actividad plasmática se incrementa a las 12-24 h tras una agresión muscular (Siciliano *et al.*, 1995; Muñoz *et al.*, 2002; 2006) o a las 24-48 h (Cardinet *et al.*, 1963). Se han citado vidas medias de 12 h (Cerón *et al.*, 2000), 2-4 días (Cardinet *et al.*, 1963) y 5-7 días (Siciliano *et al.*, 1995) para esta enzima.

Finalmente, la enzima LDH se localiza en el citoplasma de numerosas células, alcanzando una actividad más intensa en las miofibras esqueléticas y cardíacas, eritrocitos y hepatocitos. Su actividad máxima se observa en los 3-5 días posteriores a la lesión y su vida media en el torrente circulatorio es más prolongada que la descrita para las enzimas CK y AST, con unos valores medios de 7 a 14 días. La LDH presenta 5 isoenzimas: LDH1, que aumenta en casos de hemólisis intravascular; LDH2, incrementada en ciertos casos de patología cardíaca, como denota su

correlación con las troponinas; LDH3, cuyo aumento no se ha asociado de forma directa a ninguna enfermedad en équidos; LDH4, elevada en algunas patologías intestinales y por último, LDH5, isoenzima cuya actividad plasmática/sérica aumenta en miopatías esqueléticas y hepatopatías (Stockham, 1995).

Es muy importante tener en cuenta la vida media en las tres enzimas anteriores cuando se pretende evaluar el significado e importancia clínica de sus elevaciones plasmáticas/séricas (Valentine, 2003). Inmediatamente tras una agresión muscular, la CK alcanza valores circulantes más elevados que la AST y LDH (Lindsay *et al.*, 1989). De este modo, el análisis conjunto de las tres enzimas permite la detección laboratorial de las miopatías y ayuda a la temporalización del daño muscular (Cerón *et al.*, 2000; Valentine, 2003). Asimismo, el estudio repetido de la actividad en sangre de las tres enzimas permite determinar si la lesión muscular sigue en fase activa o por el contrario, se trata de una lesión crónica. Así, los valores de CK deben disminuir, al menos, un 50% cada 12-24 h (Valentine, 2003).

Las actividades plasmáticas basales para caballos carentes de patología muscular son 90-275 UI/l para la CK, 230-311 UI/l para la AST y 150-240 UI/l para la LDH (Valberg *et al.*, 1993; Siciliano *et al.*, 1995; Muñoz *et al.*, 2002; 2006). Las actividades basales son un reflejo del equilibrio entre la liberación desde los tejidos de origen y su eliminación, existiendo numerosas condiciones, fisiológicas y patológicas, que alteran este equilibrio, como sexo, edad, ejercicio, entrenamiento y patologías musculares.

Frauenfelder *et al.* (1986) observaron que las enzimas musculares en plasma eran superiores en yeguas que en machos en

condiciones de reposo. Esta diferencia sexual fue más evidente en los animales de 2 años. De igual modo, Harris *et al.* (1998) describieron que las potras Pura Sangre Inglés de 2 años de edad tenían niveles plasmáticos superiores de CK, AST y LDH que los machos de edad similar. Estas diferencias se asociaron a la existencia de daño muscular subclínico al inicio del entrenamiento. Por el contrario, Gigli *et al.* (1996), en Pura Sangre Inglés con edades comprendidas entre los 2 y 4 años, no detectaron relación entre valores basales de enzimas musculares en plasma y edad.

El entrenamiento actúa como un agente modulador de los niveles basales de estas enzimas, así como de su respuesta a una intensidad concreta de esfuerzo (Clarkson *et al.*, 1992; Siciliano *et al.*, 1995; Muñoz *et al.*, 2002). Se ha sugerido que el ejercicio diario impone un estrés controlado sobre la fibra muscular y sobre el tejido de conectivo, de modo que el músculo reduciría su susceptibilidad a padecer lisis tras una sesión de esfuerzo (Clarkson y Tremblay, 1988). Por otro lado, el entrenamiento condiciona una conversión de fibras tipo IIX(B) a IIA, al incrementarse la capacidad aerobia. Se acepta que las fibras tipo IIA se ven menos afectadas por la rabdomiólisis (Friden y Lieber, 1992). En último lugar, el entrenamiento y la génesis poco intensa e intermitente de radicales libres de oxígeno potencian la actividad de las enzimas antioxidantes musculares (Hargreaves *et al.*, 2002).

La actividad plasmática o sérica de las enzimas musculares es indicativa de la integridad de las fibras musculares, pero no de la función muscular (Valentine, 2003). Las características del ejercicio (duración e intensidad) y el tipo de contracción (concéntrica y excéntrica)

influyen la elevación de las enzimas musculares en plasma, tanto en seres humanos (Noakes, 1987) como en équidos (Siciliano *et al.*, 1995). No obstante, la duración de ejercicio afecta en mayor grado que la intensidad a las actividades plasmáticas de CK, AST y LDH (Noakes, 1987; Valberg *et al.*, 1993; Siciliano *et al.*, 1995). A pesar de esta afirmación, cualquier tipo de actividad física desencadenará un incremento de las enzimas musculares en plasma, si bien hay que tener en cuenta que estos aumentos no están ligados a la existencia de daño muscular. Por ello, la interpretación de estos datos debe hacerse con cautela a la hora de diagnosticar una rabdomiólisis (Cardinet *et al.*, 1963; Valberg *et al.*, 1993; Siciliano *et al.*, 1995; Muñoz *et al.*, 2002; 2006).

La elevación de CK, AST y LDH a nivel plasmático durante pruebas de resistencia se ha asociado a modificaciones transitorias en la permeabilidad del sarcolema, cambios en las concentraciones electrolíticas con variaciones en el potencial de membrana, producción de cantidades importantes de radicales libres de oxígeno y/o hipertermia. Por tanto, un incremento de estas enzimas no siempre denota daño muscular (Anderson, 1975; Hargreaves *et al.*, 2002). De hecho, Volfinger *et al.* (1994) calcularon la cantidad de músculo lesionado a partir del incremento de CK en plasma. Estos autores concluyeron que valores dos veces superiores a los basales, aproximadamente 400 UI/l, se corresponderían con 19 g de músculo dañado.

Las actividades CK, AST y LDH en reposo y tras cubrir diferentes distancias en caballos de raid y según diversos investigadores se presentan en las tablas 9, 10 y 11.

TABLA 9. Actividades de la enzima CK (UI/l) en caballos de raid según diferentes autores

<b>Autores</b>	<b>Distancia (km)</b>	<b>Reposo</b>	<b>Tras ejercicio</b>
<b>Barton et al., 2003</b>	48	262±114	924±1391
<b>Barton et al., 2003</b>	83	250±99	9435±23626
<b>Barton et al., 2003</b>	159	244±121	4137±4317
<b>Schott et al., 2006</b>	160	702±720	22473±41192
<b>Muñoz et al., 2010</b>	30	147,9±66,4	157,1±37,3
<b>Muñoz et al., 2010</b>	53,2	147,9±66,4	157,1±37,3
<b>Muñoz et al., 2010</b>	76,2	147,9±66,4	757,6±491

TABLA 10. Actividades de la enzima AST (UI/l) en caballos de raid según diferentes autores

<b>Autores</b>	<b>Distancia (km)</b>	<b>Reposo</b>	<b>Tras ejercicio</b>
<b>Muñoz et al., 2010</b>	30	163,6±32,2	183,9±34,1
<b>Muñoz et al., 2010</b>	53,2	163,3±32,2	188,6±41,2
<b>Muñoz et al., 2010</b>	76,2	163,3±32,2	222,1±52,9

TABLA 11. Actividades de la enzima LDH (UI/l) en caballos de raid según diferentes autores

<b>Autores</b>	<b>Distancia (km)</b>	<b>Reposo</b>	<b>Tras ejercicio</b>
<b>Muñoz et al., 2010</b>	30	413,7±78,2	486,3±165
<b>Muñoz et al., 2010</b>	53,2	413,7±78,2	730,1±441
<b>Muñoz et al., 2010</b>	76,2	413,7±78,2	746,0±299

A pesar de que las actividades plasmáticas/séricas de las tres enzimas se modifican en respuesta al ejercicio y el entrenamiento, se utilizan de forma rutinaria para el diagnóstico y control de la progresión de las patologías musculares en diversas especies, incluyendo el ser

humano. En atletas humanos, el incremento de CK está correlacionado con la aparición de dolor muscular y con el descenso del rendimiento físico (Clarkson *et al.*, 1992; Twist y Eston, 2005; Howatson y Milak, 2009). Del mismo modo, en équidos, la duplicación de los

valores de CK a las 4-6 horas de finalizar un ejercicio leve, se considera diagnóstica de rhabdomiólisis (Muñoz *et al.*, 2002; 2006; Valentine, 2003).

Los caballos de resistencia, no obstante, experimentan incrementos importantes de las enzimas musculares en plasma sin presentar síntomas de patología muscular. De acuerdo con Kerr y Show (1983), el aumento de estas enzimas en caballos de raid podría estar asociado a un estado metabólico alterado por el ejercicio prolongado. Además, se ha considerado que los caballos con actividades enzimáticas superiores al rango fisiológico, carentes de clínica de lesión muscular, podrían padecer un síndrome de sobreentrenamiento (Kerr y Snow, 1983; Hamlin *et al.*, 2002; McGowan *et al.*, 2002).

La evolución de las actividades CK, AST y LDH en plasma en caballos de raid se ha vinculado con el metabolismo oxidativo y el aumento de permeabilidad de las membranas celulares. Martínez *et al.* (2000) encontraron que la producción de radicales libres de oxígeno durante un ejercicio de resistencia supera los mecanismos de neutralización. Igualmente, Hargreaves *et al.* (2002) hallaron una correlación positiva entre CK, AST e indicadores de estrés oxidativo, como vitamina C, glutatión eritrocitario y glutatión peroxidasa eritrocitaria.

Los caballos eliminados durante las competiciones de raid, tanto por cojera como por desórdenes metabólicos mostraron actividades CK superiores a los

caballos exitosos, según Barton *et al.* (2003). En este artículo se presentaron valores de CK de  $9807 \pm 18235$  UI/l en caballos descalificados por claudicaciones, de  $22285 \pm 37749$  UI/l en caballos con alteraciones metabólicas, frente a  $1699 \pm 4781$  UI/l en los caballos que concluyeron la competición. Además, en esta investigación, se encontró que la actividad CK en plasma no estuvo correlacionada con el puesto de finalización de la competición. No obstante, un incremento de CK al final de la competición fue considerado como un posible indicador de eliminación, especialmente en los raids de 160km.

Schott *et al.* (2006) no encontraron diferencias significativas en CK entre caballos eliminados y no eliminados en raids de 160 Km. No obstante, 2 de los caballos descalificados por cojera tuvieron elevaciones substanciales de CK (más de 240,000 y 400,000 UI/l). Por el contrario, la actividad CK en plasma fue inferior a 1000 UI/l en aquellos animales eliminados por frecuencia cardíaca persistentemente elevada, mientras que 5 de los 16 caballos que concluyeron la competición mostraron valores de CK superiores a 10000 UI/l. Según estos datos, una rhabdomiólisis leve, sin síntomas evidentes, parece ser común tanto en caballos descalificados como en aquellos que muestran un rendimiento deportivo correcto en pruebas de resistencia de larga distancia (Schott *et al.*, 2006).

### 3.2.3.7. Enzimas hepáticas

Las enzimas de origen hepático más utilizadas desde un punto de vista clínico son la fosfatasa alcalina (FA), la  $\gamma$ -glutamil transferasa (GGT) y la iditol deshidrogenasa (IDH). Los valores de referencia presentados para équidos son: 70-210 UI/l para FA, 10-40 UI/l para GGT y 1-8 UI/l para IDH (Stockhom, 1995).

Las isoenzimas de la FA se encuentran localizadas en diferentes tejidos, aunque la actividad de la FA plasmática en caballos sanos suele tener un origen hepático (Stockham, 1995). Su actividad plasmática/sérica aumenta tanto en enfermedades hepáticas como en colestasis, ya que en estos últimos casos existe una producción y liberación incrementadas de la enzima por una acción mediada por las sales biliares (Stockham, 1995). La elevación de la enzima GGT indica una lesión colestásica, ya que la membrana de los hepatocitos, el epitelio de los conductos biliares, pancreáticos y los túbulos renales contienen grandes cantidades de GGT. No obstante, la GGT de origen renal no se elimina hacia sangre, sino hacia orina. Además, aunque existen casos, las patologías pancreáticas son poco comunes en équidos (Bakos *et al.*, 2008). Finalmente, la actividad IDH es alta en el citosol de los hepatocitos, por lo que su elevación a nivel sanguíneo indica un cambio brusco e intenso en la permeabilidad hepatocelular, en asociación a lesión o necrosis (Stockhom, 1995).

La evolución de estas enzimas con el ejercicio de resistencia se ha analizado en atletas humanos de ultramaratón y los resultados han sugerido que puede existir daño hepático, si bien su origen no ha

sido especificado aún (Nagel *et al.*, 1990; Fallon *et al.*, 1999). Se ha sugerido que la extenuación y el golpe de calor originarían aumento de la permeabilidad digestiva, endotoxemia, coagulación intravascular diseminada, siendo ésta la causante del fallo hepático (Weigand *et al.*, 2007). En los últimos años, se ha demostrado que el ejercicio de resistencia en el caballo origina un aumento de endotoxinas circulantes en plasma, especialmente sobre distancias de 40 a 80km (Barton *et al.*, 2003). Cuando se detectaron endotoxinas, la concentración de La fue más elevada. Además, se encontró una asociación entre concentraciones elevadas de tromboxano B<sub>2</sub>, prostaglandina 1 $\alpha$  y actividad del factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) y éxito deportivo y nivel de forma física, valorados de forma subjetiva por el propietario (Barton *et al.*, 2003). Según estos datos, la endotoxemia derivada del ejercicio prolongado y posiblemente de la reducción del riesgo esplácnico, podría afectar la funcionalidad hepática en caballos de raid, especialmente en aquellos animales con patologías metabólicas, como golpe de calor, hipoxia, desequilibrios hidroelectrolíticos o extenuación (Barton *et al.*, 2003).

El entrenamiento incrementa la actividad GGT y reduce la FA (McGowan, 2008). De este modo, se ha encontrado un aumento lineal de la GGT con el entrenamiento, siendo esta elevación más notable en caballos sobreentrenados. Por este motivo, parece ser que la actividad plasmática/sérica de la enzima GGT podría ser uno de los pocos indicadores de entrenamiento en caballos de deporte. Además, la detección de valores

extremadamente elevados puede tener importancia en el diagnóstico de pérdida de funcionalidad. Se ha descrito el caso de un establo, con valores muy altos de GGT, superiores incluso a 100 UI/l, en asociación a falta de rendimiento (Snow *et al.*, 1987). No se conoce si estos datos se

deben a sobreentrenamiento, enfermedad hepática u otra patología. Además, la GGT descendió tras una reducción en la intensidad de entrenamiento (Snow y Harris, 1988).

### **3.2.4. Patologías asociadas al ejercicio en el caballo de raid**

Como se ha descrito en los apartados precedentes, la evaporación del sudor es el principal mecanismo de termorregulación en los équidos y alcanza su máxima expresión en el caballo de raid, debido a la duración del ejercicio. Las pérdidas hidroelectrolíticas predisponen al desarrollo de numerosas patologías, como golpe de calor, fasciculaciones musculares, rabdomiólisis, arritmias cardíacas, aleteo diafragmático sincrónico y fatiga patológica o extenuación. Tras las cojeras y anomalías locomotoras, las alteraciones metabólicas son la causa más común de eliminación de caballos

durante una prueba de resistencia (Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan *et al.*, 1991; Burger y Dollinger, 1998; Robert *et al.*, 2002; Muñoz *et al.*, 2006; Schott *et al.*, 2006).

A continuación se presenta una breve descripción de las principales patologías metabólicas, centrada fundamentalmente de su etiopatogenia y modos de prevención.

#### **3.2.4.1 Golpe de calor**

El golpe de calor deriva de una exposición a temperaturas elevadas (por ejemplo, durante un transporte) o bien de la realización de un ejercicio físico, sobre todo en condiciones ambientales de calor y humedad altas, en animales no adaptados a estas condiciones o bien cuando existen patologías que afectan la termorregulación, como es la anhidrosis (McCutcheon y Geor, 2004). Esta hipertermia excesiva o patológica se acompaña de numerosas alteraciones sistémicas, como fallo circulatorio, hipoxia, incremento de las demandas metabólicas

y activación de las cascadas de la inflamación y de la coagulación sanguínea, desencadenando una disfunción multiorgánica progresiva (Bouchama y Knochel, 2002; Trujillo *et al.*, 2009). El fallo termorregulador, la expresión alterada de proteínas de shock por calor y una respuesta de fase aguda excesiva contribuyen al desarrollo de este proceso (Amorim *et al.*, 2008). Algunos estudios realizados en modelos animales han demostrado que cuando existe hipoperfusión esplácnica, como resultado del desvío de flujo sanguíneo desde la

zona gastrointestinal hacia la piel, se liberan grandes cantidades de radicales libres de oxígeno (Bouchama y Knochel, 2002). La lesión mucosa secundaria y el aumento de permeabilidad permiten la entrada de endotoxinas hacia la circulación, estimulando la respuesta de fase aguda y la producción de citocinas pirógenas y óxido nítrico, compuestos que interfieren con los mecanismos de termorregulación (McCutcheon y Geor, 2004). La síntesis de citocinas y óxido nítrico, por tanto, potencia la hipertermia previa, con hipotensión y golpe de calor. La hipertermia también promueve la liberación de IL-1 y 6 desde el músculo (Lu *et al.*, 2004; Kinnunen *et al.*, 2005; Van Ginneken *et al.*, 2006). El proceso inflamatorio, con activación leucocitaria y endotelial, da lugar a incrementos adicionales de las citocinas inflamatorias, activación de la coagulación e inhibición de la fibrinólisis. Los efectos citotóxicos directos sobre las células y las respuestas de la inflamación y de la coagulación resultan en lesión endotelial y microtrombosis (McCutcheon y Geor, 2004; Roberts *et al.*, 2008).

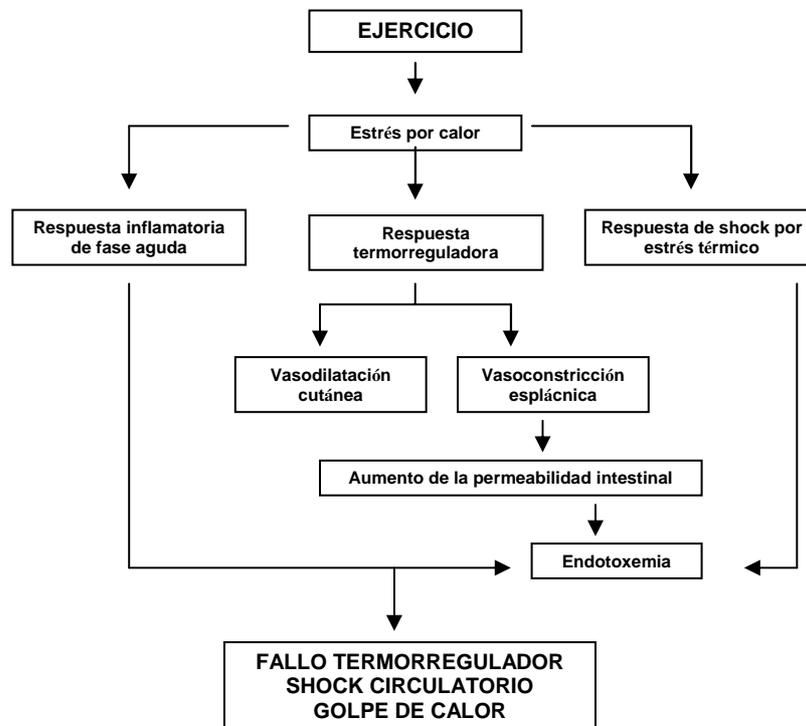
En personas, la temperatura corporal crítica oscila entre 41.6 y 42°C durante periodos de tiempo comprendidos entre 45 min y 8 h (Bynum *et al.*, 1978). La temperatura corporal crítica en el caballo no ha sido cuantificada de forma exacta. Sin embargo, se ha confirmado que temperaturas musculares superiores a los 43°C inducen lesiones miofibrilares microscópicas (Byrd *et al.*, 1989). El inicio de la fatiga voluntaria en atletas humanos se produce a una temperatura corporal de 40°C. Los estudios experimentales con caballos de deporte parecen indicar que el estado voluntario de fatiga no aparece

hasta los 42°C, resultados que podrían ser interpretados como una mejor tolerancia al calor en el atleta equino (McCutcheon y Geor, 2004). La sucesión de eventos fisiopatológicos que conducen a un golpe de calor se resume en el siguiente esquema (Figura 5).

Como variables epidemiológicas más importantes se citan un mal estado físico, ausencia de aclimatación al calor, ejercicio prolongado en condiciones ambientales húmedas y calurosas, deshidratación, capa de pelo largo y obesidad. También se ha sugerido que las razas con mayor desarrollo muscular pueden mostrar un riesgo especial de desarrollar golpe de calor bajo determinadas climatologías, debido al menor cociente masa corporal/área superficial (McCutcheon y Geor, 2004).

Los síntomas clínicos del golpe de calor reflejan los efectos negativos conjuntos sobre los diversos sistemas corporales de la hipertermia, deshidratación, hipovolemia y alteraciones hidroelectrolíticas. Clínicamente se aprecia hipertermia (temperaturas rectales superiores a los 41-42°C), taquicardia (superior a 60-80 lat/min), taquipnea (superior a 80-100 resp/min), deshidratación y evidencias clínicas de fatiga. Los animales que han realizado un ejercicio prolongado en condiciones de calor y/o humedad muestran una mayor deshidratación e hipovolemia. Por tanto, se aprecia una reducción de la elasticidad de la piel, tiempo de relleno capilar incrementado, tiempo de llenado yugular aumentado y membranas mucosas secas. La auscultación cardiaca o el examen electrocardiográfico pueden revelar taquiarritmias.

FIGURA 5. Secuencia de procesos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de un golpe de calor durante el ejercicio (modificado de Bouchama y Knochel, 2002)



Algunos animales pierden el estímulo de la sed a pesar de la deshidratación moderada a severa. La depresión no es un síntoma constante y algunos caballos pueden presentar movimientos rígidos y posiblemente un cierto grado de claudicación asociada a lesión muscular. La elevada tasa metabólica con hipertermia se refleja en falta de recuperación de frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria, con un periodo de recuperación superior a 30 min, y con sudoración excesiva y prolongada. La temperatura rectal continúa incrementándose tras la suspensión del ejercicio y es común hallar reducción del tono anal, fasciculaciones musculares y aleteo diafragmático sincrónico (Carlson, 1985; McCutcheon y Geor, 2004).

Según esta sintomatología, tanto la hipertermia como la disfunción neurológica central pueden aparecer en un golpe de calor. En este caso, los síntomas de golpe de calor se acompañan de ataxia, depresión, convulsiones y en casos extremos, coma. Puede existir una sudoración excesiva con una capa de pelo uniformemente húmeda o bien en animales muy deshidratados, una capa seca, caliente con vasodilatación cutánea (Carlson, 1985; McCutcheon y Geor, 2004).

El golpe de calor tiene serias repercusiones sobre el estado del animal y puede aparecer dentro del síndrome del caballo extenuado en caballos de raid, con depleción glucogénica muscular y marcados déficits hidroelectrolíticos. Estos

animales pueden desarrollar un síndrome de disfunción multiorgánica, con fallo renal y hepático, laminitis, mionecrosis, edema pulmonar con distrés respiratorio y coagulación intravascular diseminada (Carlson, 1985; Burdick y Hodgson, 1990; McCutcheon y Geor, 2004; Foreman, 1998).

En el golpe de calor, es común encontrar alcalosis respiratoria debido a la hiperventilación por hipertermia. En algunos casos, no obstante, se ha descrito acidosis metabólica, secundaria a la acumulación de  $\text{La}$ , dependiendo de la naturaleza del ejercicio llevado a cabo. Laboralmente se detectan incrementos de HTO, recuento hemático, PP y actividades enzimáticas CK y AST, junto con reducción de las concentraciones electrolíticas de fósforo, Cl, Ca total e iónico, Mg y posiblemente Na (Carlson y Mansmann, 1974; Carlson, 1985; Smith y Wagner, 1985; Flaminio y Rush, 1998; McCutcheon y Geor, 2004). En el hemograma se aprecia neutrofilia de estrés con desviación a la derecha y linfopenia. La deshidratación severa, posiblemente complicada con fallo renal, se refleja en elevaciones de las concentraciones plasmáticas de urea y Cr. El urianálisis puede revelar una gravedad específica elevada, con deshidratación y función renal normal o por el contrario, una gravedad específica reducida cuando existe una enfermedad renal, con o sin evidencias de proteínas o sangre en orina. El perfil de coagulación puede ser compatible con coagulación intravascular diseminada, es decir, aparece trombocitopenia, aumento de los productos de degradación de la fibrina e incremento del tiempo de protrombina (Carlson, 1985; Smith y Wagner, 1985; McCutcheon y Geor, 2004).

Los caballos con sintomatología de golpe de calor requieren un tratamiento rápido y agresivo, consistente en técnicas de enfriamiento y de rehidratación, aportando fluidos intravenosos. El animal debe ser retirado rápidamente de la luz directa del sol, para minimizar la ganancia radiativa solar. Otra opción de enfriamiento consiste en el uso de ventilaciones de alto rendimiento para fomentar las pérdidas de calor mediante convección. Es recomendable la aplicación de agua fría en cabeza, cuello y cuerpo. Este procedimiento incrementa el gradiente de temperatura entre la piel y el medio ambiente, promoviendo las pérdidas de calor por conducción. El mantenimiento de este gradiente requiere la eliminación del agua caliente sobre la superficie corporal y la aplicación repetida de agua fría. Además, se puede intentar un enfriamiento interno, mediante la administración de agua fría por vía nasogástrica o rectal. La introducción de agua fría por recto impide la monitorización de la temperatura del paciente. El enfriamiento asistido debe mantenerse hasta que el paciente presente una temperatura rectal inferior a los  $39^{\circ}\text{C}$  (Foreman, 1998).

Además, está indicada la administración intravenosa de fluidos. El suero fisiológico (NaCl 0,9%) es la fluidoterapia de elección en casos de alcalosis metabólica, aunque cualquier tipo de solución poliónica equilibrada, es apropiada para el tratamiento de hipovolemia y deshidratación. En la mayoría de los casos, se requiere el aporte de unos 60-80 l de fluidos durante un periodo de tiempo de 6 a 12 h en caballos con deshidratación severa. La fluidoterapia posterior, tras la recuperación de los déficits hídricos iniciales, debe programarse tras la valoración de los diversos parámetros bioquímicos. En el

apartado concerniente al síndrome de extenuación, se proporciona información adicional sobre la fluidoterapia para estos pacientes.

La acción de los antiinflamatorios no esteroideos en el manejo médico del golpe de calor no se ha valorado en el caballo. Algunos estudios con animales han demostrado que la corrección de la hipertermia tras el inicio del golpe de calor no previene la inflamación, coagulación y progresión hacia una disfunción multiorgánica. Por otro lado, el tratamiento con glucocorticoides e inmunomoduladores, como los antagonistas de los receptores de la interleukina 1, mejora la capacidad de supervivencia en animales con golpe de calor (Lu *et al.*, 2004; Casa *et al.*, 2005). Otras investigaciones han confirmado que los salicilatos y los antiinflamatorios no esteroideos aumentan la protección celular frente al estrés por calor, a través de la inducción de la transcripción y traslación de las proteínas de shock (Polla *et al.*, 1998; Howe y Boden, 2007). Según estos datos, podría ser útil la administración de antiinflamatorios no esteroideos (flunixin meglumine, 1,0 mg/kg) en caballos con golpe de calor. Además, los antiinflamatorios serán beneficiosos en animales con dolor asociado a cólico, rabdomiólisis por ejercicio o laminitis.

El reposo es esencial, por lo que es razonable transportar al caballo a una zona de estabulación, una vez que su condición ha sido estabilizada. La monitorización clínica debe mantenerse durante un periodo de 3 a 5 días.

Aunque no se han publicado los resultados del seguimiento clínico de los caballos que han experimentado un golpe de calor, la evidencia clínica sugiere que el pronóstico está supeditado a su gravedad. La recuperación de la función nerviosa central durante el enfriamiento es un indicador de buen pronóstico. La persistencia de las disfunciones neurológicas o el desarrollo de complicaciones como edema pulmonar, laminitis, fallo hepático o renal y coagulación intravascular diseminada, agravan considerablemente el curso clínico.

Uno de los criterios de mayor importancia en la prevención del golpe de calor es asegurarse que los animales han sido sometidos a un programa de entrenamiento adecuado para el nivel de ejercicio o de competición que necesitarán. A pesar de ello, hay que tener en cuenta que el caballo correctamente entrenado podrá desarrollar un golpe de calor cuando las condiciones ambientales sean adversas para los mecanismos de termólisis. Bajo estas circunstancias, se debe situar a los animales a la sombra durante los periodos de descanso, utilizar ventiladores para mejorar el enfriamiento convectivo y aplicar con frecuencia agua fría en la superficie corporal, para minimizar la acumulación de calor. Por otro lado, la aclimatación a las condiciones ambientales calurosas y/o húmedas mejorará la capacidad termorreguladora del atleta equino (McCutcheon y Geor, 1998).

### 3.2.4.2 Aleteo o flutter diafragmático sincrónico

El aleteo diafragmático sincrónico es una manifestación clínica de alteraciones hidroelectrolíticas intensas, que alteran el potencial de reposo del nervio frénico. Esta circunstancia da lugar a una estimulación del nervio a su paso por la aurícula, de modo que el diafragma se contrae de forma simultánea a la despolarización auricular (José-Cunilleras, 2004). La hipocalcemia y la alcalosis metabólica hipoclorémica son las alteraciones laboratoriales más comunes en los animales con este síntoma (Mansmann *et al.*, 1974). De hecho, el flutter diafragmático sincrónico puede ser inducido de forma experimental en équidos con depleción hidroelectrolítica por la administración de furosemida seguida de la administración oral de una solución hipertónica de bicarbonato sódico (Carlson, 1985; José-Cunilleras, 2004).

La alcalosis aumenta la fracción del Ca ligada a proteínas y por tanto, la fracción iónica decrece. La hipocalcemia iónica puede ser la responsable de la irritabilidad neuromuscular, reduciendo el potencial umbral y facilitando la despolarización y la conducción nerviosa. Por el contrario, la hipercalcemia iónica reduce la irritabilidad neuromuscular al elevar el potencial umbral. Además, se ha indicado que las alteraciones en el cociente entre las concentraciones de K intra y extracelularmente modifica la excitabilidad celular. La hipocalemia hiperpolariza la membrana celular, es decir, la hace más negativa, de modo que la irritabilidad neuromuscular desciende, mientras que la hipercalemia o la depleción intracelular de K aumenta el potencial de acción, haciendo a las células más excitables (Rose, 1989).

El papel de las diversas alteraciones electrolíticas en la génesis de los desórdenes neuromusculares se ha agrupado en una fórmula de irritabilidad neuronal (IN):

$$IN = (\text{Na} + \text{K extracelular/intracelular}) / (\text{Ca} + \text{Mg} + \text{H})$$

(Coffman *et al.*, 1978)

Según esta ecuación, la irritabilidad neuronal se produce en situaciones de hiponatremia, hipocalcemia iónica, hipomagnesemia, alcalosis y/o incremento del cociente K extracelular/intracelular (Coffman *et al.*, 1978). Las alteraciones típicas de caballos de resistencia son la depleción corporal de K, alcalosis y por tanto, una mayor unión del Ca a la albúmina, con hipocalcemia iónica. Por tanto, es posible que el conjunto de estas alteraciones electrolíticas y metabólicas sea el responsable del desarrollo del flutter diafragmático sincrónico.

La incidencia del flutter diafragmático sincrónico en caballos de raid no está bien establecida. De forma general, esta patología se describe con mayor frecuencia en caballos mal acondicionados y/o entrenados y en competiciones que se llevan a cabo en climas calurosos. En las Tevis Cup, celebradas en USA, durante los años 1962 a 1971, un total de 974 caballos iniciaron las competiciones, 44% de ellos no las concluyeron y se diagnosticó flutter diafragmático sincrónico en 42 de los caballos descalificados (Mansmann *et al.*, 1974).

No se ha observado predilección sexual, racial o por edad, aunque sí se ha encontrado que la recurrencia de este proceso es elevada.

El aleteo diafragmático sincrónico es fácilmente diagnosticable, apoyando una mano sobre el flanco, auscultando el corazón de forma simultánea. Se aprecia que los movimientos de los flancos, conocidos como contragolpe del ijar, son sincrónicos con la contracción cardíaca, más concretamente con la despolarización auricular. Las contracciones musculares pueden evidenciarse continua o intermitentemente y su intensidad es variable (Masmann *et al.*, 1974). Además, estos contragolpes musculares aparecen de forma bilateral en un 70% de los animales, la presentación exclusiva en el lado izquierdo es menos frecuente y la aparición en el lado derecho solo se observa en raras ocasiones (Mansmann *et al.*, 1974).

Además, se identifican otros síntomas asociados a deshidratación y alteraciones hidroelectrolíticas, tales como depresión, membranas mucosas secas o congestionadas, tiempo de relleno capilar incrementado, pulso arterial débil y

persistencia de la taquicardia y taquipnea tras el ejercicio. A pesar de esta sintomatología, algunos caballos pueden mostrar flutter diafragmático sincrónico con escasos síntomas de extenuación (Mansmann *et al.*, 1974; José-Cunilleras, 2004).

Las alteraciones laboratoriales descritas en caballos con raid con aleteo diafragmático sincrónico son hipocalemia, hipocloremia y alcalosis (Mansmann *et al.*, 1974). La hipocalcemia no es un hallazgo frecuente, si bien hay que matizar que hasta la actualidad, en conocimiento de los autores, no se ha evaluado la calcemia iónica en caballos con esta patología. Se hipotetiza que estos animales desarrollan hipocalcemia iónica a consecuencia de la alcalosis y por aumento de la fracción cálcica unido a la albúmina (José-Cunilleras, 2004). La tabla 12 recoge el porcentaje de aparición de alteraciones laboratoriales en animales afectados por aleteo diafragmático sincrónico frente a grupos control, según Trigo *et al.* (2007).

TABLA 12. Porcentaje de aparición de alteraciones laboratoriales en caballos de resistencia con aleteo diafragmático sincrónico frente a un grupo control (datos de Trigo *et al.*, 2007)

<b>Alteración laboratorial</b>	<b>Grupo con aleteo diafragmático sincrónico</b>	<b>Grupo control</b>
<b>Alcalosis (pH&gt;7,42)</b>	81%	26%
<b>Hipocalemia (K&lt;3 mmol/l)</b>	66%	35%
<b>Hipocalcemia (Ca &lt; 8,7 mEq/l)</b>	33%	12%
<b>Hipomagnesemia (Mg &lt; 1,7 mEq/l)</b>	66%	37%
<b>CK &gt; 1600 UI/l</b>	22%	9%
<b>PP&gt; 8,2 g/dl</b>	39%	15%
<b>HTO &gt; 55%</b>	28%	9%

Muchos caballos afectados por aleteo diafragmático sincrónico se recuperan tras la suspensión del ejercicio, proporcionando un acceso libre al agua y comida. El tratamiento específico consiste en la administración intravenosa lenta de soluciones cálcicas, como borogluconato de calcio al 23%, con monitorización cardíaca simultánea. Es recomendable la administración lenta, durante un periodo de tiempo de 15 a 30 minutos, de unos 250-500 ml de borogluconato de cálcico al 23% diluido a 1:4 en una solución salina o de dextrosa al 5%. La respuesta favorable al tratamiento se evidencia mediante un incremento de la motilidad intestinal y mejoría del estado general del animal. El aporte de bicarbonato está contraindicado y de hecho, su infusión intravenosa en caballos de raid con depleción hidroelectrolítica puede precipitar un aleteo diafragmático sincrónico (Mansmann *et al.*, 1974; Kingston y Bayly, 1998).

Se ha sugerido que el desarrollo de hipocalcemia y la falta de movilización cálcica desde los depósitos óseos son los principales mecanismos fisiopatológicos implicados en el flutter diafragmático sincrónico. Además, el consumo excesivo

### 3.2.4.3. Síndrome de extenuación

La extenuación representa el grupo de patologías que requiere con mayor frecuencia una intervención veterinaria médica en caballos de deporte durante la competición, especialmente en pruebas de resistencia y de concurso completo de equitación (Muñoz *et al.*, 2006). Como se ha comentado, la deshidratación durante el ejercicio es la consecuencia inevitable de la sudoración para la disipación de calor. No obstante, las pérdidas excesivas de fluidos comprometen la estabilidad

de Ca en la dieta podría afectar negativamente la respuesta normal de la glándula paratiroides a la hipocalcemia. Por este motivo, se ha recomendado limitar el consumo de alfalfa en los caballos de resistencia, ya que esta leguminosa tiene entre 1,2 y 1,4% de Ca. No obstante, hay que matizar que el efecto de la ingestión de alimentos con diversa composición de Ca en la secreción de la hormona paratiroidea no ha sido investigado aún en el caballo. Otra manipulación dietética posible es el aporte de dietas aniónicas, las cuales tienen un exceso de aniones sobre los cationes. En vacuno lechero, se ha demostrado que estas sales son efectivas en la prevención de la tetania de la lactación (Otzel, 1991; Mellau *et al.*, 2004). El exceso aniónico aparentemente aumenta la absorción de Ca en el tracto gastrointestinal y la resorción de este mineral desde el hueso.

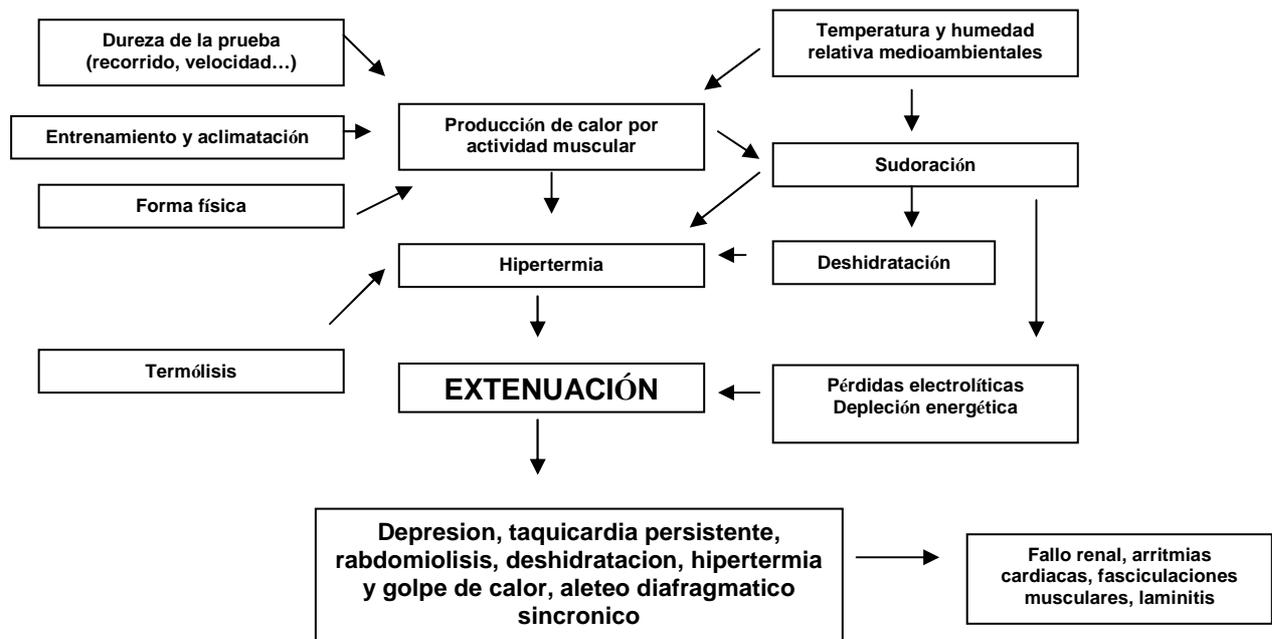
Por otro lado, el aporte de electrolitos antes, durante y tras las competiciones para minimizar o disminuir la alcalosis metabólica podría reducir el riesgo de desarrollo de flutter diafragmático sincrónico (Carlson, 1985; Flaminio y Rush, 1998).

cardiovascular, alteran la función termorreguladora y finalmente conducen a fatiga y extenuación si no es corregido dichos déficits hidroelectrolíticos. Por tanto, la rehidratación es necesaria tras un ejercicio prolongado o bien tras episodios de privación de agua y sudoración intensa. De hecho, la rehidratación efectiva mejora el rendimiento físico y reduce el riesgo de extenuación en las siguientes fases de ejercicio (Foreman, 1998; José-Cunilleras, 2004). En la figura

6 quedan reflejados los mecanismos fisiopatológicos más importantes

desencadenantes de la extenuación en el caballo de resistencia.

FIGURA 6. Procesos fisiopatológicos que conllevan a un síndrome de extenuación (modificado de Hyypä y Pösö, 2004).



Tras las claudicaciones, las patologías metabólicas son la causa médica más importante de eliminación de caballos de raid en competición. Burger y Dollinger (1998), sobre un total de 7117 caballos de raid, encontraron que un 63% de las causas de eliminación eran cojeras y un 24% patologías metabólicas. Las competiciones sobre distancias comprendidas entre 80 y 110km parecen tener la incidencia más elevada de descalificaciones por motivos metabólicos (37%). No obstante, algunas competiciones realizadas en los países Árabes parecen representar un reto metabólico más intenso para los caballos, con una incidencia del 68% de patologías metabólicas, quizá en asociación a las

velocidades más altas y a las condiciones ambientales más duras (Burger y Dollinger, 1998).

Los síntomas más frecuentes incluyen depresión, anorexia, falta de estímulo de la sed a pesar de la deshidratación persistente, hipertermia, taquicardia y taquipnea (Carlson, 1985; Foreman, 1998). Las manifestaciones indicativas de deshidratación y descenso del rendimiento cardiaco, tales como tiempo de relleno capilar prolongado, pulso arterial reducido y pliegue cutáneo persistente, son comunes en animales extenuados. En algunas ocasiones, se aprecian heces secas, íleo paralítico intestinal, pérdida del tono anal y dolor cólico.

El diagnóstico se basa en la historia clínica, sintomatología y hallazgos laboratoriales. El análisis hematológico revela hemoconcentración, neutrofilia y linfopenia, consistentes con deshidratación y leucograma de estrés (Carlson *et al.*, 1976; Rose *et al.*, 1979; Snow *et al.*, 1982). Cuando existe diarrea, no obstante, se puede encontrar leucopenia con desviación degenerativa hacia la izquierda (Foreman, 1998). Las alteraciones electrolíticas varían, si bien las más comunes son hipocloremia, hipocalcemia, hipomagnesemia e hipo o hipernatremia (Carlson *et al.*, 1976; Snow *et al.*, 1982; Foreman, 1998). La deshidratación, junto con el deterioro de la función renal, causa elevaciones de las concentraciones plasmáticas de urea y Cr. Asimismo, el daño muscular por el ejercicio continuado y potenciado por la restricción en el aporte sanguíneo hacia las miofibras, condiciona incrementos significativos de las actividades plasmáticas de las enzimas musculares CK y AST (Muñoz *et al.*, 2002; 2006; Muñoz *et al.*, 2010).

El tratamiento es variado y depende de la/s patología/s asociadas a la extenuación. El manejo inmediato consiste en la suspensión del ejercicio y en favorecer la termorregulación, mediante la aplicación cutánea de grandes volúmenes de agua fría o la utilización de ventiladores. Diversas investigaciones, realizadas tanto en condiciones de campo como en laboratorio, han demostrado que la utilización de agua fría sobre la superficie corporal reduce la temperatura rectal de forma significativa y esta práctica no parece estar asociada con fasciculaciones musculares o miopatías (Marlin *et al.*, 1998; Kohn *et al.*, 1999). No se deben dejar toallas o paños húmedos sobre la superficie corporal, a menos que se mojen continuamente, ya que

proporcionan un aislamiento térmico innecesario en un paciente comprometido (Foreman, 1998; Foreman *et al.*, 2006).

En todos los casos, la expansión del volumen plasmático mediante infusión intravenosa de soluciones de rehidratación es esencial (Foreman, 1998; José-Cunilleras, 2004; Hyyppä y Pösö, 2004). Se puede planificar una fluidoterapia oral en caballos con síntomas clínicos leves, que no ingieren agua de forma voluntaria. Es recomendable la administración de soluciones isotónicas a una velocidad de 6-8 l cada 30-60 min a través de una sonda nasogástrica. Las principales contraindicaciones para el uso de la terapia oral de fluidos son la existencia de reflujo nasogástrico, íleo paralítico intenso o síntomas de dolor cólico. Si la condición clínica del paciente no mejora en un plazo de 2-4 horas, es recomendable la fluidoterapia intravenosa (Foreman, 1998; José-Cunilleras, 2004).

La fluidoterapia intravenosa consiste en la administración de cristaloides, con soluciones ricas en Cl, electrolito perdido con el sudor y que tengan un cierto efecto acidificante, para controlar la alcalosis metabólica y/o respiratoria, como es el ringer lactato o el suero salino fisiológico, suplementado con K y Ca (Foreman, 1998).

Las principales estrategias de prevención antes de la competición son: entrenamiento, aclimatación a las condiciones ambientales y mantenimiento de un estado hidroelectrolítico adecuado. El entrenamiento mejora la tolerancia al calor, al imponer cargas repetidas de calor que estimulan los mecanismos de termólisis. Otros efectos beneficiosos del entrenamiento en este aspecto son el incremento de la relación superficie/masa corporal, la modificación del uso de substratos energéticos, con una menor

génesis de calor, el aumento de la volemia y la reducción de la acumulación subcutánea de tejido adiposo (McCutcheon y Geor, 2000).

Un aspecto esencial en la prevención del síndrome de extenuación es partir de un equilibrio hidroelectrolítico correcto, que se puede conseguir mediante la administración de pastas o de soluciones polielectrolíticas isotónicas. Por otro lado, la sobrecarga electrolítica los días previos a la competición no es efectiva, debido a que el riñón elimina el exceso de electrolitos durante las horas iniciales tras su administración. Un aspecto importante en la prevención de la extenuación es la repleción del contenido gastrointestinal con agua y fluidos, para promover su movilización durante el esfuerzo y paliar las pérdidas hídricas iniciales hasta que se inicie el estímulo de la sed. Por ello, es aconsejable que el animal reciba forraje/heno la noche previa a la competición (Foreman, 1998).

Durante la competición, los electrolitos pueden ser aportados en forma de pasta o mezclados con el alimento, ya que el agua salada no es palatable para muchos animales. No se recomienda la administración de pastas o soluciones hipertónicas en casos de deshidratación moderada a severa, ya que se produce un retraso en el vaciamiento gástrico y una reducción de la absorción digestiva, posiblemente debido a su efecto osmótico, que agravaría la deshidratación previa (Butudom *et al.*, 2002; 2004). Por otro lado, la alcalosis metabólica y/o respiratoria se puede minimizar favoreciendo la rehidratación y promoviendo la diferencia de temperatura entre piel y sudor mediante la aplicación de agua fría en la superficie corporal. Además, es recomendable propiciar las pérdidas por convección, mediante el

empleo de ventiladores, aprovechando las corrientes de agua y colocando al caballo en la sombra (Foreman, 1998).

La recuperación del estado hidroelectrolítico del caballo de resistencia tras la competición se facilita mediante la administración de soluciones electrolíticas o pastas durante las horas iniciales post-esfuerzo, junto con un acceso libre al agua. Asimismo, es importante la alimentación con heno, rico en agua y electrolitos, siempre y cuando no existan trastornos gastrointestinales (Foreman, 1998; José-Cunilleras, 2004).

Las complicaciones que pueden derivar de un síndrome de extenuación son el fallo renal agudo, las arritmias cardíacas, la laminitis, la rabdomiólisis y las alteraciones gastrointestinales.

**Fallo renal agudo:** El fallo renal agudo se asocia a deshidratación y descenso del flujo sanguíneo renal, con daño hipóxico en las células epiteliales tubulares. Estas células son más susceptibles a la hipoxia debido a sus funciones de reabsorción de solutos, que requieren una elevada tasa metabólica y un consumo elevado de oxígeno. Además, debido a sus peculiaridades anatómicas y fisiológicas, tan solo un 10-20% del flujo renal total llega hasta la porción medular renal, lo cual hace que la médula sea relativamente hipóxica y por tanto, más susceptible a la lesión isquémica (José-Cunilleras, 2004). Un segundo motivo de fallo renal agudo es la existencia de mioglobinuria por rabdomiólisis. La patogenia de este proceso no está muy clara, aunque parece que los cilindros de mioglobina dentro de los túbulos renales originan una lesión isquémica. Por otro lado, este pigmento reduce el flujo renal mediante efectos vasoconstrictores directos. Un tercer mecanismo patogénico es el daño oxidativo en las membranas

celulares tubulares tras el depósito del pigmento (Schott *et al.*, 1995). Se debe sospechar de fallo renal agudo en caballos con depresión marcada, anorexia y falta de producción de orina dentro de las primeras 6-12 horas tras el inicio de una fluidoterapia. Otros caballos, por el contrario, son incapaces de concentrar la orina a pesar de los síntomas evidentes de deshidratación (Divers *et al.*, 1987). Laboratorialmente, aparecerá azotemia, alteraciones en la gravedad específica urinaria, hiponatremia, hipocloremia y en algunos casos hipocalcemia e hipofosfatemia. El urianálisis con tiras reactivas y el examen del sedimento urinario también son procedimientos diagnóstico útiles. Finalmente, es importante la cuantificación de la excreción fraccional de electrolitos, si bien estos valores varían según la dieta y la terapia de fluidos (José-Cunilleras, 2004). El tratamiento del fallo renal agudo va encaminado a restaurar el equilibrio hídrico, electrolítico y ácido-básico mediante fluidoterapia. En aquellos casos en los que persiste la oliguria-anuria tras la fluidoterapia, está indicado el uso de fármacos que incrementan el flujo sanguíneo renal, la tasa de filtración glomerular y el flujo urinario. Dentro de estos fármacos se encuentran los diuréticos, como furosemida y/o manitol y los vasodilatadores renales, como la dopamina (José-Cunilleras y Hinchcliff, 1999).

**Arritmias cardiacas.** Se ha documentado que los caballos de raid con extenuación pueden desarrollar arritmias cardiacas, como fibrilación auricular o despolarizaciones prematuras ventriculares (Leroux *et al.*, 1995; Foreman, 1998). Las alteraciones en los gradientes electrolíticos a través de las membranas celulares pueden modificar el potencial de reposo y el umbral de

excitación. Por tanto, los cambios hidroelectrolíticos y ácido-básicos inducidos por el ejercicio de resistencia dan lugar a una génesis anormal del impulso eléctrico en el nódulo sinoauricular o bien a una conducción anómala a través del miocardio. Estas arritmias desaparecen al cesar el ejercicio y tras la corrección hidroelectrolítica mediante fluidoterapia (Leroux *et al.*, 1995; Foreman, 1998).

**Laminitis.** La laminitis puede aparecer durante o tras una prueba de resistencia y se ha asociado a hipoxia, lesión por reperfusión, endotoxemia, incremento de la permeabilidad de los vasos digitales, trombosis microvascular y absorción de grandes cantidades de exotoxinas bacterianas con la consiguiente activación de las metaloproteinasas (Foreman, 1998). Se ha sugerido que podría existir una relación entre una cojera subclínica, poco marcada y la aparición de laminitis en estos caballos. La cojera condiciona un aumento de los niveles circulantes de catecolaminas y cortisol, con vasoconstricción periférica, exacerbando los efectos laminíticos en casos de extenuación y shock hipovolémico (Foreman, 1998). El tratamiento se basa en la restauración de un correcto estado hidroelectrolítico y ácido-base mediante fluidoterapia, mantener al caballo en un box con cama blanda y administración de analgésicos, teniendo en cuenta el nivel hídrico y la posible existencia de fallo renal agudo en el paciente (Foreman, 1998).

**Rabdomiólisis.** Aunque la patogenia de la rabdomiólisis en caballos de resistencia no ha sido definida de forma exacta aún, se ha sugerido la intervención de diversos factores, como alteraciones hidroelectrolíticas, depleción de glucógeno muscular y acumulación intrafibrilar de

calor. Además, parece existir un vínculo entre claudicación y rabdomiólisis. Una cojera unilateral hará que un caballo se mueva de forma diferente, resultando en el uso excesivo de determinados grupos musculares o bien en el uso de grupos musculares que no se utilizan normalmente. Estos nuevos movimientos podrían estar implicados en la aparición de rabdomiólisis local o difusa (Foreman, 1998).

**Alteraciones gastrointestinales.** La alteración de la integridad de la mucosa

digestiva y vascular por la deshidratación puede dar lugar a diarrea. La pérdida de fluidos y la endotoxemia agravan los problemas de shock y laminitis. Por el contrario, en otros casos, se produce impactación de ciego o de colon mayor, debido a la deshidratación, que origina la consiguiente movilización de las reservas de agua desde el tracto gastrointestinales en un intento de mantener el volumen sanguíneo circulante (Foreman, 1999).

TABLA 13: Patologías del esfuerzo prolongado

	Presentación	Predisponente	Desencadenante	Importancia Clínica	Signos previos/asociados
Rabdomiolisis	Durante	Alteraciones electrolíticas	hipoperfusión	+++	Mioclónías, Aleteo, laminitis
Arritmias	Durante y hasta 2hs desp		Alteraciones electrolíticas (K)	+++	Mioclónías, Aleteo
Laminitis	Inmediatamente después, hasta 24hs	Hipoperfusión	Contusión (en raids largos y terrenos duros)	+++++	Deshidratación, pulso digital, cojera
Falla renal	1-3 días después	Deshidratación	Dh prolongada – mioglobinuria - Drogas	+++++	Deshidratación
Falla hepática	1-7 días después	Deshidratación	Deshidratación prolongada – Drogas	+++++	Deshidratación, depresión
Alcalosis	Durante	Hipertermia – Deshidratación	Hipocloremia	++	Mioclónías, deshidratación, Flutter
Hipertermia	Durante	Días húmedos, falta de aclimatación		+++	Respiración jadeante, deshidratación
Cólico	Inmediatamente después, hasta 24hs	Deshidratación, Alteraciones electrolíticas		+++++	Endotoxemia, diarrea, Ruptura de estómago
Aleteo diafragmático	Durante e inmediatamente desp	Alteraciones electrolíticas - Alcalosis	Hipocalcemia	++	Mioclónías, Arritmias

### 3.3. Investigación del doctorando sobre la fisiopatología del ejercicio

El presente trabajo de tesis resume parte de la investigación realizada durante años por parte de un grupo multidisciplinar de investigadores, de los Departamentos de Biología Celular, Fisiología e Inmunología, y de Medicina y Cirugía Animal, de la Universidad de Córdoba y el Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad Estatal de Colorado. Además, la experiencia de jueces, entrenadores, peones y jinetes ha sido esencial para el desarrollo de nuestro trabajo.

Desde la inscripción de esta tesis, me he involucrado en numerosos trabajos y ensayos que dieron fruto a:

1 Capítulo de libro: VIII Castejón F, Riber C, Santisteban R, Tobar P, Trigo P, Aguera S. Valoración ergométrica y muscular en cinta rodante. En: Valoración morfofuncional en la selección de reproductores del caballo PRE.p167-185. Editorial Foro de opinión el caballo español. 1998.

#### 14 Publicaciones en revistas indexadas

1. Castejón F, Trigo P, Muñoz A, Riber C. Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. *Equine Vet J Suppl* 2006 (36); 70- 73.
2. Riber C, Cuesta I, Muñoz A, Gata J, Trigo P, Castejón FM. Equine locomotor analysis on vet-gates in endurance events. *Equine Vet J Suppl* 2006 (36); 50-54.
3. Muñoz A, Cuesta I, Riber C, Gata J, Trigo P, Castejón FM. Trot asymmetry in relation to physical performance and metabolism in equine endurance rides. *Equine Vet J Suppl* 2006 (36); 50-54.
4. Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón F. Erythrocyte indices in relation to hydration and electrolytes in horses performing exercises of different intensity. *Vet Clin Pathol* (2008) 30:214–218
5. Redondo AJ, Carranza J, Trigo P. Fat diet reduces stress and intensity of startle reaction in horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* (2009) 118, 69 - 75.
6. Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón FM, Lucas RG, Palacio J (2010). The effects of hypertonic dehydration changes on renal function and arginine vasopressin in the horse during pulling exercise. *Vet. J.* En prensa.
7. Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010a). Risk factors associated with elimination in endurance rides. *Prev. Vet. Med.* Enviado para publicación Septiembre 2010)
8. Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010). Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides. *Equine vet J. Suppl* Aceptado
9. Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón-Riber C, Castejón FM. Dehydration, electrolyte imbalances and renin-angiotensin-aldosterone-vasopressin axis in successful and unsuccessful endurance horses. *Equine vet J. Suppl* Aceptado
10. Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón F (2010). Muscle damage, hydration, electrolyte balance and vasopressin concentrations in successful and exhausted endurance horses. *Pol J Vet Sci*;13(2):373-9.
11. Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón FM (2010). Clinical applications of the renin-angiotensin-aldosterone-vasopressin axis in the horse and future directions for research. *J. Equine vet. Sci.* En prensa.
12. Muñoz A, Rovira S, Riber C, Trigo P, Castejón FM (2010). Renin, angiotensin, aldosterone and vasopressin concentrations and echocardiographic findings in Spanish foals with bacterial endocarditis. *Br. J. Vet. Res. Anim. Sci.* Aceptado.
13. Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010c). Rib fracture during an endurance ride. *Can Vet J.* Aceptado
14. Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón FM (2010). Hematology and clinical biochemistry in chronically starved horses. *J. Equine vet. Sci.* En prensa.

#### Numerosos trabajos en congresos

- 1 Trigo PI, Riber Pérez C, Requena Domenech F, Agüera Buendía EI, Escribano Durán B, Rubio Luque D, Castejón Montijano F. Modificaciones de la bioquímica plasmática en equinos durante las competiciones de raid. Resúmenes IV Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina. Sevilla, España. 2003
- 2 Trigo PI, Riber-Pérez C, Santisteban-Valenzuela R, Vivo-Rodríguez R, Tobar-Bustos P, Castejón-Montijano F. Incrementos del ácido

- úrico en equinos sometidos a un esfuerzo prolongado, con y sin presentación de alteraciones metabólicas. Resúmenes V Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina Sicab 2004.
- 3 Riber Perez C, Castejón F, Trigo P. El equilibrio hídrico en el caballo de raid. Rev de la Fed Andaluza de hípica 10 (10-04), 28–30, 2004.
  - 4 Trigo P, Riber C, Agüera S, Castejón F. Plasma biochemistry in horses with metabolic alterations during endurance exercise. J. Physiol. Biochem. 2005, Vol 61 (1) 224.
  - 5 Trigo P, Estévez I, Redondo A, Castejón C, Castejón F. Modificaciones bioquímicas en equinos inducidas por diferentes dietas. Resúmenes. VI Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina, Sevilla Nov 2005.
  - 6 Trigo P, Redondo AJ, Estévez I, Muñoz A, Riber C, Castejón F. Effects of a high fat diet and aerobic training on carbohydrate and fat utilization during a maximal incremental exercise. Proceedings. VII International Congress Equine Exercise Physiology, Fontainebleu, France, 2006.
  - 7 Castejón F, Trigo P, Muñoz A, Riber C. Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. Proceedings . VII International Congress Equine Exercise Physiology, Fontainebleu, France, Ag 2006.
  - 8 Riber C, Cuesta I, Muñoz A, Gata J, Trigo P, Castejon FM. Equine locomotor analysis on vet-gates in endurance events. Proceedings. VII International Congress Equine Exercise Physiology, Fontainebleu, France, Ag 2006
  - 9 Muñoz A, Cuesta I, Riber C, Gata J, Trigo P, Castejon FM. Trot asymmetry in relation to physical performance and metabolism in equine endurance rides. Proceedings. VII International Congress Equine Exercise Physiology, Fontainebleu, France, Ag 2006.
  - 10 Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón FM. Concentraciones séricas de renina, angiotensina, aldosterona y arginina vasopresina en caballos de resistencia. Resúmenes XIX Conferencias de Veterinaria Equina, Asociación Argentina Veterinaria Equina. Buenos Aires, 2007.
  - 11 Riber C, Trigo P, Castejón FM, Bataller A, Muñoz A. Control neuroendocrino del equilibrio hidroelectrolítico y mineral en caballos de resistencia. Resúmenes XIX Conferencias de Veterinaria Equina, Asociación Argentina Veterinaria Equina. Buenos Aires, 2007.
  - 12 Trigo P, Redondo AJ, Estévez I, Muñoz A, Requena F, Rubio MD, Escribano A, Riber C, Castejón F. Exercise test utility in the evaluation of aerobic conditioning in horses. Acta Physiologica 2007; Volume 190, Supplement 655 :P59.
  - 13 Muñoz A, Riber C, Trigo P, Requena F, Castejón C, Castejón F. Concentraciones séricas de aldosterona en caballos de resistencia con diferente rendimiento deportivo RECVET 2007; II(8)
  - 14 Arroyo, F.; Rubio, Mª D.; Tovar, P.; Agüera, S.; Requena, F.; Trigo, P.; Escribano, B. Mª. Revista: Sanidad Militar: Revista de sanidad de las Fuerzas Armadas de España, 2007; 63 (3) Página(s):246-247
  - 15 Trigo P, Requena F, Rubio MD, Agüera EI, Riber C, Castejón F. Plasma concentration of muscular enzymes after a prolonged effort in horses. Acta Physiologica 2007; Volume 190, Supplement 655 :P58
  - 16 Redondo AJ, Carranza J, Trigo P Una dieta rica en grasas reduce el estrés y las reacciones violentas en los caballos. XII Congreso Nacional y IX Iberoamericano de Etología Valencia, España. Sep 2008
  - 17 Trigo P, Castejón F, Riber C, Rovira S, Muñoz A Interpretación hematológica y bioquímica en caballos de raid: Ayuda al diagnóstico de extenuación. Parte I: Resúmenes. IX Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina, Sevilla 2008.
  - 18 Trigo P, Castejón F, Riber C, Rovira S, Muñoz A Interpretación hematológica y bioquímica en caballos de raid: Ayuda al diagnóstico de extenuación. Parte II. Resúmenes. IX Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina, Sevilla 2008.
  - 19 Trigo P, Estévez I, Castejon F, Rezende A Muñoz A. Teste máximo de intensidade progresiva na avaliação de um treinamento aerobico. V&Z Em Minas Revista veterinaria e zootecnia em minas 2009 (100) 111-133
  - 20 Trigo P, Castejon F, Riber C, Rezende A, Stykova E, Muñoz A. Hematologia e bioquímica de cavalos de enduro. V&Z Em Minas Revista veterinaria e zootecnia em minas 2009 (100) 29-31
  - 21 Trigo P, Castejon F, Riber C, Rezende A, Stykova E, Muñoz A Ajuda ao diagnóstico de fadiga em cavalos de enduro. V&Z Em Minas Revista veterinaria e zootecnia em minas 2009 (100) 32-35
  - 22 Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A Fractura costal en un caballo de raid. Resúmenes. X Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina, Sevilla 2009.
  - 23 Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010). Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides. ICEEP 8 Cape Town, SA, Nov 2010
  - 24 Muñoz A, Riber P, Trigo C, Castejón-Riber C, Castejón F. Dehydration, electrolyte imbalances and renin-angiotensin-aldosterone-vasopressin axis in successful and unsuccessful endurance horses. ICEEP 8 Cape Town, SA, Nov 2010
  - 25 Castejón-Riber C, Trigo P, Muñoz A, Riber C, Santisteban R, Castejón FM. Comparative ergoespirometric adaptations to a treadmill exercise test in untrained show Andalusian and Arabian horses. ICEEP 8, Cape Town, S.A., Nov 2010.
  - 26 Trigo P, Muñoz A, Riber C, Santisteban R, Esgueva M, Castejón FM. Alteraciones en la conducción intra-auricular y aurículo-ventricular en reposo y durante el ejercicio en un caballo de raid. XI Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina, Sevilla 20010. Enviado

Siguiendo la normativa vigente para este tipo de tesis, hemos seleccionado tres publicaciones:

El primer trabajo (“Rib fracture during an endurance ride”) describe la aparición y consecuencias de una patología de presentación excepcional con un cuadro metabólico interesante que sirve de introducción al tema planteado.

El siguiente trabajo es un ensayo bioquímico con la intención de relacionar el éxito y fracaso deportivo con variables metabólicas (“Uric acid responses to endurance racing and relationship with performance and metabolic elimination”),

El último trabajo presentado “Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides”, es un ensayo bioquímico en 36 carreras de raid que con fines netamente prácticos, intenta discriminar aquellos caballos que serán eliminados por condiciones metabólicas de aquellos que culminan la prueba, una fase antes de su eliminación.

## 4. OBJETIVOS

Este trabajo de tesis estudia el ejercicio de resistencia en el caballo desde un enfoque fisiopatológico. El objetivo es generar información actualizada sobre aspectos metabólicos y clínico-patológicos, que puedan ser utilizados por veterinarios, jinetes, entrenadores y organizadores para aumentar el nivel competitivo de los caballos preservando al máximo su salud.

Como objetivos específicos se proponen los siguientes:

PRIMERO. Documentar aquellos casos clínicos en relación a procesos fisiopatológicos del ejercicio de resistencia que por su novedad o por su forma de presentación sean susceptibles de publicación.

SEGUNDO. Evaluar la relación entre el rendimiento competitivo y diversos marcadores bioquímicos de metabolismo energético, daño muscular y estado hídrico durante la competición.

TERCERO. Evaluar la relación entre la aparición de alteraciones metabólicas y diversos marcadores bioquímicos de fatiga y daño muscular.

CUARTO. En base al objetivo anterior, conocer el valor predictivo, individual y conjunto, de aquellos biomarcadores capaces de discriminar de forma temprana la aparición de alteraciones metabólicas en caballos de raid durante la competición.



## 5. METODOLOGÍA, RESULTADOS Y DISCUSIÓN CONJUNTA

El raid es un deporte practicado mundialmente. Por su alta exigencia metabólica tiene una tasa de abandono y eliminación muy elevada como se muestra en la tabla 14.

TABLA 14: Porcentajes de finalización en carreras de raid

Nivel	Elim		Elim	
	Exitosos	Cojeras	Met	Retirados
CEN*	42,21	21,90	7,67	60,90
CEN**	45,24	20,65	9,51	59,34
CEN***	58,64	25,00	7,41	58,54

Fuente: Trigo *et al.*, 2010a

Las eliminaciones son por dos motivos fundamentales: claudicaciones y alteraciones metabólicas que ponen en riesgo la vida del animal. Desgraciadamente, la investigación epidemiológica es escasa en este deporte, tal vez por el tipo de variables que utiliza, ya que requiere un gran número de animales para su estudio. El raid presenta un inconveniente muy importante dado por la naturaleza de este deporte. El número de carreras es limitado, y para aumentar el número de animales (n), se debe ampliar el espacio geográfico o temporal. Al competir en escenarios naturales, la ampliación de la zona de estudio aumenta las variables exógenas y con ésta el error inestimado (Hosmer y Lemeshow, 2000). Otra alternativa es aumentar el periodo de tiempo del estudio, con lo cual, si bien en menor medida, caemos en el mismo error

que antes. Por otro lado la superación en la velocidad de las pruebas hace que sean incomparables carreras similares con 5 años de diferencia. Una tercera opción es la realización de ensayos a pequeña escala en ambientes controlados (ensayos propiamente dichos) con objetivos muy discretos. Este tipo de investigación ha tenido un auge importante en Francia, y a pesar de que no tuvo publicación científica, ha tenido una buena distribución, marcando el punto de inicio.

Recientemente hemos culminado un trabajo a gran escala con 1500 animales referido a factores de riesgo en la eliminación de caballos en carreras de resistencia (Trigo *et al.*, 2010a). Actualmente el grupo de Harold Schott II en EE.UU. se encuentra trabajando en un programa similar. Comenzaron hace 4 años en un modelo temporal, y finalmente cambiaron a un modelo geográfico por los inconvenientes ya expuestos.

Las eliminaciones suponen un problema grave, dado que muchos participantes compiten buscando mejorar su rendimiento anterior, sin rivalizar directamente con los otros jinetes, considerando culminar la distancia como un triunfo. Sin embargo el problema mas grave de este deporte son las alteraciones metabólicas graves, y fundamentalmente las muertes derivadas.

Los accidentes y las lesiones traumáticas son comunes durante las carreras de resistencia. Según informes de *American Endurance Ride Conference*, el 18% de las muertes de caballos en carreras de

resistencia se deben a accidentes traumáticos. Si bien muchos son imprevisibles y asociados a la dificultad del terreno, los informes, recopilación y estudio de accidentes y lesiones durante las carreras pueden ayudar a reducirlos y evitar muertes.

En nuestro primer trabajo (Trigo *et al.*, 2010c), se describe un caso fatal de fractura costal a consecuencia de una caída en una carrera de resistencia. El caballo murió al día siguiente de la carrera sin mostrar signos clínicos claros de disfunción respiratoria, siendo el diagnóstico realizado post-mortem.

La lesión se produjo en el primer tercio de la carrera (45km), y continuó sin mostrar intolerancia al ejercicio, superando los controles veterinarios, hasta el km 96, donde fue eliminado. El único signo antes de la última fase fue una respiración superficial después de apretar la cincha. Durante la última fase, el caballo se mostró apático y 1 km antes de la final de la carrera, intentó acostarse, sin ninguna intención de continuar. El caballo fue eliminado de la carrera con diagnóstico de agotamiento. Adicionalmente, se observó aleteo diafragmático sincrónico durante algunos minutos, antes de llegar al control veterinario.

El animal fue transportado a la zona de tratamiento veterinario, situado a 2,5 km del lugar de la competición. Al llegar, el caballo estaba sentado en el remolque. En el área de tratamiento, el dueño observó un comportamiento sorprendentemente agresivo al manipular la parte ventral del tórax. Inmediatamente después, el caballo mostró una taquipnea superficial durante un minuto.

A las 2 horas de finalizada la carrera los signos clínicos de agotamiento y aleteo diafragmático sincrónico no se observaban, recibiendo la autorización

para abandonar el lugar de la competición, si bien el propietario decidió esperar un día para viajar.

El día después de la prueba, a primeras horas de la tarde, después de haber estado bebiendo y comiendo con normalidad, el caballo fue encontrado muerto en el box.

Un examen post mortem completo mostró las costillas 6, 7 y 8 en el hemitórax derecho fracturadas en el tercio proximal y laceraciones y hemorragias en los músculos intercostales adyacentes. Se evidenció hemotórax y neumotórax. El parénquima pulmonar adyacente a las fracturas presentaba una lesión hemorrágica traumática. La mitad ventral del lóbulo diafragmático del pulmón derecho contenía sangre. Se encontró sangre en las vías respiratorias inferiores, hasta la tráquea. No se encontraron otras anomalías macroscópicas.

Se recolectó la orina para un análisis completo, y los valores estuvieron dentro de los límites normales.

Lo llamativo del caso es que la lesión permaneció sin síntomas aparentes hasta la última fase del evento, cuando el dolor de las costillas fracturadas, la lesión en los músculos intercostales y / o el hemotórax y neumotórax indujeron cambios de comportamiento evidentes y metabólicos discretos. Es probable que la lesión costal, originalmente consistiera en fracturas incompletas. El ejercicio intenso y/o decúbito y movimientos en el box pudieron haber producido el posterior desplazamiento de la fractura induciendo la concomitante contusión pulmonar, hemotórax y neumotórax (Hassel, 2007). Los cambios respiratorios mencionados, probablemente inducidos por dolor, podrían haber resultado en una alcalosis respiratoria, y como consecuencia, el

aleteo diafragmático sincrónico (Masmann *et al.*, 1974; Foreman, 1998).

En nuestra opinión, el examen post-mortem debe ser obligatorio para las muertes relacionadas con la competición. Los datos deben ser recogidos y comunicados para la difusión de conocimientos a la comunidad veterinaria.

El reglamento internacional cita que los jinetes que participan en las competiciones de raid deben comprender y reconocer los signos de estrés relacionados con el agotamiento, y en caso de duda siempre optar por la precaución. Sin embargo, ¿pueden los jinetes estar preparados para reconocer este tipo de signos?

Por otro lado, debe recomendarse a los veterinarios implicados en este tipo de competiciones que incluyan dentro del diagnóstico diferencial de extenuación otras patologías, no siempre con una asociación directa con el ejercicio físico.

Con este trabajo se muestran dos importantes cosas. Debido a la exigencia multiorgánica de este deporte, una determinada patología, como en este caso una fractura costal, tiene unas manifestaciones espectaculares y nunca antes descritas (Foreman, 1998). Por otro lado, en este deporte que sufre una evolución constante, se hace mención a la importancia de registrar estos hallazgos y extenderlos a la comunidad veterinaria para que no sigan cobrando vidas equinas (Trigo *et al.*, 2010c).

Además de este caso descrito y en vías de publicación, nos encontramos algunos casos (fatales y no fatales) que no eran susceptibles de publicación por su nula novedad. Adicionalmente, tuvimos una muerte por insuficiencia renal aguda donde nunca pudimos avanzar con las investigaciones toxicológicas por

limitaciones legales. En el caso publicado, fue de suma importancia la colaboración del propietario que permitió realizar la necropsia y tomar las muestras necesarias. Desgraciadamente el vacío legal y reglamentario del manejo diagnóstico de las situaciones catastróficas, sumado a la dificultad diagnóstica en situaciones novedosas, dificulta enormemente esta tarea.

Una vez adentrados en los desordenes metabólicos que conspiran contra el bienestar de nuestros atletas equinos, propusimos una nueva línea de trabajo con el fin de comprender fisiológicamente lo que les sucede se aproximan al límite metabólico. El objetivo general de esta línea era discriminar desde un punto de vista bioquímico caballos con compromiso metabólico.

En esta tesis se presenta uno los trabajos fruto de estas investigaciones.

“Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations” (Castejón *et al.*, 2006).

En este trabajo se estudió un total de 50 caballos, pertenecientes a tres ensayos. El ensayo 1 se llevó a cabo con 24 animales durante una carrera de 121 km, bajo condiciones climatológicas moderadas (22-28°C de temperatura ambiental, 43-55% de humedad relativa). Con respecto al sexo de los 24 caballos, 15 fueron hembras y 9 machos, con edades comprendidas entre los 8 y 14 años y pertenecientes a diferentes razas (9 cruzados de árabe, 7 árabes, 4 cruzados de Pura Sangre Inglés, 3 Angloárabes y 1 Pura Sangre Inglés). La velocidad media durante la competición fue de 13,1-17,6 km/h.

El ensayo 2 se realizó sobre un total de 17 caballos, 9 hembras y 8 machos, con

edades entre 9 y 16 años, de diferentes razas (7 árabes, 5 cruzados de árabe, 3 cruces de Pura Sangre Inglés, 1 caballo de polo y 1 caballo Angloárabe). Estos animales compitieron sobre una distancia de 164 km, con temperaturas ambientales comprendidas entre 28 y 37°C y humedades relativas de 29 a 33%.

Finalmente, el ensayo 3 integró a 19 caballos que fueron eliminados por desequilibrios metabólicos. Las razones de su eliminación en competición fueron las siguientes: falta o retraso en la recuperación de la frecuencia cardíaca (n=5), extenuación (n=4), rbdomiólisis (n=3), flutter o aleteo diafragmático sincrónico (n=3), arritmias cardíacas (n=1), diarrea (n=1) y laminitis (n=1). Todos los caballos de este ensayo requirieron tratamiento médico, si bien las muestras fueron obtenidas antes de iniciar la terapia.

En los ensayos 1 y 2, se obtuvieron muestras de sangre en reposo y dentro de los 15 min iniciales tras finalizar el ejercicio. En el ensayo 3, se extrajeron las muestras dentro de los 15 min iniciales tras su evaluación en el vet-gate donde fueron eliminados. Las muestras en reposo o basales fueron obtenidas el día previo a la competición. En los tres

ensayos, se extrajo sangre de la vena yugular externa, la cual se introdujo en tubos con heparina litio como anticoagulante. Se procedió a su centrifugación dentro de los 10 min iniciales tras la recogida y se separó el plasma, el cual permaneció refrigerado hasta su llegada al laboratorio. Se analizaron los siguientes parámetros: creatina kinasa (CK), aspartato aminotransferasa (AST), lactato deshidrogenasa (LDH), fosfatasa alcalina (AP), ácido úrico (AU), creatinina (Cr), lactato (La) y proteínas plasmáticas totales (PP). Estas determinaciones se realizaron mediante espectrofotometría.

A continuación se presentan los datos como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias entre los datos obtenidos antes y después del ejercicio para los ensayos 1 y 2 se evaluaron mediante un test pareado de Student. Las diferencias entre grupos se evaluaron con un análisis de varianza, ANOVA. Se utilizó un test post-hoc de Fisher para valorar las diferencias entre medias. El nivel de significación se fijó a  $p < 0,05$ . Se hizo una correlación de Pearson para estudiar la relación entre los incrementos de todas las variables analizadas y el aumento de AU.

TABLA 15: Actividades CPK, AST, LDH y AP en los diferentes ensayos

Ensayo	CPK (UI/l)			AST (UI/l)			LDH (UI/l)			AP (UI/l)			
	Media	DE	r	Media	DE	r	Media	DE	r	Media	DE	r	
1 (n=24)	Km 0	221,7	127,6	268,0	89,8		410,4	124		258,9	96,09		
	Km 121	984,2 <sup>a</sup>	480,3	0,42	389,3	93,1	0,27	779,6 <sup>*</sup>	345	0,15	398,2 <sup>*</sup>	118,88	0,16
2 (n=17)	Km 0	317,8	136,4	281,7	78,2		321,9	118		242,0	87,33		
	Km 164	1189 <sup>a</sup>	522,7	0,47	409,2 <sup>*</sup>	113	-	563,7 <sup>*</sup>	168	0,18	511,3 <sup>*</sup>	159,35	-0,09
3 (n=19)		1850 <sup>b</sup>	720,0	0,6	511,9	241		764,9	353		526,2	267,33	0,19

\* Diferencias significativas con valores en reposo

<sup>b</sup> Diferencias significativas con a

r: Coeficiente de correlación de Pearson entre el incremento de cada variable y el aumento de ácido úrico

Los valores obtenidos para las actividades enzimáticas CK, AST, LDH y PA en los tres ensayos se presentan en la tabla 15. Igualmente, las medias para los datos de AU, Cr, La y PP se muestran en la tabla 16.

Como se puede ver en estas tablas, no hubo diferencias significativas entre los ensayos 1 y 2, que comprendían a los

caballos que concluyeron las competiciones, si bien recorrieron distancias diferentes. Por otro lado, las medias de AU, CK, AST, LDH, AP, PP y Cr se vieron incrementadas de forma significativa en ambos ensayos. La velocidad de ejercicio fue superior en los caballos del ensayo 1 ( $15,5 \pm 1,06$  km/h) que en los del ensayo 2 ( $14,0 \pm 1,26$  km/h).

TABLA 16. Concentraciones de ácido úrico, creatinina, lactato y proteínas plasmáticas en los diversos ensayos

Assay	AU (mg/dl)		Cr (mg/dl)			La (mmol/l)			PP (mg/dl)		
	Media	SD	Media	SD	r	Media	SD	r	Media	SD	r
Km 0	1,71	0,61	1,12	0,18		0,82	0,33		6,61	0,51	
1 (n=24) Km 121	4,91 <sup>*a</sup>	2,3	1,88 <sup>*</sup>	0,61	0,22	1,81	0,8	0,07	7,59 <sup>*a</sup>	0,49	0,52
Km 0	1,27	0,41	1,29	0,35		0,96	0,68		6,77	0,26	
2 (n=17) Km 164	4,62 <sup>*a</sup>	2,03	2,05 <sup>*</sup>	0,63	0,17	2,03	1,06	-0,2	7,40 <sup>*a</sup>	0,67	0,45
3 (n=19)	8,03 <sup>b</sup>	3,11	2,11	1,13		2,36	1,31	0,12	8,36 <sup>b</sup>	0,32	0,46

\* Diferencias significativas con valores de reposo.

b Diferencias significativas con a

r: Coeficiente de correlación de Pearson entre el incremento de cada variable y el aumento de ácido úrico.

Los caballos que fueron eliminados por alteraciones metabólicas, de forma independiente a su etiología, se caracterizaron por valores significativamente superiores de AU, CK y PP en comparación con los animales de los ensayos 1 y 2. Además, se encontraron correlaciones significativas entre AU y CK en el ensayo 1 ( $r=0,42$ ,  $p=0,017$ ), en el ensayo 2 ( $r=0,47$ ,  $p=0,009$ ) y en el ensayo 3 ( $r=0,60$ ,  $p=0,001$ ) (Figuras 7, 8 y 9). De igual modo, se hallaron correlaciones significativas entre las concentraciones de AU y PP en los caballos del ensayo 1

( $r=0,52$ ,  $p=0,011$ ) y del ensayo 2 ( $r=0,46$ ,  $p=0,019$ ).

En cuanto a la concentración de AU, se encontró que los caballos más veloces tenían valores más altos en el ensayo 1 ( $61 \pm 16$ ,  $44 \pm 22$  y  $40 \pm 14$  mg/dl) y que los caballos más lentos en el ensayo 2 ( $56 \pm 14$  en los caballos más rápidos y  $34 \pm 11,5$  mg/dl para los más lentos).

Por otro lado, cabe destacar que no hubo diferencias en la concentración de AU en cuanto a la clasificación de los animales, de acuerdo a su tiempo de recuperación y al tiempo en competición.

FIGURA 7. Correlación entre AU y CK en el ensayo 1

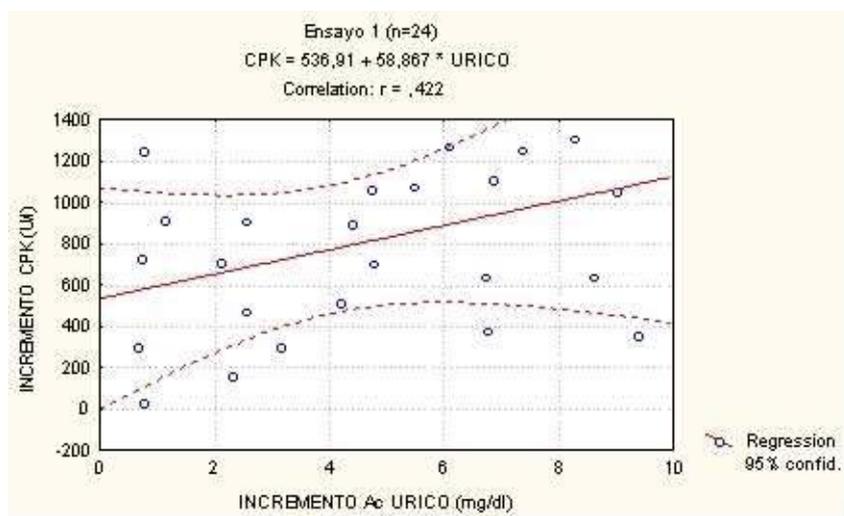


FIGURA 8. Correlación entre AU y CK en el ensayo 2

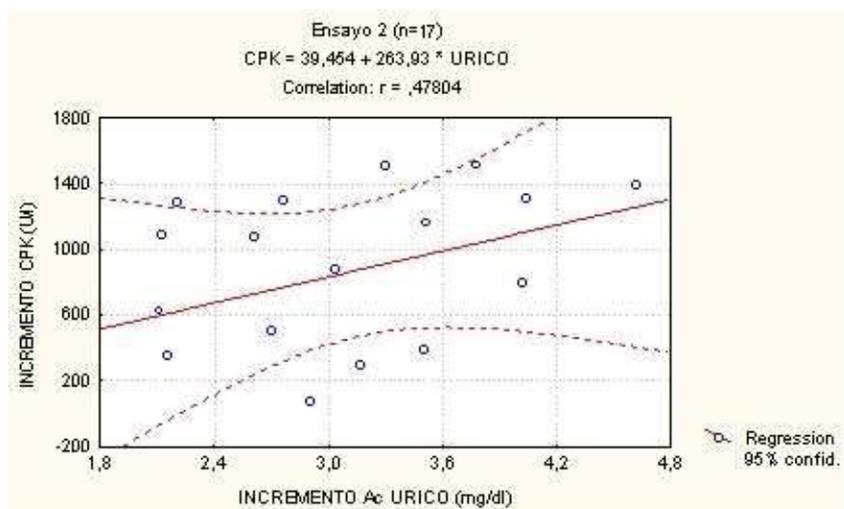
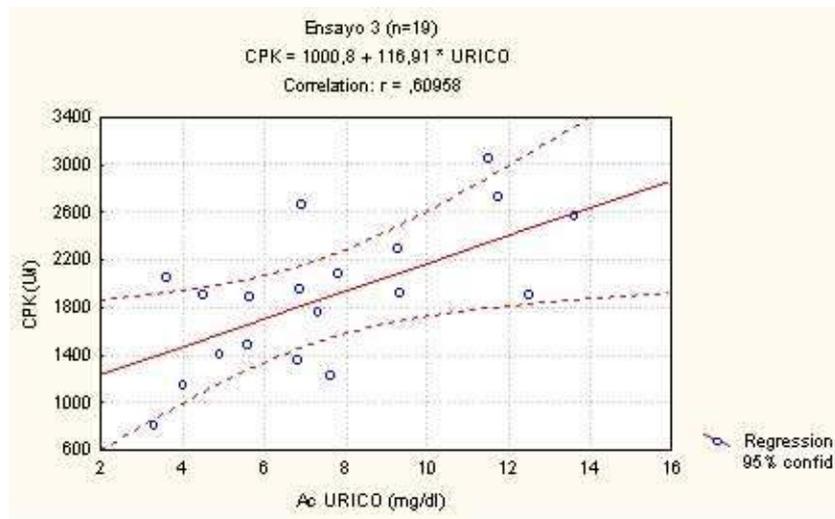


FIGURA 9. Correlación entre AU y CK en el ensayo 3



Los incrementos observados en AU, CK, AST, LDH, AP, PP y Cr han sido descritos previamente y representan la respuesta normal a un ejercicio prolongado (Rose *et al.*, 1983; Schott *et al.*, 1997; 2006; Barton *et al.*, 2003).

Un hallazgo interesante fue la falta de diferencias significativas entre los ensayos 1 y 2, es decir, al comparar entre caballos exitosos, que concluyeron competiciones sobre 121 y 164 km. Estos resultados coinciden con los descritos previamente por Barton *et al.* (2003), quienes compararon diversos parámetros hematológicos y bioquímicos en caballos que cubrieron distancias de 48, 83 y 159 km bajo las mismas condiciones de pista y meteorológicas. Los cambios bioquímicos que experimentan estos atletas equinos parecen ser el resultado de las interacciones entre distancia, condiciones ambientales, velocidad, terreno, experiencia del caballo y del jinete,

entrenamiento y aclimatización (Rose *et al.*, 1983; Foreman, 1998; Barton *et al.*, 2003).

Durante el ejercicio intenso, se produce una degradación de los nucleótidos de purina a nivel muscular, para la resíntesis energéticas. En aquellos momentos en los que los requerimientos energéticos se incrementan de forma intensa, el aumento de ADP (adenosín difosfato) estimula las enzimas fosfotransferasas citosólicas como la creatina kinasa o la adenilato kinasa. La CK tiene un sustrato rápidamente agotable, mientras que la adenilato kinasa al producir una molécula de ATP y una de AMP (adenosín monofosfato) a partir de dos de ADP, tiene un efecto negativo muy efectivo sobre el estímulo que induce su actividad, terminando así el ciclo. El AMP se mantiene dentro de unos estrechos márgenes en la célula muscular, aún en situaciones extremas, tal vez porque

inhibe al último recurso energético de la célula muscular: la adenilato kinasa. La desaminación del AMP a inosina 5' monofosfato (IMP) y amonio, sirve a este efecto entre otros. Finalmente la célula oxida el IMP una o dos veces para liberarla al torrente circulatorio como xantina o hipoxantina que se transforma en AU en varios tejidos, fundamentalmente in situ por las células endoteliales. Posteriormente, la enzima hepática uricasa convierte el AU en alantoína o bien esta reacción se produce espontáneamente contra radicales libres (Dudley y Terjung, 1985; Essén-Gustavsson *et al.*, 1999).

Al llegar al riñón, el AU es filtrado, reabsorbido y secretado. Sólo el 2% no es reabsorbido, y constituye el 15-20% de la cantidad total excretada. Una pequeña porción se elimina por el tubo digestivo. La eliminación es relativamente lenta, observándose el retorno a valores basales a las 12 horas tras incrementos de duplicación por ejercicio (Lowenstein, 1990).

Existen vías de recuperación de purinas, pero su importancia es baja cuando las concentraciones de ADP o AMP son elevadas. La célula puede igualmente sintetizar de novo nucleótidos mediante un proceso relativamente sencillo, pero mientras se mantiene el ejercicio, los niveles de AMP e IMP incrementados lo mantienen inhibido (Dudley y Terjung, 1985).

En definitiva la producción de AU a partir de nucleótidos de adenina toma importancia únicamente cuando el equilibrio energético es crítico y sostenido, por lo cual las elevaciones de AU debidas al ejercicio pueden considerarse como consecuencia de degradación de nucleótidos de adenina en respuesta a carencias energéticas prolongadas. Cabe

resaltar que debido a la relativa baja velocidad de reacción de la uricasa, el AU es el metabolito que sufre con gran diferencia el mayor aumento cuando se sobrecarga esta vía (Dudley y Terjung, 1985; Hellsten-Westing *et al.*, 1991; Essen-Gustavsson *et al.*, 1999).

El aumento de AU puede deberse tanto a un agotamiento de las reservas energéticas como a una priorización de las vías de emergencia, debido a una exigencia incrementada o a una descompensación celular (Hellsten-Westing *et al.*, 1991; Tullson *et al.*, 1995). De esta forma el aumento del AU puede ser una causa o una consecuencia de la fatiga celular. Se encuentran elevaciones significativas tanto en caballos exitosos con un rendimiento superior a la media, como en animales eliminados por compromiso metabólico (Castejón *et al.*, 2006). Adicionalmente, la xantina oxidoreductasa se ha visto implicada en la liberación de grandes cantidades de radicales libres, responsables de daños permanentes en las membranas celulares y mitocondriales (Hellsten-Westing *et al.*, 1991; Mills *et al.*, 1997), lo cual constituye una explicación a los factores de riesgo recientemente encontrados donde caballos que han sufrido una eliminación metabólica durante el último año tienen una mayor probabilidad de ser eliminados por el mismo motivo o bien por cojeras (Trigo *et al.* 2010a).

La concentración de proteínas plasmáticas (PP) constituye otro indicador de suma utilidad en la predicción temprana de eliminación metabólica (Trigo *et al.*, 2010b).

El aumento de las PP muestra la pérdida de agua del líquido extracelular, el cual se encuentra en equilibrio con el intracelular. Sin embargo existen dentro de la célula numerosas moléculas que por su poder

osmótico disminuyen la pérdida de fluidos dentro de ésta. Por lo tanto, la deshidratación extracelular es sólo una sobreestimación de la deshidratación intracelular. De todas formas en cuanto disminuye la fluidez del líquido intracelular, se produce una ineficiencia metabólica en términos energéticos. Por ello, animales deshidratados ante esfuerzos similares, incrementan la utilización de mecanismos más veloces y sencillos de utilización de energía como la glucólisis anaeróbica, fosfato de creatinina, los cuales son más rápidamente agotables (Rasanen *et al.*, 1993; Moriwaki *et al.*, 1999). Por otro lado, la utilización de vías energéticas más complejas, en particular el metabolismo lipídico genera mayores cantidades de agua metabólica por unidad de ATP, lo que indirectamente hidrata la célula (Marlin *et al.*, 1996). En este trabajo (Castejón *et al.*, 2006) hemos encontrado altas correlaciones entre PP y AU. Varios autores mencionan la relación entre el estado hídrico celular y la capacidad oxidativa en los ejercicios prolongados. Sin embargo aún no queda claro quién se subordina a quién (Helge *et al.*, 2001).

Dentro de las enzimas, sólo la CK mostró una elevación significativa en todos los ensayos. A su vez, se ha observado una correlación positiva con la concentración de AU en los ensayos 1 y 2. Esta correlación no se encontró en el ensayo 3.

Los valores elevados de enzimas plasmáticas se interpretaban antiguamente como prueba irrefutable de necrosis celular. Sin embargo el ejercicio intenso realizado en forma prolongada también resulta en la liberación de cantidades importantes de enzimas al lecho vascular. La difusión de las mismas no es necesariamente una consecuencia de una lisis celular, pudiendo producirse

también por una producción excesiva, alteraciones en la inactivación y eliminación, y más comúnmente, por aumento de la permeabilidad de membrana (Zavala *et al.*, 1978). Probablemente la elevación enzimática con el ejercicio se deba tanto a un aumento de la permeabilidad de membrana, favorecido fundamentalmente por la temperatura y déficit energético, como a una apoptosis inducida por el ejercicio (fundamentalmente en las enzimas musculares). La velocidad de difusión depende de la concentración de la enzima, la localización dentro de la célula y el peso molecular de la enzima (Harris *et al.*, 1998). De esta forma una enzima relativamente pequeña, citoplasmática, y sumamente abundante, como la CK, alcanza valores significativamente superiores a los registrados antes de la competición. Sin embargo los aumentos son menores cuando el peso molecular aumenta (LDH), o bien aumenta el peso molecular y su concentración celular es menor (FA), o en última instancia, cuando su ubicación es citosólica-mitocondrial (AST) (Zavala *et al.*, 1978; Valberg *et al.*, 1993).

La actividad de la xantino-oxidasa ha sido implicada como principal productora de radicales libres durante el ejercicio. Paradójicamente, AU ha sido propuesto con éxito como un protector contra los radicales libres. Su función en este campo ha sido demostrada, tanto en caballos como en personas (Mills *et al.*, 1996; Waring *et al.*, 2001; De Moffarts *et al.*, 2006; González *et al.*, 2008). Sin embargo, experimentos en equinos, mediante bloqueos de la enzima, han disminuido la formación de radicales libres, lo que indica que la síntesis de AU contribuye más a la formación que a la destrucción de radicales libres (Hellsten-Westling *et al.*, 1991). La inactivación de la

xantino-oxidasa también originó una disminución de los valores de CK plasmáticos, ante cargas similares de ejercicio, indicando que los radicales libres formados en el citosol, alteran el funcionamiento de la membrana plasmática (Mills *et al.*, 1997).

De esta forma podemos pensar que los incrementos de AU como reflejo del agotamiento de los recursos energéticos se encuentran relacionados con una pérdida de la selectividad de la membrana plasmática seguida o no de daño celular.

Una limitación a tener en cuenta en el presente estudio fue la no completa estandarización en el protocolo temporal de extracción de muestras sanguíneas. Los caballos eliminados tuvieron tiempos de recuperación más prolongados. El tiempo de recuperación hace referencia al periodo necesario desde que el caballo concluye una fase y su frecuencia cardiaca alcanza el valor límite permitido, solicitando la inspección veterinaria. Es lógico suponer que los caballos eliminados consumieron más tiempo hasta que el jinete/propietario solicitó la inspección veterinaria. Igualmente, el tiempo requerido por el veterinario para esta inspección podría haber sido más largo, debido al peor estado clínico de estos animales. Por tanto, la extracción de muestras sanguíneas se habría hecho tiempo después de la interrupción del ejercicio, al contrario de lo sucedido para los caballos exitosos, en los ensayos 1 y 2. Estas circunstancias, no modificables en una investigación de campo, podrían haber afectado a las concentraciones de AU. De hecho, se ha demostrado que las concentraciones de AU tras un ejercicio de alta intensidad siguen incrementándose durante el periodo de recuperación (Schuback y Essén-Gustavsson, 1998; Evans *et al.*, 2002). Sin

embargo, en atletas humanos, se ha confirmado que el cociente hipoxantina/AU es inferior tras ejercicios de resistencia en comparación con ejercicios de velocidad (Hellsten-Westing *et al.*, 1991). Según estos datos, el momento de la extracción de muestras durante o tras un ejercicio de resistencia podría ser menos crítico que tras un ejercicio de velocidad (Yamanaka *et al.*, 1992). En conocimiento de los autores, la cinética de las concentraciones circulantes de AU tras competiciones de resistencia no se ha estudiado en el caballo.

Como se ha comentado con anterioridad, la legislación que regula las competiciones de raid, así como la ética veterinaria, requieren que se realice una monitorización estrecha de los caballos participantes, para proteger su salud y garantizar su bienestar. Estos objetivos se consiguen mediante la valoración de la frecuencia cardiaca y de algunos síntomas clínicos asociados al estado hídrico, electrolítico y metabólico. Sin embargo, hasta este momento, la seguridad, la repetibilidad y las diferencias entre veterinarios en el sistema de valoración clínica de estos caballos, no se ha evaluado aún.

Si bien la frecuencia cardiaca parece ser un índice fiable del estado metabólico del caballo de raid en competición, existe un límite muy estrecho y a veces difícil de percibir, entre un caballo con fatiga fisiológica y otro con inicio de extenuación. Esto origina a veces disputas sobre el estado de un animal. Además, conlleva en ciertos casos, a un tratamiento médico innecesario y lo que es peor, al desarrollo de enfermedades severas ligadas al ejercicio que podrían haber sido evitadas si se pudieran haber detectado de forma precoz.

La literatura científica sobre las adaptaciones de numerosos parámetros hematológicos y bioquímicos en competiciones de resistencia sobre diversas distancias es muy abundante (Grosskopf y Van Rensburg, 1983; Rose *et al.*, 1983; Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan *et al.*, 1991; Lindinger y Ecker, 1995; Schott *et al.*, 1997; 2006; Barton *et al.*, 2003; Castejón *et al.*, 2006). Por el contrario, la información relativa a caballos eliminados es muy limitada (Schott *et al.*, 1997; Fielding *et al.*, 2009). El primero de estos artículos (Schott *et al.*, 1997) comparó las diferencias laboratoriales entre caballos exitosos y eliminados por patologías concretas. No obstante, el número de animales evaluado fue muy pequeño: 1 caballo con flutter diafragmático sincrónico y otro con extenuación. El segundo trabajo citado (Fielding *et al.*, 2009) se estudiaron 20 caballos eliminados de la competición por problemas metabólicos y remitidos a un Hospital Veterinario. Es lógico suponer que las patologías por las que estos caballos fueron remitidos puedan diferir de las encontradas en competición, las

cuales serían tratadas “in situ” por los veterinarios clínicos. Los casos remitidos habrían sido, por tanto, los que no respondieron a la terapia médica inicial o en los que hubo complicaciones substanciales que impidieron su tratamiento en el sitio de la competición.

En base a estas ideas y debido a los resultados que obtuvimos previamente (Castejón *et al.*, 2006), nos propusimos comprobar si nuestros datos podían tener una aplicación práctica y directa en las competiciones. Concretamente, queríamos verificar si existían algunas características laboratoriales en los controles veterinarios que permitieran la detección precoz de las eliminaciones por causas metabólicas.

Para ello realizamos el ensayo que dio lugar al trabajo “Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides” (Trigo *et al.*, 2010b).

En el mismo tuvimos que utilizar una muestra mucho más grande de población, ya que las variables fueron dicotomizadas, para su regresión.

TABLA 17. Características de las competiciones incluidas

	CEI*	CEI**	CEI***
Carreras (n)	15	9	12
Rango de velocidad media (km/h)	13,5-19,2	13,8-18,6	11-17,1
Rango de distancia (km)	72-86	110-124	151-169
Caballos estudiados			
Número total de caballos (n)	531	255	364
Caballos eliminados por problemas metabólicos (n)	42	28	36
Caballos en los que se tomaron muestras sanguíneas			
Número total de caballos muestreados (n)	103	74	106
Número de caballos eliminados por problemas metabólicos (n)	13	10	18

El objetivo de este trabajo fue muy práctico. Sabiendo ya por el trabajo anterior las modificaciones plasmáticas que sucedían en caballos con compromiso metabólico, queríamos ahora encontrar variables simples o bien combinaciones de ellas que tuvieran valor predictivo antes de la eliminación (un control veterinario antes).

El trabajo se realizó sobre un total de 283 caballos, que compitieron en 36 pruebas de resistencia (15 CEI\*, 9 CEI\*\* y 12 CEI\*\*\*). Estas competiciones se llevaron a cabo en España, Francia, Portugal y Alemania. Las características de las competiciones se presentan en la tabla 17.

No se siguió ningún criterio especial a la hora de seleccionar los caballos estudiados. Se obtuvieron muestras de todos aquellos animales de los que sus propietarios – jinetes- representantes accedieron al estudio. de los 283 caballos incluidos, 242 terminaron las carreras de forma apropiada y no presentaron ninguna enfermedad durante la competición ni tampoco en los días posteriores (grupo exitoso, E). El resto de los caballos, 41, fueron eliminados debido a patologías diversas de índole metabólica y necesitaron tratamiento médico (grupo metabólico, M). Los diagnósticos concretos de estos animales fueron los siguientes: falta de recuperación de la frecuencia cardíaca (n=11), caballos con síntomas clínicos compatibles con extenuación, sin manifestaciones patognomónicas de enfermedad (n=7), miopatías (n=7), flutter o aleteo diafragmático sincrónico (n=6), arritmias cardíacas (n=3), cólico (n=3), shock hipovolémico (n=2), diarrea (n=2) y síntomas neurológicos agudos centrales (1). La obtención de muestras se efectuó,

en todos los casos, antes de instaurar tratamiento médico.

Se extrajeron muestras de sangre de la vena yugular externa, antes de la competición, inmediatamente después del control veterinario obligatorio tras cada fase (vet-gate), al final de la competición en el grupo E o inmediatamente tras la eliminación en el caso del grupo M. Tras la extracción de las muestras, se determinó el valor hematócrito (HTO) mediante el método del microhematócrito. El resto de la muestra de sangre, se introdujo dentro de tubos con heparina litio, se centrifugaron los tubos lo antes posible y se procedió a la separación del plasma. Las muestras de plasma fueron mantenidas en refrigeración a 4-8°C durante las competiciones y durante su posterior transporte al laboratorio. Las muestras fueron analizadas dentro de las siguientes 48 hrs.

Se midieron los siguientes parámetros: creatina kinasa (CK), aspartato aminotransferasa (AST), lactato deshidrogenasa (LDH), ácido úrico (AU), urea, creatinina (Cr), lactato (La) y proteínas plasmáticas totales (PP). Estas determinaciones se llevaron a cabo mediante técnicas espectrofotométricas.

Todos los datos se presentan como medias  $\pm$  desviación estándar. Se valoró la normalidad mediante un test de Shapiro-Wilks. Las diferencias entre grupos se evaluaron mediante un análisis de varianza ANOVA. Las diferencias entre medias se analizaron mediante un test de Fisher LSD.

En el grupo E, se comparó entre las diversas distancias recorridas (80, 120 y 160 km), para valorar si existieron diferencias ligadas a la distancia e identificar las variables asociadas a la distancia cubierta. Cuando se observaron tales diferencias, se usó el coeficiente de

correlación de Pearson para valorar la relación con la distancia, llevándose a cabo una estandarización según la siguiente expresión:  $\text{variable estandarizada} = \frac{\text{variable}}{\text{distancia cubierta}}$ , para las actividades enzimáticas CK, AST, LDH y  $\text{variable estandarizada} = \frac{\text{variable} \times 100}{\text{distancia cubierta}}$ , para la concentración de Cr.

Los datos obtenidos de los caballos E (datos combinados del final de la competición), se compararon con los caballos M tras su eliminación (M Post) y con los valores encontrados en la fase previa antes de la eliminación de la competición (M Pre). Las transformaciones se valoraron para las variables continuadas para mejorar el modelo. Se hizo una dicotomización usando una curva ROC para cada variable, siendo el valor de corte el que presentó una mayor sensibilidad + especificidad. Se calcularon los valores de especificidad, sensibilidad, los valores predictivos positivos y negativos y los cocientes de probabilidad para estimar la capacidad de predicción de cada una de

las variables laboratoriales analizadas. Los factores asociados con la eliminación metabólica fueron analizados con posterioridad según un análisis de regresión logística múltiple. Las variables con un valor de p inferior a 0,20 fueron introducidos dentro del modelo de regresión logísticas. Aquellas variables que fueron excluidas fueron investigadas nuevamente, para valorar cualquier efecto debido a la introducción individual de las variables dentro del modelo preliminar (Hosmer y Lemeshow, 2000).

La velocidad relativa de la última fase fue considerada una variable independiente en estos pasos, para controlar este factor de riesgo.

Los porcentajes de caballos que fueron eliminados por problemas metabólicos fueron de 8, 11 y 10% respectivamente para las tres distancias estudiadas, 80, 120 y 160 km. Ocho de los caballos eliminados no necesitaron tratamiento médico. Además, 7 animales fueron eliminados en la primera fase. Ambos grupos fueron excluidos de la presente investigación.

TABLA 18. Valores laboratoriales tras competiciones de 80, 120 y 160 km en caballos con éxito deportivo (grupo E)

	80km (n=90)	120km (n=64)	160km (n=88)	r
HTO %	44,3±7a	45,7±4	46,4±5b	
PP mg/dl	7,5±0,4a	7,7±0,4b	7,7±0,5b	
Urea mg/dl	36±4a	39±5b	40±5b	
Cr mg/dl	1,7±0,2a	2±0,3b	2,2±0,3c	0,42 (p=0,015)
L mMol/l	1,8±0,3	2,1±0,6	2,0±0,7	
AU mg/dl	4,2±0,5a	4,5±0,8b	4,7±0,6b	
CK UI/l	683±165a	911±204b	1160±296c	0,64 (p<0,001)
AST UI/l	315±63a	475±101b	682±146c	0,81 (p<0,001)
LDH UI/l	512±95a	630±166b	818±237c	0,73 (p<0,001)

Las letras diferentes indican diferencias significativas entre las tres distancias  
r: Coeficientes de correlación de Pearson entre cada velocidad y la distancia recorrida

n.s.: No significativo

Los resultados obtenidos en los caballos del grupo E en las diversas competiciones se presentan en la tabla 18. Como se puede observar, algunos parámetros (CK, AST, LDH, Cr) no mostraron diferencias significativas entre los tres tipos de raids.

Los resultados derivados de la comparación de los datos post ejercicio del grupo E y de los datos pre y post del grupo M, se muestran en la tabla 19. En comparación con el grupo E, los valores M post fueron significativamente superiores

para los parámetros HTO, PP, AU, CK estandarizada, AST estandarizada y LDH estandarizada. Por otro lado e igualmente en comparación con los datos E post, los caballos M pre tuvieron valores superiores de PP. Asimismo, al comparar el grupo S y los valores del grupo M pre, las variables HTO, PP, AU, CK estandarizada y AST estandarizada tuvieron un valor de p inferior a 0,20, por lo que fueron seleccionados para el modelo de regresión logística.

TABLA 19. Variables laboratoriales en caballos con éxito deportivo (E) al final de la competición (datos combinados para las tres distancias estudiadas, 80, 120 y 160 km) y en caballos eliminados por patologías metabólicas, obtenidas tras su eliminación (M post) y en el control veterinario previo a la eliminación (M Pre).

	Grupo E (n=242)	M Post	M Pre	p
HTO %	45,2±7a	47,1±7b	46,4±5	0,18
PP mg/dl	7,6±0,5a	7,9±0,6b	7,8±0,7b	0,04
Urea mg/dl	37±6	36±5	37±5	>0,20
St Cr				
mg/dl 100km	1,7±0,2a	2,1±0,6b	1,8±0,5	0,15
L mMol/l	1,9±0,6	2,0±0,6	2,0±0,7	>0,20
UA mg/dl	4,5±a	5,8±0,8b	5,1±0,6	0,06
St CK UI/l km	7,5±1,5a	9,1±3,9b	8,3±2,8	0,06
St AST UI/l km	4,1±0,8a	4,8±1,8b	4,5±1,8	0,17
St LDH UI/l km	5,5±1,8a	6,1±2,6b	5,6±1,9	>0,20

Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos  
p= valor de significación entre los grupos E y M Pre

En la tabla 20 se recopilan los datos de los ratio de probabilidad, sensibilidad y especificidad para cada una de las variables analizadas (dicotomizadas) para

predecir el desarrollo de alteraciones metabólicas. Estos datos se presentan para las variables de forma individual.

TABLA 20. Razón de verosimilitud, sensibilidad y especificidad de las variables individuales dicotomizadas

	Sensibilidad	Especificidad	Razón de verosimilitud positiva	Razón de verosimilitud negativa
HTO>52%	0,34 (0,21-0,49)	0,87 (0,82-0,91)	2,81 (1,6-4,73)	0,75 (0,6-0,94)
PP > 8,2 mg/dl	0,39 (0,24-0,55)	0,90 (0,85-0,93)	3,94 (2,31-6,8)	0,67 (0,52-0,86)
St Cr > 3 mg/dl km	0,21 (0,11-0,38)	0,92 (0,88-0,95)	3,12 (1,49-6,53)	0,83 (0,71-0,99)
UA > 7,2 mg/dl	0,36 (0,22-0,53)	0,91 (0,86-0,94)	4,21 (2,37-7,48)	0,69 (0,54-0,87)
St CK >12,6 UI/l km	0,24 (0,13-0,39)	0,78 (0,73-0,83)	1,15 (0,63-2,08)	0,95 (0,79-1,15)
St AST > 6,2 UI/l km	0,14 (0,06-0,29)	0,81 (0,75-0,85)	0,78 (0,35-1,72)	1,04 (0,91-1,2)

Los números entre paréntesis indican un 90% del intervalo de confianza

Los datos derivados de la regresión logística se presentan en la tabla 21. Este estudio estadístico reveló que los valores de CK, AU, velocidad y PP tuvieron contribuciones importantes e

independientes al desarrollo de alteraciones metabólicas. Por el contrario, los valores de Cr estandarizada no contribuyeron de forma significativa al modelo estadístico.

TABLA 21. Categorías de factores de riesgo para la eliminación metabólica en caballos de raid

	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo	Sensibilidad	Especificidad
CK + AU	0,63 (0,31-0,87)	0,87 (0,82-0,91)	0,17 (0,07-0,32)	0,98 (0,95-0,99)
CK + AU + V	0,85 (0,42-0,99)	0,87 (0,82-0,90)	0,14 (0,06-0,29)	0,99 (0,97-0,99)
PP + V	0,64 (0,38-0,84)	0,88 (0,84-0,92)	0,26 (0,14-0,43)	0,97 (0,94-0,98)

Los números entre paréntesis indican el 95% del intervalo de confianza  
V= Velocidad

En algunas ocasiones (n=13) se ha observado un incremento del HTO (>52%)

sin elevación de PP (<7,3 g/dl). Cuatro de ellos desarrollaron alteraciones

metabólicas y fueron eliminados (laminitis, arritmias cardíacas, y cólico en dos casos), tres fueron retirados y los restantes concluyeron la carrera sin incidencias. El significado fisiológico del desequilibrio entre HTO y PP no es sencillo, y no ha sido expuesto previamente. Se atribuye al estrés, atribuible al dolor (cólico, laminitas) como responsable del aumento desproporcionado de HTO en fases avanzadas. Sin embargo resulta difícil creer que los animales fueron capaces de recuperar su frecuencia cardíaca y pasar el control con un dolor moderado (Friend, 2000; Foreman *et al.* 2008).

Hasta el conocimiento de los autores, este es el mayor estudio examinando variables bioquímicas en caballos eliminados por su condición metabólica. No se contemplaron caballos eliminados en la primera fase por incompatibilidad con el modelo expuesto (no tendríamos dato previo), lo que constituye una parcialidad del modelo real y debe ser tenido en cuenta al intentar interpretar muestras de las primeras fases.

En la agrupación y presentación de los resultados se presentaron ciertas opciones para relativizar el impacto. Odds Ratio, Riesgo relativo, y razón de verosimilitud eran las posibilidades más adecuadas a priori. Odds ratio se consideró analíticamente inapropiada por no tratarse de un estudio de cohorte. Si bien el riesgo relativo es de más sencilla interpretación epidemiológica, se prefirió utilizar la razón de verosimilitud ratio ya que a fines prácticos tiene una utilidad mayor, y a diferencia de los valores predictivos, no se ve alterados al variar la prevalencia en el grupo estudiado, y permite la utilización relativa con muestras incompletas (Levy *et al.*, 1983; van der Schouw *et al.*, 1995).

Los cambios laboratoriales que tienen lugar durante carreras de raid han sido discutidos en el anterior trabajo. En este caso se obtiene una confirmación tanto de este como de previos estudios. Muchos de estos hallazgos son parte de la respuesta normal al ejercicio de resistencia y no debe ser confundidos con indicadores de enfermedad (Rose *et al.*, 1983; Foreman 1998). Las diferencias relacionadas a la distancia han sido expuestas igualmente en el estudio previo, adicionando en este una carrera de 80 km. Muchas variables (HTO, PP, Urea y AU) muestran diferencias significativas entre 80 y 120 km pero no entre 120 y 160 km, Los cambios en parámetros bioquímicos relacionados con la distancia aparentemente se incrementan hasta 120km y luego muestran una meseta, lo cual es coherente considerando que el incremento proporcional es mayor.

Un trabajo reciente de Fielding *et al.* (2009) encontró solo pequeñas diferencias al comparar caballos eliminados por su condición metabólica con exitosos. En este trabajo los tiempos de toma de muestra no están descriptos para los caballos eliminados, y puede ser una fuente de variación importante (Grosskopf and Van Rensburg 1983). Adicionalmente, los caballos utilizados por Fielding *et al.* (2009) fueron referidos y la principal causa de eliminación fueron los trastornos gastrointestinales, mientras que en nuestro trabajo fue la falta de recuperación cardiovascular. De acuerdo, con Fielding *et al.* (2009), los caballos con cólico mostraron menores alteraciones bioquímicas comparados con aquellos con falta de recuperación cardiovascular. Es importante destacar que los caballos utilizados por Fielding han sido remitidos a un hospital, y por lo cual estamos considerando una subpoblación dentro de los eliminados.

Grosshop y Van Rensburg (1983) sugirieron valores de HTO > 55%, PP > 9 mg/dl, y La > 3mmol/l como indicadores de riesgo. En nuestro trabajo, al igual que otros autores y trabajos previos nuestros (Castejon *et al.* 2006, Fielding *et al.* 2009), La no evidenció diferencias en el grupo M. El estudio de Grosshop y Van Rensburg (1983) utilizaba caballos en una carrera "stop-and-go ride" donde los descansos son voluntarios, y desiguales entre individuos. Los valores de La son próximos en una carrera de raid al umbral aeróbico, y de esta forma los períodos de recuperación podrían facilitar la depuración del mismo, previniendo su acumulación (Jones *et al.* 2010).

Las correlaciones entre HTO y PP eran previsibles de acuerdo a nuestro trabajo previo, donde fueron largamente explicadas. Este trabajo añade mayor especificidad y sensibilidad predictiva en PP para trastornos metabólicos.

Los resultados mostraron que algunos parámetros estudiados (HTO>52%, PP > 8.2 mg/dl, St Cr > 3 mg/dl km, AU > 7.2 mg/dl, St CK >12.6 UI/l km, St AST > 6.2 UI/l km) tienen cierto valor predictivo sobre la eliminación futura. En el trabajo anterior se observó una correlación entre AU y PP, y no fue posible discriminar el mecanismo preponderante o inicial, ya que fisiológicamente ambos son capaces de inducir al otro (deshidratación y agotamiento energético celular). En este caso contamos con información de una fase previa, donde los resultados individuales de AU y PP son similares en sensibilidad y especificidad predictiva (Tabla 20), sugiriendo que ambos se originan en forma simultánea o al menos no puede identificarse con claridad un mecanismo de origen. Sin embargo, AU tiene una razón de verosimilitud positiva mucho mayor, por lo tanto es más determinante en la aparición de

alteraciones metabólicas. Probablemente la recuperación de las reservas energéticas celulares constituya un desafío mayor que la recuperación hídrica (Dudley y Terjung, 1985; Hellsten-Westing *et al.*, 1991).

La utilización combinada de CK y AU; CK, AU y V; o AU y V, proporcionan un valor predictivo muy elevado sobre la presentación de alteraciones metabólicas. La especificidad de los valores utilizados en forma aislada es baja (<90%) y por lo tanto su utilización directa pone en riesgo de eliminación animales que culminarán la prueba. Combinados, sin embargo, la especificidad alcanza valores más aplicables (97-99%) a la hora de decidir la eliminación de un animal. Adicionalmente, los valores predictivos negativo y positivo se mantienen muy elevados. V aumenta significativamente la potencia predictiva del modelo, sin embargo es un dato a priori desconocido, y sin fines prácticos. Solo se incluyó en el modelo para evaluar de alguna forma la importancia de la actitud del jinete. Tanto la CK como el ácido úrico representan el funcionamiento muscular. Mientras que elevaciones de CK reflejan un desequilibrio de la membrana plasmática del miocito, los incrementos de ácido úrico son consecuencia de depleciones energéticas sostenidas, lo cual fue explicado en el segundo trabajo (Castejon *et al.*, 2006). Este trabajo tiene una interesante aplicación práctica. En el trabajo anterior se han revisado los mecanismos fisiológicos por los que se elevan tanto CK, ácido úrico como proteínas plasmáticas. Y en esta ocasión se pone de manifiesto la especificidad y sensibilidad en la próxima eliminación de los caballos.

Si bien existen analizadores bioquímicos portátiles, las variables determinadas en este estudio no fueron medidas en

condiciones de campo, y por lo tanto no puede hacerse una extrapolación directa para concursos (Tschudi, 1998). Sin embargo, una cuidadosa interpretación de estos resultados permite colaborar con la comisión veterinaria y eliminar en forma temprana animales, o bien controlar en forma exhaustiva animales que tienen posibilidades elevadas de sufrir eliminación metabólica en el siguiente control (>95%), aunque la sintomatología presente no sea suficiente para pensar en daño metabólico.

## 6. CONCLUSIONES

El anterior conjunto de investigaciones, nos ha permitido la obtención de las siguientes conclusiones:

PRIMERA. Las consecuencias de traumatismos físicos durante carreras de raid pueden pasar desapercibidas por los veterinarios clínicos, siendo confundidas con agotamiento físico, de modo que no se diagnostican y no se consideran cuando el caballo se recupera del proceso de extenuación.

SEGUNDA. El examen post-mortem debería ser obligatorio para las muertes relacionadas con la competición ecuestre. Los datos deben ser recogidos y comunicados para la difusión de conocimientos a la comunidad veterinaria.

TERCERA. El ácido úrico en el caballo de resistencia es un indicador de agotamiento energético sostenido. Se producen incrementos tras una carrera, más intensos en animales con desequilibrios metabólicos y en animales de rendimiento excelente y alta velocidad durante la prueba.

CUARTA. El incremento de ácido úrico está relacionado con alteraciones de la permeabilidad de la membrana plasmática de los miocitos, seguida o no de daño muscular, como indicó la correlación significativa entre ácido úrico y la actividad circulante de la creatin kinasa.

QUINTA. La correlación entre las concentraciones de proteínas plasmáticas y de ácido úrico puso de manifiesto que los desequilibrios metabólicos en carreras de raid se producen fundamentalmente por una combinación por alteraciones hídricas y energéticas.

SEXTA. Los datos de valor hematócrito, proteínas plasmáticas, creatinina, ácido úrico y las actividades de las enzimas creatin fosfoquinasa y aspartato aminotransferasa tienen un valor predictivo muy elevado sobre la presentación de alteraciones metabólicas en la siguiente fase de la carrera.

SEPTIMA. La utilización combinada de la concentración de ácido úrico y actividad creatin fosfoquinasa, de ácido úrico, creatin fosfoquinasa y velocidad y de proteínas plasmáticas y velocidad aumentan substancialmente la especificidad de predicción de eliminación en la siguiente fase de la carrera.

OCTAVA. Los estudios laboratoriales deberían colaborar en la actuación clínica de los veterinarios de concurso de raid, realizando el diagnóstico temprano en uno de cada cuatro animales que sufrirán alteraciones metabólicas, con una especificidad superior al 95%.



## 7. REFERENCIAS

- Aguilera-Tejero, E., Estepa, J.C., López, I., Bas, S., Garfia, B., Rodríguez, B. (2001). Plasma ionized calcium and parathyroid hormone concentrations in horses after endurance rides. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 219, 488-490.
- Amorim, F.T., Yamada, P.M., Robergs, R.A., Schneider, S.M., Moseley, D.L. (2008). The effect of the rate of heat storage on serum heat shock protein 72 in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 104(6), 965-972.
- Amory H., ArtT T., Llinden A., Desmecht D., Bonchet M., Lekeux P. (1993). Physiological response to cross-country phase in evening horses. *J. Equine Vet. Sci.* 13, 646-650.
- Anderson, M.G. (1975). The influence of exercise on serum enzyme levels in the horse. *Equine Vet. J.* 7, 160-165.
- Assenza, A., Bergero, D., Tarantola, M., Piccione, G., Caola, G. (2004). Blood serum branched chain amino acids and tryptophan modifications in horses competing in long-distance rides of different length. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2004 Apr;88(3-4):172-7.
- Bakos, Z., Krajcsovics, L., Toth, J. (2008). Successful medical treatment of acute pancreatitis in a horse. *Vet. Rec.* 162(3), 95-96.
- Barrey, E., Mucher, E., Robert, C., Amiot, F., Gidrol, X. (2006) Gene expression profiling in blood cells of endurance horses completing competition or disqualified due to metabolic disorder. *Equine Vet. J.* 36, 43-49.
- Barton, M.H., Williamson, L., Jack, S., Norton, N. (2003). Body weight, hematologic findings, and serum and plasma biochemical findings in horses competing in a 48-, 83- or 159-km endurance ride under similar terrain and weather conditions. *Am. J. Vet. Res.* 64, 746-753.
- Barton MH, Williamson L, Jacks S, Norton N. (2003) Effects on plasma endotoxin and eicosanoid concentrations and serum cytokine activities in horses competing in a 48-, 83-, or 159-km endurance ride under similar terrain and weather conditions. *Am J Vet Res.* Jun;64(6):754-61.
- Bergero, D., Assenza, A., Schiavone, A., Piccione, G., Perona, G., Caola, G. (2005). Amino acid concentrations in blood serum of horses performing long lasting low-intensity exercise. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 89(3-6), 146-50.
- Bouchama, A., Knochel, J.P. (2002). Heat stroke. *N. Engl. J. Med.* 346, 1978-1988.
- Boucher, J.H., Ferguson, E.W., Wilhelmsen, C.L., Statham, N., McMeekin, R.R. (1981). Erythrocyte alterations endurance exercise in horses. *J Appl Physiol.* Jul;51(1):131-4.
- Burdick, D.L., Hodgson, D. (1990). Thermoregulation in the horse: derangements and associated clinical diseases. *Equine Athlete* 3, 15-20.
- Burger, D., Dollinger, S. (1998). Elimination reasons, health status and competition career of horses in endurance rides in Europe and Arab countries: statistical approach. *Pract. Vét. Equine* 30, 19-25.
- Butudom, P., Schott, II H.C., Davis, M.W., Kobe, C.A., Nielsen, B.D., Eberhart, S.W. (2002). Drinking salt water enhances

rehydration in horses dehydrated by frusemide administration and endurance exercise. *Equine Vet. J.* 34, 513-518.

Butudom, P., Barnes, D.J., Davis, M.W., Nielsen, B.D., Eberhart, S.W., Schott, H.C. 2nd (2004). Rehydration fluid temperature affects voluntary drinking in horses dehydrated by furosemide administration and endurance exercise. *Vet. J.* 167(1), 72-80.

Bynum, G.D., Pandolf, K.B., Schuette, W.H., Goldman, R.F., Lees, D.E., Whang-Peng, J., Atkinson, E.R., Bull, J.M. (1978). Induced hyperthermia in sedated humans and the concept of critical hyperthermia. *Am. J. Physiol.* 235, R228-R236.

Byrd, S.K., McCutcheon, L.J., Hodgson, D.R., Gollnick, P.D. (1989). Altered sarcoplasmic reticulum function after high intensity exercise. *J. Appl. Physiol.* 76, 2072-2077.

Cardinet, G.H. 3rd, Fowler, M.E., Tyler, W.S. (1963). Heart rates and respiratory rates for the evaluating performance in horses during endurance trial ride competition. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 143, 1303-1309.

Carlson, G.P. (1985). Medical problems associated with protracted heat and work stress in horses. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 7(10), 542-550.

Carlson, G.P., Ocen, P.O., Harrold, D. (1976). Clinicopathological alterations in normal and exhausted endurance horses. *Theriogenology* 6(2-3), 93-104.

Carlson, G.P., Mansmann, R.A. (1974). Serum electrolyte and plasma protein alterations in horses used in endurance rides (1974). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 165(3), 262-264.

Casa, D.J., Armstrong, L.e., Ganio, M.S., Yeargin, S.W. (2005). Exertional heat stroke in competitive athletes. *Curr. Sports Med. Rep.* 4(6), 309-317.

Castejón, F., Trigo, P., Muñoz, A., Riber, C. (2006). Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. *Equine Vet. J.* 36, 70-73.

Chiaradia, E., Avellini, L., Rueca, F., Spaterna, A., Porciello, F., Antonioni, M.T., Gaiti, A. (1998). Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* Apr;119(4):833-6.

Clarskon, P.M., Nasaka, K., Braun, B. (1992). Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Med. Sci. Sports Exerc.* 24, 512-520.

Clarkson, P.M., Tremblay, I. (1988). Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in humans. *J. Appl. Physiol.* 65(1), 1-6.

Coffman, J.R., Amend, J.F., Garner, H. (1978). A conceptual approach to pathophysiologic evaluation of neuromuscular disorders in the horse. *J. Equine Med. Surg.* 2(2), 85-90.

Divers, T.J., Whitlock, R.H., Byars, T.D. (1987). Acute renal failure in six horses resulting from haemodynamic causes. *Equine Vet. J.* 19, 178-184.

Dudley, G.A., Terjung, R.L. (1985) Influence of aerobic metabolism on IMP accumulation in fast-twitch muscle. *Am J Physiol.* 248, 37-42.

Essén-Gustavsson, B., Gottlieb-Vedi, M., Lindholm, A. (1999). Muscle adenine nucleotide degradation during submaximal treadmill exercise to fatigue. *Equine Vet J* 30, 298-302.

Essén-Gustavsson, B., Karlström, K., Lindholm, A. (1984). Fibre types, enzyme activities and substrate utilisation in skeletal muscles of horses competing in endurance rides. *Equine Vet J.* May;16(3):197-202.

- Evans, D.L., Priddle, D.L., Hodgson, J.L. (2002). Heart rate and uric acid responses to racing in pacing Standardbreds and relationship with performance. *Equine Vet. J.* 34, 131-134.
- Fallon, K.E., Sivyer, G., Sivyer, K., Dare, A. (1999). The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. *Br. J. Sports Med.* 33, 264-269.
- Farris, J.W., Hinchcliff, K.W., McKeever, K.H., Lamb, D.R., Thompson, D.L. (1998). Effect of tryptophan and of glucose on exercise capacity of horses. *J Appl Physiol.* Sep;85(3):807-16.
- Fielding, C.L., Magdesian, K.G., Rhodes, D.M., Meier, C.A., Higgins, J.C. (2009). Clinical and biochemical abnormalities in endurance horses eliminated from competition for medical complications and requiring emergency medical treatment: 30 cases (2005-2006). *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 19(5), 473-478.
- Flaminio, M.J., Rush, B.R. (1998). Fluid and electrolyte balance in endurance horses. *Vet. Clin. North Am.: Equine Pract.* 14, 147-158.
- Foreman, J.H. (1998). The exhausted horse syndrome. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 14: 205-219.
- Fowler, M.E. (1980a). Veterinary problems during endurance trail rides. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 51(2), 87-91.
- Fowler, M.E. (1980b). Exhausted horse syndrome. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 51(2),85-86.
- Friend, T.H. (2000). Dehydration, stress, and water consumption of horses during long-distance commercial transport. *J. Anim. Sci.* 78, 2568-2580.
- Friden, J., Leiber, R.L. (1992). Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Med. Sci. Sports Exerc.* 24(5), 521-530.
- González, D., Marquina, R., Rondón, N., Rodríguez-Malaver, A.J., Reyes, R. (2008). Effects of aerobic exercise on uric acid, total antioxidant activity, oxidative stress, and nitric oxide in human saliva. *Res. Sports Med.* 16(2), 128-137.
- Foreman, J.H., Benson, G.J., Foreman, M.H. (2006). Effects of a pre-moistened multilayered breathable fabric in promoting heat loss during recovery after exercise under hot conditions. *Equine Vet. J.* 36, 303-307.
- Gigli, A., Aguero, A., Maizon, D.O., Caron, N.E. (1996). Serum muscular enzymes (CPK/AST) and plasma progesterone in thoroughbred mares in training. *Pferderheilkunde* 12, 496-498.
- Godim FJ, Zoppi CC, Pereira DA Silva L, De Macedo DV (2007). Determination of the anaerobic threshold and maximal lactate steady state speed in equines using the lactate minimum speed protocol. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 146(3), 375-380.
- Goudie, A.M., Tunstall-Pedoe, D.S., Derins, M. (2005). Altered mental status after a marathon. *N. Engl. J. Med.* 352(15), 1613-1614.
- Hamlin, M.J., Shearman, J.P., Hopkins, W.G. (2002). Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses. *Equine Vet. J.* 34(4), 383-388.
- Hargreaves, B.J., Kronfeld, D.S., Waldron, J.N., Lopes, M.A., Gay, L.S., Saker, K.E., Cooper, W.L., Skylan, D.J., Harris, P.A. (2002). Antioxidant status and muscle cell leakage during endurance exercise. *Equine Vet. J.* 34, 116-121.
- Harris, P. (2009). Feeding management of elite endurance horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 25(1), 137-153.

- Harris, P.A., Marlin, D.J., Gray, J. (1998). Plasma aspartato aminotransferase and creatine kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. *Vet. J.* 155(3), 295-304.
- Hassel DM (2007). Thoracic trauma in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract.* May;23(1):67-80..
- Helge, J.W., Watt, P.W., Richter, E.A., Rennie, M.J., Kiens, B. (2001) Fat utilization during exercise: adaptation to a fat-rich diet increases utilization of plasma fatty acids and very low density lipoprotein-triacylglycerol in humans. *J. Physiol.* 537(Pt 3), 1009-1020.
- Hellsten-Westling, Y., Sollevi, A., Sjodin, B. (1991) Plasma accumulation of hypoxanthine, uric acid and creatine kinase following exhausting runs of differing durations in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 62(5), 380-4.
- Hess, T.M., Kronfeld, D.S., Williams, C.A., Waldron, J.N., Graham-Thiers, P.M., Greiwe-Crandell, K., Lopes, M.A., Harris, P.A. (2005). Effects of oral potassium supplementation on acid-base status and plasma ion concentrations of horses during endurance exercise. *Am. J. Vet. Res.* 66(3), 466-473.
- Hinchcliff, K.W., Kohn, C.W., Geor, R., McCutcheon, L.J., Foreman, J., Andrews, F.M., Allen, A.K., White, S.L., Williamson, L.H., Maykuth, P.L. (1995). Acid:base and serum biochemistry changes in horses competing at a modified 1 Star 3-day-event. *Equine Vet J Suppl.* 1995 Nov;(20):105-10.
- Hodgson, D.R., Rose, R.J. (1987). Effects of a nine-month endurance training programme on muscle composition in the horse. *Vet. Rec.* 121(12), 271-274.
- Hosmer. D.W., Lemeshow, S. (2000). *Applied logistic regression* (2nd Edition). New York: Wiley.
- Howatson, G., Milak, A. (2009). Exercise-induced damage following a bout of sport specific repeated sprints. *J. Strength Cond. Res.* 12, Epub ahead of publication.
- Howe, A.S., Boden, B.P. (2007). Heat-related illness in athletes. *Am. J. Sports Med.* 35(8), 1384-1395.
- Hyypä, S., Pösö, A.R. (2004). Metabolic diseases of athletic horses. En: *Equine Sports Medicine and Surgery. Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete* (Hinchliff, K.W., Kaneps, A.J., Geor, R.J., Eds.). WB Saunders Co., Philadelphia, USA, pp. 836-850.
- Inoue, Y., Matsui, A., Asai, Y., Aoki, F., Matsui, T., Yano, H. (2005). Effect of exercise on iron metabolism in horses. *Biol Trace Elem Res.* Oct;107(1):33-42.
- Jenkinson, D. M. (1973). Comparative physiology of sweating. *Br. J. Dermatol.* 88, 397-406.
- José-Cunilleras, E. (2004). Abnormalities of body fluids and electrolytes in athletic horses. En: *Equine Sports Medicine and Surgery. Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete* (Hinchcliff, K.W., Kaneps, A.J., Geor, R.J. Eds). WB Saunders Co., Philadelphia, USA, pp. 898-918.
- Jose-Cunilleras, E., Hinchcliff, J.W. (1999). Renal pharmacology. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 15(3), 647-664.
- Kerr, M.G., Snow, D.H. (1983). Plasma enzyme activities in endurance horses. En: *Equine Exercise Physiology* (Snow, D.H., Persson, S.G.B., Rose, R.J., Eds.). Granta Editions, Cambridge, pp. 432-437.
- Kingston, J.F., Bayly, W.M. (1998). Effect of exercise on acid-base status of horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 14, 61-73.

- Kinnunen, S., Hyyppa, S., Lappalainen, J., Oksala, N., Venojarvi, M., Nakao, C., Hanninen, O., Sen, C.K., Atalay, M. (2005). Exercise-induced oxidative stress and muscle stress protein responses in trotters. *Eur. J. Appl. Physiol.* 93(4), 496-501.
- Kohn, C.W., Hinchcliff, K.W., McKeever, K.H. (1999). Effect of ambient temperature and humidity on pulmonary artery temperature of exercising horses. *Equine Vet. J.* 30, 404-411.
- Kronfeld, D.S., Ferrante, P.L., Taylor, L.E., Tiegs, W. (1999). Partition on plasma hydrogen ion concentration changes during repeated sprints. *Equine Vet. J.* 30, 380-383.
- Kronfeld, D.S. (1996). Dietary fat affects heat production and other variables of equine performance, under hot and humid conditions. *Equine Vet. J.* 22, 24-34.
- Leroux, A.J., Schott, H.C. 2nd, Hines, M.T. (1995). Ventricular tachycardia associated with exhaustive exercise in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207(3), 335-337.
- Lu, K.C., Wang, J.Y., Lin, S.H., Chu, P., Lin, Y.F. (2004). Role of circulating cytokines and chemokines in exertional heatstroke. *Crit. Care Med.* 32(2), 399-403.
- Mansmann RA, Carlson GP, White NA 2nd, Milne DW (1974). Synchronous diaphragmatic flutter in horses. *J Am Vet Med Assoc.* Aug 1;165(3):265-70.
- Marlin, D.J., Scott, C.M., Schroter, R.C., Harris, R.C., Harris, P.A., Roberts, C.A., Mills, P.C. (1999). Physiological responses of horses to a treadmill simulated speed and endurance test in high heat and humidity before and after humid heat acclimation. *Equine Vet. J.* 31(1), 31-42.
- Marlin, D.J., Scott, C.M., Mills, P.C., Louwes, H., Vaarten, J. (1998). Rehydration following exercise: effects of administration of water versus an isotonic oral rehydration solution (ORS). *Vet J.* Jul;156(1):41-9.
- Marlin DJ, Scott CM, Schroter RC, Mills PC, Harris RC, Harris PA, Orme CE, Roberts CA, Marr CM, Dyson SJ, Barrelet F (1996). Physiological responses in nonheat acclimated horses performing treadmill exercise in cool (20 degrees C/40% RH), hot dry (30 degrees C/40% RH) and hot humid (30 degrees C/80% RH) conditions. *Equine Vet J Suppl.* 22:70-84.
- McCutcheon, L.J., Geor, R.J. (2004). Thermoregulation and exercise-associated heat illnesses. En: *Equine Sports Medicine and Surgery. Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete* (Hinchcliff, K.W., Kaneps, A.J., Geor, R.J., Eds.). WB Saunders Co., Philadelphia, USA, pp. 919-936.
- McCutcheon, L.J., Geor, R.J. (2000). Influence of training on sweating responses during submaximal exercise in horses. *J Appl Physiol.* Dec;89(6):2463-71.
- McCutcheon, L.J., Geor, R.J. (1996). Sweat fluid and ion losses in horses during training and competition in cool vs. hot ambient conditions: implications for ion supplementation. *Equine Vet. J.* 22, 54-62.
- McGowan, C.M., Golland, L.C., Evans, D.L., Hodgson, D.R., Rose, R.J. (2002). Effects of prolonged training, overtraining and detraining on skeletal muscle metabolites and enzymes. *Equine Vet. J.* 34, 257-263.
- McKeever, K.H., Scali, R., Geiser, S., Kearns, C.F. (2002). Plasma aldosterone concentration and renal sodium excretion are altered during the first days of training. *Equine Vet J Suppl.* Sep;(34):524-31.
- McMiken, D.F. (1983). An energetic basis of equine performance. *Equine Vet J.* 15(2), 123-133.

- Mellau, L.S., Jorgensen, R.J., Bartlett, d.c., Enemark, J.M., Hansen, A.K. (2004). Effect of anionic salt and highly fermentable carbohydrate supplementations on urine pH and on experimentally induced hypocalcaemia in cows. *Acta Vet. Scand.* 45(3-4), 139-147.
- Mills P.C., Smith, N.C., Casas, I., Harris, P., Harris, R.C., Marlin, D.J. (1996). Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 74(1-2), 60-66.
- Mills PC, Smith NC, Harris RC, Harris P. (1997). Effect of allopurinol on the formation of reactive oxygen species during intense exercise in the horse. *Res Vet Sci.* 62(1):11-6.
- Moriwaki Y, Yamamoto T, Higashino K (1999). Enzymes involved in purine metabolism--a review of histochemical localization and functional implications. *Histol Histopathol.* 14(4):1321-40.
- Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón F (2010). Muscle damage, hydration, electrolyte balance and vasopressin concentrations in successful and exhausted endurance horses. *Pol J Vet Sci;*13(2):373-9.
- Muñoz A, Cuesta I, Riber C, Gata J, Trigo P, Castejón FM (2006). Trot asymmetry in relation to physical performance and metabolism in equine endurance rides. *Equine Vet J Suppl. Aug;*(36):50-4.
- Muñoz A, Riber C, Santisteban R, Lucas RG, Castejon FM (2002). Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabian breeds. *Equine Vet. J.* 34, 245-251.
- Muñoz A, Santisteban R, Rubio MD, Aguera EI, Escribano BM, Castejon FM (1998). Locomotor, cardiocirculatory and metabolic adaptations to training in Andalusian and Anglo-Arabian horses. *Res. Vet. Sci.* 25-31.
- Muñoz, A. Santisteban, R., Rubio, M.D., Vivo, R., Agüera, E.I., Escribano, B.M., Castejón, F.M. (1997). The use of functional indexes to evaluate fitness in Andalusian horses. *J Vet Med Sci. Sep;*59(9):747-52.
- Nagel, D., Seiler, D., Franz, H. (1990). Ultralong-distance running and the liver. *Int. J. Sports Med.* 11, 441-445.
- Nieto, J.E., Snyder, J.R., Beldomenico, P., Aleman, M., Kerr, J.W., Spier, S.J. (2004). Prevalence of gastric ulcers in endurance horses--a preliminary report. *Vet J.* 167(1), 33-37.
- Noakes, T.D. (1987). Effect of exercise on serum enzyme activities in humans. *Sports Med.* 4, 245-267.
- Nyman, S., Jansson, A., Dahlborn, K., Lindholm, A. (1996). Strategies for voluntary rehydration in horses during endurance exercise. *Equine Vet. J.* 22, 99-106.
- Orton, R.G. (1977). Respiratory rates and endurance rides. *Vet. Rec.* 100(6):121.
- Otzel, G.R. (1991). Meta-analysis of nutritional risk factors for milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74, 3900-3912.
- Polla, B.S., Bachelet, H., Elia, G. (1998). Stress protein in inflammation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 851, 65-85.
- Pourcelot P, Audigié F, Degueurce C, Denoix JM, Geiger D (1997) Kinematic symmetry index: A method for quantifying the horse motion symmetry using kinematic data. *Vet. Res.* 28, 525-38.
- Ralston SL (1988). Nutritional management of horses competing in 160 km races. *Cornell Vet. Jan;*78(1):53-61.

- Rasanen LA, Myllymaki T, Hyyppa S, Maisi P, Poso AR (1993). Accumulation of allantoin and uric acid in plasma of exercising trotters. *Am J Vet Res.* 54(11):1923-8.
- Riber C, Cuesta I, Muñoz A, Gata J, Trigo P, Castejón FM (2006). Equine locomotor analysis on vet-gates in endurance events. *Equine Vet J Suppl. Aug;*(36):55-59.
- Rivero, J.L.L., Ruz, M.C., Serrano, A. Diz, A.M. (1995). Effects of a 3 months endurance training programme on skeletal muscle histochemistry in Andalusian, Arabian and Anglo-Arabian horses. *Equine Vet. J.*, 27, 51-59.
- Robert, C., Benamou-Smith, A., Leclerc, J.L. (2002). Use of the recovery check in long-distance endurance rides. *Equine Vet. J.* 34, 106-111.
- Roberts, G.T., Ghebeh, H., Cristhi, M.A., Al-Mohanna, F., El-Sayed, R., Bouchama, A. (2008). Microvascular injury, thrombosis, inflammation, and apoptosis in the pathogenesis of heatstroke: a study of baboon model. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 28(6), 1130-1136.
- Ronéus, N., Essén-Gustavsson, B., Johnston, C., Drevemo, S. and Persson S. (1995) Lactate response to maximal exercise on the track: relation to muscle characteristics and kinematic variables. *Equine vet. J.* 18, 191-194.
- Rose, R.J. (1986). Endurance exercise in the horse--a review. Part I. *Br Vet J.* 142(6):532-41.
- Rose, R.J., Hodgson, D.R., Sampson, D., Chan W. (1983). Changes in plasma biochemistry in horses competing in a 160 km endurance ride. *Aust. Vet. J.* 60, 101-105.
- Rose, R.J., Ilkiw, J.E., Martin, I.C.A. (1979). Blood gas, acid-base and haematological values in horses during an endurance ride. *Equine Vet. J.* 11(1), 56-59.
- Schott, H.C. 2nd (2007). Chronic renal failure in horses. *Vet. Clin. North Am.: Equine Pract.* 23(3), 593-612.
- Schott, H.C. 2nd, Marlin, D.J., Geor, R.J., Holbrook, T.C., Deaton, C.M., Vincent, T., Dacre, K., Schroter, R.C., Jose-Cunilleras, E., Cornelisse, C.J. (2006). Changes in selected physiological and laboratory measurements in elite horses competing in a 160 km endurance ride. *Equine Vet. J.* 36, 37-42.
- Schott, H.C. II, McGlade, K.S., Mollander, H.A., Leroux, A.J., Hines, M.T. (1997). Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses competing in 50- and 100-mile endurance rides. *Am. J. Vet. Res.* 58, 303-309.
- Schott, II H.C., Hodgson, D.R., Bayly, W.M. (1995). Haematuria, pigmenturia and proteinuria in exercising horses. *Equine Vet. J.* 27(1), 67-72.
- Schuback, K., Essén-Gustavsson, B. (1998). Muscle anaerobic response to a maximal treadmill exercise test in Standardbred trotters. *Equine Vet. J.* 30(6), 504-510.
- Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M. (1999). The role of metabolic profiles in sports horses. *World Equine Vet. Rev.* 4, 3-21.
- Smith, C.A., Wagner, P.C. (1985). Electrolyte imbalances and metabolic disturbances in endurance horses. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 7(10), 575-585.
- Snow, D.H., Harris, P. (1988). Enzymes as markers of physical fitness and training of racing horses. *Adv. Clin. Enzymol.* 6, 251-258.
- Snow, D.H., Gash, S.P., Rice, D. (1987). Field observations on selenium status, whole blood glutathione peroxidase and plasma gamma-

glutamyl transferase activity in thoroughbred racehorses. En: *Equine Exercise Physiology 2* (Gillespie, J.R., Robinson, N.E., Eds). ICEEP Publications, Davis, CA, USA, pp. 494-505.

Snow, D.H., Kerr, M.G., Nimmo, M.A., Abbott, E.M. (1982). Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse. *Vet. Rec.* 110, 377-384.

Snow, D.H., Mackenzie, G. (1977). Effect of training on some metabolic changes associated with submaximal endurance exercise in the horse. *Equine Vet. J.* 9(4), 226-230.

Sosa-León, L.A., Davie, A.J., Hodgson, D.R., Rose, R.J. (1995). The effects of tonicity, glucose concentration and temperature on oral rehydration solution on its absorption and elimination. *Equine Vet. J.* 20, 140-146.

Stockahm, S.L. (1995). Interpretation of equine serum biochemical profile results. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 11, 345-350.

Treiber, K.H., Hess, T.M., Kronfeld, D.S., Boston, R.C., Geor, R.J., Friere, M., Silva, A.M., Harris, P.A. (2006). Glucose dynamics during exercise: dietary energy sources affect minimal model parameters in trained Arabian geldings during endurance exercise. *Equine Vet. J.* 36, 631-636.

Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010a). Risk factors associated with elimination in endurance rides. *Prev. Vet. Med.* Enviado para publicación Septiembre 2010.

Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010b). Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides. *Equine vet J.* Aceptado

Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010c). Rib fracture during an endurance ride. *Can Vet J.* Aceptado

Trilk JL, Lindner A, Green HM, Alberghina D, Wickle SJ (2002). A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. *Equine Vet. J.* 34, 122-125.

Trujillo, M.H., Bellonin-Font, E., Fragachan, C.F., Perret-Gentil, R. (2009). Multiple organ failure following near fatal exertional heat stroke. *J. Intensive Care Med.* 24(1), 72-78.

Tullson PC, Bangsbo J, Hellsten Y, Richter EA. (1995) IMP metabolism in human skeletal muscle after exhaustive exercise. *J Appl Physiol.* Jan;78(1):146-52.

Twist, C., Eston, R. (2005). The effects of exercise-induced muscle damage on maximal intensity intermittent exercise performance. *Eur. J. Appl. Physiol.* 94(5-6), 652-658.

Valberg, S., Jonsson, L., Lindholm, A., Holmgren, N. (1993) Muscle histopathology and plasma aspartate aminotransferase, creatine kinase and myoglobin changes with exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. *Equine Vet J.* 25(1), 11-6.

Van Ginneken, M.M.E., Graaf-Roelfseman, E., Keizer, H.A., Van Dam, K.G., Wijnberg, I.D., Van der Kolk, J.H., Van Breda, E. (2006). Effect of exercise on activation of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway, c-Jun NH2 terminal kinase, and heat shock protein 27 in equine skeletal muscle. *Am. J. Vet. Res.* 67, 837-844.

Volfinger, L., Lassourd, V., Michanz, J.M., Braun, J.P., Toutain, P.L. (1994). Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of amount of creatine kinase released. *Am. J. Physiol.* 266, 234-241.

Waring, W.S., Webb, D.J., Maxwell, S.R. (2001). Systemic uric acid administration increases serum antioxidant capacity in healthy volunteers. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 38(3), 365-371.

Warburton, D.E.R., Welsh, R.C., Haykowsky, M.J., Taylor, D.A., Humen, D.P. (2002). Biochemical changes as a result of prolonged strenuous exercise. *Br. J. Sports Med.* 36, 301-303.

Weigand, K., Riediger, C., Stremmel, D.O., Flechtenmacher, C., Encke, J. (2007). Are heat stroke and physical exhaustion underestimated causes of acute hepatic failure?. *World J. Gastroenterol.* 13(2), 306-309.

Yamanaka, H., Kawague, Y., Taniguchi, A., Kaneko, N., Kimata, S., Hosoda, S., Kamatani, N., Kashiwazaki, S. (1992). Accelerated purine nucleotide degradation by anaerobic but not by aerobic ergometer muscle exercise. *Metabolism* 41(4), 364-369.

Zavala, P., Schmidt, G., Zavala V.B. (1978). Creatine phosphokinase (CPK) and isoenzymes. Correlation with myocardial damage. *Arch Inst Cardiol Mex.* 48(3), 603-11.



## ARTICULOS PUBLICADOS O ACEPTADOS

- Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010). Rib fracture during an endurance ride. Can Vet J. Aceptado
  - Carta de aceptación del artículo
- Castejon F, Trigo P, Muñoz A, Riber C (2006). Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. Equine vet J. 36, 70-3.
- Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010). Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides. Equine vet J. Aceptado
  - Carta de aceptación del artículo



# Case Report Rapport de cas

## Rib fracture in a horse during an endurance race

Pablo Trigo, Francisco Castejón, Cristina Riber, Ana Muñoz, and Diana M Hassel.

**Abstract** — We describe a fatal case, where the animal suffered a fall and as a consequence, rib fractures. Diagnosis was made post-mortem and the horse died without showing clear signs of respiratory dysfunction. The retrospective reports of injuries can be important to reduce these traumatic events and to avoid fatalities.

**Résumé** — We describe a fatal case, where the animal suffered a fall and as a consequence, rib fractures. Diagnosis was made post-mortem and the horse died without showing clear signs of respiratory dysfunction. The retrospective reports of injuries can be important to reduce these traumatic events and to avoid fatalities..  
(Traduit par XX)

Can Vet J 201X;XX:XXX-XXX

**A**ccidents and traumatic injuries are common during endurance races, with different outcomes for both riders and horses. According to some reports of the AERC (American Endurance Ride Conference), 18% of horse fatalities during endurance rides are due to accidents. Many accidents are unpredictable and sometimes associated with the difficulty of the terrain. However, the compilation and retrospective reports of wounds and injuries occurring during races can be important in helping to reduce these traumatic events and to avoid fatalities.

In the present report, we describe a fatal case of a horse following an endurance race, where the animal suffered a fall and as a consequence, rib fractures. Unfortunately, diagnosis was made post-mortem and the horse died one day

after the race without showing clear clinical signs of respiratory dysfunction.

### Case Description

The horse was an 8 year old Arabian gelding and had 2 years in competition. He competed in a race in Northern Spain, CEN\*\* level, covering a total distance of 116 km, which was divided into four phases of 40, 28, 20 and 28 km. Fifteen horses started the race and eight finished and were considered fit at the last vet-gate or veterinary checkpoint. Mean velocities during the ride ranged between 13 and 14.7 km/h. The race course consisted of variable terrain, alternating steep slopes (60% of the course) with stretches of flat tracks. The ground was good, with some sections of asphalt. The weather was cold (from 2 to 8°C) and it was snowing and raining intermittently during the race.

The horse finished the first phase leading the race, with an average speed of 13.7 km/h. In the vet-gate he was found to be fit to continue. In the middle of the second phase, the horse suffered a fall and rolled over in the process. Despite this fall, the rider decided to continue the race. The horse was considered fit in the vet-gate of the second and third phases presenting normal behaviour during exercise, and heart rate recovery times were within the normal limits expected for a trained endurance horse. Additionally, he showed appetite and thirst during the compulsory rest periods after these phases. According to the

Equine Sports Medicine Centre. University of Córdoba. Spain (Trigo, Castejón, Riber, Muñoz); Department of Cellular Biology, Physiology and Immunology, University of Córdoba, Ed Darwin 2da Pl Campus de Rabanales, Ctra N-IV, Km 396 A, 14071 Córdoba, Spain (Trigo, Castejón); Department of Animal Medicine and Surgery. University of Córdoba, Spain (Muñoz, Riber); Department of Clinical Sciences. Colorado State University, CO, USA.

Address all correspondence to Dr. Pablo Trigo; e-mail: [trigo@uco.es](mailto:trigo@uco.es)

Use of this article is limited to a single copy for personal study. Anyone interested in obtaining reprints should contact the CVMA office ([hbroughton@cvma-acmv.org](mailto:hbroughton@cvma-acmv.org)) for additional copies or permission to use this material elsewhere.

information provided by the rider, the horse was in good condition and retained a desire to run during the competition.

During the preparation for the last phase of the race, the rider observed some discomfort in the horse when tightening the girth, but no other abnormal clinical signs were found and therefore, the horse continued in the competition. During the last phase, after covering 96 km, the horse showed apathy and 1 km before the end of the race, he wanted to lie down and did not want to go. The horse was eliminated from the race because of he tried to lie down and synchronous diaphragmatic flutter was observed for a few minutes, just before arriving into the vet gate. As a consequence of these clinical signs, the veterinarians of the competition sent the horse to the treatment area.

The animal was put into a trailer and transported to the veterinary treatment area, located 2.5 km away from the place of the competition. When they arrived, the horse was sitting in the trailer, and was again while in the treatment box. In the treatment area, the owner observed aggressive behaviour when manipulating the sternum and ventral part of the thorax. Immediately after that, the horse showed superficial breathing for one minute. Intravenous fluid therapy was administered, consisting in 10 L of an IV isotonic electrolyte rehydration solution. Other medications were not administered and the horse recovered. After 2 hrs of treatment, the heart rate was 35 beats/min, and clinical signs compatible with dehydration and synchronous diaphragmatic flutter disappeared. Because of this clinical improvement, the owner received the authorization from the treating veterinarian to leave the place of the competition, but they decided to wait one day for travel.

More clinical signs were not observed and the horse was eating and drinking properly. Because of the good state of the horse, and the minor clinical signs, the owner did not contact their veterinarian.

The day after the competition, the horse was found deceased in the treatment box.

### Post-mortem exam

A complete post-mortem examination was performed two days after death. The body was in good condition, because of the low temperatures. It was found that ribs 6, 7 and 8 on the right hemithorax were fractured in their proximal third and the adjacent intercostal muscles were damaged. Hemothorax and pneumothorax were present. The lung parenchyma adjacent to the fractures had traumatic hemorrhagic injury. The ventral half of the diaphragmatic lobe of the right lung contained blood. Blood was also found in the lower respiratory airways, up to the trachea.

Other macroscopic abnormalities were not found in the post-mortem exam. Urine was collected for a complete analysis and all values were within normal limits.

### Discussion and conclusions.

In the present report, we describe a case of an endurance horse which underwent a fall early during a competition and as a consequence, experienced rib fractures. The trauma from the accident remained subclinical until the last phase of the event, when the pain from the fractured ribs, the injury in the intercostal muscles or/and the hemothorax and pneumothorax induced behavioural changes. Based on the sequence of events and timing of development of clinical signs, it is likely that the original injury induced incomplete fractures of the ribs, and subsequent extreme exercise and/or recumbency induced fracture displacement with concomitant pulmonary contusions, hemothorax and pneumothorax. We hypothesized that breathing changes could have resulted in respiratory alkalosis, and as a consequence, synchronous diaphragmatic flutter appeared (1,2). Rib fractures are not common in adult horses, and usually they are associated with traumatic events. By contrast, rib fractures appear to be common in equine neonates, particularly involving the ventral regions of the more cranial ribs. These fractures can arise during delivery or from direct trauma (3, 4).

The treatment for rib fractures consists of immobilization via surgical stabilization when fractures are displaced and suspected to be inducing trauma to underlying structures such as the heart and pulmonary parenchyma, or more conservatively, with strict stall confinement. Analgesia must also be provided when severe pain is present. If the rib fracture is successfully stabilized, continued damage to the adjacent structures, such as lung, is minimized (4).

In our opinion, post-mortem examination should be mandatory for competition-related deaths. The data must be collected and reported for dissemination of knowledge to the veterinary community. More appropriate clinical tests for horses which have suffered accidents during races could assist with early diagnosis.

Riders and veterinarians involved in equine competitions are encouraged to understand and recognize the signs of stress in their equine partners, and to always err on the side of caution. However, can riders be prepared to recognize this kind of stress sign?

In conclusion, the consequences of some traumatic events can be unrecognized during endurance races and they can lead to an erroneous diagnosis of exhaustion.

CVJ

## Acknowledgments

The authors would like to express their deepest sympathy to those affected by the death of this horse, and thank to those whose cooperation made this educational report possible.

## References

1. Mansmann RA, Carlson GP, White NA, Milne DW. Synchronous diaphragmatic flutter in horses. *J Am Vet Med Assoc* 1974; 165: 265-270.
2. Foreman JH. The exhausted horse syndrome. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1998; 14: 205-219.
3. Knottenbelt DC, Holdstock N, Madigan JE. The foal at the delivery. In: *Equine neonatology: medicine and surgery*. Saunders, 2004: 65-74.
4. Hassel DM. Thoracic trauma in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2007; 23: 67-80.



Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010). Rib fracture during an endurance ride. Can Vet J. Aceptado

Carta de aceptación del artículo

**PABLO**

**De:** "Editorial Office" <Journals@cvma-acmv.org>

**Para:** <ptrigo@uco.es>

**Enviado:** Jueves, 10 de Junio de 2010 08:15 p.m.

**Asunto:** 10-59

Página 1 de 1

11/10/2010

Dear Dr. Trigo:

Thank you for your revised manuscript, 10-59. The changes you have made and the responses you have provided are satisfactory, and I am pleased to accept your manuscript for publication in The Canadian Veterinary Journal. Your paper should be published in approximately 15 months' time.

Please note that should you wish to have your figures published in color, the fee is \$150.00 per color figure.

It is important that you notify our office to let us know if you are willing to pay for color figures. Please provide us with your credit card information before or upon receipt of your galley proofs.

Your help in preparing the manuscript for publication has been much appreciated.

Sincerely,

Carlton Gyles

Editor-in-chief



## URIC ACID RESPONSES TO ENDURANCE RACING AND RELATIONSHIPS WITH PERFORMANCE, PLASMA BIOCHEMISTRY AND METABOLIC ALTERATIONS.

Castejón F<sup>1\*</sup>, Trigo P<sup>1</sup>, Muñoz A<sup>2</sup>, Riber C<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>*Department of Cellular Biology, Physiology and Immunology. University of Córdoba, Spain.* <sup>2</sup>*Department of Animal Medicine and Surgery. Cardenal Herrera-CEU University. Valencia, Spain.* <sup>3</sup>*Department of Animal Medicine and Surgery. University of Córdoba*

\* Author to whom correspondence should be addressed

Word count: 3393

### **Summary**

#### ***Reasons for performing the study***

The study was undertaken in order to better understand the uric acid response to endurance races.

#### ***Objectives of the study***

The aim of this work is to demonstrate uric acid increments and its relationship to diverse biochemical and performance parameters, in horses subjected to a prolonged effort, with and without presentation of metabolic alterations.

#### ***Methods***

Blood samples were taken from horses the day before and 5-10 minutes after successfully finishing a 121 km (assay 1, n=24) or a 164 km endurance race (assay 2, n=17), and from 19 animals eliminated by metabolic disorders during several endurance races (assay 3). Plasma was obtained and determinations of CK, AST, LDH, AP, uric acid (UA), creatinine (Cr), urea, lactate (L) and plasma proteins (PP) were carried out. Sex, age, time in competition, average speed and total recovery time were also recorded. Assay 1 and 2 were arithmetically subdivided in 3 groups each one in order to categorise time in competition, average speed and total recovery time. Changes among the groups were evaluated with ANOVA and Fisher's PLSD test. Student's paired *t* test was used to assess pre and post-exercise differences. A value of  $p \leq 0.05$  was considered significantly different. Pearson correlation coefficient was used to assess the relationship between all the variables and UA increases.

#### ***Results***

Average speed of the sampled horses was significantly higher in assay 1 compared to assay 2 ( $15.5 \pm 1.06$  vs.  $14 \pm 1.26$  km/h). However, there were no significant differences in plasma biochemistry values between both groups. The fastest horses showed significantly higher UA levels, compared with the slowest (assay 1 and 2) and medium horses (assay 1). The animals with metabolic alterations had significantly higher UA

( $8.03 \pm 3.1$  vs.  $4.91 \pm 2.3$  in assay 1 and  $4.62 \pm 2.03$  mg/dl in assay 2), CK ( $1849.55 \pm 719.98$  vs.  $984.24 \pm 480.27$  in assay 1 and  $1189.38 \pm 522.67$  UI/l in assay 2) and PP ( $8.36 \pm 0.32$  l vs.  $7.59 \pm 0.49$  in assay 1 and  $7.40 \pm 0.67$  mg/d in assay 2), compared with those that concluded adequately the race. There were significant correlations between UA and CK in assay 1 ( $r=0.42$ ,  $p=0.017$ ), assay 2 ( $r=0.47$ ,  $p=0.009$ ) and assay 3 ( $r=0.60$ ,  $p<0.001$ ), and between UA and PP in assay 1 ( $r=0.52$ ,  $p=0.011$ ) and assay 3 ( $r=0.46$ ,  $p=0.019$ ).

### **Conclusions**

UA rises in horses after a prolonged effort, being this increase higher in animals with metabolic commitment, and in the fastest horses. This increase has a direct correlation with CK.

**Keywords:** endurance; exercise; CK; horses; metabolic alterations, uric acid

## Introduction

During intense exercise the rate of muscle ATP utilisation is higher than the rate of ATP regeneration, which leads to an accumulation of ADP and AMP. In addition to creatine kinase mediated ATP regeneration, ADP may be rephosphorylated to ATP through the adenylate kinase reaction that leads to increased AMP production. In order to avoid a large accumulation of AMP within the cell, AMP is further deaminated to IMP by the enzyme AMP deaminase (Lowenstein, 1990).

The AMP deaminase reaction is coupled to the major anaerobic pathways, the creatine kinase reaction and glycolysis. An elevated level of free AMP stimulates AMP deaminase reaction, glycogenolysis and glycolysis. A high rate of glycolysis leads to the formation of lactate and consequently an elevated concentration of  $H^+$ , which may increase the activity of AMP deaminase (Dudley and Terjung, 1985).

The uric acid (UA) accumulation from adenine nucleotides only takes importance when the energy balance is critical and sustained. Due to the low relative speed of uricase reaction, UA is the metabolite that suffers the biggest increase when this metabolic pathway is overloaded in non-maximal exercises (Tullson *et al.*, 1995; Essén-Gustavsson *et al.*, 1999; Moriwaki *et al.*, 1999).

Endurance races are one of the biggest metabolic demanding sports the horse is subjected. Horses competing in endurance rides may show metabolic alterations causing big impacts in the animal homeostasis, inducing significant changes in the blood biochemistry parameters as a consequence of the sustained imbalance of the internal medium (Foreman, 1998). It is reasonable then to consider that the energy depletion in endurance competitions will have correlations with

blood biochemistry parameters. Also, we speculate that sustained energy deficit in the equine muscle might be associated with the induction of these metabolic alterations.

There are little data available in the literature trying to explain UA modifications during endurance races, especially related to metabolic alterations and performance. For all of that, the aim of this work was to demonstrate uric acid increments and its relationship to diverse biochemical and performance parameters, in horses subjected to a prolonged effort, with and without presentation of metabolic alterations.

## Materials and methods

50 horses from three different assays were studied:

### Assay 1:

The study was conducted during a two stars endurance race over a distance of 121 km in undulating hard terrain in Tuéjar (Junior and Young Riders Spanish Championship). The race followed the FEI rules. The weather was temperate (temperatures ranging 22 – 28°C and relative humidities between 43 and 55%). A total 24 animals were analysed (15 females and 9 males), ranging between 8 and 14 years of age ( $10.5 \pm 2.04$  years), from different breeds (9 Arabian-cross, 7 Arabians, 4 Thoroughbred-cross, 3 Anglo-Arabians, and one Thoroughbred horse). All horses concluded the race adequately and they did not show any alteration in the subsequent days. The average speed of the race was between 13.1 and 17.6 km/h.

### Assay 2:

The study was conducted during a three stars endurance race and covered 164 km of undulating hard terrain in Córdoba. The race followed the FEI rules. The weather was hot (temperatures ranging 28 – 37°C and humidity 29 – 33%). A total 17

animals were analysed (9 females and 8 males), ranging between 9 and 16 years ( $11.2 \pm 2.15$  years), from different breeds (7 Arabians, 5 Arabian-cross, 3 Thoroughbred-cross, one Polo horse, and one Anglo-Arabian horse). All horses concluded the race adequately and they did not show any alteration in the following days. The average speed of the race was between 12.4 and 16.3 km/h.

#### **Assay 3:**

A total of 19 animals eliminated by metabolic problems from 5 different endurance races were analysed. All horses had been eliminated by metabolic alterations, being heart recovery outside the limit (5 horses), exhausted horse syndrome -clinical signs of exhaustions without any pathognomonic signs of disease- (4 horses), myopathies (3 horses), synchronous diaphragmatic flutter (3 horses), cardiac arrhythmia (1 horse), diarrhoea (1 horse), and laminitis (1 horse) the diagnosis of the treating veterinarian. All these horses needed medical assistance, but samples were taken before any treatment in all cases. None of the horses died in this assay or in the following days.

#### **Sample collection and analysis**

In assays 1 and 2 blood samples pre and post-exercise were taken from jugular vein and placed on heparinised tubes. Plasma was obtained by centrifugation within 10 min of collection and immediately refrigerated for its later analysis within the 48 following hours. Pre exercise samples were obtained the previous day while post-exercise samples were taken between 5 and 15 minutes after overcoming the last mandatory veterinary examination (vet gate).

Determinations of creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (AP), UA, creatinine

(Cr), lactate (L), and total plasma proteins (PP) were performed by enzymatic methods under spectrophotometric readings<sup>1</sup> using reagents designed for each determination<sup>2,3</sup>.

Additionally, sex, age, time in competitions, average speed and total recovery time were recorded.

In assay 3, jugular blood was extracted from each animal within 15 min of overcoming the vet gate where they had been eliminated. The sample was processed following the same procedure than in assay 1 and 2.

Assay 1 and 2 were arithmetically (Max-Min/3) subdivided in 3 groups each assay in order to categorise time in competition, average speed and total recovery time and compared with post-exercise UA values.

#### **Statistical analysis**

Data are presented as means  $\pm$  SD. Changes among the groups were evaluated with an ANOVA. A post hoc Fisher's protected LSD test was performed to test for differences between means. Differences between the values obtained pre and post-exercise were determined by Student's paired *t* test. Significance was inferred at  $P < 0.05$ . Pearson correlation coefficient was used to assess the relationship between the increments in all the studied variables and UA increases. As the resting values for the animals of assay 3 were not available, the absolute values were used to analyse the correlations between UA and the other variables.

#### **Results**

Results from CK, AST, LDH and AP in all the assays are showed in table 1, whereas values of UA, Cr, L and PP are presented in table 2. The average speed of the sampled horses was significantly higher in assay 1 compared to assay

2 ( $15.5 \pm 1.06$  vs.  $14 \pm 1.26$  km/h), while age ( $10.5 \pm 2.04$  vs.  $11.2 \pm 2.15$  years) and time in competitions ( $4.05 \pm 1.47$  vs.  $4.26 \pm 1.56$  years) did not show significant differences. Moreover, there were no significant differences in plasma biochemistry values between these two groups at the end of the competition. UA, CK, AST, LDH, AP, PP, Cr had significant increments (in assay 1 and 2) after an endurance race (table 1 and 2).

**TABLE 1: CK, AST, LDH and AP responses before and after exercise in Assay 1 and 2, and after exercise in Assay 3**

Assay		CK		AST		LDH		AP	
		Mean (U/l)	r	Mean (U/l)	R	Mean (U/l)	r	Mean (U/l)	r
1	Km 0	221.69±127.64		267.95±89.8		410.39±124		258.88±96.09	
	(n=24) Km 121	984.24±480.27 <sup>*a</sup>	0.42 <sup>c</sup>	389.34±93.1	0.27	779.57±345	0.15	398.18±118.88 <sup>*</sup>	0.16
2	Km 0	317.77±136.36		281.7±78.2		321.93±118		241.95±87.33	
	(n=17) Km 164	1189.38±522.67 <sup>*a</sup>	0.47 <sup>c</sup>	409.22±113 <sup>*</sup>	0.2	563.72±168 <sup>*</sup>	0.18	511.31±159.35 <sup>*</sup>	-0.09
3	(n=19)	1849.55±719.98 <sup>b</sup>	0.6 <sup>c</sup>	511.93±241	0.23	764.91±353	0.24	526.21±267.33	0.19

<sup>\*</sup> Significant differences with pre exercise.

<sup>b</sup> Significant differences with a

r: Pearson's correlation coefficient between increment of each variable and uric acid increment.

<sup>c</sup> p<0.05

**TABLE 2: UA, Cr, L and PP responses before and after exercise in Assay 1 and 2, and after exercise in Assay 3**

Assay		UA	Cr	R	L	r	PP	R
		Mean (mg/dl)	Mean (mg/dl)		Mean (mmol/l)		Mean (mg/dl)	
1	Km 0	1.71±0.61	1.12±0.18		0.92±0.53		6.61±0.51	
	(n=24) Km 121	4.91±2.3 <sup>*a</sup>	1.88±0.61 <sup>*</sup>	0.22	1.81±0.8	0.07	7.59±0.49 <sup>*a</sup>	0.52 <sup>c</sup>
2	Km 0	1.27±0.41	1.29±0.35		0.96±0.68		6.77±0.26	
	(n=17) Km 164	4.62±2.03 <sup>*a</sup>	2.05±0.63 <sup>*</sup>	0.17	2.03±1.06	0.2	7.40±0.67 <sup>*a</sup>	0.45
3	(n=19)	8.03±3.11 <sup>b</sup>	2.11±1.13	0.11	2.36±1.31	0.12	8.36±0.32 <sup>b</sup>	0.46 <sup>c</sup>

<sup>\*</sup> Significant differences with pre exercise.

<sup>b</sup> Significant differences with a

r: Pearson's correlation coefficient between increment of each variable and uric acid increment.

<sup>c</sup> p<0.05

The animals with metabolic alterations had significant higher UA, CK and PP compared with those that concluded adequately the races (assay 1 and 2). There were significant correlations between UA and CK in assay 1 ( $r=0.42$ ,  $p=0.017$ ), assay 2 ( $r=0.47$ ,  $p=0.009$ ) and assay 3 ( $r=0.60$ ,  $p<0.001$ ), as well as between UA and PP in assay 1 ( $r=0.52$ ,  $p=0.011$ ) and assay 3 ( $r=0.46$ ,  $p=0.019$ ).

The fastest horses showed significant higher UA levels than medium and slowest horses in assay 1 ( $6.1\pm1.6$  vs.  $4.4\pm2.2$  and  $4.0\pm1.4$  mg/dl respectively); and than slowest horses in assay 2 ( $5.6\pm1.4$  in fastest horses vs.  $3.4\pm1.15$  mg/dl for the slowest horses).

There were not significant differences in the UA concentrations when the order of classification of the animals according to the recovery time and the time in competitions were considered. Neither differences in UA levels, recovery time and time in competition related to age or sex were observed.

## Discussion

UA, CK, AST, LDH, AP, PP, Cr increments during endurance races had been previously reported and, under certain limits, represents the normal response to prolonged exercise (Rose *et al.*, 1983; Barton *et al.*, 2003).

An unexpected finding in this research was the lack of significant differences in plasma biochemistry between races of different distance (assay 1 and 2), result that agrees with the data presented by Barton *et al.* (2003) after comparing 48-, 83-, and a 159-km endurance races. Biochemical changes in horses competing in endurance rides seem to be the result of the complicated interactions between distance, weather conditions, speed, terrain, horse and rider experience, training and acclimatisation (Rose *et al.*, 1983; Foreman 1998; Barton *et al.*, 2003). In

the present study the speed was significantly higher in the sampled horses in assay 1, while distance was 1/3 longer in assay 2, but there were not big differences in the terrain or weather conditions and horse experience between both assays. Assay 1 was performed during a junior and young riders championship, while assay 2 was carried out in a senior race. Therefore, differences in rider experience were expected, although the degree of rider experience was not recorded. According to our results, under similar terrain and weather conditions, speed, distance and rider experience may play an important role in determining the plasma biochemistry response, although the effects of training and acclimatisation cannot be excluded.

The elimination of the horse during the race can take place for many and diverse reasons, but the heat stroke, fluid and electrolyte losses, acid-base imbalance and the energy depletion are those most commonly involved (Foreman, 1998). In this study, the eliminated animals had higher UA values than those that completed adequately the competitions. The UA increase could be due to a prolonged energy imbalance (Tullson *et al.*, 1991; Tullson *et al.*, 1995). In this way, UA increase may represent cellular fatigue.

PP was also higher in non-finishing horses, reflecting the dehydration as a cause of elimination.

This study also showed correlations between PP and UA in all the assays. This result may be due to energy commitment under cellular dehydration conditions. Another possible mechanism involving PP and UA is the role of xanthine oxidase as a source of free radicals. Positive correlations of plasma CK and AST with different markers of antioxidant status are consistent with the hypothesis that free radicals produced during exercise change membrane permeability of

muscle cells (Mills *et al.*, 1997). Overstatement of oxidative stress associated with increased muscle membrane leakage during endurance exercise in certain horses could contribute to oxidative damage, in contrast to previous reports of muscle damage affecting exclusively to glycolytic fibres (Valberg *et al.*, 1993). Oxidative stress has also been suggested to contribute to several equine diseases, including the exertional rhabdomyolysis (Valberg *et al.*, 1993). Additionally, xanthine oxidase inactivation has diminished the values of plasmatic CK in equines before similar loads of exercise, indicating that the free radicals formed in the cytosol, alter the normal function of the plasmatic membrane (Mills *et al.*, 1997; Mastaloudis *et al.*, 2004).

The increase in the plasma concentration of cellular enzymes depends on plasmatic membrane permeability; concentration into the cell, distribution at the cellular or subcellular level, and molecular weight of the enzyme (Totsuka *et al.*, 2002). CK high values were explained formerly as an evidence of cellular myonecrosis (Zavala *et al.*, 1978). However prolonged exercise also produces muscle enzymes release to the plasma. Probably the CK elevation induced by the exercise is related to an increase of the membrane permeability induced mainly by temperature and energy deficit, and also by cellular apoptosis (Hellsten-Westling *et al.*, 1991). Although in human being it seems that the CK increase is proportional to the cover distance (Noakes, 1987), Burton *et al.* (2003) demonstrated that CK increase is similar in endurance horses covering different distances and the same result has been found in the present research (Assay 1 and 2). The higher plasma CK in Assay 3 could be explained by the development of rhabdomyolysis in some horses and/or more intense changes in membrane permeability as a

consequence of fatigue and metabolic alterations. In this way, we can suppose that the UA increments, as reflection of energy resources exhaustion, were related to a loss of the plasmatic membrane selectivity (Assay 1 and 2) followed or by cellular damage (Assay 3). In horses maximally exercised there is a high correlation between UA and lactate production (Essén-Gustavsson *et al.*, 1999). However the low speeds averaged on endurance races may not limit the potential for L to be converted into pyruvate by the liver and muscle. In the same way Cr concentrations seems to be more a response of the changes in renal blood flow (De Rouffignac *et al.*, 1999) than the reflection of the emergency metabolism.

The fastest horses (assay 1 and 2) showed higher UA levels than the slowest horses, but plasma L did not show significant increases in the fastest horses. Xanthine oxidase is more abundant in muscle fibre type II (Machida and Booth, 2004), and the increase of UA in fastest horses may reflect the dependence on fibre IIA utilisation at these speeds.

A limitation in the present study was that sampling time could not be controlled or standardised at the end of the exercise. The eliminated horses usually need more time to reach the vet gate, so the time since the end of the exercise to the sample collection probably was longer in Assay 3. Therefore 15 minutes after vet check in Assay 3 could be different from the 15 minutes in assay 1 and 2 in relation to the end of the exercise.

UA studies in horses at maximal intensity have shown significant increases during recovery, with the highest level at 20-30 min of recovery (Schuback and Essén-Gustavsson, 1998; Evans *et al.*, 2002). This could be an influential factor in the higher UA in the eliminated horses. In humans, the post-exercise hypoxanthine:UA ratio in endurance exercises is lower than in anaerobic

exercises (Hellsten-Westing *et al.*, 1991). Therefore, the moment of sampling after endurance exercises seems to be less critical than after maximal exercises (Yamanaka *et al.*, 1992). In knowledge of the authors, there are no reports in the literature addressing plasma kinetics of UA after endurance events in horses.

### Conclusions

This study concludes that UA rises in horses after a prolonged effort, being this increase higher in animals with metabolic commitment and in the fastest horses. This increase has a direct correlation with CK.

### Acknowledgements

Pablo Trigo is a doctoral fellow from Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa (nr 17653), from Junta de Andalucía.

### Manufacturers' addresses

<sup>1</sup> Quick Lab Chemistry Analyzer, Hameln, Germany.

<sup>2</sup> BioSystems S.A., Barcelona, Spain.

<sup>3</sup> (Lactate) Roche Diagnostics Corp. Indianapolis, IN, USA.

### References

Barton, M.H., Williamson, L., Jacks, S. and Norton, N. (2003) Body weight, hematologic findings, and serum and plasma biochemical findings of horses competing in a 48-, 83-, or 159-km endurance ride under similar terrain and weather conditions. *Am J Vet Res.* 64(6), 746-53.

De Rouffignac, C. (1999) Effects of water balance, diet and antidiuretic-hormone administration on the renal excretion of water. *Scand J Urol Nephrol Suppl*, 202, 31-5.

Dudley, G.A. and Terjung, R.L. (1985) Influence of aerobic metabolism on IMP accumulation in fast-twitch muscle. *Am J Physiol.* 248, 37-42.

Essén-Gustavsson, B., Gottlieb-Vedi, M. and Lindholm, A. (1999) Muscle adenine nucleotide degradation during submaximal treadmill exercise to fatigue. *Equine Vet J Suppl.* 30, 298-302.

Foreman, J.H. (1998) The exhausted horse syndrome. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 14(1), 205-19.

Hellsten-Westing, Y., Sollevi, A. and Sjodin, B. (1991) Plasma accumulation of hypoxanthine, uric acid and creatine kinase following exhausting runs of differing durations in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 62(5), 380-4.

Lowenstein, J.M. (1990) The purine nucleotide cycle revisited. *Int J Sports Med.* 11(2), 37-46.

Machida, S. and Booth, F.W. (2004) Regrowth of skeletal muscle atrophied from inactivity. *Med Sci Sports Exerc.* 36(1), 52-9.

Mastaloudis, A., Morrow, J.D., Hopkins, D.W., Devaraj, S. and Traber M.G. (2004) Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med.* 36(10), 1329-41.

Mills, P.C., Smith, N.C., Harris, R.C. and Harris, P. (1997) Effect of allopurinol on the formation of reactive oxygen species during intense exercise in the horse. *Res Vet Sci.* 62(1), 11-6.

Moriwaki, Y., Yamamoto, T. and Higashino, K. (1999) Enzymes involved in purine metabolism—a review of histochemical localization and functional implications. *Histol Histopathol.* 14(4), 1321-40.

Noakes, T.D. (1987) Effect of exercise on serum activities in humans. *Sports Med*, 4 (4), 245-67.

Rose, R.J., Hodgson, D.R., Sampson, D. and Chan, W. (1983) Changes in plasma biochemistry in horses competing in a 160 km endurance ride. *Aust Vet J.* 60(4), 101-5.

Schuback, K, and Essén-Gustavsson, B. (1998) Muscle anaerobic response to a maximal treadmill exercise test in Standardbred trotters. *Equine Vet J.* 30(6), 504-10.

Totsuka, M., Nakaji, S., Suzuki, K., Sugawara, K. and Sato, K. (2002) Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. *J Appl Physiol.* 93(4), 1280-6.

Tullson, P.C. and Terjung, R.L. (1991) Adenine nucleotide synthesis in exercising and endurance-trained skeletal muscle. *Am J Physiol.* 261(2 Pt 1), 342-7.

Tullson, P.C., Bangsbo, J., Hellsten, Y. and Richter, E.A.(1995) IMP metabolism in human skeletal muscle after exhaustive exercise. *J Appl Physiol.* 78(1), 146-52.

Valberg, S., Jonsson, L., Lindholm, A. and Holmgren, N. (1993) Muscle histopathology and plasma aspartate aminotransferase, creatine kinase and myoglobin changes with exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. *Equine Vet J.* 25(1), 11-6.

Yamanaka, H., Kawagoe, Y., Taniguchi, A., Kaneko, N., Kimata, S., Hosoda, S., Kamatani, N. and Kashiwazaki, S. (1992) Accelerated purine nucleotide degradation by anaerobic but not by aerobic ergometer muscle exercise. *Metabolism.* 41(4), 364-9.

Zavala, P., Schmidt, G. and Zavala V.B. (1978) Creatine phosphokinase (CPK) and isoenzymes. Correlation with myocardial damage. *Arch Inst Cardiol Mex.* 48(3), 603-11.

## **Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides**

Trigo P<sup>1,2</sup>; Castejon F<sup>1,2</sup>; Riber C<sup>3</sup>, Muñoz A<sup>2</sup>

*<sup>1</sup> Department of Cellular Biology, Physiology and Immunology, University of Córdoba, Spain; <sup>2</sup> Equine Sport Medicine Center, CEMEDE, University of Córdoba, Spain; <sup>3</sup> Department of Animal Medicine and Surgery, University of Córdoba, Spain*

Author for correspondence: P. Trigo. Department of Cellular Biology, Physiology and Immunology, School of Veterinary Medicine, University of Córdoba, Spain. Tel: +34-957-21-2580; Fax: +34-957-21-2186; E-mail: [ptrigo@uco.es](mailto:ptrigo@uco.es)

## SUMMARY

**Reasons for performing the study.** Endurance races are the competition with the biggest metabolic demands for the sport horse. During races, some horses show homeostasis alterations, having repercussion in diverse biochemical parameters, and negative consequences on performance and health. **Aims.** To evaluate the utility of biochemical analysis in the early diagnosis of metabolic stress; and to determine cutoff values of biochemical parameters to assist in the prevention of metabolic alterations in endurance horses. **Methods.** This study involved 36 CEI races and 283 horses (41 eliminated because of metabolic disturbances). Blood samples were taken before competition, after the vet-gates and after finishing the race or veterinary disqualification. Microhaematocrit (PCV), activities of CK, AST and LDH, and concentrations of total plasma proteins (PP), urea, creatinine (Cr), uric acid (UA) and plasma lactate were determined. Successful horses were compared with horses eliminated due to metabolic conditions in the values obtained in the previous phase of being removed from the competition. Factors associated with metabolic elimination were further analyzed using multiple logistic regression analysis. Dichotomization for each variable was made using the receiver-operating characteristic curve to enter into the model. **Results.** PCV>52%, PP > 8.2mg/dl, Standardized Cr > 3mg/dl 100km, UA > 7.2 mg/dl, Standardized CK >12.6UI/l km, Standardized AST > 6.2 UI/l km were associated with the development of metabolic alterations. 30% of the horses with an imbalance between PCV and PP had metabolic elimination in the following phases. Muscle enzymes and Cr were directly related with the covered distance. **Conclusions.** Selected biochemical markers are evident in some endurance horses before their elimination. However, most horses developed metabolic disturbances without any important alterations in the variables determined in this study. **Potential relevance.** Analysis of selected plasma biochemical parameters could be useful in the prevention and early diagnosis of metabolic stress in endurance horses.

**KEY WORDS:** Endurance. Exercise. Metabolic elimination. Horses. Biochemistry. Metabolic predictors

## INTRODUCTION

The sport of endurance riding is a competitive ride taking place over 80 to 160km, divided into various phases, where the winner is the horse and rider team who successfully complete the ride in the shortest time. Competition regulations require that veterinary judges protect the health and welfare of the horses, based on the measurement of heart rate and the assessment of some clinical signs related to hydration status. However, up to now, the accuracy of the score system used to evaluate hydration in endurance horses in competition has not been proven yet.

When detected, the condition must be monitored and when deterioration develops, the horse's welfare must be protected by removing the horse from the competition. Heart rate measurement appeared to be a reliable indicator of the metabolic status of endurance horses suggesting that veterinary examinations, according to the official Federation Equestre Internationale rules, are adequate to protect the health and welfare of horses competing in endurance races (Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan *et al.*, 1991). However, the thin line between a horse eliminated for metabolic reasons and a fit horse is not always clear and disputes occasionally arise, as well as unnecessary medical treatments in some cases and the development of life-threatening diseases that could have been detected earlier.

Endurance races stand to be the competition with the biggest metabolic demands for the sport horse, requiring substantial energy production during many hours (Treiber *et al.*, 2006). Such sustained energy demands cause the cardiorespiratory, endocrine, and neuromuscular systems to operate at an elevated level for an unnatural length of time (Flaminio and Rush 1998; Schott *et al.*, 2006). During races, some horses show homeostasis alterations such as energy depletion and alterations in fluids, electrolytes, and acid-base balance with negative consequences on both the performance and the health of the horse, which might show significant changes in diverse biochemical parameters (Flaminio and Rush 1998; Castejon *et al.*, 2006; Fielding *et al.*, 2009).

The results of various blood analyses on horses competing in different distances have been reported by different authors in the past (Rose *et al.*, 1983; Grosskopf and Van Rensburg, 1983; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan *et al.*, 1991; Lindinger and Ecker, 1995; Schott *et al.*, 1997; Barton *et al.*, 2003; Castejon *et al.*, 2006; Schott *et al.*, 2006), and a reasonably clear picture can be obtained from the changes that occur in horses performing in endurance exercises. However, the information concerning horses eliminated due to metabolic conditions is not so extensive (Fielding *et al.*, 2009).

The objectives of this work are to evaluate the utility of biochemical analysis in the early diagnosis of metabolic stress in endurance horses; and to determine the cut-off values of

biochemical parameters as predictors of elimination for metabolic reasons in horses subjected to a prolonged effort.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Animals**

This retrospective study involved 283 horses competing in 36 endurance races (15\*, 9\*\* and 12\*\*\*CEI level). Races followed FEI rules and were predominantly held in Spain, but also in France, Portugal and Germany. Characteristics of the races used in this study are summarized in table 1.

The animals were selected after consent was obtained from the owners or riders of the horses for enrolling in the research. Of them, 242 concluded the race adequately and didn't show any disease associated with the exercise during the following days (Successful group, S), while 41 horses were eliminated because of metabolic disturbances during the race and needed medical treatment (Metabolic group, M).

The diagnosis of the veterinary treatments were: lack of recovery of the heart rate (11 horses), exhausted horse syndrome with clinical signs of exhaustion without pathognomonic signs of disease (7 horses), myopathies (7 horses), synchronous diaphragmatic flutter (6 horses), cardiac arrhythmia (3 horse), colic (3 horses), hypovolaemic shock (2 horses), diarrhoea (1 horse), and central nervous symptoms (1 horse). All the horses needed medical assistance, but samples in all cases were taken before any treatment. Two horses from M group died in the following days.

Horses that were eliminated because of metabolic reasons without medical treatment, eliminated because of lameness, and horses eliminated because of metabolic reasons in the first phase, were all excluded from this study.

### **Sample collection**

Jugular blood samples (10ml) were taken before competition, immediately after the mandatory veterinary examination (vet gate) of each phase and immediately after finishing the race in the successful horses (group S) or after veterinary disqualification for metabolic reasons (group M).

Microhaematocrit (PCV) was measured with the microhaematocrit method. Blood samples were then placed on heparinized tubes, plasma was obtained by centrifugation within the first 10 min after collection and was immediately refrigerated (4-8°C) during the competitions and transport for later analysis within the following 48 hours.

Determination of activities of creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), and lactate dehydrogenase (LDH), and concentration of Uric acid (UA), Urea, creatinine (Cr), plasma lactate (L), and total plasma proteins (PP) were performed by enzymatic methods with spectrometry<sup>1</sup> using reagents designed for each determination<sup>2,3</sup>.

### **Statistical analysis**

Data is summarized as means  $\pm$  SD. Normality was tested using the Shapiro-Wilks test. Changes amongst the groups were evaluated with ANOVA. A post hoc Fisher's protected LSD test was performed to test for differences between means.

The S horses were compared according to the length of the races (80, 120 and 160km) in order to check differences due to the distance, and to identify distance related variables. When observed, Pearson correlation coefficient was used to assess the relationship and appropriate standardizations (St variable = variable / covered distance, for enzymes, and St Cr /100 km= Cr \* 100 / covered distance) were made for further analysis.

The S horses (combined data obtained at the end of the competitions) were compared with the M horses after elimination (M Post Group) and with the values obtained in the previous phase before being removed from the competition (M Pre Group). Appropriate transformations were assessed for continuous variables in an attempt to improve model fit. Dichotomization was made using the receiver-operating characteristic curve for each variable, being the cut-off value the highest sensitivity + specificity value. Specificity, sensitivity, positive predictive value, negative predictive value, and likelihood ratios were calculated to estimate the prediction ability conferred by each variable. Factors associated with metabolic elimination were further analyzed using multiple logistic regression analysis. Variables with a p value < 0.20 were then entered into the logistic regression model. Excluded variables were re-investigated for any confounding effect by single introductions into the preliminary start model before final exclusion (Hosmer and Lemeshow, 2000).

Relative speed (RS) of the last phase was included as an independent variable in these steps to control this important risk factor throughout the model-building process. As phase speed is related to many factors (terrain, length, weather, etc), a conversion factor to determine RS was used as follows:  $RS = (\text{Individual speed of the phase} - \text{individual speed of the previous phase}) - (\text{Average speed of the phase} - \text{Average speed of the previous phase})$ . Positive values were considered as high relative speed (HRS dichotomic variable).

The SPSS<sup>4</sup> statistical software package version 12.0 was used for all of the statistical analyses. The level of significance was set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

The prevalence of horses eliminated due to metabolic conditions (including all horses competing as well as horses that were not treated medically) was 8, 11 and 10% for 80, 120 and 160km respectively (Table 1). Eight horses eliminated due to metabolic conditions did not require medical treatment, and 7 horses were eliminated in the first phase and were therefore also eliminated from the study. Two of the M horses died as consequence of their metabolic condition in the following days of the race.

Results from PCV, PP, Urea, Cr, L, UA, CK, AST and LDH in S horses during different length races are shown in table 2. CK, AST, LDH and Cr had significant differences in all distance groups, and are directly related with the distance covered. These variables were then standardized to each distance for further analysis.

Post exercise plasma biochemistry from S horses (combined data), M Post horses, and M Pre horses are compared in table 3. The following parameters showed significant higher means in M Post horses in comparison to S horses: PCV, PP, UA, standardized CK (St CK), standardized AST (St AST), and standardized LDH (St LDH). In comparison with S horses, M Pre horses had significantly higher PP. When comparing S horses and M Pre horses, PCV, PP, UA, St CK, and St AST showed a p value <0.20, and were then selected for entry into the logistic regression model.

Likelihood ratios, sensitivity and specificity for each biochemical variable (dichotomized) to predict the development of metabolic alterations (univariate analysis) are shown in table 4.

Multicollinearity was assessed by examining the associations among the biochemical markers to be included in the multiple logistic regression analysis. There were high correlation coefficients between PCV and PP, CK and AST, and CK and LDH (0.52, 0.41, and 0.45 respectively). Therefore, PCV, AST and LDH were not included in the multiple logistic regression analysis. Moderate to low correlations were found between UA and CK, and UA and PP (0.17 and 0.23 respectively).

The results of the logistic regression analysis are shown in table 5. The parameters CK, UA, HRS and PP made significant independent contributions to the development of metabolic alterations, whereas St Cr did not contribute significantly to the model.

In some cases (n = 13), we found a marked imbalance between PCV and PP. These horses showed PCV > 52 % and PP < 7.3 g/dl. Four of the thirteen developed metabolic conditions during the competition (laminitis, cardiac arrhythmias, and 2 colic cases) and were eliminated, three were withdrawn from the competition, while the remaining six completed the race.

## DISCUSSION

To the author knowledge, this is the largest study that examined the biochemical findings in horses that were eliminated due to metabolic conditions and in comparison with those that successfully completed the competitions.

We excluded horses eliminated in the first phase, because in these cases the data prior to elimination were the resting values. We excluded horses eliminated due to metabolic conditions but untreated, because these metabolic diagnoses were considered doubtful.

A wide range of biochemical perturbations occur during endurance riding. These results confirm previous individual studies on biochemical and haematological variables after endurance rides. Some of these changes are exercise induced and should not be confused with indicators of disease (Rose *et al.*, 1983; Foreman 1998). Differences related to the distance were also described by other authors (Lindinger and Ecker, 1995; Hoffman *et al.*, 2002; Barton *et al.*, 2003). Some variables (PCV, PP, Urea and UA) showed significant differences between 80 and 120km, but not between 120 and 160km. Changes in biochemical parameters related to distance continue up to 120 km races but reach a plateau thereafter. This is coherent if it is taken into account that the distance between 80 and 120 is proportionally larger than between 120 and 160 km.

Differences in several biochemistry variables between horses eliminated due to metabolic conditions and successful horses have been described previously (Grosskopf and Van Rensburg, 1983). In a recent study, Fielding *et al.* (2009) found minor differences in laboratory parameters ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , Lactate, PCV, total proteins) when endurance horses that were eliminated were compared with those that successfully completed the competitions. In this paper, sampling time is not controlled. If the blood samples were taken when the horses arrived at a veterinary hospital, the laboratory values found could have been significantly different from those obtained immediately after elimination in the place of the endurance event (Grosskopf and Van Rensburg 1983). In addition, the most important cause of elimination described by Fielding *et al.* (2009) was colic, whereas we found that the lack of cardiovascular recovery was the primary elimination cause related to metabolic conditions. It seems plausible to think that those horses that required additional diagnostic and treatment techniques, not applicable in field conditions, such as colic cases that did not respond to a proper and effective fluid therapy, were probably referred to an intensive facility. In fact, according to Fielding *et al.* (2009), horses with colic showed mild biochemical alterations when compared with horses with poor recovery.

Grosshop and Van Rensburg (1983) suggested that values of PCV > 55%, PP > 9 mg/dl, and L > 3mmol/l are risk indicators and therefore reasons to eliminate endurance horses due to

metabolic conditions. In our study, in agreement with other authors (Castejon *et al.* 2006, Fielding *et al.* 2009), L did not differ in M horses. However, in a recent study, L concentrations were higher in M than in S horses covering different distances (Muñoz *et al.*, 2010). Grosshop and Van Rensburg (1983) sampled endurance horses in a “stop-and-go ride” where the rider with a sound horse could depart from the check points without the compulsory rest periods. As L values during endurance races are very close to maximal lactate steady state, resting periods could facilitate its clearance (Jones *et al.* 2010), preventing a possible accumulation in horses at risk of developing metabolic alterations. We have to indicate that in the current study, L was measured in heparinised samples instead of using sodium fluoride tubes in order to inhibit glycolytic pathway and L production by the red blood cells. However, blood samples were centrifuged as soon as possible and red blood cells were separated. The same procedure was followed in all the samples and therefore, it does not seem plausible that this fact would have influenced the comparison between S and M horses, although caution should be taken when comparing these values of L with those of other authors using different anticoagulants.

The physiological significance of the imbalance between PCV and PP is not easy to explain. Some of these horses developed severely painful metabolic conditions (colic, laminitis), so we can suspect that moderate pain was present in the previous phase. However, it is hard to believe that these horses were able to recover their heart rate and pass the vet gate with moderate pain (Friend, 2000; Foreman *et al.* 2008).

There was a correlation between PCV and PP. Both are indicators of dehydration. However PCV is influenced also by stress (Friend, 2000). In this study, both values had high prediction ability. However PP had higher specificity and sensitivity, and therefore, higher PP concentrations seem to be better predictor of metabolic alterations in endurance horses in competition.

Correlations between CK, AST and LDH were expected. Moderate correlations between UA and CK, and UA and PP were mentioned previously (Castejon *et al.*, 2006).

Some laboratorial alterations were associated with the development of metabolic alterations: PCV > 52%, PP > 8.2 mg/dl, St Cr > 3 mg/dl km, UA > 7.2 mg/dl, St CK > 12.6 UI/l km, St AST > 6.2 UI/l km. There were strong correlations between PCV and PP, CK and AST, and CK and LDH, and low correlations between UA and CK, and UA and PP. The rest of variables were independently associated with the development of metabolic alterations. These results are consistent with our current understanding of the pathophysiology of the exhausted horse syndrome. It could be suggested that the biochemical markers reflect different pathogenic mechanisms with independent contributions to the development of metabolic alterations (Rose *et al.*, 1983; Foreman 1998; Barton *et al.*, 2003).

The results of this analysis indicate that increased PP, St Cr, UA, and St CK, alone or combined, helped to identify which horses have an increased risk of developing metabolic alterations. The specificity of each of these biochemical markers taken alone was limited (<0.90). Combined, however, the specificity value increased considerably, with an acceptable NPV and PPV. HRS significantly improves specificity of the model. However this variable could not be known before the last phase, and thus has no practical use. However, there is a clear demonstration of the involvement of the rider and the development of metabolic alterations in their horse.

The blood parameters analyzed in the present study, unfortunately, were not measured in field conditions. Samples were transported and analyzed in the laboratory. However, there are portable blood analysis systems able to quickly and accurately perform blood analysis in field situations (Tschudi, 1998). If a careful interpretation of the data reported in our study is made, our findings will be important helps to assist veterinarians in their judgment during endurance competitions. Most horses developed significant metabolic disturbances without any important alterations in the variables determined in this study. However, we have to keep in mind that all these horses were considered fit to continue in the vet-gate when the samples were taken, they were eliminated in the next vet-gate or during the next loop, and all of them required medical treatment. Although the sensitivity of these biochemical markers was low, they were able to detect 1-4 of every 10 horses with very high specificity (>0.94), whereas the physical examination failed to detect any of these horses at this time.

Another limitation in this study and its possible application is the fact that sensitivity, specificity, likelihood ratios, PPV and NPV of a test is dependent on disease prevalence (in this case % of horses eliminated due to metabolic conditions). Several studies have revealed substantial variation of these measures in different populations for the same test (Levy *et al.*, 1983; van der Schouw *et al.*, 1995).

## **CONCLUSIONS**

The results of this study suggested that biochemical findings, alone or combined, could help identify horses with an increased risk of developing metabolic alterations before their elimination during competitive endurance races of different distances.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors thank all the riders who allowed their horses be sampled during the competition, and Elizabeth Plowright for reviewing the language of the manuscript.

## **Manufacturers' addresses**

<sup>1</sup> Quick Lab Chemistry Analyzer, Hameln, Germany.

<sup>2</sup> BioSystems S.A., Barcelona, Spain.

<sup>3</sup> (Lactate) Roche Diagnostics Corp. Indianapolis, IN, USA.

<sup>4</sup> SPSS, Chicago, Illinois, USA

## **REFERENCES**

Barton MH, Williamson L, Jack S, Norton N (2003). Body weight, Hematologic findings, and serum and plasma biochemical findings of horses competing in a 48-, 83-, or 159-km endurance ride under similar terrain and weather conditions. *Am. J. vet Res.* **64**, 746-753.

Castejon F, Trigo P, Muñoz A, Riber C (2006). Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. *Equine vet J.* **36**, 70-3.

Fielding CL, Magdesian KG, Rhodes DM, Meier CA, Higgins JC (2009). Clinical and biochemical abnormalities in endurance horses eliminated from competition for medical complications and requiring emergency medical treatment: 30 cases (2005-2006). *J. vet Emerg. Crit. Care* **19**(5), 473-478.

Flaminio MJ, Rush BR (1998). Fluid and electrolyte balance in endurance horses. *Vet Clin North Am Equine Pract.* **14**, 147-58.

Foreman JH (1998). The exhausted horse syndrome. *Vet Clin North Am Equine Pract.* **14**, 205-19.

Foreman JH, Barange A, Lawrence LM, Hungerford LL. (2008) Effects of single-dose intravenous phenylbutazone on experimentally induced, reversible lameness in the horse. *J Vet Pharmacol Ther.* **31**, 39-44.

Friend TH (2000). Dehydration, stress, and water consumption of horses during long-distance commercial transport. *J Anim Sci.* **78**, 2568-80.

Grosskopf JFW, Van Rensburg JJ (1983). Some observations on the haematology and blood biochemistry of horses competing in 80km endurance rides. In: Snow, D.H., Persson, S.G.B. and Rose, R.J., Editors. *Equine Exercise Physiology*, Granta Editions, Cambridge: 425-431.

Hoffman RM, Hess TM, Williams CA, Kronfeld DS, Griewe-Crandell KM, Waldron JE, Graham-Thiers PM, Gay LS, Splan RK, Saker KE, Harris PA (2002). Speed associated with plasma pH, oxygen content, total protein and urea in an 80 km race. *Equine vet J.* **34**, 39-43.

Hosmer DW, Lemeshow S (2000). *Applied logistic regression* (2nd Edition). New York: Wiley.

Jones AE, Shapiro NI, Trzeciak S, Arnold RC, Claremont HA, Kline JA; Emergency Medicine Shock Research Network (EMShockNet) (2010). Investigators. Lactate clearance vs. central

venous oxygen saturation as goals of early sepsis therapy: a randomized clinical trial. *J Am med Assoc.* **303**, 739-46.

Levy D, Labib SB, Anderson KM, Christiansen JC, Kannel WB, Castelli WP (1990). Determinants of sensitivity and specificity of electrocardiographic criteria for left ventricular hypertrophy. *Circulation.* **81**, 815-820.

Lindinger MI, Ecker GI (1995). Ion and water loss from body fluids during a 163 km endurance ride. *Equine vet J.* **18**, 314-322.

Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejon-Riber C, Castejon FM (2010). Dehydration, electrolyte imbalances and renin-angiotensin-aldosterone-vasopressin axis in successful and unsuccessful endurance horses. Submitted for publication.

Rose R.J, Hodgson, DR, Sampson D, Chan W (1983). Changes in plasma biochemistry in horses competing in a 160 km endurance ride. *Aust vet J.* **60**, 101-5.

Schott HC 2nd, Marlin DJ, Geor RJ, Holbrook TC, Deaton CM, Vincent T, Dacre K, Schroter RC, Jose-Cunilleras E, Cornelisse CJ (2006). Changes in selected physiological and laboratory measurements in elite horses competing in a 160 km endurance ride. *Equine vet J.* **36**, 37-42.

Schott HC 2<sup>nd</sup>, McGlade KS, Molander HA, Leroux AJ, Hines MT (1997). Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses competing in 50- and 100-mile endurance rides. *Am. J. vet Res.* **58**, 303-309.

Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Wensing T, Barneveld A, Breukink HJ (1991). Heart rate, blood biochemistry and performance of horses competing in a 100 km endurance ride. *Vet. Rec.* **128**, 175-9.

Treiber KH, Hess TM, Kronfeld DS, Boston RC, Geor RJ, Friere M, Silva AM, Harris PA (2006). Glucose dynamics during exercise: dietary energy sources affect minimal model parameters in trained Arabian geldings during endurance exercise. *Equine vet J.* **36**, 631-6.

Tschudi PR (1998). Evaluation of the portable blood analyser i-STAT. *Schweiz Arch Tierheilkd.* **140**, 507-12.

van der Schouw YT, van Dijk R, Verbeek ALM (1995). Problems in selecting the adequate patient population from existing data files for assessment studies of new diagnostic tests. *J Clin Epidemiol.* **48**, 417-422.

TABLE 1: Characteristics of the races used in this study

	CEI*	CEI**	CEI***
Races (n)	15	9	12
Average Speed (km/h range)	13,5-19,2	13,8-18,6	11-17,1
Length (km - range)	72-86	110-124	151-169
All horses at competitions			
Total horses (n)	531	255	364
Eliminated due to metabolic condition (n)	42	28	36
Sampled horses			
Total of sampled horses (n)	103	74	106
Eliminated due to metabolic condition (n)	13	10	18

TABLE 2: Biochemical variables after 80, 120 and 160km in successful endurance horses

	80km (n=90)	120km (n=64)	160km (n=88)	r
PCV %	44.3±7a	45.7±4	46.4±5b	
PP mg/dl	7.5±0.4a	7.7±0.4b	7.7±0.5b	
Urea mg/dl	36±4a	39±5b	40±5b	
Cr mg/dl	1.7±0.2a	2±0.3b	2.2±0.3c	0.42 (p=0.015)
L mMol/l	1.8±0.3	2.1±0.6	2.0±0.7	
UA mg/dl	4.2±0.5a	4.5±0.8b	4.7±0.6b	
CK UI/l	683±165a	911±204b	1160±296c	0.64 (p<0.001)
AST UI/l	315±63a	475±101b	682±146c	0.81 (p<0.001)
LDH UI/l	512±95a	630±166b	818±237c	0.73 (p<0.001)

Different letters mean differences among groups

r: Pearson's correlation coefficient between increment of each variable and race length

n.s.: non significant

TABLE 3: Biochemical variables in successful endurance horses at the end of the competitions (combined data of the different types of competitions), M Post (metabolic horses after elimination and M Pre (metabolic horses before elimination)

	Successful horses (n=242)	M Post	M Pre	p
PCV %	45.2±7a	47.1±7b	46.4±5	0.18
PP mg/dl	7.6±0.5a	7.9±0.6b	7.8±0.7b	0.04
Urea mg/dl	37±6	36±5	37±5	>0.20
St Cr mg/dl 100km	1.7±0.2a	2.1±0.6b	1.8±0.5	0.15
L mMol/l	1.9±0.6	2.0±0.6	2.0±0.7	>0.20
UA mg/dl	4.5±a	5.8±0.8b	5.1±0.6	0.06
St CK UI/l km	7.5±1.5a	9.1±3.9b	8.3±2.8	0.06
St AST UI/l km	4.1±0.8a	4.8±1.8b	4.5±1.8	0.17
St LDH UI/l km	5.5±1.8a	6.1±2.6b	5.6±1.9	>0.20

Different letters mean differences among groups

p= significance value between successful and M Pre.

Table 4: Likelihood ratios, sensitivity and specificity of individual dichotomized variables

	Sensitivity	Specificity	Positive likelihood ratio	Positive likelihood ratio
PCV>52%	0.34 (0.21-0.49)	0.87 (0.82-0.91)	2.81 (1.6-4.73)	0.75 (0.6-0.94)
PP > 8.2 mg/dl	0.39 (0.24-0.55)	0.90 (0.85-0.93)	3.94 (2.31-6.8)	0.67 (0.52-0.86)
St Cr > 3 mg/dl km	0.21 (0.11-0.38)	0.92 (0.88-0.95)	3.12 (1.49-6.53)	0.83 (0.71-0.99)
UA > 7.2 mg/dl	0.36 (0.22-0.53)	0.91 (0.86-0.94)	4.21 (2.37-7.48)	0.69 (0.54-0.87)
St CK >12.6 UI/l km	0.24 (0.13-0.39)	0.78 (0.73-0.83)	1.15 (0.63-2.08)	0.95 (0.79-1.15)
St AST > 6.2 UI/l km	0.14 (0.06-0.29)	0.81 (0.75-0.85)	0.78 (0.35-1.72)	1.04 (0.91-1.2)

Numbers within parentheses indicate 95% CI

Table 5: Risk factor categories for development of metabolic elimination

	PPV	NPV	Sensitivity	Specificity
CK + UA	0.63 (0.31-0.87)	0.87 (0.82-0.91)	0.17 (0.07-0.32)	0.98 (0.95-0.99)
CK + UA + HRS	0.85 (0.42-0.99)	0.87 (0.82-0.90)	0.14 (0.06-0.29)	0.99 (0.97-0.99)
PP + HRS	0.64 (0.38-0.84)	0.88 (0.84-0.92)	0.26 (0.14-0.43)	0.97 (0.94-0.98)

Numbers in parentheses indicate 95% CI

PPV = Positive predictive value; NPV = Negative predictive value



Trigo P, Castejón F, Riber C, Muñoz A (2010). Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides. Equine vet J. Aceptado

Carta de aceptación del artículo

**PABLO**

**De:** <sue@evj.co.uk>

**Para:** <ptrigo@uco.es>

**Enviado:** Miércoles, 23 de Junio de 2010 03:58 p.m.

**Asunto:** Manuscript Accepted - Updates Approved EVJ-SU-10-109.R2 [email ref: ENR-AW-1-e]

Página 1 de 1

11/10/2010

23-Jun-2010

Dear Mr. Trigo:

Manuscript id: EVJ-SU-10-109.R2

The final files that you submitted for your manuscript have been checked and have been found to be suitable for publication and so will be forwarded to the publisher shortly.

If you have not already sent us a Copyright Transfer Agreement form, please download this form from the link below and either email or fax the signed form back to this office.

[http://www.blackwellpublishing.com/pdf/cta\\_evj2010.pdf](http://www.blackwellpublishing.com/pdf/cta_evj2010.pdf)

It is essential that this form is completed before your paper proceeds to publication. We can accept your signature, as corresponding author, on behalf of all authors.

If you have any queries please do not hesitate to contact us in the Editorial Office.

Many thanks

Mrs. Sue Wright

Equine Veterinary Journal Editorial Office

Fax: +44 (0)1638 721868