

Fatores inerentes às fases de creche, crescimento e terminação influenciam marcadores da atividade muscular, do metabolismo proteico e do estresse oxidativo em suínos*

Belise Maria Oliveira Bezerra¹⁺, Amanda Medeiros Araújo de Oliveira², Caio Vitor Oliveira Silva², Tiago Silva Andrade³, Rodrigo Fonseca de Medeiros Guedes⁴, Jardel Cavalcante Lemos⁵, José Nailton Bezerra Evangelista⁶ e Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro⁷

ABSTRACT. Bezerra B.M.O., de Oliveira A.M.A., Silva C.V.O., Andrade T.S., Guedes R.F. de M., Lemos J.C., Evangelista J.N.B. & Nunes-Pinheiro D.C.S. [Factors inherent to the nursery, growing and finishing phases influence biomarkers of muscle activity, protein metabolism and oxidative stress in pigs.] Fatores inerentes às fases de creche, crescimento e terminação influenciam marcadores da atividade muscular, do metabolismo proteico e do estresse oxidativo em suínos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(4):371-376, 2016. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza, CE 60714-903, Brasil. E-mail: belise_oliveira@hotmail.com

Brazilian pig farming is mainly characterized by an intensive system, and its creation phases are marked by specific conditions. However, there is a few studies about the influence of those conditions on the physiology of the animal. The objective of this study was to evaluate biochemical parameters and biomarkers of oxidative stress in pigs at the nursery, growing and finishing phases. Pigs (n=14), both sexes, Landrace x Large White x Duroc, healthy, housed in commercial farm were used. The animals were submitted to blood collections on days: D1 = 71; D2 = 74; D3 = 116; D4 = 151 for evaluation. Results were expressed as mean \pm sd ($p \leq 0.05$). AST values had greater in younger pigs ($p \leq 0.05$). CK values were greater at the end of the nursery phase and in the finishing phase ($p \leq 0.05$). These two parameters were positively correlated. Creatinine, urea and albumin values in experimental pigs were positively correlated and they were higher in pigs at the end of the finishing phase ($p \leq 0.05$). Markers of oxidative stress, nitric oxide and MDA, were greater in pigs in the early growth stage and out the nursery phase, respectively ($p \leq 0.05$). It was concluded that factors associated to nursery, growing and finishing phases can influence biomarkers of muscle activity, protein metabolism and oxidative stress. It is expected that this data will contribute to the understanding of physiology in swine breeding systems.

KEY WORDS. *Sus scrofa domesticus*, physiological parameters, breeding phase.

*Recebido em 23 de dezembro de 2015.

Aceito para publicação em 11 de abril de 2016.

¹ Médica-veterinária, MSc. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Faculdade de Veterinária (FAVET), Universidade Estadual do Ceará (UECE), Avenida Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza, CE 60714-903. *Autora para correspondência, E-mail: belise_oliveira@hotmail.com

² FAVET, UECE, Avenida Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza, CE 60714-903. E-mails: amandaoliveiraaraujo@gmail.com; caiovitorveterinario@gmail.com

³ Médico-veterinário, MSc. Granja Xerez, Rua Maria Efigênia Campos Teles, 101, Parque Iracema, Maranguape, CE 61948-200. E-mail: negoandrade@hotmail.com

⁴ Médico-veterinário, PPGCV, FAVET, UECE, Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza, CE 60714-903. E-mail: fmg_rodrigo@hotmail.com - bolsista Funcap.

⁵ Médico-veterinário. PPGCV, FAVET, UECE, Avenida. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza, CE 60714-903. E-mail: jardelcl@hotmail.com

⁶ Médico-veterinário, DSc. FAVET, UECE, Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza, CE 60714-903. E-mail: jnailton@hotmail.com

⁷ Farmacêutica, DSc. PPGCV, FAVET, UECE, Avenida Paranjana, 1700. Campus do Itaperi, Serrinha, Fortaleza, CE 60740-903. E-mail: diana.pinheiro@uece.br

RESUMO. A suinocultura brasileira é caracterizada principalmente pelo sistema intensivo, e suas fases de criação são marcadas por condições específicas. No entanto, a influência dessas condições sobre a fisiologia dos suínos tem escassez de estudos. O objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros bioquímicos e biomarcadores do estresse oxidativo de suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. Utilizou-se 14 suínos, ambos os sexos, cruzamento Landrace x Large White x Duroc, saudáveis, alojados em granja comercial. Os animais foram submetidos a coletas de sangue nos dias: D1 = 71; D2 = 74; D3 = 116; D4 = 151 para avaliações. Os resultados foram expressos em média±dp ($p \leq 0,05$). Os valores de AST se apresentaram maiores nos suínos mais jovens ($p \leq 0,05$). Os valores de CK foram maiores nos suínos no final da creche e na fase de terminação ($p \leq 0,05$). Esses dois parâmetros apresentaram correlação positiva. Os valores de creatinina, ureia e albumina nos suínos experimentais apresentaram-se correlacionados positivamente e foram maiores nos suínos no final da fase de terminação ($p \leq 0,05$). Os marcadores do estresse oxidativo, óxido nítrico e MDA, apresentaram-se mais elevados nos suínos no início da fase de crescimento e na saída da fase de creche, respectivamente ($p \leq 0,05$). Concluímos que os fatores inerentes às fases de crescimento e terminação influenciam biomarcadores da atividade muscular, do metabolismo proteico e do estresse oxidativo. Espera-se que estes dados possam contribuir para o entendimento da fisiologia suína em sistemas de criação.

PALAVRAS-CHAVE. *Sus scrofa domesticus*, parâmetros fisiológicos, fases de criação.

INTRODUÇÃO

A suinocultura mundial passou por profundas alterações tecnológicas nas últimas décadas, visando principalmente, o aumento da produtividade e redução dos custos de produção. Na suinocultura brasileira, predomina o sistema de confinamento intensivo com o objetivo de aperfeiçoar o desempenho econômico e produtivo (Baptista et al. 2011). O sistema de criação intensivo e suas peculiaridades associadas às fases de criação podem desencadear estresse nos suínos, já que os mesmos não têm oportunidade de expressar seus comportamentos naturais como no sistema extensivo (Temple et al. 2011).

Vários parâmetros bioquímicos podem ser utilizados como marcadores de estresse, de estado energético ou nutricional dos suínos dentro das fases de criação. Dentre esses, podemos destacar

os biomarcadores relacionados ao estresse oxidativo, que é o desequilíbrio entre espécies oxidantes e antioxidantes em um organismo (Schneider & Oliveira 2004), e pode ser desencadeado também pelo estresse (Aschbacher et al. 2013). Alterações nesses parâmetros podem repercutir na homeostase, podendo levar a uma redução no desempenho dos animais (Buzzard et al. 2013).

Neste sentido, existe uma escassez de trabalhos que discutem a influência das condições peculiares das fases de criação da suinocultura intensiva brasileira associada a parâmetros fisiológicos. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar os parâmetros da atividade muscular, do metabolismo proteico e do estresse oxidativo de suínos nas fases de creche, crescimento e terminação em um sistema de criação intensivo na região metropolitana de Fortaleza.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em granja comercial, que está dentro dos padrões sanitários preconizados no Brasil, localizada no município de Maranguape, CE no período de janeiro a março de 2014. Os suínos foram alojados em galpões, cujas, temperatura e umidade foram mensuradas com auxílio de um termo-higrômetro. Para tanto, foram utilizados 14 suínos da linhagem C20 (Landrace x Duroc x Large White), ambos os sexos (7 machos e 7 fêmeas), clinicamente saudáveis, selecionados aleatoriamente. Os animais foram pesados no primeiro e no último dia do experimento.

Os animais foram provenientes de um mesmo lote da creche de uma unidade produtora de leitões (UPL) e estavam alojados em baias suspensas com piso plástico com 3 animais/m² e, com água e ração *ad libitum*, até o final da fase de creche (71 dias). Em seguida, foram transportados por rodovia por 24 km em 31 minutos no período da manhã mais precisamente as 7 horas para granja de terminação, onde foram alojados em baias com piso compacto de cimento, com 1 animal/m², recebendo água e ração *ad libitum*. Permanecendo nas mesmas até o final do experimento por período de 151 dias.

Os suínos foram divididos em 10 baias, onde 2 animais experimentais, um macho e uma fêmea foram introduzidos em uma baia com mais 18 animais que não participavam do experimento. O protocolo experimental foi realizado nos seguintes dias de vida dos animais (D): D1 = 71 dias; D2 = 74 dias; D3 = 116 dias; D4 = 151 dias.

Esta pesquisa foi aprovada pelo CEUA/UECE sob o nº 12773941-6.

Previamente ao transporte foram realizadas coletas de sangue (D1), assim como em D2, D3 e D4, no período da manhã, por venopunção cefálica, sendo as amostras coletadas em tubos sem anticoagulante. Estas amostras coletadas foram devidamente acondicionadas para o transporte até o laboratório para realização dos exames.

Durante as coletas, os animais foram submetidos à contenção humana (D1, D2) ou humana/mecânica (D3, D4).

Para obtenção do soro, as amostras foram centrifugadas a 3.000 RPM 800 x G, e o soro obtido foi armazenado a -80°C até o uso para determinações dos teores de AST (U/L), CK (U/L), creatinina (mg/dL), ureia (mg/dL), albumina (g/dL), bilirrubina total (mg/dL) e ácido úrico (mg/dL). Essas dosagens foram realizadas através de kits comerciais específicos (Winner®) em analisador de automação bioquímica (Metrolab-2300®).

O óxido nítrico sérico foi medido através de metodologia de Griess modificada em placa de ELISA (D'Ávila et al. 2008). Para tanto, o reagente de Griess preparado (100 µL) foi adicionado a 50 µL do soro e 50 µL de água destilada em cada poço da placa para obtenção dos valores de nitrito em espectrofotômetro (550 nm). Para obtenção das quantidades de proteínas séricas foi utilizado o reagente de Bradford (200 µL) adicionado a 4µL do soro em cada poço da placa e a leitura realizada em espectrofotômetro (600 nm) (Bradford 1976), os resultados foram expressos em µg nitrito/µg proteína.

A quantificação do MDA sérico foi realizada em tubos de vidro onde foram adicionados 250 µL de soro seguido por 400 µL de ácido perclórico a 35% em banho-maria (37°C; 1 hora), a mistura foi centrifugada (1400 g; 10 minutos) e o 600 µL do sobrenadante foi adicionado a 200 µL a 1,2%, TBA, essa mistura foi levada ao banho-maria (95°C; 30 minutos) (545 nm). Após resfriada, a leitura foi realizada em espectrofotômetro (535 nm). Os resultados obtidos foram expressos em nmol/ml de soro (Draper & Hadley 1990).

Os dados foram submetidos à ANOVA seguido de teste SNK ou teste t-pareado para análise de AST, creatinina, ureia, albumina, bilirrubina, ácido úrico e MDA ou teste de Kruskal-Wallis seguido de teste de Dunn para análise de CK e óxido nítrico (Graphpad Prism®). Posteriormente, os dados foram correlacionados pelo teste de correlação de Spearman (Graphpad Prism®). Os resultados foram expressos em $\bar{X} \pm dp$, sendo considerados significativos com $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais selecionados ao final da creche, 71 dias de vida, apresentaram uma média de peso de 24,7±3,4 Kg, caracterizando D1, e ao final do experimento, 151 dias de vida, a média de peso dos animais foi de 101,4±6,3 Kg, caracterizando D4. O que demonstra um ganho de peso elevado desses animais em pequeno intervalo de tempo, o que é característico da suinocultura intensiva.

A temperatura nos galpões onde foram alojados os animais variou de 21,0±0,0°C a 35,0±0,0°C ao longo do experimento de 80 dias de acordo com o momento do dia, assim como a umidade variou de 42,2±2,0 a 85,8±0,4%. Estas variações de temperatura e umidade são as esperadas para a região

onde a granja se encontra, caracterizada pelo clima tropical quente semiárido (IBGE 2015).

A atividade muscular dos suínos foi avaliada através dos parâmetros de AST, CK e creatinina cujos valores se encontram na Tabela 1. AST e CK apresentaram correlação positiva entre si ($p < 0,05$) (Tabela 2). AST apresentou-se mais elevada nos animais mais jovens ($p < 0,05$) (Tabela 1), o que já foi observado em outros estudos, já que animais que possuem maior taxa de crescimento possuem essa enzima mais elevada, o que pode ser associado ao crescimento muscular dos mesmos (Pástorová et al. 2000). CK foi maior nos suínos no final da creche e na fase de terminação ($p < 0,05$) (Tabela 1). O dano muscular está diretamente associado com o aumento plasmático dessa enzima (Córdova & Navas 2000). Pode-se associar esse dano nos suínos na fase de creche ao piso plástico e suspenso no qual os animais foram alojados, já que no início da fase de crescimento, onde o piso é de cimento, a CK foi reduzida. E nos suínos na fase de terminação, esse dano pode ser relacionado com o alto e rápido ganho de peso desses animais. As duas condições em fases diferentes de criação levam a uma maior exigência de força muscular desses animais. A creatinina foi mais elevada nos suínos na fase de terminação do que em suínos jovens. Com AST, a creatinina apresentou correlação negativa ($p < 0,05$) (Tabela 2). A creatina participa nas reações metabólicas no interior das células e é catabolizada nos músculos esqueléticos gerando creatinina que pode ser avaliada de forma sérica ou na urina (Terjung et al. 2000). Nos suínos no final da fase de terminação o aumento da creatinina pode ser atribuído ao ganho de massa muscular desses animais.

O metabolismo proteico foi avaliado através dos teores de ureia e albumina cujos resultados encontram-se na Tabela 1. Os valores de ureia e albumina foram maiores nos suínos no final da fase de terminação ($p < 0,05$) e apresentaram correlação positiva entre si (Tabela 2). Diferentes marcadores podem ser utilizados para avaliar o metabolismo proteico como a ureia plasmática e a albumina, sendo esta última considerada um marcador mais sensível para avaliar o status nutricional proteico do que as proteínas totais (González et al. 2000). Em suínos na fase de terminação, o manejo nutricional é voltado para maximizar o desempenho e a taxa de deposição de proteína, visando o aumento de massa magra dos animais (Friesen et al. 1995). Neste experimento, os dados encontrados corroboram com os relatados na literatura.

Para avaliação da capacidade antioxidante não

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos de suínos nas fases de crescimento e terminação.

Parâmetro bioquímicos	D1 71 dias	D2 74 dias	D3 116dias	D4 151 dias	Referência*
Massa Muscular					
AST (U/L)	46,3±13,0 ^a	33,8±6,0 ^b	24,5±4,6 ^c	23,9±5,0 ^c	32,0-84,0
CK (U/L)	2341,5±3346,8 ^a	666,5±458,6 ^b	1051,1±680,6 ^{ab}	845,3±250,3 ^{ab}	2,4-22,5
Creatinina (mg/dL)	1,0±0,1 ^{ab}	0,9±0,1 ^a	1,1±0,1 ^b	1,5±0,1 ^c	1,0-2,7
Antioxidantes não enzimáticos e Metabolismo proteico					
Uréia (mg/dL)	31,9±4,7 ^{ac}	25,5±3,6 ^b	29,6±8,0 ^{ab}	36,2±6,0 ^c	21,4-64,2
Albumina (g/dL)	3,1±0,3 ^a	3,1±0,3 ^a	3,3±0,3 ^a	3,6±0,2 ^b	1,8-3,3
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,7±0,2 ^a	0,6±0,2 ^a	0,5±0,2 ^a	0,7±0,1 ^a	0-0,6
Ácido úrico (mg/dL)	1,0±0,2 ^a	1,0±0,1 ^a	1,4±0,9 ^a	1,1±0,4 ^a	0,5-1,9
Estresse oxidativo					
MDA (nmol/mL de soro)	2,4±0,8 ^a	1,9±0,4 ^{ab}	1,9±1,0 ^b	1,8±0,3 ^{ab}	-
Óxido Nítrico (µg nitrito/µg proteína)	0,02±0,01 ^{ab}	0,03±0,02 ^a	0,01±0,004 ^b	0,01±0,006 ^{ab}	-

* Kaneko 1997, Meyer & Harvey 2004.

Letras iguais indicam resultados iguais e letras diferentes, resultados diferentes na comparação entre colunas.

Tabela 2. Correlação entre parâmetros bioquímicos e do estresse oxidativo.

	AST	CK	Creatinina	Ureia	Albumina	Ácido úrico	Bilirrubina	NO	MDA
AST	r	0,3444	-0,4775	-0,1375	-0,4268	0,0007	0,1369	0,3301	0,2215
	p	0,0191	0,0008	0,3474	0,0028	0,9958	0,3534	0,0205	0,1535
CK	r		0,1065	0,2742	0,0620	0,0232	0,0682	-0,2709	0,0868
	p		0,5020	0,0684	0,6961	0,8841	0,6600	0,0754	0,5892
Creatinina	r			0,4870	0,4117	0,1131	-0,1429	-0,3369	-0,0584
	p			0,0006	0,0061	0,4703	0,3548	0,0253	0,7165
Ureia	r				0,4737	0,0658	-0,0514	-0,1224	-0,0681
	p				0,0008	0,6600	0,7285	0,4073	0,6639
Albumina	r					0,1440	0,2175	-0,1843	-0,0974
	p					0,3510	0,1465	0,2254	0,5498
Ácido úrico	r						0,6852	0,1560	0,2278
	p						<0,0001	0,3061	0,1574
Bilirrubina	r							0,4351	0,1967
	p							0,0025	0,2177
NO	r								0,2378
	p								0,1344

As correlações significativas ($p < 0,05$) estão marcadas em negrito.

enzimática foram determinados os teores de bilirrubina e ácido úrico, cujos resultados encontram-se na Tabela 1. Ao longo do protocolo experimental, bilirrubina e ácido úrico não variaram ($p > 0,05$) e apresentaram correlação positiva entre si ($p < 0,05$) (Tabela 2). A albumina é uma proteína que se encontra ligada a vários constituintes no plasma, dentre eles, a bilirrubina. Essa ligação forma um complexo que é considerado um dos antioxidantes naturais dos fluidos extracelulares (Barreiros et al. 2006). Mediante o exposto, quanto maior for o teor de proteína na dieta de suínos maior será a estimulação do sistema antioxidante não enzimático através dessa interação. O ácido úrico é um antioxidante solúvel e tem a capacidade de eliminação de radicais livres do plasma (Waring 2002), e a bilirrubina, como relatado anteriormente, também possui essa função quando associada à albumina. Neste experimento, nossos dados reforçam que em suínos, os valores desses parâmetros permaneceram constantes entre as fases, mostrando que nem

a idade e nem os fatores peculiares de cada fase de criação tem interferência sobre eles.

O estresse oxidativo, que é o desequilíbrio entre espécies reativas de oxigênio (EROS) e o sistema antioxidante de um organismo (Sies 1991), foram avaliados através dos marcadores MDA e óxido nítrico (ON), cujos resultados se encontram na Tabela 1. MDA apresentou-se elevado no início da fase de crescimento enquanto ON apresentou-se elevado na saída da fase de creche ($p < 0,05$). Esses marcadores podem estar relacionados com fatores estressantes inerentes as fases de criação da suinocultura intensiva, já que o estresse pode acelerar a acumulação de dano oxidativo (Aschbacher et al. 2013).

Dentre os radicais livres que em excesso pode desencadear o estresse oxidativo, destaca-se ON que pode reagir diretamente com o radical superóxido, gerando um oxidante mais potente, o peroxinitrito (Schneider & Oliveira 2004). Os valores de ON apresentaram-se maiores nos animais recém-chegados a granja de crescimento e terminação.

Estes resultados podem estar relacionados ao estresse causado pelo transporte e a adaptação desses animais ao novo meio de alojamento, caracterizando o início da fase de crescimento.

A peroxidação lipídica é uma cadeia de reações mediada por radicais livres que quando iniciada resulta na degradação oxidativa dos lipídios poli-insaturados, os alvos mais comuns são os componentes de membranas biológicas (Grotto et al. 2009). Esse processo resulta em uma variedade de intermediários e produtos finais, como por exemplo o malondialdeído (MDA) (Moselhy et al. 2013). As concentrações de MDA elevadas nos suínos no final da fase de creche podem ser atribuídas à menor capacidade antioxidante de animais mais jovens diante do estresse oxidativo que pode ser causado por estresse associado a densidade da fase de creche que é maior do que nas fases de crescimento e terminação.

CONCLUSÃO

Tendo como base os resultados alcançados, concluiu-se que os fatores inerentes às fases de creche, crescimento e terminação podem influenciar marcadores da atividade muscular, do metabolismo proteico e do estresse oxidativo e possa contribuir para o entendimento da fisiologia suína dentro das fases de criação de sistema intensivo.

Agradecimentos. À Granja Xerez situada no município de Maranguape/Ceará pelo apoio para o desenvolvimento do experimento.

REFERÊNCIAS

Aschbacher K., O'Donovan A., Wolkowitz O.M., Dhabhar F.S., Su Y. & Epel E. Good stress, bad stress and oxidative stress: Insights from anticipatory cortisol reactivity. *Psychoneuroendocrinology*, 38: 1698-1708, 2013.

Baptista R.I.A.A., Bertani G.R. & Barbosa C.N. Indicadores do bem-estar em suínos. *Ciência Rural*, 41: 1823-1830, 2011.

Barreiros A.L.B.S., David J.M. & David J.P. Estresse oxidativo: Relação

entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, 29: 113-123, 2006.

Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254, 1976.

Buzzard B.L., Edwards-Callaway L.N., Engle T.E., Rozell T.G. & Dritz S.S. Evaluation of blood parameters as an early assessment of health status in nursery pigs. *Journal of Swine Health and Production*, 21: 148-151, 2013.

Córdova A. & Nava F.J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes, *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 6: 204-208, 2000.

Draper H. & Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymology*, 186: 421-431, 1990.

Friesen K.G., Nelssen J.L., & Goodband R.D. The effect of dietary lysine on growth, carcass composition, and lipid metabolism in high-lean growth gilts fed from 72 to 136 kilograms. *Journal of Animal Science*, 73: 3392-3401, 1995.

González F.H.D., Conceição T.R., Siqueira A.J.S. & La Rosa V.L. Variações sanguíneas de ureia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no rio grande do sul. *Hora Veterinária*, 20: 59-62, 2000.

Grotto D., Maria L.S., Valentini J., Paniz C., Schmitt G., Garcia S.C., Pomblum V.J., Rocha J.B.T. & Farina M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Química Nova*, 32: 169-174, 2009.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 14 Dez 2015.

Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. (eds.) *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5ª ed. New York: Academic Press, 1997. 916p.

Meyer D.J. & Harvey J.W. *Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis*. 2ª ed. Philadelphia, Saunders, 2004. 368p.

Moselhy H.F., Reid R.G., Yousef. S. & Boyle S.P. A specific, accurate, and sensitive measure of total plasma malondialdehyde by HPLC. *Journal of Lipid Research*, 54: 852-858, 2013.

Temple D., Manteca X., Velarde A. & Dalmau A. Assessment of animal welfare through behavioural parameters in Iberian pigs in intensive and extensive conditions. *Applied Animal Behaviour Science*, 131: 29-39, 2011

Terjung R.L., Clarkson P., Eichner E.R., Greenhaff P.L., Hespel P.J., Israel R.G., Kraemer W.J., Meyer R.A., Spriet L.L., Tarnopolsky M.A., Wagenmakers A.J. & Williams M.H. American college of sports medicine roundtable, the physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32: 706-717, 2000.

Pástorová B., Buleca J., Pilipcinec E., Svicky E. & Szarek J. Plasma neuromediators and the enzymatic profile of sheep. *Acta Veterinaria Brno*, 69: 277-280, 2000.

Schneider C.D. & Oliveira A.R. Radicais livres de oxigênio e exercício: Mecanismo de adaptação ao treinamento físico. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 10: 308-313, 2004.

Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *American Journal of Medicine*, 91: 31S-38S, 1991.