

Determinación de Algunas Variables Sanguíneas y su Relación con el Ejercicio en Equinos Fina Sangre de Carrera en Entrenamiento Competitivo

Francisco Guevara O.¹, Ana María Ramírez K.¹, Bessie Urquieta M.¹, Adolfo Godoy P.¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santa Rosa 11735, La Pintana.
Email: agodoy@uchile.cl

Resumen

Se evaluaron las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa y la relación neutrófilo: linfocito (N: L) en 15 equinos Fina Sangre de Carrera (FSC) sometidos a dos tipos de ejercicio, distribuidos según tipo de trabajo realizado, en 3 grupos de 5 animales cada uno, Grupo I: control, sin ejercicio, Grupo II: galope de 1000 metros y Grupo III: trabajo competitivo, galope de 600 metros seguido de 400 metros a velocidad supramaximal. De cada animal se extrajeron 2 muestras de sangre, antes del ejercicio (T0) y a las 2 horas post ejercicio (T1). Se determinaron las concentraciones plasmáticas de cortisol (RIA), glucosa (espectrofotometría por técnica enzimática), y se realizó un recuento leucocitario (contador hematológico automático). Los valores se expresaron mediante media y D.E. Las variaciones por efecto del tiempo, grupo e interacción grupo por tiempo, se determinaron con ANDEVA con un intervalo de confianza de 95% y nivel de significancia de $p \leq 0,05$. La intensidad del ejercicio fue la suficiente para generar un aumento significativo de la glicemia en los Gr. II y III al T1; solo el grupo III fue significativamente mayor al grupo I al T1. La concentración plasmática de cortisol dentro de grupo, presentó una disminución significativa para el T1 del Gr. II, respecto de su T0. La relación N:L, entre grupos al T0 el Gr. II fue significativamente mayor que los otros grupos; al comparar los valores dentro de grupo, mostraron una disminución significativa en el Gr. II. La mayor concentración basal de cortisol y la mayor relación N: L fue en el grupo II. El tener un mayor descenso del cortisol plasmático y de la relación N: L en T1 respecto de T0, refleja que la intensidad del ejercicio al que fue sometido es inferior al del grupo III. Los resultados descritos permitirían concluir que la respuesta del organismo al ejercicio físico tiene directa relación con el tipo de trabajo al cual es sometido el animal y la adaptación de éste al entrenamiento.

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

1. Introducción

El entrenamiento de caballos deportivos implica la utilización de ejercicios periódicos que inducen una multitud de adaptaciones fisiológicas y anatómicas en

el organismo, las que actúan para reducir el efecto de la tensión producida por los factores de estrés fisiológicos asociados al ejercicio. Adicionalmente a estas modificaciones físicas, ocurren cambios bioquímicos y hematológicos que reflejan el nivel de esfuerzo y

adaptación que presenta el ejemplar en respuesta al trabajo al que se ve enfrentado. Todas estas respuestas son un intento del organismo por mantener su homeostasis y óptimo rendimiento, las cuales pueden ser cuantificadas a modo de prever un sobre entrenamiento que perjudique el futuro rendimiento del atleta (Reinartz y Echeverri, 2007; Ferraz *et al.*, 2010; Piccione *et al.*, 2010; Barra, 2007).

Si bien es cierto que el ejercicio constituye en sí una situación de estrés, no debe transformarse en un estado de diestrés, ya que de ser así llevará a daño e incluso a una eventual invalidez atlética del ejemplar. Lo anterior es posible de evitar con un adecuado nivel de entrenamiento, que debe guiarse por el principio de sobrecarga de trabajo, compuesto por la tríada intensidad, duración y frecuencia, considerando que la exigencia a la cual se someta el animal no supere sus reales capacidades atléticas (Barra, 2007; Ferraz *et al.*, 2010; Piccione *et al.* 2010).

La respuesta al estrés es modulada por el sistema nervioso autónomo y el hipotálamo, por este motivo se logra explicar la influencia que existe sobre los sistemas respiratorio, vascular y hormonal, entre otros. Una serie de hormonas son las encargadas de regular la función de la adenohipófisis, para que ésta a su vez libere hormona adeno- cortico- trópica (ACTH) y actúe sobre la glándula adrenal estimulando la síntesis y liberación de cortisol; lo que a su vez produce un aumento en las concentraciones de glucosa sanguínea, e incremento en la relación neutrófilo: linfocito, cursando con neutrofilia y linfopenia. (Reinartz y Echeverri, 2007; Rojas, 2010; Werner y Gallo, 2009; Romero *et al.*, 2011). El estrés afecta en direcciones opuestas el número de neutrófilos y el de linfocitos, lo que permite utilizar la relación neutrófilo: linfocito como una de las formas para medir la respuesta al estrés, pudiendo ser relacionado con la dimensión del estresor y con la concentración de glucocorticoides circulantes (Romero *et al.*, 2011).

En la hípica nacional existen diferentes formas de entrenamiento, la mayoría de las cuales se realizan en forma empírica y son propias muchas veces de conocimiento exclusivo de cada entrenador. Dado que en general en nuestro medio existe poco conocimiento con respecto a cómo éstas afectan al caballo, se hace necesario estudiar diferentes sistemas de entrenamiento y evaluar el efecto de estos en algunas variables como

son la glicemia, cortisol y la relación Neutrófilo: Linfocito (N:L) que tienen directa relación con el estrés que implica el tipo de ejercicio al que se exponen durante su preparación atlética, previo a enfrentar futuras competencias.

2. Materiales y métodos

El presente estudio se realizó en 15 equinos de raza Fina Sangre de Carrera (FSC), ubicados en un centro de entrenamiento de la región metropolitana. La edad de los animales fluctuó entre los dos y tres años. Los ejemplares fueron distribuidos en tres grupos experimentales de cinco ejemplares clínicamente sanos cada uno, entendiendo como tales aquéllos que mostraron sus parámetros fisiológicos dentro de los rangos normales para la especie, raza y edad, como así mismo sus exámenes de sangre (hemograma y perfil bioquímico), siendo descartados aquellos caballos que no cumplían con estos requisitos. Todos los ejemplares fueron sometidos a igual manejo alimentario tanto en tipo, cantidad y frecuencia, siendo alimentados posterior a la toma de la segunda muestra de sangre.

Los grupos experimentales quedaron conformados, según el tipo de trabajo que realizaban, de la siguiente manera: Grupo I, control, integrado por equinos que no se encontraban en ejercicio en los últimos 60 días, por no estar aún incorporados al plan de trabajo del corral. Grupo II, animales con trabajo de galope parejo de 1000 metros. Grupo III, animales con trabajo de galope de 600 metros y en forma inmediata y continua velocidad supramaximal de 400 metros. Todos los animales fueron ejercitados en cancha de arena.

Cada grupo corresponde a un tipo de trabajo por cual deben pasar los ejemplares durante su entrenamiento deportivo, partiendo por el grupo I, seguido del grupo II y finalmente el grupo III. La determinación del tipo de trabajo que debe realizar el animal está dada por el desempeño y adaptación observada por el preparador físico, siendo el mismo para todos los ejemplares y la cual es de exclusivo conocimiento de este último. Cabe destacar que cada uno de los grupos fue formado al azar de la población de equinos que clasificaban para cada distribución.

Para la obtención de muestras, para cada equino se consideraron 2 tiempos: un Tiempo 0 (T0) a las 8:00

am pre entrenamiento y un Tiempo 1 (T1) a las 11:00 am (2 horas post ejercicio). Los mismos horarios de los tiempos T0 y T1 fueron respetados para el grupo control, que no realizaba ejercicio. La toma de muestras fue llevada a cabo mediante venopunción yugular, extrayendo 10 mL de sangre en cada ocasión (T0 y T1) en un lapso no mayor a 15 segundos, a modo de reducir o evitar al máximo posibles cambios inducidos por el estrés de la punción. Según la medición a realizar, la muestra de 10 mL de sangre de cada animal fue distribuida y manejada de la siguiente manera para su posterior análisis:

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

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

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

2.1. Análisis de muestras para las variables sanguíneas.

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

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

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

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

2.2. Análisis estadístico

Se diseñaron modelos mixtos para describir la variación de glicemia (GL), cortisol promedio (CP) y relación neutrófilo: linfocito (N: L), utilizando la identificación del animal como efecto aleatorio y como efectos fijos el grupo y tiempo de medición.

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

Dónde:

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

μ = Promedio de GL/CP/NL.

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

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

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

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

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

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

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

3. Resultados

3.1. Incidencia de diarrea y mortalidad

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

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

Tabla 1 Medias con una letra en común, no presentan diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) para la interacción. El grupo control no realiza ejercicio,

pero respeta Tiempo de medición del grupo galope y trabajo competitivo.

4. Discusión

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

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

demostrando que se requirió un trabajo a velocidad supramaximal para producir una respuesta significativa en la glicemia. Otros autores señalan (McKeever *et al.*, 2013) que el aumento en la intensidad del ejercicio y el mayor nivel de entrenamiento tienen directa relación con el aumento de la liberación de glucagón a circulación sanguínea y el aumento de la sensibilidad de su respuesta, mejorando su capacidad de movilizar glucosa durante el trabajo deportivo. Así mismo (McKeever y Gordon, 2008a; McKeever y Gordon, 2008b; Rivero y Piercy, 2014) sostienen que la concentración de glucosa plasmática no presenta un aumento sostenido en el tiempo; siendo éste, en la medida que se prolonga el ejercicio, parcial y gradualmente reemplazado por el aporte energético proveniente de los ácidos grasos no esterificados, permitiendo que éste sea sostenible en una segunda fase más aeróbica. Resultaría interesante de evaluar en futuros estudios estos aspectos y donde se considere la realización de trabajos progresivamente mayores en intensidad.

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

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

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

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

se traduce en una mayor relación N:L, ya que a mayor concentración de cortisol, mayor es la cantidad de neutrófilos y menor la de linfocitos (Islas *et al.*, 2007).

5. Conclusiones

Como conclusiones podemos señalar que, el tipo de ejercicio realizado en ambos grupos de animales experimentales fue suficiente para producir una respuesta reflejada en el aumento de la glicemia post trabajo. Así mismo, se observó que a menor nivel de entrenamiento mayor fue la concentración basal de cortisol y de la relación N:L, sin embargo a menor intensidad de ejercicio, mayor fue la disminución de cortisol y de la relación N:L post trabajo

6. Referencias

1. Barra, M. 2007. Evaluación del hemograma, concentración sanguínea de cortisol y glucosa en equinos sometidos a un ejercicio estandarizado en treadmill. Chillán, Chile. Memoria Título Médico Veterinario. U. de Concepción, Fac. Medicina Veterinaria, Depto. Ciencias Clínicas. 43 p.
2. Cayado, P.; Muñoz-Escassi, B.; Dominguez, C.; Manley, W.; Olabbari, B.; Muelas, M.; Castejo, F.; Maranon, G.; Vara, E. 2006. Hormone response to training and competition in athletic horses. *Equine Vet J.* 38(36): 274-278.
3. De Graaf-Roelfsema, E.; Keizer, H.; VanBreda, E.; Wijnberg, I; Van Der Kolk, J. 2007. Hormonal responses to acute exercise, training and overtraining a review with emphasis on the horse. *Vet Quarterly* 29(3): 82-101.
4. Ferraz, G.; Soares, O.; Foz, N.; Pereira, M.; Queiroz, A. 2010. The workload and plasma ion concentration in a training match session of high goal(elite) polo ponies. *Equine Vet J.* 42(38): 191-195.
5. Gómez, C.; Petró, P.; Andaur, M.; Pérez, R.; Matamoros, R. 2004. Medición post-ejercicio de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas en equinos de salto Holsteiner. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 14(3): 244-253.
6. Gordon, M.; McKeever, K.; Betros, C.; Manso, H. 2007. Exercise induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses. *The Vet J.* 173(3): 532-540.
7. Islas, A.; Merino, V.; Mora, G.; Quezada, M.; Kraushaar, R.; Alvarez, J.; Araya, H. 2007. Evaluación de estrés en equinos en entrenamiento para participar en prueba de resistencia. *Agrociencia* 23(2): 73-78.
8. Kingston, J. 2004. Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training. In: McKeever, K. (Eds.). *Equine Sport Medicine and Surgery*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 939-949.
9. Krumrych, W. 2006. Variability of clinical and haematological indices in the course of training exercise in jumping horses. *Bull Vet Inst Pulawy.* 50(3): 391-396.
10. McGowan, C.; Hodgson, D. 2013. Hematology and Biochemistry. In: *The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine*. Elsevier Health Sciences. 2ª ed. Elsevier Health Sciences. Missouri, Estados Unidos. pp. 56-68.
11. McKeever, K.; Gordon, M. 2008a. The horse as an athlete: physiological overview. In: Hinchkliff, K.; Geor, R.; Kaneps, A. (Eds.). *Equine Exercise Physiology: The science of exercise in the athletic horse*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 2-11.
12. McKeever, K.; Gordon, M. 2008b. Endocrine alterations in the equine athlete. In: Hinchkliff, K.; Geor, R.; Kaneps, A. (Eds.). *Equine Exercise Physiology: The science of exercise in the athletic horse*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 274-300.

13. McKeever, K.; Gordon, M. 2008c. Immunological responses to exercise and training. *In*: Horohov, D. (Eds.). *Equine Exercise Physiology: The science of exercise in the athletic horse*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 274-300.
14. McKeever, K.; Arent, S.; Davitt, P. 2013. Endocrine and Immune Responses to Exercise and Training. *In*: *The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine*. Elsevier Health Sciences. 2^a ed. Elsevier Health Sciences. Missouri, Estados Unidos. pp. 88-107.
15. Mircean, M.; Giurgiu, G.; Mircean, V.; Zinveliu, E. 2008. Serum cortisol variation of sport horses in relation with the level of training and effort intensity. *Bull USAMV-CN* 64(1-2): 488-492.
16. Piccione, G.; Casella, S.; Giannetto, C.; Messina, V.; Monteverde, V.; Caola, G.; Guttadauro, S. 2010. Haematological and haematochemical responses to training and competition in standardbred horses. *Comp Clin Pathol*. 19(1): 95-101.
17. Piccione, G.; Giannetto, C.; Fazio, F.; DiMauro, S.; Caola, G. 2007. Haematological response to different workload in jumper horses. *Bulg J Vet Med*. 10(4): 21-28.
18. Reinartz, M.; Echeverri, A. 2007. Efecto del estrés generado por el ejercicio de alto rendimiento sobre las concentraciones de cortisol y testosterona en caballos pura sangre inglés. *Rev Fac Nac Agr Medellín*. 60 (2): 3985-3999.
19. Rivero, J.; Piercy, R. 2014. Muscle physiology: responses to exercise and training. *In*: Hinchcliff, K.; Kaneps, A.; Geor, R. (2^aed). *Equine Sports Medicine: Surgery Basic and clinical sciences of the equine athlete*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Estados Unidos. pp. 2-11.
20. Rojas, M. 2010. Indicadores sanguíneos de estrés en equinos sometidos a orquiectomía, tratados en base a fenilbutazona o a la combinación de fenilbutazona y tramadol. Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. 40 p.
21. Romero, M.; Uribe, L.; Sánchez, J. 2011. Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Biosalud* 10(1): 71-87.
22. Schmidt, A.; Aurich, J.; Möstl, E.; Müller, J.; Aurich, C. 2010. Changes in cortisol release and heart rate and heart rate variability during the initial training of 3 year old sport horses. *Hormones and Behavior* 58: 628-636.
23. Werner, M.; Gallo, C. 2009. Bienestar animal en equinos destinados al sacrificio: transporte, reposo y aturdimiento. *In*: Mota, D.; Guerrero, I. (Eds.). *Bienestar animal y calidad de la carne*. BM Editores, México. pp. 85-101.
24. Yoo, I.; Lee, H.; Yoon, S.; Hong, H.; Lee, S. (2007). Study on changes in racehorses' metabolites and exercise related hormones before and after a race. *Asian Aust J Anim Sci*. 20(11): 1677-1683.
25. Zobba, R.; Ardu, M.; Niccolini, S.; Cubeddu, F.; Dimauro, C.; Bonelli, P.; Dedola, C.; Visco, S.; Pinna, M. 2011. Physical, hematological and biochemical responses to acute intense exercise in polo horses. *J Equine Vet. Sci*. 31: 542-548.