



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

## **MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**EFFECTO DE LA CAFEÍNA SOBRE EL RESTABLECIMIENTO  
METABÓLICO Y ELECTROLÍTICO DE PERROS PASTORES BELGA  
MALINOIS Y HOLANDES EN RESPUESTA AL EJERCICIO DE ALTO  
RENDIMIENTO**

### **T E S I S**

Que para optar por el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**MIRIAM MENDOZA LARA**

#### **Tutor**

M. Sc. RAFAEL HERNÁNDEZ GONZÁLEZ  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

#### **Comité Tutorial:**

Dr. DANIEL MOTA ROJAS  
Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco  
Dr. HÉCTOR OSCAR OROZCO GREGORIO  
Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco

México, D.F.

ABRIL DE 2013



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

A mis padres por ser los pilares de todo lo que soy, por su apoyo en cada decisión que he tomado, consejos, valores y gran ejemplo.  
Los quiero mucho.

A mis hermanas y familia por su compañía, apoyo y preocupaciones. Sé que siempre contaré con ustedes.

## **AGRADECIMIENTOS**

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca que me fue otorgada para la realización del proyecto y mis estudios.
- A mis tutores: Dr. Rafael Hernández González, por su disponibilidad y cálido trato. Al Dr. Daniel Mota Rojas, por impulsar el desarrollo de mi formación profesional, por su ejemplo de perseverancia, y haberme facilitado los medios para realizar el proyecto. Al Dr. Héctor O. Orozco Gregorio por su confianza, apoyo y tiempo compartido para la realización de esta tesis.
- Le agradezco profundamente al Dr. Marcelino Becerril Herrera por su valiosa participación en la realización de los análisis estadísticos de ambos trabajos desarrollados en esta tesis; por su amabilidad, disponibilidad y hospitalidad. Fue un honor conocerlo.
- Al entrenador de Ring Francés y propietario C.P. Jorge Garrido Rodríguez por su apoyo, facilidades y disponibilidad brindada para la realización de las fases experimentales incluidas en esta tesis.
- Al Sr. Didier Amozorrutia, Sr. Adrian Amozorrutia, Sr. Carlos Rayón, Sr. Mauricio García, Srta. Angélica Cortés y Sr. Miguel Valverde, propietarios de los perros, por su confianza brindada.
- A mis amigos y especialmente a Ariadna, Efraín, Juan y Beto que colaboraron en la realización y manejo de los perros utilizados en las fases experimentales; a ti, quien me estuviste escuchando, apoyando y orientando en mis momentos de crisis.

## RESUMEN

Los resultados de la presente tesis muestran que la realización de ejercicio físico durante 20 minutos en caninos de las razas Pastor Belga Malinois y Holandés en la modalidad de Ring Francés provoca incrementos significativos ( $P < 0.05$ ) en las variables fisiometabólicas (temperatura corporal, lactato y pH sanguíneo) y en las concentraciones de  $pCO_2$  aunado a disminuciones significativas ( $P < 0.05$ ) en las concentraciones de  $pO_2$ , las cuales retornan a sus valores basales 1 h después de haber finalizado la sesión ( $P < 0.05$ ). Además que la raza Pastor Belga Malinois mostró un incremento ( $P < 0.05$ ) en la frecuencia cardiaca en el periodo post entrenamiento, y posteriormente una recuperación ( $P < 0.05$ ) hacia los valores de inicio (capítulo 1). Asimismo la aplicación de cafeína y la realización de ejercicio (Grupo Ejercicio/Cafeína) provocan una disminución en los electrolitos sanguíneos ( $Ca^{2+}$  y  $K^+$ ) durante el periodo post entrenamiento ( $P < 0.05$ ), manteniéndose esta disminución hasta 1 h después de haber finalizado la rutina ( $P < 0.05$ ). De manera contraria, en el grupo E/SCF (Ejercicio/Sin Cafeína) se observó un incremento de aproximadamente 23% en las concentraciones de glucosa sanguínea inmediatamente después de finalizar la rutina de ejercicio (capítulo 2). En conclusión, estos datos permitirán contar con antecedentes metabólicos y fisiológicos para poder evaluar y estimar el potencial de rendimiento competitivo de las dos razas de perros más empleadas en el Ring Francés además que la aplicación de cafeína ocasionó alteraciones fisiológicas en la frecuencia cardiaca y temperatura corporal, así como desajustes en las variables sanguíneas como la glucosa, hematocrito, potasio y calcio.

Palabras clave: perros, ejercicio, cafeína, gasometría sanguínea, variables metabólicas, variables fisiológicas

## **ABSTRACT**

The results of this thesis demonstrate that in canines of the Belgian Malinois and Dutch Shepherd breeds the performance of physical exercise in the French Ring modality for 20 minutes produces significant increases ( $P < 0.05$ ) in physiometabolic variables (body temperature, lactate and blood pH), and  $p\text{CO}_2$  concentrations, in addition to significant reductions ( $P < 0.05$ ) in  $p\text{O}_2$  concentrations, which return to their basal values 1 h after terminating the session ( $P < 0.05$ ). Also, the Belgian Malinois Shepherd breed showed an increased ( $P < 0.05$ ) heart rate during the post-training period, with a posterior recovery ( $P < 0.05$ ) towards initial values (chapter 1). Another finding was that the application of caffeine coupled with exercise (Exercise/Caffeine Group) caused a reduction in the blood electrolytes ( $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{K}^+$ ) during the post-training period ( $P < 0.05$ ), which was maintained up to 1 h after ending the routine ( $P < 0.05$ ). In contrast, observations of the E/SCF Group (Exercise/No Caffeine) included an increase of approximately 23% in blood glucose concentrations immediately upon finishing the exercise regimen (chapter 2). In conclusion, these data provide metabolic and physiological antecedents that make it possible to evaluate and estimate the potential competitive performance of the two breeds of dogs most often used in the French Ring modality, while also demonstrating that the application of caffeine triggers physiological alterations in the heart rate and body temperature, as well as imbalances in blood variables such as glucose, hematocrit, potassium and calcium.

*Keywords:* dogs, exercise, caffeine, blood gasometry, metabolic variables, physiological variables

# PERMISO DE REIMPRESIÓN



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Veterinarias

*Archivos de Medicina Veterinaria*

Valdivia, 17 de enero 2013  
N°015-13

Señor  
Dr. Daniel Mota Rojas  
Universidad Autónoma Metropolitana  
MÉXICO

Estimado Dr. Mota Rojas,

En virtud de su solicitud con fecha del 07 de enero 2013, respecto a dar permiso de reimpresión para incorporar en la tesis de Maestría de la EM. en C. Miriam Mendoza Lara el artículo titulado “**Perfil fisiometabólico de perros Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés de alto rendimiento en respuesta a una sesión de entrenamiento para Ring Francés**” (publicado en ArchMedVet 44 n°2, 2012), le informamos que su solicitud ha sido aceptada.

Le saluda atentamente,

Gustavo Monti  
Presidente Comité Editor  
**Archivos de Medicina Veterinaria**

# CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPITULO I.....</b>	<b>4</b>
<b>REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
Descripción del deporte canino Ring Francés.....	4
Características de los perros Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés.....	5
Respuestas fisiológicas al ejercicio.....	7
Respuesta del sistema cardiovascular al ejercicio.....	7
Respuesta del sistema respiratorio y termorregulación al ejercicio.....	9
Respuesta del sistema muscular al ejercicio.....	11
Equilibrio ácido – base en el ejercicio.....	13
Farmacocinética y farmacodinamia de la cafeína.....	14
Utilización de la cafeína en el ejercicio.....	16
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>18</b>
Perfil fisiometabólico de perros Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés de alto rendimiento en respuesta a una sesión de entrenamiento para Ring Francés	
<b>SUMMARY.....</b>	<b>19</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>19</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>21</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>23</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>25</b>

<b>CAPITULO III.....</b>	<b>28</b>
Efecto de la aplicación de cafeína sobre la respuesta fisiológica y metabólica en perros de alto rendimiento durante una rutina de ejercicio de Ring Francés	
<b>RESUMEN.....</b>	<b>29</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>30</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>34</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>41</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>44</b>
<b>CAPITULO IV.....</b>	<b>48</b>
<b>DISCUSIÓN GENERAL.....</b>	<b>48</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>54</b>

## INTRODUCCIÓN

La respuesta fisiológica del organismo ante la realización de ejercicio varía dependiendo de la intensidad, la duración o el tipo de entrenamiento desarrollado, y por consiguiente se modifica la fase de recuperación. En este sentido, el organismo presenta adaptaciones diversas al esfuerzo físico (Wilmore y Costill, 2004) como la cardiovascular y respiratoria, las cuales aseguran el aporte de oxígeno y nutrimentos requeridos para realizar la actividad muscular (Brooks y Gaesser, 1980), y permitir la eliminación de los desechos producidos por el metabolismo muscular (Grandjean y Vaissaire, 2003).

En este contexto, la acumulación del ácido láctico en el músculo ejercitado y en los líquidos corporales ha sido un indicador relacionado a la fatiga (Warren *et al.*, 1999), además de ser utilizado para determinar la contribución de la glucólisis anaeróbica en la producción de energía durante el ejercicio, siendo el ácido láctico el producto final de la degradación anaeróbica del glucógeno o glucosa (Virus y Virus, 2003). Aunado a la medición del lactato, la determinación de gases en sangre (presión parcial de oxígeno [pO<sub>2</sub>] y presión parcial de dióxido de carbono [pCO<sub>2</sub>]) asociada a la evaluación de otras variables como el pH, la concentración glucosa sanguínea y electrolitos (Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>), ha permitido la caracterización del perfil fisometabólico en lechones sometidos a procesos de estrés durante el nacimiento (Trujillo *et al.*, 2007), así como los cambios observados en las siguientes horas de recuperación después de la administración de cafeína (Orozco *et al.*, 2010). Asimismo, mediante el empleo de estas técnicas se han podido determinar las modificaciones metabólicas durante el transporte de animales de abasto (Mota *et al.*, 2006; Becerril *et al.*, 2009) y las de perros realizando ejercicios de agilidad (Rovira *et al.*, 2007a).

Con el objetivo de incrementar el rendimiento deportivo se ha investigado el efecto ergogénico de fármacos como la cafeína, debido a que en humanos cerca del 74% de los atletas de élite consumen cafeína antes de realizar una competencia deportiva (Del Coso *et al.*, 2011). Esto ha sido posible gracias a que la cafeína fue eliminada de la lista de sustancias prohibidas de la Agencia Mundial Anti-dopaje en 2004 (World Antidoping, 2012).

Graham y Spriet (1991) sugieren que el consumo de cafeína antes de realizar ejercicio induce un ahorro de glucógeno muscular durante los primeros 15 minutos de iniciada la actividad, este ahorro de glucógeno permite un mayor rendimiento en el individuo durante más tiempo debido a la mayor concentración del mismo en las últimas fases del ejercicio. Una hipótesis propuesta por Davis y Green (2009) parece indicar que la cafeína estimula el sistema nervioso central ya que es un nucleosido antagonista de los receptores de adenosina. La adenosina ejerce un efecto inhibitor potente de la actividad neuronal en los niveles sináptico y presináptico. El bloqueo de este efecto inhibitor conduciría a un incremento de la actividad excitatoria neuronal (Gennaro, 2003). Además, se ha sugerido que aumenta la secreción de  $\beta$ -endorfinas, las que por sus propiedades analgésicas pueden conducir a una disminución en la sensibilidad al dolor y por lo tanto, mejoran el rendimiento de resistencia (Goldstein *et al.*, 2010).

A nivel del músculo esquelético (Stephenson, 2008) probablemente, la cafeína actúa directamente sobre el receptor de rianodina (canal de liberación de  $\text{Ca}^{2+}$ ) para potenciar la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  del retículo sarcoplásmico. Como resultado de estos 2 mecanismos celulares de acción, la cafeína provoca los siguientes efectos: incremento de la lipólisis, estimulación del sistema nervioso central, reducción del potasio plasmático durante el ejercicio, aumento de la fuerza de contracción muscular a bajas frecuencias de estimulación, da lugar al ahorro de glucógeno muscular (parcial o totalmente debido a un aumento en la oxidación de ácidos grasos libres), así como la inducción de acciones indirectas en las cifras de

calcio intracelular por hiperpolarización de la membrana celular (Undem y Lichtenstein, 2003) así mismo Ferraz *et al.*, (2008), demostraron que la aplicación de cafeína en caballos árabes disminuye significativamente las concentraciones de lactato en sangre en comparación con el grupo de caballos control, después de la realización de ejercicio intenso de corta duración. Por lo antes señalado, estos mecanismos de acción podrían sugerir que la cafeína podría ser benéfica durante la ejecución de ejercicio de resistencia, sobre todo cuando la acumulación de lactato, disminución de glucógeno y por ende de glucosa, podría ser una limitante para el rendimiento (Tarnopolsky, 1994). No obstante, el efecto de la cafeína sobre el equilibrio ácido-base, las variables bioquímicas sanguíneas y de las constantes fisiológicas no ha sido evaluado en otras especies sometidas a ejercicio físico, específicamente en perros de alto rendimiento empleados en competencias deportivas de Ring Francés. Por lo que, el objetivo de estudio de la presente tesis fue evaluar el efecto de la administración de cafeína sobre los cambios en el equilibrio ácido-base, las variables bioquímicas y las constantes fisiológicas en perros de las razas Pastores Belga Malinois y Holandés durante una sesión de entrenamiento de Ring Francés.

# CAPITULO I

## REVISIÓN DE LITERATURA

### *Descripción del deporte canino Ring Francés*

De acuerdo con la Federación Canófila Mexicana (FCM), el Ring Francés es un deporte canino de alta selección de cualidades físicas y temperamentales de perros de guardia y protección. En México, el Ring Francés se practica desde 1986, y fue precisamente en 1994 cuando se juzga la primera competencia oficial en México.

El trabajo de protección es un duelo entre el hombre de ataque y el perro, en donde ambos demostrarán su destreza, habilidades y técnica, para tratar de resultar vencedores en la competencia.

Cabe señalar que debido a la gran capacidad física requerida para este deporte, no todas las razas son aptas para practicarlo. Por ejemplo, se ha demostrado que la raza Labrador Retriever tiene una predisposición a un síndrome llamado colapso inducido por el ejercicio (EIC), que es atribuido a la intolerancia al calor, hipoglucemia, arritmia cardíaca o una miopatía metabólica (Taylor *et al.*, 2008).

Por otra parte, este deporte es de un gran tecnicismo, cada segundo que un perro tarda en hacer un ejercicio es un segundo que le va a descontar puntos y que puede llegar a ser la diferencia entre los competidores.

Como lo indica el reglamento de Ring Francés (1997), este se compone de 4 niveles consecutivos (Brevet, Ring I, II, III), los cuales integran tres tipos de ejercicios básicos: Agilidad, Obediencia y Protección, excepto en el nivel denominado Brevet, en donde se evalúan ejercicios de obediencia y protección solamente. Es importante mencionar que en el último nivel, es decir Ring III, está la verdadera competencia del Ring Francés

Dentro de los ejercicios que se realizan en cada nivel se encuentra:

- Brevet para perro de defensa, (en este nivel se selecciona al perro que exterioriza la aptitud para realizar ejercicios de defensa): caminar con correa, caminar sin correa con bozal, mantenerse quietos en ausencia del manejador durante un minuto, rechazo del alimento, protección, defensa del manejador y ataque de frente con vara.
- Ring I: En este nivel al perro se le pide el 100% de sus habilidades durante 20 minutos sin parar. Consiste en realizar los ejercicios de Brevet más el salto de valla (90 cm) ó salto de longitud (3 m) ó escalada de empalizada (1.80 m), recobre de objeto lanzado, posiciones, ataque en huida con vara y ataque de frente con revolver.
- Ring II: Se compone de 30 minutos de exigencias continuas. A este nivel sólo podrán acceder quienes hayan logrado al menos 2 pruebas aprobatorias del nivel anterior con dos jueces distintos). Se deben cumplir los mismos requisitos que en el Ring I más los siguientes ejercicios: salto de valla (1.10 m), salto de longitud (3 m), salto de empalizada (1.80 m), recobre de objeto a la vista y búsqueda, ladrido y conducción.
- Ring III: Se compone de 40 minutos, y se deben cumplir los mismos requisitos que en el Ring II, aumentando la complejidad de los ejercicios, ejemplo: salto de valla (1.20 m), salto de empalizada (2.30 m), envío adelante, recobre de objeto fuera de vista, ataque suspendido de frente con vara y cuidado de objeto (canasta).

### ***Características de los perros Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés***

Considerando la cantidad de esfuerzo físico que requieren los ejercicios que integran el Ring Francés, el Pastor Belga Malinois es el perro más destacado en los deportes de Ring ya que ha demostrado poseer un temperamento fuerte, es decir, una firmeza de nervios y habilidades físicas. Debido a que son perros poseedores de una aptitud innata de guardián de rebaños a la cual se le unen las

excelentes cualidades de los mejores perros de guardia para la propiedad, agilidad y fuertes instintos le dan una ventaja sobre otras razas cuando se trata del trabajo de protección, mostrando su superioridad sobre otras variedades de Pastor por ser un perro vigilante y atento (Taragano de Azar, 2000).

De las características físicas que presenta el Pastor Belga y que lo favorecen para la realización de ejercicios de protección son asociadas a su esqueleto más ligero en comparación con el Pastor Alemán, a una cabeza larga que simboliza ligereza, a la proporción de su cuerpo que da un aspecto de cuadro ya que el frontal del pecho hasta la parte posterior del trasero encajaría en un cuadrado. Las angulaciones son de moderadas a normales y como consecuencia, las extremidades posteriores se encuentran bien colocadas debajo del cuerpo cuando el animal está quieto de pie (la postura que debe adoptar en el Ring para la evaluación por parte del juez); las zancadas son cortas cuando va al trote, esto es consecuencia de la estructura cuadrada de su cuerpo y de la angulación moderada de sus extremidades anteriores y posteriores proporcionándole un movimiento firme y elástico (Pollet, 2007).

Otro de los perros que ha destacado en los deportes caninos de agilidad, obediencia, trabajo de guardia y en pastoreo, es el Pastor Holandés debido a su innato sentido de defensa además de que constituye una raza de talla grande, musculosa, de construcción simétrica y de gran concentración, que de acuerdo con la Federation Cynologique Internationale (FCI), el largo del cuerpo (desde la punta del hombro hasta el isquion) del Pastor Holandés excede el alto a la cruz, típico de un perro trotador lo que le proporciona un movimiento flexible. Sus miembros anteriores presentan una línea recta, la articulación de los miembros posteriores presenta una angulación moderada; así mismo cuenta con excelentes reflejos y resistencia, por lo que es considerado muy apto para la guarda y defensa (Krämer, 2011).

### ***Respuestas fisiológicas al ejercicio***

Las respuestas fisiológicas inmediatas al ejercicio son cambios súbitos y transitorios que se dan en la función de un determinado órgano o sistema o bien los cambios funcionales que se producen durante la realización del ejercicio y desaparecen inmediatamente cuando finaliza la actividad (López y López, 2008). Esta respuesta que tiene el cuerpo hacia el agente estresor es a través del sistema endocrino y sistema nervioso, ambos coordinan e integran la actividad de todas las células corporales. De esta forma, el sistema endocrino se encarga a través del hipotálamo de producir un mediador bioquímico llamado Factor Liberador de Corticotropina (FRC), el cual a su vez provoca que la glándula adenohipófisis secreté la hormona adrenocorticotropa (ACTH) hacia la sangre, estimulando a la glándula suprarrenal a secretar adrenalina y otros corticoides.

Por su parte, el sistema nervioso simpático se encarga de activar el organismo vía el aumento de la frecuencia respiratoria, la presión arterial, la frecuencia y volumen de las contracciones cardíacas, la síntesis de glucosa en el hígado para cubrir las necesidades energéticas del músculo (Mathews *et al.*, 2002), la circulación en los músculos (lo cual agiliza el sistema músculo-esquelético); ya durante el ejercicio, el organismo trata de cumplir con las modificaciones circulatorias requeridas aumentando el gasto cardíaco y redistribuyendo el flujo sanguíneo (Hughson y Tschakovsky, 1999) hacia las zonas de mayor actividad, aumentando el hematocrito y la cantidad de hemoglobina e induciendo una vasodilatación en los músculos activos (Wilmore y Costill, 2004).

### ***Respuesta del sistema cardiovascular al ejercicio***

Esta respuesta del sistema cardiovascular puede ser inducida por 3 sistemas principales: 1) la regulada por el SNC a través de impulsos que son conducidos por fibras nerviosas tipo III y tipo IV respectivamente hasta el centro

cardio-respiratorio (aumento de la actividad nerviosa simpática y una disminución de la actividad parasimpática) (Boffi, 2007), 2) la mediada por mecanismos hormonales o humorales y estos a la vez son de diferentes tipos: a nivel tisular un aumento de  $\text{CO}_2$ , una disminución de la  $\text{pO}_{2a}$  (presión parcial arterial de  $\text{O}_2$ ) y un descenso del pH que producen una vasodilatación arteriolar; son los denominados reflejos nutricios o de sensibilidad trófica. Además, se producen una serie de metabolitos que permiten una autorregulación local de la presión sanguínea de perfusión, que son: aumento del potasio, ácido láctico, adenosina, histamina, etc., por último se activa una regulación hormonal que incrementa la producción de catecolaminas, glucagón, péptido atrial natriurético (PNA), sistema renina-angiotensina (S.R.A), aldosterona y vasopresina (ADH), 3) la originada por factores locales cuya producción, por el metabolismo del tejido, hace que cambien los valores constantes de determinadas sustancias y estos cambios producen modificaciones en el sistema circulatorio y 4) la hemodinámica (López y Fernández, 2006).

Entre las modificaciones funcionales observados en el aparato cardiovascular antes y durante el ejercicio se desencadena una respuesta previa, por acción activadora de la corteza motora que incrementa el tono del sistema nervioso simpático (Boffi, 2007). De forma colectiva, tanto los impulsos del comando central como los del reflejo periférico (impulsos que se originan en receptores de músculo y articulaciones) condicionan la respuesta simpática durante el esfuerzo, resultando en un aumento a nivel cardiaco en la función de las 4 propiedades clásicas (cronotropismo, inotropismo, batmotropismo y dromotropismo) y a nivel circulatorio aumentando la presión arterial (PA), el flujo sanguíneo, el aumento del gasto cardiaco que se produce en forma lineal y directamente proporcional a la intensidad del trabajo (Wilmore y Costill, 2004).

Estos cambios se realizan con la finalidad de satisfacer la demanda metabólica del ejercicio y que tiene como objetivo: a) reasignar el flujo sanguíneo a los músculos activos (Wasserman, 1994) para aumentar el riego sanguíneo e incrementar la disponibilidad de oxígeno ( $O_2$ ) y de sustratos energéticos para sintetizar adenosina trifosfato (ATP) (Mishchenko y Monogarov, 1998; Villat, 2001), b) transportar los productos finales del metabolismo aeróbico como anaeróbico ( $CO_2$ , hidrogeniones y ácido láctico) y c) regular la homeostasis del calor producido por el trabajo muscular (Grandjean y Vaissaire, 2003).

### ***Respuesta del sistema respiratorio y termorregulación al ejercicio***

A través del aparato respiratorio se realiza un proceso osmótico y/o químico indispensable para la vida: la respiración. Se conocen dos tipos de respiración una encargada de transportar los gases desde la atmósfera a los tejidos y una respiración hística o tisular, encargada de transportar y utilizar  $O_2$  dentro de la cadena respiratoria mitocondrial (Boffi, 2007). La función primordial de la respiración es la hematosis, es decir, conservar la presión parcial de  $O_2$  elevada y la presión parcial de  $CO_2$  baja; transportar el  $O_2$  desde los pulmones a los capilares tisulares y de forma inversa al  $CO_2$  hacia los pulmones, regular el pH sanguíneo y eliminar una parte del agua y calor corporales en el aire exhalado, entre otras funciones (Tortora y Reynolds, 2000).

En el ejercicio, el consumo de oxígeno y la ventilación pulmonar total aumenta al pasar del reposo a un ejercicio de máxima intensidad debido a que los músculos al contraerse consumen grandes volúmenes de oxígeno y producen iguales cantidades de  $CO_2$  (Tortora y Reynolds, 2000), por tanto la capacidad respiratoria máxima es de alrededor de un 50% de la ventilación pulmonar real que se despliega en un ejercicio que exige el máximo esfuerzo. Este aumento se debe en parte a los siguientes factores: 1) a la apertura de un número de capilares previamente inactivos o la dilatación de los que están ya abiertos

aumentando el área de la superficie de sangre a la que puede difundirse el oxígeno, 2) un mejor ajuste entre la ventilación de los alvéolos y la perfusión de los capilares alveolares con sangre (Guyton y Hall, 2001), 3) a mantener el pH sanguíneo dentro de los rangos fisiológicos (Boffi, 2007) y 4) mantener un bajo grado de resistencia vascular pulmonar para evitar el paso de agua al espacio intersticial pulmonar (López y Fernández, 2006).

Los mecanismos implicados en la hiperventilación pulmonar durante el ejercicio se distribuyen en tres categorías. La primera agrupa a los llamados mecanismos o estímulos centrales en el que participa el hipotálamo como comando principal ya que actúa independientemente de la corteza motora y de la información aferente de los músculos ejercitantes, y sería uno de los principales responsables de la hiperventilación asociada al esfuerzo físico. La segunda categoría se refiere a la información procedente de mecanismos de retroalimentación, que involucran tanto a los quimiorreceptores centrales como a los periféricos (neuronas sensibles a modificaciones en las concentraciones de  $H^+$ , producidas por cambios en la presión arterial de  $CO_2$  y a los cambios en las concentraciones de potasio). La tercera categoría se refiere al papel de control e información procedente de otros tipos de receptores, por ejemplo la activación de aferencias neurales originadas en los músculos ejercitantes puede contribuir al aumento de la ventilación durante el ejercicio (López y Fernández, 2006).

Después de que se interrumpen las contracciones musculares, continúa la respiración acelerada durante un lapso y el consumo de oxígeno sigue siendo mayor que el nivel de reposo. De acuerdo con la intensidad del ejercicio físico, el periodo de recuperación puede ser de unos cuantos minutos o de varias horas (Tortora y Reynolds, 2000).

Durante el ejercicio, la mayor parte del calor producido por el cuerpo se genera principalmente en el hígado, el corazón, el cerebro y los músculos esqueléticos, después este calor se transfiere desde los órganos y tejidos más

profundos hasta la piel (Guyton y Hall, 2001). Así, casi toda la energía liberada durante la transformación metabólica de los nutrientes se convierte finalmente en calor corporal que se disipa hacia el medio ambiente y se irradia al espacio (Cunningham, 2005), incluso la energía que produce la contracción muscular sigue convirtiéndose en calor corporal (Guyton y Hall, 2001).

Con relación al perro, esta especie prácticamente no suda y elimina el calor sobre todo, a través del sistema respiratorio, lo cual es debido a que sus glándulas sudoríparas están poco desarrolladas teniendo poca utilidad en la termorregulación, por lo que no experimenta una pérdida sensible de sales minerales, en consecuencia, tras un esfuerzo físico prolongado es suficiente reintegrar el agua perdida para retornar a la normalidad fisiológica y funcional (Cunningham, 2005). Por lo que la eliminación del calor la realiza a través del jadeo, que es una adaptación a la ventilación respiratoria y que consiste en inhalar por la nariz y exhalar por la boca (Cunningham, 2005), de manera que las porciones superiores de las vías respiratorias se ponen en contacto con aire nuevo del exterior; esto enfría la mucosa debido a la evaporación del agua de las superficies, especialmente de saliva en la lengua (Guyton y Hall, 2001; Cunningham, 2005). El fenómeno es activado por los centros termorreguladores del cerebro, es decir que cuando la sangre se calienta en exceso, el hipotálamo inicia señales neurógenas para reducir la temperatura corporal (Cunningham, 2005).

### ***Respuesta del sistema muscular al ejercicio***

El músculo esquelético es capaz de adaptarse a las demandas funcionales que se le imponen, y las modificaciones debidas al entrenamiento son específicas de los músculos utilizados, y no se dan en aquellos que no participan en el entrenamiento.

El entrenamiento provoca adaptaciones musculares beneficiosas para un mejor desarrollo del ejercicio, así se han descrito modificaciones en el diámetro de las fibras o en el aumento de ciertas actividades enzimáticas. Las modificaciones a nivel muscular se deben al incremento de la actividad contráctil que está asociada con los cambios inducidos por el entrenamiento hacia un músculo más oxidativo (Boffi, 2007).

Con relación a las contracciones musculares, estas ocurren al interior de cada fibra por un mecanismo de deslizamiento que tiene como objetivo final el contraer todo el músculo acercando o alejando las palancas óseas. El proceso inicia cuando el nervio motor libera acetilcolina, lo que abre las puertas de los iones en las membranas de las células musculares, permitiendo que el sodio entre en la célula muscular (despolarización) y si la célula se despolariza suficientemente, se dispara un potencial de acción (Wilmore y Costill, 2004) que viaja a lo largo del sarcolema y después a través del sistema de túbulos, finalmente, el calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) almacenado es liberado del retículo sarcoplasmático (Martins *et al.*, 2008), el cual se enlaza a la tropina y hace que los complejos tropina- tropomiosina se alejen de los sitios donde la miosina se une a la actina (Tortora y Reynolds, 2000). Este proceso de contracción muscular exige un rápido y continuo suministro de energía a fin de tender un puente entre la miosina y la actina, componentes principales de las fibras musculares (Mishchenko y Monogarov, 1998; Wilmore y Costill, 2004). Esta energía que provoca la contracción muscular, surge del ATP al darse el rompimiento de la última molécula de fósforo (Baynes y Dominiczak, 2005), y finaliza cuando el calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) es bombeado nuevamente desde el sarcoplasma al retículo sarcoplasmático para almacenarlo. Este proceso, que conduce a la relajación requiere también energía aportada por el ATP (Wilmore y Costill, 2004).

### ***Equilibrio ácido – base en el ejercicio***

La caída en el pH sanguíneo es la consecuencia principalmente de una mayor dependencia del metabolismo anaeróbico que corresponde a incrementos en la producción de lactato sanguíneo observados cuando se presentan incrementos en el tiempo de ejercicio (Wilmore y Costill, 2004), afectando la recuperación completa del pH sanguíneo, ya que puede tardar más de 60 minutos (Robergs *et al.*, 2005).

Cambios en el pH muscular (valor en reposo de 7.1 hasta no menos de 6.6 – 6.4) afectan de modo adverso la producción de energía y la contracción muscular. Un pH intracelular inferior a 6.9 inhibe la acción de la fosfofructocinasa (PFK), una importante enzima glucolítica, que disminuye el ritmo de la glucólisis y de la producción de ATP (Muñoz y García, 1998). A un pH de 6.4, la influencia de los H<sup>+</sup> detiene toda nueva descomposición del glucógeno, ocasionando una rápida reducción del ATP, y en última instancia el agotamiento. Además, los H<sup>+</sup> pueden desplazar el calcio dentro de las fibras interfiriendo la unión de los puentes cruzados actina-miosina y reduciendo la fuerza contráctil de los músculos (Wilmore y Costill, 2004).

Cualquier aumento en la concentración de H<sup>+</sup> estimula el centro respiratorio y aumenta la ventilación alveolar (hiperventilación). Esto reduce la presión de dióxido de carbono, sin embargo, para mantener la concentración constante de este gas, se recombinan los iones de hidrógeno y bicarbonato para formar ácido carbónico y de éste, dióxido de carbono y agua a través de la anhidrasa carbónica (Cunningham, 2005). Por el contrario, un descenso de H<sup>+</sup> reduce la ventilación para aumentar la concentración de CO<sub>2</sub> y agua, y de esta reacción se produzca ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) y posteriormente a iones hidrógeno (H<sup>+</sup>) y bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (Guyton y Hall, 2001).

### ***Farmacocinética y farmacodinamia de la cafeína***

La cafeína es un alcaloide de la familia metilxantina, cuyos metabolitos incluyen los compuestos teofilina y teobromina, con estructura química y efectos similares. En estado puro es un polvo sólido, cristalino, blanco y de sabor amargo, que actúa como una droga psicoactiva y estimulante. Fue descubierta por Ruge en (1819) y descrita por Pelletier y Robiquet en (1821) (Adams, 2003).

Se absorbe rápidamente en el aparato digestivo o en el punto de inyección en los pequeños animales. Se desmetila por la isoenzima del citocromo (P- 450) hepático parcialmente a paraxantina (84%) teofilina (4%) y teobromina (12%) y otros metabolitos antes de su excreción en la orina. En perros, la cafeína se une mínimamente a las proteínas séricas ( $83\% \pm 16\%$  a  $20 \mu\text{g/mL}$ ) y tiene un tiempo de vida media de eliminación de  $255 \pm 76$  minutos (Adams, 2003).

En cuanto a su toxicidad, la cafeína tiene un amplio margen de seguridad. Una dosis excesiva puede producir convulsiones, pero la cantidad requerida es de tal magnitud que es muy raro que ocurra en clínica ya que la dosis letal administrada por vía parenteral en el perro es de 110-175 mg/kg (Adams, 2003).

No obstante, esta metilxantina a nivel celular es un nucleosido antagonista (Davis y Green, 2009) competitivo de los receptores de adenosina ( $A_1$  y  $A_2$ ) (Specterm *at al.*, 2005) que se distribuyen en diferentes partes del cuerpo por ejemplo: en el tejido adiposo, glándula suprarrenal, músculo liso y cardiaco (Van Soeren y Graham, 1998), y en el cerebro estos receptores de adenosina inhiben la liberación de numerosos neurotransmisores (GABA, acetilcolina, dopamina, glutamato, noradrenalina y serotonina) por lo tanto, el bloqueo de este efecto inhibitorio conducirá a un incremento de la actividad excitatoria neuronal; además es asociada a la estimulación directa en el receptor de rianodina (canal de liberación  $\text{Ca}^{2+}$ ) para potenciar la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  del retículo sarcoplásmico del

músculo esquelético provocando incremento de la lipólisis (Egawa *et al.*, 2011), aumento en la fuerza de contracción muscular a bajas frecuencias de estimulación, da lugar a el ahorro de glucógeno muscular (parcial o totalmente debido a un aumento en la oxidación de ácidos grasos libres) (Van Soeren y Graham, 1998), inhibe la acción de las fosfodiesterasas (enzima que degrada el AMPc) (Adams,2003) y con ello un incremento del AMPc intracelular, así como provocar acciones indirectas en las cifras de calcio intracelular por hiperpolarización de la membrana celular (Undem y Lichtenstein, 2003).

De manera general, sus efectos sobre los diferentes sistemas se pueden resumir de la siguiente manera: eficaz estimulante del sistema nervioso central (Davis y Green, 2009), de los músculos de la respiración y potencia la contracción del músculo esquelético (Lewis *et al.*, 2004); así mismo produce estimulación del miocardio, dilatación de los vasos coronarios, contrae las arterias cerebrales, aumenta la secreción ácida del estómago, relajación del músculo liso y diuresis (Specterm *at al.*, 2005). En el sistema vascular, induce vasoconstricción, presuntamente como consecuencia del bloqueo de los receptores para la adenosina localizados en el músculo liso vascular. Estimula el centro respiratorio y es considerado un broncodilatador, lo que optimiza la función respiratoria al aumentar la contractilidad del diafragma. En el sistema músculo-esquelético, la cafeína estimula la contracción voluntaria de los músculos esqueléticos, aumenta la fuerza de contracción y reduce la fatiga. En sistema renal, induce una diuresis leve mediante un incremento del flujo sanguíneo renal y el índice de filtración glomerular, así como la reducción de la reabsorción tubular proximal renal de sodio y agua y en el metabolismo aumenta la glucogenólisis y la lipólisis (Gennaro, 2003; Franco *et al.*, 2011)

Estos mecanismos de acción podrían predecir que la cafeína debería de ser benéfica durante la ejecución de ejercicio de resistencia, sobre todo cuando la disminución de glucógeno podría ser una limitante para el rendimiento

(Tarnopolsky, 1994). La cafeína y otros derivados de metilxantina son también utilizados en recién nacidos para tratar la apnea y actualmente es utilizada en neonatos porcinos que cursaron por procesos de asfixia en el parto (Orozco *et al.*, 2010).

### ***Utilización de la cafeína en el ejercicio.***

La cafeína ha sido estudiada por sus posibles efectos ergogénicos durante casi 100 años. Las primeras investigaciones se centraron en el aumento de la fuerza y la potencia, y en parámetros psicomotores como el tiempo de reacción. No obstante, a finales de los 70's, se sugirió que la cafeína podía aumentar la resistencia a través del efecto sobre el metabolismo de las grasas como forma de mejorar el rendimiento de los deportistas de resistencia, debido principalmente al potencial de la cafeína para disminuir el uso de glucógeno muscular. En los últimos años, las investigaciones se han vuelto a dirigir al efecto ergogénico de la cafeína en las pruebas de ejercicios de alta intensidad y corta duración (Williams, 2002), por ejemplo lo reportado por Collomp *et al.*, (1992) donde describen tiempos más cortos en el recorrido de una carrera de natación de 100m en nadadores muy entrenados.

Diversas investigaciones sugieren que la ingesta de cafeína antes del ejercicio induce un efecto de ahorro de glucógeno. En la mayoría de los estudios en los que se han realizado biopsias de músculo se ha demostrado que la cafeína ejerce un efecto de ahorro de glucógeno muscular durante los primeros 15 minutos de ejercicio (Graham y Spriet, 1991). Este ahorro de glucógeno permitirá al individuo rendir durante más tiempo gracias a la mayor concentración de glucógeno muscular en las últimas fases del ejercicio. Bazzuchi *et al.* (2011) prueba la hipótesis de que los suplementos de cafeína mejoran la función neuromuscular, ya que encontraron que la velocidad de conducción de la fibra muscular aumento en un 8.7% más con los suplementados con cafeína. Además se ha propuesto que el aumento en la actividad de la bomba  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  puede

mejorar potencialmente el acoplamiento de excitación-contracción con cafeína (Davis y Green, 2009). Sin embargo, Franco *et al.*, (2011) reporta que la suplementación de creatina y cafeína no afecta la composición de la masa corporal en ratas sedentarias o ejercitadas, pero los suplementos de cafeína sola reduce el porcentaje de grasa.

Ferraz *et al.*, (2008) reporta que las concentraciones de lactato en sangre de caballos árabes disminuyeron significativamente en comparación con el grupo de caballos control. Estos resultados sugieren que la administración de cafeína en dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa mejora el rendimiento de los caballos árabes durante el ejercicio intenso de corta duración.

Una hipótesis propuesta por Davis y Green, (2009) parece indicar que la cafeína estimula el sistema nervioso central ya que actúa sobre los receptores de adenosina antagónicamente, con lo que la inhibición de la adenosina induce efectos negativos sobre la neurotransmisión, la excitación y la percepción del dolor del esfuerzo durante el ejercicio. Tarnopolsky en (2008) menciona que el aumento de rendimiento en el ejercicio visto después de la inyección intracerebroventricular de cafeína en ratas proporciona una fuerte evidencia de un efecto ergogénico central. El efecto ergogénico central no está probablemente relacionado con la capacidad de la cafeína para promover el estado de vigilia, pero podría deberse a un aumento en el dolor y el umbral de percepción del esfuerzo. Los estudios también han demostrado que la cafeína puede tener un efecto directo sobre el músculo esquelético. En resumen, los efectos ergogénicos de la cafeína durante la actividad de resistencia están mediados en parte por la fuerza contráctil mayor y en parte por una reducción de la percepción subjetiva del esfuerzo, posiblemente a través de una insensibilidad de la fatiga y el dolor.

## CAPITULO II

Perfil fisiometabólico de perros Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés de alto rendimiento en respuesta a una sesión de entrenamiento para Ring Francés

Artículo publicado:

*Arch Med Vet* 44, 137-144 (2012)

ARTÍCULO ORIGINAL

### **Perfil fisiometabólico de perros Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés de alto rendimiento en respuesta a una sesión de entrenamiento para Ring Francés**

Physiometabolic profile of Belgian Malinois Shepherd and Dutch Shepherd dogs in response to a training session for French Ring

**M Mendoza-Lara<sup>a</sup>, H Orozco-Gregorio<sup>a</sup>, R Ramírez-Necoechea<sup>a</sup>, S Caballero-Chacón<sup>b</sup>, R Hernández-González<sup>c</sup>, M Becerril-Herrera<sup>a</sup>, P Mora-Medina<sup>c</sup>, D Mota-Rojas<sup>a\*</sup>**

<sup>a</sup>Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, México D.F., México.

<sup>b</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, FMVZ, México D.F., México.

<sup>c</sup>Departamento de Investigación Experimental y Bioterio, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México D.F., México.

<sup>d</sup>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Teziutlán, Puebla, México.

<sup>e</sup>Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlan, FESC, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México.

**Reimpresión autorizada por Archivos de Medicina Veterinaria**

## Perfil fisiometabólico de perros Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés de alto rendimiento en respuesta a una sesión de entrenamiento para Ring Francés

Physiometabolic profile of Belgian Malinois Shepherd and Dutch Shepherd dogs in response to a training session for French Ring

M Mendoza-Lara<sup>a</sup>, H Orozco-Gregorio<sup>a</sup>, R Ramírez-Necoechea<sup>a</sup>, S Caballero-Chacón<sup>b</sup>,  
R Hernández-González<sup>c</sup>, M Becerril-Herrera<sup>d</sup>, P Mora-Medina<sup>e</sup>, D Mota-Rojas<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, México D.F., México.

<sup>b</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, FMVZ, México D.F., México.

<sup>c</sup>Departamento de Investigación Experimental y Bioterio, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México D.F., México.

<sup>d</sup>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Teziutlán, Puebla, México.

<sup>e</sup>Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlan, FESC, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México.

### SUMMARY

This study evaluated the physiometabolic response to a training session for French Ring in two high performance breeds of dogs to. Twenty male and female Belgian Malinois Shepherd and Dutch Shepherd dogs were used. Animals aged 10 to 24 months and weighing between 30 and 35 kg (66-77 lbs) performed a French Ring routine for 20 minutes. Blood samples were taken at three moments: prior to training, immediately after exercise, and then 1 h later. All samples were drawn from the cephalic vein. Lactate, pH, calcium, potassium and blood gas (pCO<sub>2</sub> and pO<sub>2</sub>) levels were determined using a critical blood variables analyzer. Heart rate and body temperature were also recorded. In both breeds, temperature, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, lactate and pH levels increased (P < 0.05) immediately after the training period, but decreased 1 h after exercise (P < 0.05). The Belgian Malinois Shepherd dogs showed an increase (P < 0.05) in cardiac frequency in the post-training period, with a later recovery (P < 0.05) that tended towards initial values. The Dutch Shepherd breed displayed a decrease (P < 0.05) in calcium levels after training that remained without change during recovery. In conclusion, these results provide biochemical and physiological data that will make possible to evaluate and estimate the potential for competitive performance of these breeds, improving the selection of these two dog breeds.

*Palabras clave:* ejercicio, perro, gasometría, variables fisiológicas.

*Key words:* exercise, dog, gasometry, physiological variables.

### INTRODUCCIÓN

El esfuerzo físico representa la adaptación del organismo a condiciones de mayor actividad muscular, la cual puede conseguirse mediante diversos cambios en el organismo que van desde las estructuras celulares y procesos metabólicos, hasta el nivel integral de las actividades funcionales (Evans y col 1993, Grandjean y col 2003, Gómez y col 2004). Las adaptaciones cardiovasculares y respiratorias son un ejemplo de estos ajustes al esfuerzo físico y tienen por objetivo asegurar el aporte de oxígeno y

de nutrientes necesarios para la actividad muscular (Brooks y Gasser, 1980, Olmos y col 2008, Orozco y col 2010), así como permitir la eliminación de los desechos producidos por el metabolismo muscular (Grandjean y col 2003, Olmos y col 2010). Las sesiones de entrenamiento dan lugar a un proceso de estrés físico que requiere, entre otras adaptaciones, un incremento del gasto cardíaco (Evans y col 1993, Grandjean y col 2003, Gómez y col 2004), lo que permite el aumento de la capacidad de trabajo físico y rendimiento deportivo. Sin embargo, la adaptación y el desempeño durante estas actividades difieren entre individuos (Taylor y col 2008).

Para llevar a cabo la evaluación de la capacidad física, desde hace tiempo se han empleado algunas variables fisiológicas o bien metabolitos asociados a situaciones de estrés y a respuestas metabólicas al ejercicio (Rose y Bloomberg 1989),

Aceptado: 05.04.2012.

\* Calzada del Hueso 1100, UAM-X, Col. Villa Quietud, Coyoacán, 04960 D.F., México; [dmota100@yahoo.com.mx](mailto:dmota100@yahoo.com.mx)

entre ellos la medición del ácido láctico en el músculo ejercitado y en los fluidos corporales (Warren y col 1999, Sánchez y col 2008). Asimismo, en caballos de carrera pura sangre se ha demostrado que la frecuencia cardiaca, la concentración de hemoglobina pueden ser indicadores confiables en la evaluación de la aptitud física y del nivel de entrenamiento que presenta un caballo para realizar determinado ejercicio (Gómez y col 2004).

Recientemente, mediante la determinación sanguínea de gases ( $pO_2$  y  $pCO_2$ ), glucosa, electrolitos ( $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Na^+$ ) y lactato, se ha llevado a cabo la caracterización del perfil fisiometabólico en animales sometidos a procesos de estrés durante el nacimiento (Trujillo y col 2007, Orozco y col 2008, Sánchez y col 2009). El uso de estas técnicas ha permitido también la descripción de las modificaciones metabólicas y lesiones de canales durante el transporte y sacrificio en animales de abasto (Amtmann y col 2006, Mota-Rojas y col 2006, 2009, Carter y Gallo 2008, Werner y Gallo 2008, Tadich y col 2009, Becerril y col 2009, 2010) y de equinos sometidos a condiciones de ejercicio intenso (Taylor y col 1995). No obstante, en otras especies como los perros, aún no existen estudios en los que se haya caracterizado el perfil fisiometabólico de perros de alto rendimiento sometidos a sesiones de entrenamiento de Ring Francés, por lo que la selección de los ejemplares sigue siendo aproximativa, y con frecuencia todavía empírica (Grandjean y col 2003). Este tipo de determinaciones permitirían una selección más certera basada en la eficiencia de la respuesta a un proceso de estrés producto del ejercicio (Matwchuk y col 1999) como lo es el entrenamiento de perros de las razas Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés durante la modalidad de Ring Francés. El presente trabajo tiene por objetivo la caracterización del perfil fisiometabólico de perros de las razas Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés en respuesta a una sesión de entrenamiento de Ring Francés a través de la determinación sanguínea de gases, lactato, pH, electrolitos, temperatura corporal y frecuencia cardiaca.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Localización

El estudio se realizó durante los meses de abril y mayo de 2009 en un centro de entrenamiento

canino en la modalidad de Ring Francés, localizado al norte de Ciudad de México.

### Animales

El estudio incluyó 14 perros machos y 6 hembras de los cuales 8 fueron de la raza Pastor Holandés y 12 Pastor Belga Malinois con edades de  $1,5 \pm 0,7$  años, y con un peso de  $33 \pm 2,5$  kg. Para el estudio sólo fueron seleccionados perros clínicamente sanos.

### Evaluaciones

De cada perro se registraron la edad, el peso y sexo. Para determinar los cambios fisiológicos en respuesta a la sesión de entrenamiento, todas las mediciones de las variables fisiometabólicas se realizaron antes e inmediatamente después de la sesión de entrenamiento (preentrenamiento y postentrenamiento). Las variables evaluadas inmediatamente después del entrenamiento se obtuvieron 10 s después de concluir la sesión de ejercicios, mientras que las mediciones para evaluar la capacidad de recuperación de los perros se realizaron 1h después de finalizado el ejercicio (Recuperación). La temperatura corporal (TC) fue obtenida de forma instantánea (1s) a través de un termómetro oral<sup>1</sup> y la frecuencia cardiaca (FC) se determinó mediante un estetoscopio. Previa asepsia, las muestras sanguíneas se obtuvieron de la vena cefálica con una jeringa. El tiempo empleado en la obtención de la muestra fue de < 15s.

Inmediatamente después del muestreo sanguíneo la sangre fue vertida en un tubo microcapilar (de 100  $\mu$ l) con heparina de litio (sangre entera) y fue procesada por medio de un gasómetro de variables críticas sanguíneas<sup>2</sup> ubicado en el centro de entrenamiento canino, el cual determinó los niveles sanguíneos de lactato (mg/dL), pH, electrolitos ( $Ca^{++}$  mmol/L,  $K^+$  mmol/L) y presiones parciales de  $O_2$  y  $CO_2$  [ $pO_2$ , (mmHg),  $pCO_2$  (mmHg)]. Con la finalidad de evitar alteraciones previas en los animales que aún no eran evaluados, estos se mantuvieron lejos del sitio de entrenamiento.

<sup>1</sup> ThermoScan Braun® (GMBH, Kronberg, Germany).

<sup>2</sup> GEM Premier 3000, Instrumentation Laboratory Diagnostics USA/Italy®.

<sup>3</sup> Reglamento de Ring Francés. 1997. Disponible en: <http://www.voraus.com/v2/modules/wfsection/html/RingFrancesMexico.pdf> [Consultado el 23 de octubre de 2009].

Para el estudio sólo se seleccionaron perros jóvenes con edades de  $1,5 \pm 0,7$ . A estas edades todos los perros ya habían sido previamente entrenados en los ejercicios considerados en el estudio, y respondían a ellos de la misma forma independientemente de su edad. El entrenamiento se llevó a cabo por un entrenador acreditado por la Federación Canófila Mexicana (FCM).

La sesión de entrenamiento a la que fue sometido cada uno de los perros consistió de 20 minutos de una rutina de ejercicios descrita por el Reglamento de Ring Francés (1997)<sup>3</sup>, la cual incluyó: Protección, defensa del manejador y ataque de frente con vara, lanzamiento y recobre del objeto lanzado, ataque en huida con vara del entrenador y ataque de frente con revólver, recobre de objeto a la vista y búsqueda, ladrido y conducción por parte del entrenador, recobre de un objeto fuera de la vista y ataque suspendido de frente con vara, cuidado y protección de objeto (canasta). La rutina fue la misma para cada uno de los animales durante este período de evaluación. Antes del inicio de la rutina todos los animales presentaban un ayuno completo de 10 h.

#### Análisis estadístico

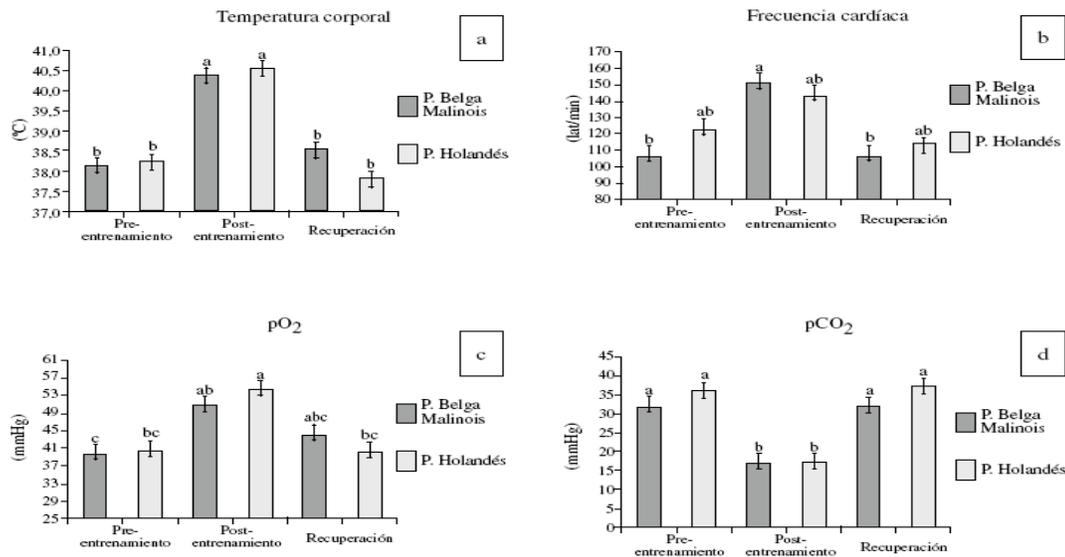
Para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tres grupos de cada raza y

entre razas tiempos de valoración en cada raza y entre razas, todas las variables (excepto el pH) se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). La prueba de comparación múltiple de medias se realizó mediante el procedimiento de Tukey con un nivel de significancia de  $P < 0,05$  (Steel y Torrie 1986). La variable pH se analizó con la prueba de Kruskal-Wallis para posteriormente realizar la comparación entre grupos mediante la prueba U de Mann-Whitney.

Debido a que los niveles de pH corresponden a unidades logarítmicas, estos datos se expresan como medianas (rangos). Asimismo, para ambas razas se realizó un análisis de regresión lineal en el que se consideró al lactato como variable dependiente y la  $pO_2$ ,  $pCO_2$ ,  $Ca^{++}$  y temperatura como variables independientes. Todas las pruebas estadísticas se realizaron mediante el programa estadístico SAS para microcomputadoras (SAS ver. 9.0, 2004).

## RESULTADOS

Los resultados de la TC, FC,  $pO_2$  y  $pCO_2$  se muestran en la figura 1. En ambas razas, la TC (Panel a) incrementó significativamente ( $P < 0,05$ ) en el período postentrenamiento. Sin embargo, en el período de recuperación, la TC disminuyó significativamente ( $P < 0,05$ ) en las dos razas evaluadas.



**Figura 1.** Efecto del entrenamiento en la TC, FC y concentraciones de  $pO_2$  y  $pCO_2$  en perros de las razas Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés. Los datos se presentan como promedios  $\pm$  DE. Literales diferentes entre columnas (a, b, c) indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los tres diferentes tiempos de evaluación comparados por raza y entre ambas razas.

Effect of training on BC, CF and concentrations of  $pO_2$  and  $pCO_2$  in Belgian Malinois Shepherd and Dutch Shepherd dogs. Data are presented as averages  $\pm$  SD. Different literals between columns (a, b, c) indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) among 3 different evaluation times compared by race and between races.

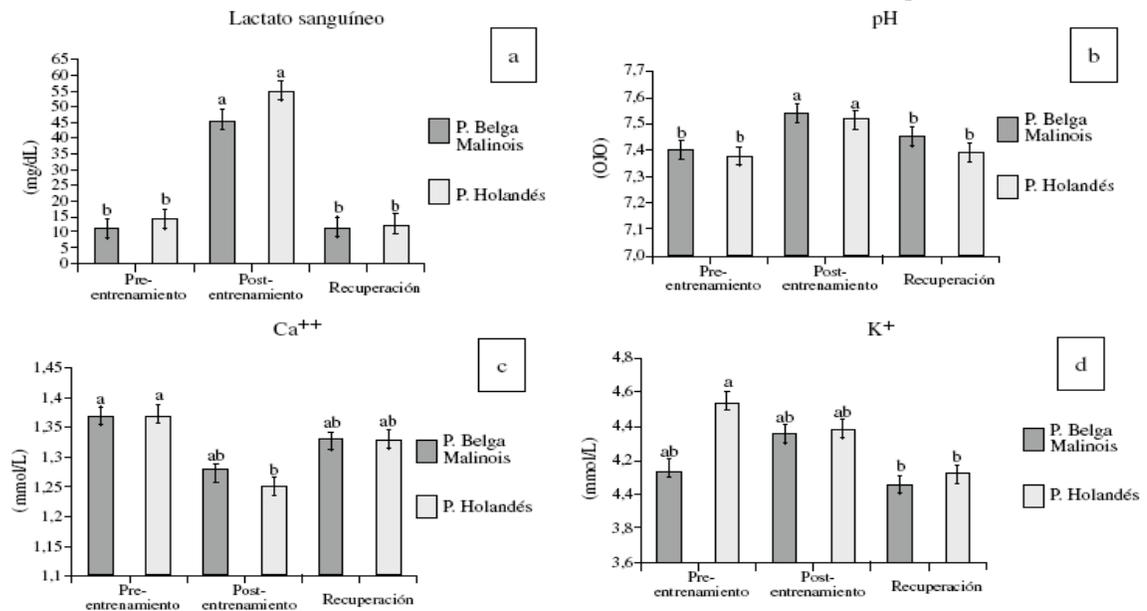
La raza Pastor Belga Malinois presentó 8% más latidos por minuto ( $P < 0,05$ ) (FC, Panel b) en el período postentrenamiento en comparación con los niveles basales. Una hora después de finalizado el entrenamiento, los valores fueron similares a los iniciales ( $P < 0,05$ ). Sin embargo, estos cambios no se presentaron en la raza Pastor Holandés, en la que no se observaron cambios en ninguno de los tres tiempos de muestreo para esta variable.

En ambas razas las concentraciones sanguíneas de  $pO_2$  (Panel c) incrementaron de manera significativa ( $P < 0,05$ ) inmediatamente después del entrenamiento con respecto a las concentraciones basales (52,52 vs 39,95 mmHg). No obstante, en el período de recuperación sólo la raza Pastor Holandés logró regresar a los valores de inicio, mientras que en la raza P. Belga Malinois los niveles se mantuvieron sin cambios 1h después de la etapa de entrenamiento. Con relación a la  $pCO_2$  (Panel d), las concentraciones disminuyeron ( $P < 0,05$ ) en ambas razas durante el período postentrenamiento. En la etapa de recuperación, las dos razas incrementaron ( $P < 0,05$ ) sus

concentraciones sanguíneas, observándose resultados similares a los basales.

En la figura 2 se presentan los resultados de las concentraciones de lactato, pH y electrolitos. En ambas razas las concentraciones de lactato (Panel a) incrementaron ( $P < 0,05$ ) aproximadamente 38,3 mg/dl después del entrenamiento en comparación con los niveles basales, sin embargo, después de 1h las dos razas lograron restablecer sus concentraciones a niveles normales. Coincidentemente, el pH tuvo un comportamiento similar al lactato (figura 2, panel b).

Al comparar los resultados de  $Ca^{++}$  y  $K^+$  séricos entre razas (paneles c y d) no se aprecian diferencias significativas entre ellas en ninguno de los tres períodos de muestreo. Sin embargo, en la raza P. Holandés se presentó una disminución significativa ( $P < 0,05$ ) en las concentraciones de  $Ca^{++}$  después del entrenamiento respecto a las concentraciones basales (1,25 mmol/L vs 1,37 mmol/L). Esta situación no cambió durante la etapa de recuperación. En la raza P. Belga Malinois los niveles sanguíneos de este indicador se mantuvieron estables durante todo el período de evaluación.



**Figura 2.** Efecto del entrenamiento en las concentraciones de lactato, pH,  $Ca^{++}$  y  $K^+$  en perros de las razas Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés. Los datos se presentan como promedios  $\pm$  DE. Literales diferentes entre columnas (a, b, c) indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los tres diferentes tiempos de evaluación comparados por raza y entre ambas razas. La variable pH se expresa como mediana  $\pm$  rango y fue analizada mediante la prueba de Kruskal-Wallis ( $P < 0,01$ ).

Effect of training on concentrations of lactate, pH,  $Ca^{++}$  and  $K^+$  in Belgian Malinois Shepherd and Dutch Shepherd dogs. Data are presented as averages  $\pm$  DE. Different literals between columns (a, b, c) indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) among 3 different evaluation times compared by race and between races. The pH variable is expressed as mean  $\pm$  range and analyzed using the Kruskal-Wallis test ( $P < 0.01$ ).

Como resultado del análisis de regresión lineal, en la raza P. Belga Malinois (cuadro 1) los niveles elevados de lactato postentrenamiento fueron relacionados significativamente ( $P < 0,05$ ) a niveles elevados de  $pO_2$  y bajos niveles de  $pCO_2$

y  $Ca^{++}$ , mientras que en la raza P. Holandés, sólo se observó una relación significativa ( $P < 0,05$ ) entre niveles elevados de lactato y bajos niveles de  $pCO_2$  postentrenamiento (cuadro 2).

**Cuadro 1.** Ecuación de regresión de la variable lactato de la raza Pastor Belga Malinois.  
Regression equation for the variable lactate in Belgian Malinois Shepherd dogs.

Variable dependiente (y)	Variable independiente (x)	Ecuación lineal ( $y = b + mx$ )	Valor Correlación	P
Lactato (mg/dL)	$pO_2$ (mmHg)	$-33,49+(1,55 pO_2)$	0,71	0,0004
	$pCO_2$ (mmHg)	$70,53+(-1,51 pCO_2)$	-0,67	0,0012
	$Ca^{++}$ (mmol/L)	$180,59+(-105,08 Ca^{++})$	-0,44	0,0467
	Temperatura ( $^{\circ}C$ )	$-138,82+(4,57 Temperatura)$	0,41	0,0785

**Cuadro 2.** Ecuación de regresión de la variable lactato de la raza Pastor Holandés.  
Regression equation for the variable lactate in Dutch Shepherd dogs.

Variable dependiente (y)	Variable independiente (x)	Ecuación lineal ( $y = b + mx$ )	Valor Correlación	P
Lactato (mg/dL)	$pO_2$ (mmHg)	$1,18+(0,99 pO_2)$	0,60	0,0377
	$pCO_2$ (mmHg)	$60,59+(-0,32 pCO_2)$	-0,27	0,3919
	$Ca^{++}$ (mmol/L)	$135,05+(-63,66 Ca^{++})$	-0,33	0,2857
	Temperatura ( $^{\circ}C$ )	$-136,67+(4,71 Temperatura)$	0,38	0,2461

En el cuadro 3 se presentan valores de referencia reportados por diferentes autores en los períodos de preentrenamiento y postentrenamiento.

## DISCUSIÓN

Las sesiones de entrenamiento requieren una minuciosa planificación y valoración de todos los factores que en él intervienen, ya que conforme la actividad física aumenta, también lo hace la actividad fisiológica de todos los sistemas corporales. Este incremento de la actividad física se vio reflejado en el presente estudio a través de los cambios en los valores de los diferentes indicadores metabólicos. En ambas razas la temperatura corporal incrementó después de realizar la rutina de ejercicios de Ring Francés. Este evento ha sido reportado previamente en estudios realizados por Rose y Bloomberg (1989) en Galgos y en Labradores Retrievers (Matwichuk y col 1999, Steiss y col 2004), donde mencionan que la temperatura rectal aumentó a  $41^{\circ}C$  después de realizar ejercicio y se mantuvo elevada después de 30 min de finalizado el ejercicio.

Estos incrementos y posteriores descensos de temperatura observados en los experimentos

podrían ser explicados por el aumento de la actividad metabólica que tienen que realizar los animales para desarrollar el esfuerzo muscular exigido por el trabajo mecánico, ya que una porción de energía de los nutrientes se convierte en calor durante el metabolismo celular (Forero y col 2006), por lo que cerca del 25% de la energía química se convierte en trabajo y el resto de la energía se convierte en calor (Hill 1998).

Van Citters y Franklin (1969) observaron en perros Alaska de trineo un aumento de la FC de 40-60 lat/min mientras dormían, y un incremento de hasta 80 a 100 lat/min cuando los perros despertaron y se mantuvieron en alerta; el incremento fue todavía superior cuando los perros se excitaban previo a la carrera (100 a 150 lat/min) y durante de la carrera (250 a 300 lat/min). Este aumento de la frecuencia cardiaca es generado en respuesta al ejercicio como un mecanismo adaptativo (González y col 2008) que lleva a un aumento del gasto cardiaco para facilitar el aporte de sangre a los tejidos y así satisfacer el mayor requerimiento de oxígeno y demandas energéticas a los músculos activos. Por ejemplo, en perros Alaska el flujo en la aorta incrementa de 9 a 12 veces y el flujo coronario de 5 a 6 veces durante períodos de trabajo (Van Citters y Franklin 1969).

**Cuadro 3.** Valores de referencia en diferentes periodos de entrenamiento.  
Reference values in different periods of training.

Variable	Antes de la sesión de entrenamiento	Inmediatamente después de la sesión de entrenamiento	Autores
Lactato (mg/dL)	21,297 ± 6,936	41,063 ± 3,234	Rovira y col 2007a; Rovira y col 2007b
pH	7,391 ± 0,023	7,600 ± 0,081	Matwichuk y col 1999; Steiss y col 2004
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	38,9 ± 2,5	13,9 ± 2,2	Ilkiw y col 1989
pO <sub>2</sub> (mmHg)	100,3 ± 19,0	130,8 ± 14,0	Ilkiw y col 1989
Ca <sup>++</sup> (mmol/L)	2,6 ± 0,3	2,4 ± 0,1	Angle y col 2009
K <sup>+</sup> (mmol/L)	4,7 ± 0,4	4,4 ± 0,3	Angle y col 2009

En el presente estudio, la ausencia de variaciones en la FC en los animales de la raza P. Holandés durante las tres etapas de observación podría sugerir una mejor capacidad física y de adaptación durante el trabajo de Ring Francés, en comparación a la de los perros de la raza P. Belga Malinois, los cuales presentaron variaciones en la FC en las mismas etapas de muestreo. No obstante que en algunas ocasiones este aumento de la FC en perros de trabajo también puede ser generado como una respuesta anticipada al ejercicio (Forero y col 2006). Sin embargo, en nuestro estudio se evitó que se presentara esta situación de anticipación en ambos grupos.

Las respuestas del sistema circulatorio al ejercicio tienen como fin adaptar el flujo sanguíneo a los músculos activos (Olmos, 2010) dirigidas a aumentar el aporte de O<sub>2</sub>, tanto en músculo esquelético como al cardíaco, con el fin de sostener el aumento del metabolismo y facilitar la remoción de los productos metabólicos de desecho (García y col 1999). Al respecto, el incremento y disminución en las concentraciones de pO<sub>2</sub> y pCO<sub>2</sub>, respectivamente, observados en este estudio en ambas razas como respuesta al ejercicio podrían deberse a un proceso de hiperventilación (jadeo) (Cunningham 2005) provocado como respuesta a la demanda física de O<sub>2</sub> y a la termorregulación (Ilkiw y col 1989). Esta hiperventilación lleva consigo a un descenso en la pCO<sub>2</sub> (hipocapnia) por aumento en su eliminación, y a su vez a un aumento en el pO<sub>2</sub> por incremento en la entrada para este gas (Matwichuk y col 1999, Steiss y col 2004).

El aumento en las concentraciones de lactato se considera que es causado por la glicólisis anaerobia durante el ejercicio (Rovira y col 2007b) y provee un indicador de adaptación y del grado de entrenamiento de un atleta humano o animal, debido a que refleja la dependencia de la vía

anaeróbica como fuente de energía para realizar ejercicio muscular, donde aquellos menos entrenados muestran una mayor producción de lactato (García y col 1999). En nuestras observaciones, ambas razas presentaron un incremento significativo en las concentraciones de lactato posterior a la rutina de ejercicios, y consecutivamente una disminución. La ausencia de diferencias entre razas en estas dos etapas de observación sugiere una eficiencia de adaptación al ejercicio similar en las dos razas evaluadas. Asimismo, nuestros datos concuerdan con observaciones previas realizadas en Galgos (Pieschl y col 1992) y Labradores Retrievers (Steiss y col 2004) los cuales observaron aumentos significativos ( $P < 0,05$ ) en las concentraciones de lactato después del ejercicio (Rovira y col 2007a).

En nuestro estudio, el incremento observado en las concentraciones de lactato postentrenamiento difiere de estudios previos realizados en perros (Rose y Bloomberg 1989) y otras especies, en los cuales se ha observado que conforme incrementan los niveles de lactato, se presenta una disminución del pH sanguíneo posterior a un proceso de estrés (Herpin y col 1996, Trujillo y col 2007, Becerril y col 2009). Sin embargo, en nuestros resultados se observó un proceso de hiperlactatemia a la par de un incremento del pH, resultados similares fueron reportados por Matwichuk y col (1999), lo cual podría ser debido al proceso de hiperventilación por el que cursaron los animales durante el ejercicio, ya que la hiperventilación lleva consigo a un descenso en el pCO<sub>2</sub> (hipocapnia) por aumento en su eliminación y a su vez a un aumento en el pO<sub>2</sub> (Rose y Bloomberg 1989) por incremento en la entrada para este gas. Esta disminución en la pCO<sub>2</sub> incrementa el pH sanguíneo en los líquidos orgánicos (Guyton y Hall 2001, Heitz y Horne 2005, Forero y col 2006).

Durante el ejercicio físico, el metabolismo energético celular incrementa, ocurriendo cambios notables en las concentraciones de electrolitos y minerales en los diferentes compartimentos tisulares. De esta forma un aumento en las contracciones musculares conlleva a un incremento en los requerimientos de calcio y a una mayor utilización de las reservas de este mineral, y posteriormente una disminución en los niveles séricos (García y col 1999, Guyton y Hall 2001). Esto podría explicar la significativa disminución de calcio sanguíneo durante el período postentrenamiento observada en los perros de la raza P. Holandés de nuestro estudio. Asimismo, nuestros hallazgos coinciden con lo reportado con Burr y col (1997) y Rovira y col (2007a) con perros que realizaron ejercicios de Agility y perros de trineo, donde mencionan que las concentraciones de calcio disminuyeron significativamente después de realizar la actividad. Sin embargo, en la alcalosis aguda, como lo observado en los perros de este estudio, la disminución de la concentración de ion hidrógeno en plasma desplazan las formas de equilibrio del calcio (unido a proteínas, formando complejos con citrato o fosfato e ion calcio) hacia la derecha, aumentando la concentración de calcio unido a proteínas y complejo (con citrato o fosfato). El efecto inmediato es una disminución de la concentración de ion calcio en plasma (Fuentes y col 1998).

En conclusión, los cambios fisiometabólicos reportados en este estudio permitirán contar con antecedentes bioquímicos para poder evaluar la tolerancia al ejercicio y estimar el potencial de rendimiento competitivo en las dos razas de perros más empleadas en el Ring Francés. Estos resultados contribuyen en poder realizar y lograr una mejor selección de perros destinados para este fin basado en evidencias fisiológicas y metabólicas.

## RESUMEN

En el presente estudio se valoró la respuesta fisiometabólica a una sesión de entrenamiento de Ring Francés en dos razas de perros de alto rendimiento. Se utilizaron 20 perros, machos y hembras de las razas Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés entre 10 y 24 meses de edad con pesos entre 30 y 35 kg y que fueron sometidos durante 20 minutos a una rutina de Ring Francés. La toma de muestras se realizó en tres períodos: antes del entrenamiento, inmediatamente después y 1 h postentrenamiento. Las muestras sanguíneas se obtuvieron de la vena cefálica. Se determinaron los niveles de lactato, pH, calcio, potasio y gases sanguíneos (pCO<sub>2</sub> y pO<sub>2</sub>)

mediante un analizador de variables críticas sanguíneas. Se obtuvieron la frecuencia cardíaca y temperatura corporal. En ambas razas la temperatura, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, lactato y pH incrementaron (P < 0,05) después del período de entrenamiento, y disminuyeron 1 h después (P < 0,05). La raza Pastor Belga Malinois mostró un incremento (P < 0,05) en la Frecuencia Cardíaca en el postentrenamiento, y posteriormente una recuperación (P < 0,05) hacia los valores de inicio. La raza P. Holandés presentó una disminución (P < 0,05) en los niveles de calcio posterior al entrenamiento, manteniéndose sin cambios en la recuperación. En conclusión, estos datos permitirán contar con antecedentes bioquímicos y fisiológicos para poder evaluar y estimar el potencial de rendimiento competitivo y lograr una mejor selección en las dos razas de perros más empleadas en el Ring Francés.

## AGRADECIMIENTOS

El presente estudio es parte de los avances de la Tesis de Maestría de la primera autora, en el Programa de Posgrado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Se agradece de manera especial a Jorge Garrido, entrenador de las razas Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés por su gran disposición y entrega para el experimento.

## REFERENCIAS

- Amtmann V, C Gallo, G van Schaik, N Tadich. 2006. Relaciones entre el manejo *antemortem*, variables sanguíneas indicadoras de estrés y pH de la canal en novillos. *Arch Med Vet* 38, 259-264.
- Angle TC, JJ Wakshlag, RL Gillette, T Stokol, S Geske, TO Adkins, C Gregor. 2009. Hematologic, serum biochemical, and cortisol changes associated with anticipation of exercise and short duration high-intensity exercise in sled dogs. *Vet Clin Pathol* 38, 370-374.
- Becerril HM, MS Alonso, CL Flores, IG Legarreta, AH Olmos, RN Ramírez, D Mota-Rojas. 2009. CO<sub>2</sub> stunning may compromise swine welfare compared with electrical stunning. *Meat Sci* 81,233-237.
- Becerril HM, MS Alonso, MEO Trujillo, IG Legarreta, RN Ramírez, PS Roldan, D Mota-Rojas. 2010. Changes in blood constituents of swine transported for 8 or 16 h to an Abattoir. *Meat Sci* 86, 945-948.
- Brooks GA, GA Gaesser. 1980. End points of lactate and glucose metabolism after exhausting exercise. *J Appl Physiol* 49, 1057-1069.

- Burr JR, GA Reinhart, RA Swenson, SE Swaim, DM Vaughn, DM Bradley. 1997. Serum biochemical values in sled dogs before and after competing in long-distance races. *J Am Vet Med Assoc* 211, 175-179.
- Carter L, C Gallo. 2008. Effect of long distance transport by road and sea crossing on ferry on live weight losses and carcass characteristics in lambs. *Arch Med Vet* 40, 259-266.
- Cunningham JG. 2005. *Fisiología Veterinaria*. 3ª ed. Elsevier, España. Evans DL, CR Harris, DH Snow. 1993. Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in Thoroughbred horses. *Equine Vet J* 25, 441-445.
- Forero LJH, APM Lozano, ROB Camargo. 2006. Parámetros fisiológicos en caninos pre y postcompetencia de agility en Bogotá, Colombia. *Rev Med Vet* 12, 57-71.
- Fuentes AX, MJL Castiñeiras, JMC Queralto. 1998. *Bioquímica clínica y patología molecular*. Vol II. 2 ed. Reverté, Barcelona, España.
- García M, R Guzmán, I Cabezas, V Merino, C Palma, R Pérez. 1999. Evaluación del entrenamiento tradicional del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguíneas. *Arch Med Vet* 31, 167-176.
- Gómez C, P Petron, M Andaur. 2004. Medición post-ejercicio de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas en equinos de salto holsteiner. *Rev Científica* 14, 244-253.
- González AJ, GC Crandall, JM Jonson. 2008. The cardiovascular challenge of exercising in the heat. *J Physiol* 586, 45-53.
- Grandjean D, JJP Vaissaire. 2003. *Enciclopedia del perro*. Aniwa Publishing, Royal Canin. Pp 436-449.
- Guyton AC, JE Hall. 2001. *Tratado de Fisiología Médica*. McGraw Hill-Interamericana, México.
- Heitz U, MM Horne. 2005. *Fluidos, electrolitos y equilibrio ácido-base*. 5ª ed. Elsevier, España.
- Herpin P, J Le Dividich, JC Hulin, M Fillaut, F de Marco, R Bertin. 1996. Effects of the level of asphyxia during delivery on viability at birth and early postnatal vitality of newborn pigs. *J Anim Sci* 74, 2067-2075.
- Hill CR. 1998. The Nutritional Requirements of Exercising Dogs. *J. Nutr* 128, 2686S-2690S.
- Ilkiw EJ, PE Davis, DB Church. 1989. Hematologic, biochemical, bloodgas, and acid-base values in Greyhounds before and after exercise. *Am J Vet Res* 50, 583-586.
- Matwchuk CL, SM Taylor, CL Shmon, PH Kass, GD Shelton. 1999. Changes in rectal temperature and hematologic, biochemical, blood gas, and acid-base values in healthy Labrador Retrievers before and after strenuous exercise. *Am J Vet Res* 60, 88-92.
- Mota-Rojas D, MH Becerril, LC Flores, PA Sánchez, ML González, AH Olmos, RN Ramírez, MS Alonso. 2006. Effects of mid-summer transport duration on pre- and post-slaughter performance and pork quality in Mexico. *Meat Sci* 73, 404-412.
- Mota-Rojas D, MH Becerril, MEO Trujillo, MS Alonso, C Flores, IG Legarreta. 2009. Effects of pre-slaughter transport lairage and sex on pig chemical serologic profiles. *J Anim Vet Adv* 8, 246-250.
- Olmos HA, MEO Trujillo, MS Alonso, RN Ramírez, D Mota-Rojas. 2008. Foetal monitoring, uterine dynamics and reproductive performance in spontaneous farrowing sows. *J Appl Anim Res* 33, 181-185.
- Olmos HA, MEO Trujillo, MS Alonso, MH Becerril, RG Hernández, D Mota-Rojas. 2010. Porcine recombinant somatotropin administered to piglets during the first week of life: effects on metabolic and somatometric variables. *Arch Med Vet* 42, 93-99.
- Olmos ZR. 2010. Sistema circulatorio, hemodinamia, circulaciones especiales y respuesta del sistema cardiovascular al ejercicio y la hemorragia. En: Caballero ChSC (ed). *Fisiología veterinaria e introducción a la fisiología de los procesos productivos*. FMVZUNAM, México, Pp 347-374.
- Orozco-Gregorio H, DR Mota, MS Alonso, RN Ramírez, VYE Armenta, AN Ocampo, RG Hernández, MEO Trujillo, DG Villanueva. 2008. Short-term neurophysiologic consequences of intrapartum asphyxia in piglets born by spontaneous parturition. *Int J Neurosci* 118, 1299-1315.
- Orozco-Gregorio H, DR Mota, HJ Bonilla, MEO Trujillo, MH Becerril, RG Hernández, DG Villanueva. 2010. Effects of administration of caffeine on metabolic variables in neonatal pigs with peripartum asphyxia. *Am J Vet Res* 71, 1214-1219.
- Pieschl RL, PW Toll, DE Leith, LJ Peterson, MR Fedde. 1992. Acidbase changes in the running greyhound: contributing variables. *J Appl Physiol* 73, 2297-2304.
- Rose RJ, MS Bloomberg. 1989. Responses to sprint exercise in the greyhound: effects on haematology, serum biochemistry and muscle metabolites. *Res Vet Sci* 47, 212-218.
- Rovira S, A Muñoz, M Benito. 2007a. Fluid and electrolyte shifts during and after Agility competitions in dogs. *J Vet Med Sci* 69, 31-35.
- Rovira S, A Muñoz, M Benito. 2007b. Hematologic and biochemical changes during canine agility competitions. *Vet Clin Pathol* 36, 30-35.
- Sánchez AP, DR Mota, AO Nava, MEO Trujillo, ML González, ET Arch, AR Alfaro, RN Ramírez, MS Alonso. 2008. Effects of sildenafil on the fetal growth of guinea pigs and their capability to survive induced intrapartum asphyxia. *Am J Obstet Gynecol* 198, 127.e1-127.e6.
- Sánchez AP, DR Mota, MEO Trujillo, LAQ Zarco, MH Becerril, MS Alonso, AR Alfaro. 2009. Effect of prostaglandins for inducing birth, on weight, vitality and physiological response in newborn pigs. *J Appl Anim Res* 36, 113-118.

- Steel GDR, HJ Torrie. 1986. *Bioestadística, principios y procedimientos*. McGraw-Hill, Bogotá, Colombia.
- Steiss J, HA Ahmad, P Cooper, C Ledford. 2004. Physiologic responses in healthy Labrador Retrievers during field trial training and competition. *J Vet Inter Med* 18, 147-51.
- Tadich N, C Gallo, M Brito, D Broom. 2009. Effect of weaning and 48 hour transport by road and ferry on some blood indicators of welfare in lambs. *Lives Sci* 121,132-136.
- Taylor LE, LP Ferrante, SD Kronfeld, TN Meacham.1995. Acid-base variables during incremental exercise in sprint-trained horses fed a high-fat diet. *J Anim Sci* 73, 2009-2018.
- Taylor S, LC Shmon, DG Shelton, K Minor. 2008. Exercise-induced collapse of Labrador Retrievers: survey results and preliminary investigation of heritability. *J Am Anim Hosp Assoc* 44, 295-301.
- Trujillo OME, DR Mota, AH Olmos, MS Alonso, ML González, HG Orozco, RN Ramírez, AO Nava. 2007. A study of piglets born by spontaneous parturition under uncontrolled conditions: Could this be a naturalistic model for the study of intrapartum asphyxia? *Acta Biomed* 78, 29-35.
- Van Citters LR, DL Franklin. 1969. Cardiovascular performance of Alaska sled dogs during exercise. *Circ Res* 24, 33-42.
- Warren LK, ML Lawrence, NK Thompson. 1999. The influence of betaine on untrained and trained horses exercising to fatigue. *JAnim Sci* 77, 677-684.
- Werner M, C Gallo. 2008. Effects of transport, lairage and stunning on the concentrations of some blood constituents in horses destined for slaughter. *Lives Sci* 115, 94-98.

## **CAPITULO III**

Efecto de la aplicación de cafeína sobre la respuesta fisiometabólica en perros de alto rendimiento durante una rutina de ejercicio de Ring Francés

**Artículo en preparación**

## **Efecto de la aplicación de cafeína sobre la respuesta fisiológica y metabólica en perros de alto rendimiento durante una rutina de ejercicio de Ring Francés.**

**M Mendoza-Lara<sup>a</sup>, H Orozco-Gregorio<sup>b</sup>, R Hernández González<sup>c</sup>, M Becerril-Herrera<sup>d</sup>, D Mota-Rojas<sup>b</sup>.**

<sup>a</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, FMVZ, México D.F. México.

<sup>b</sup> Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México D.F. México.

<sup>c</sup> Departamento de Investigación Experimental y Bioterio, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán D.F. México.

<sup>d</sup> Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Teziutlán, Puebla, México.

### **RESUMEN**

En el presente estudio se valoró el efecto de la aplicación de cafeína sobre la respuesta fisiometabólica en perros de alto rendimiento durante una rutina de ejercicio de Ring Francés. Se utilizaron 108 perros machos y hembras de las razas Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés entre 10 y 24 meses de edad con pesos entre 20 y 23 kg divididos en 4 grupos experimentales: Grupo de referencia (GR), Grupo sin ejercicio con cafeína (SE/CF), Grupo ejercicio con cafeína (E/CF) y Grupo ejercicio sin cafeína (E/SCF). A los grupos correspondientes se les administró una dosis de 20 mg/kg de cafeína y como placebo solución salina, ambas aplicadas mediante vía subcutánea 1 h antes de iniciar la rutina de ejercicio, la cual tuvo una duración de 20 minutos. La toma de muestras se realizó en tres periodos: antes de la rutina de ejercicio (pre entrenamiento), inmediatamente después de finalizar la rutina de ejercicio (post entrenamiento) y 1 h después de finalizar la rutina de ejercicio (recuperación). Las muestras sanguíneas se obtuvieron de la vena cefálica. Se determinaron frecuencia cardiaca (FC), temperatura corporal (TC) y las concentraciones sanguíneas de glucosa, lactato, electrolitos ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ ), pH, presiones parciales de  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$  ( $\text{pO}_2$ ,  $\text{pCO}_2$ ) y hematocrito. En los grupos E/SCF y E/CF la FC, TC,  $\text{pO}_2$ , pH y lactato ( $P < 0.05$ ) incrementaron inmediatamente después de finalizar la rutina de ejercicio, posteriormente durante el periodo de recuperación la FC, TC,  $\text{pO}_2$ , pH y

lactato presentaron una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) observándose valores similares a los del grupo GR. En los grupos E/SCF y E/CF, los niveles de  $pCO_2$  disminuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ) en el periodo post entrenamiento. En el grupo E/SCF se observó un incremento de aproximadamente 23% en las concentraciones de glucosa sanguínea, mientras que en los grupos SE/CF y E/CF no se presentaron cambios en las concentraciones de glucosa inmediatamente después de finalizar la rutina de ejercicio. En el grupo E/SCF se observó también un incremento de 5.64% en el hematocrito inmediatamente después de finalizar la rutina de ejercicio mientras que en el grupo SE/CF el hematocrito disminuyó 5.13% ( $P < 0.05$ ) respecto al GR. Las concentraciones de  $K^+$  y  $Ca^{2+}$  disminuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ) en el periodo post entrenamiento en el grupo E/CF manteniéndose esa relación en el periodo de recuperación.

## INTRODUCCIÓN

La realización de ejercicio físico origina un proceso de estrés que requiere adaptaciones cardiovasculares, respiratorias y metabólicas (Evans *et al.*, 1993; Hughson *et al.*, 1999; Gómez *et al.*, 2004) para cubrir las necesidades energéticas y de oxigenación necesarios para la actividad muscular (Brooks y Gasser, 1980). Así como la eliminación de metabolitos producidos en los músculos ejercitados ya que la acumulación de ácido láctico y disminución de glucosa sanguínea son asociados a la fatiga. Con el objetivo de incrementar el rendimiento deportivo se ha investigado el efecto de la cafeína (Stephenson, 2008), ya que esta metilxantina, a nivel celular es un antagonista competitivo de los receptores de adenosina, y probablemente actúe directamente sobre el receptor de rianodina (canal de liberación  $Ca^{2+}$ ) para potenciar la liberación de  $Ca^{2+}$  del retículo sarcoplásmico en el músculo esquelético, lo que aumenta la fuerza de contracción muscular. Además puede disminuir el consumo de glucógeno y estimula el sistema nervioso central (Undem y Lichtenstein, 2003). Por lo tanto, estos mecanismos de acción podrían predecir que la cafeína podría ser benéfica durante

la ejecución del ejercicio de resistencia (Tarnopolsky, 1994). Sin embargo, el efecto de la cafeína sobre las variables bioquímicas sanguíneas y de las constantes fisiológicas no han sido evaluadas en perros de alto rendimiento, específicamente en caninos empleados en competencias deportivas de Ring Francés. Por tal motivo, el presente trabajo tiene por objetivo evaluar el efecto de la administración de cafeína sobre los cambios en la gasometría sanguínea, las variables metabólicas y fisiológicas en perros de las razas Pastores Belga Malinois y Holandés durante una rutina de ejercicio de Ring Francés.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

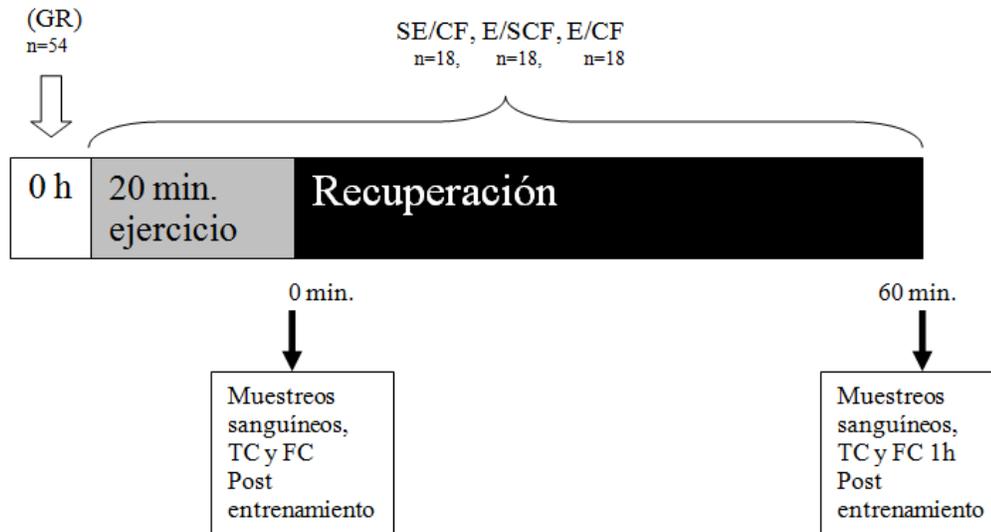
El estudio se realizó en un centro de entrenamiento canino de Ring Francés ubicado al Norte de la Ciudad de México, en donde se evaluaron 108 perros machos y hembras de las razas Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés entre 10 y 24 meses de edad, con un peso entre 20 y 23 kg y clínicamente sanos, los cuales fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos de la siguiente forma: Grupo de referencia (GR), se le administró solución salina al 0.9% y no fue sometido a ningún tipo de ejercicio físico; Grupo sin ejercicio con cafeína (SE/CF), recibió 20 mg/kg de cafeína y no fue sometido a ningún tipo de ejercicio físico; Grupo ejercicio sin cafeína (E/SCF), se le administró solución salina al 0.9% y fue sometido a la rutina de ejercicio establecida; Grupo ejercicio con cafeína (E/CF), recibió 20 mg/kg de cafeína antes de ser sometido a la rutina de ejercicio. La cafeína (Loeffler ®) al igual que la solución salina fueron administradas por vía subcutánea 1 h antes de iniciar la rutina de ejercicio. La dosis de cafeína empleada fue de acuerdo a lo descrito por Sumano *et al.*, (2000).

### *Evaluaciones*

Se registraron la edad, peso y sexo de cada uno de los perros. Para establecer las modificaciones en respuesta a la rutina de ejercicio, las mediciones de las variables fisiológicas y metabólicas se realizaron en 3 periodos: antes de la rutina de ejercicio (pre entrenamiento), inmediatamente después de finalizar la

rutina de ejercicio (post entrenamiento) y 1 h después de finalizar la rutina de ejercicio (recuperación). La temperatura corporal (TC) fue obtenida de forma instantánea (1 s) a través de un termómetro otal (ThermoScan Braun®) y la frecuencia cardíaca (FC) se determinó mediante un estetoscopio.

### Diseño del experimento



GR: Grupo referencia, SE/CF: Grupo sin ejercicio con cafeína, E/SCF: Grupo ejercicio sin cafeína, E/CF: Grupo ejercicio con cafeína.

Previa asepsia, las muestras sanguíneas se obtuvieron de la vena cefálica con una jeringa con heparina de litio (sangre entera). El tiempo empleado en la obtención de la muestra fue <30 s. Las concentraciones sanguíneas de glucosa (mg/dL), lactato (mg/dL), pH, electrolitos ( $\text{Ca}^{2+}$  mmol/L,  $\text{K}^{+}$  mmol/L,  $\text{Na}^{+}$  mmol/L) y presiones parciales de  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$  [ $\text{pO}_2$ , (mmHg),  $\text{pCO}_2$  (mmHg)] y hematocrito fueron procesados y determinados mediante un gasómetro (GEM Premier 3000®), el cual se ubicó en el centro de entrenamiento y cercano al sitio de obtención de las muestras sanguíneas.

### Entrenamiento canino

El entrenamiento al que fueron sometidos los perros lo realizó un entrenador registrado y acreditado por la Federación Canófila Mexicana (FCM). Cada uno de los perros fue sometido durante 20 minutos a una rutina de ejercicio

de alto rendimiento en la modalidad de Ring Francés descrita en el Reglamento de Ring Francés (1997). La rutina fue la misma para cada uno de los perros de los grupos experimentales. Previo al entrenamiento todos los animales se encontraban en completo ayuno de 10 horas. Con la finalidad de evitar alteraciones en los animales que aun no eran evaluados, en el momento en que se llevó a cabo el entrenamiento de cada perro, el resto del grupo se encontraba lejos del sitio de entrenamiento.

#### *Rutina de entrenamiento*

La rutina de entrenamiento consistió en la realización de los siguientes ejercicios: Protección, defensa del manejador y ataque de frente con vara, lanzamiento y recobre del objeto lanzado, ataque en huída con vara del entrenador y ataque de frente con revolver, recobre de objeto a la vista y búsqueda, ladrido y conducción por parte del entrenador, recobre de un objeto fuera de la vista y ataque suspendido de frente con vara, cuidado y protección de objeto (canasta), salto de valla (90 cm) y salto de empalizada (3 m).

#### *Análisis estadístico*

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre grupos en los 3 periodos de evaluación (antes, inmediatamente después y 1 h después de finalizar la rutina de ejercicio), se utilizó la prueba de ANOVA seguida de Tukey ( $P < 0.05$ ). Debido a que los niveles de pH corresponden a unidades logarítmicas estos datos se expresan como medianas (rangos) y fueron analizados mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el programa estadístico SAS para microcomputadoras (SAS ver. 9.0, 2004). Asimismo se realizó un análisis de regresión lineal en el que se consideró al  $\text{Ca}^{2+}$  como variable dependiente y al  $\text{K}^+$  como variable independiente para el grupo SE/CF y al  $\text{Ca}^{2+}$  como variable dependiente y a la  $\text{pCO}_2$  como variable independiente en el grupo E/CF.

## RESULTADOS

En el grupo SE/CF no se observaron cambios en la FC (**Fig. 1A**) durante el periodo post entrenamiento respecto a los valores de referencia. Sin embargo, en los grupos E/SCF y E/CF, el ejercicio incrementó la FC de manera significativa ( $P < 0.05$ ) inmediatamente después de finalizar la rutina de ejercicio. Posteriormente, durante el periodo de recuperación la FC presentó una disminución significativa ( $P < 0.05$ ), alcanzando valores similares a los del grupo GR.

En los grupos E/SCF y E/CF las concentraciones de  $pO_2$  (**Fig. 1B**) incrementaron 51% ( $P < 0.05$ ) en el periodo post entrenamiento, mientras que en el grupo SE/CF los niveles disminuyeron de manera significativa ( $P < 0.05$ ) en este mismo periodo con respecto a los valores del grupo GR (28.83 mmHg vs 37.51 mmHg). En el periodo de recuperación los 3 grupos experimentales regresaron a los valores de referencia.

Con relación a las concentraciones de  $pCO_2$  (**Fig. 2A**), el ejercicio provocó una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) en los grupos E/SCF y E/CF en el periodo post entrenamiento, sin observarse diferencias entre ambos grupos. Posteriormente, no se observaron diferencias entre los 3 grupos experimentales durante el periodo de recuperación, siendo similares a los valores de referencia.

Inmediatamente después de finalizado el ejercicio se presentó un incremento significativo ( $P < 0.05$ ) en el pH sanguíneo (**Fig. 2B**) en los grupos E/SCF y E/CF con respecto a los valores del grupo GR ( $7.39 \pm 0.24$  vs  $7.51 \pm 0.31$  y  $7.53 \pm 0.35$  respectivamente), regresando a los valores de referencia 1 h después de finalizar la rutina de ejercicio. En el grupo SE/CF los valores permanecieron constantes en el periodo post entrenamiento. Posteriormente, en este mismo grupo, el pH incremento significativamente en el periodo de recuperación en relación al GR, sin embargo, los valores observados estuvieron dentro del rango fisiológico.

En los grupos SE/CF y E/CF el ejercicio no provocó cambios en las concentraciones de glucosa inmediatamente después de finalizar la rutina de ejercicio (**Fig. 3A**), siendo similares a los valores de referencia. Sin embargo, en el

grupo E/SCF se observó un incremento de aproximadamente 23% en la glucosa sanguínea durante este mismo periodo de evaluación. En el muestreo del periodo de recuperación las concentraciones fueron similares entre los 3 grupos experimentales.

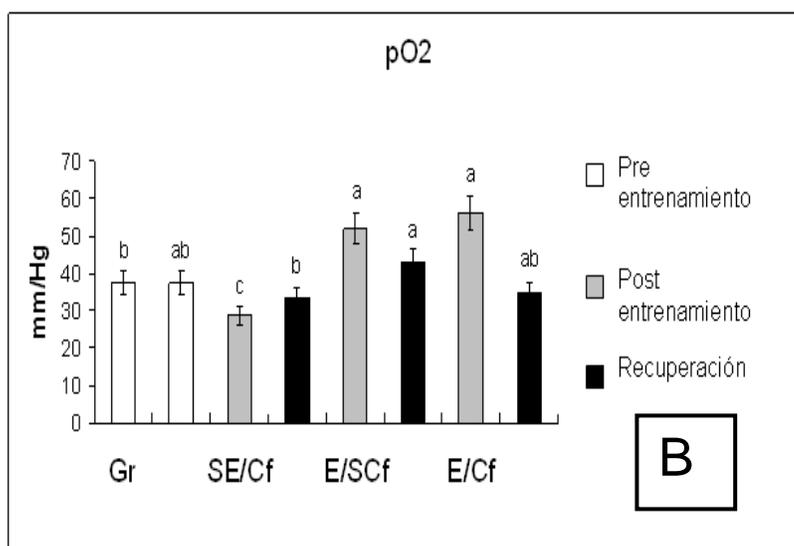
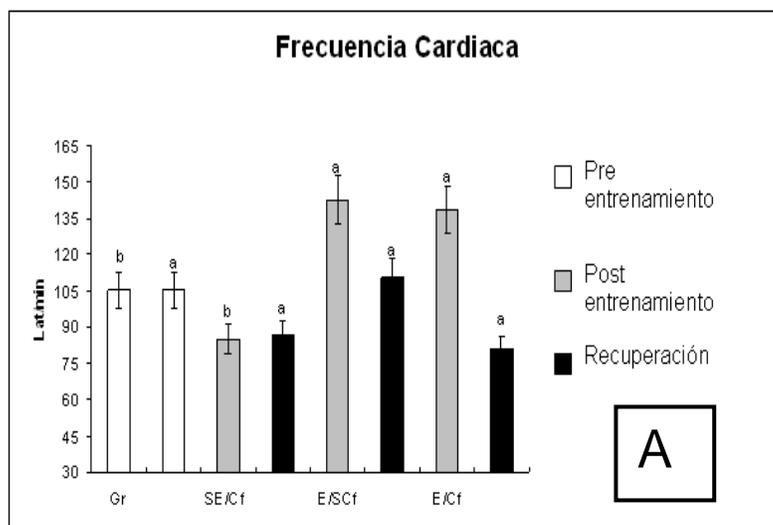
La concentración de lactato (**Fig. 3B**) incrementó significativamente ( $P < 0.05$ ) en el periodo post entrenamiento en los grupos E/SCF y E/CF. Posteriormente, los valores en estos grupos disminuyeron, alcanzando valores similares a los de referencia.

En el periodo post entrenamiento, en los grupos SE/CF y E/SCF el hematocrito (**Fig. 4**) disminuyó 5.13% ( $P < 0.05$ ) e incrementó 5.64% ( $P < 0.05$ ), respectivamente, con respecto a los valores de referencia. Al final, 1 h después del entrenamiento en todos los grupos los valores fueron similares a los de referencia.

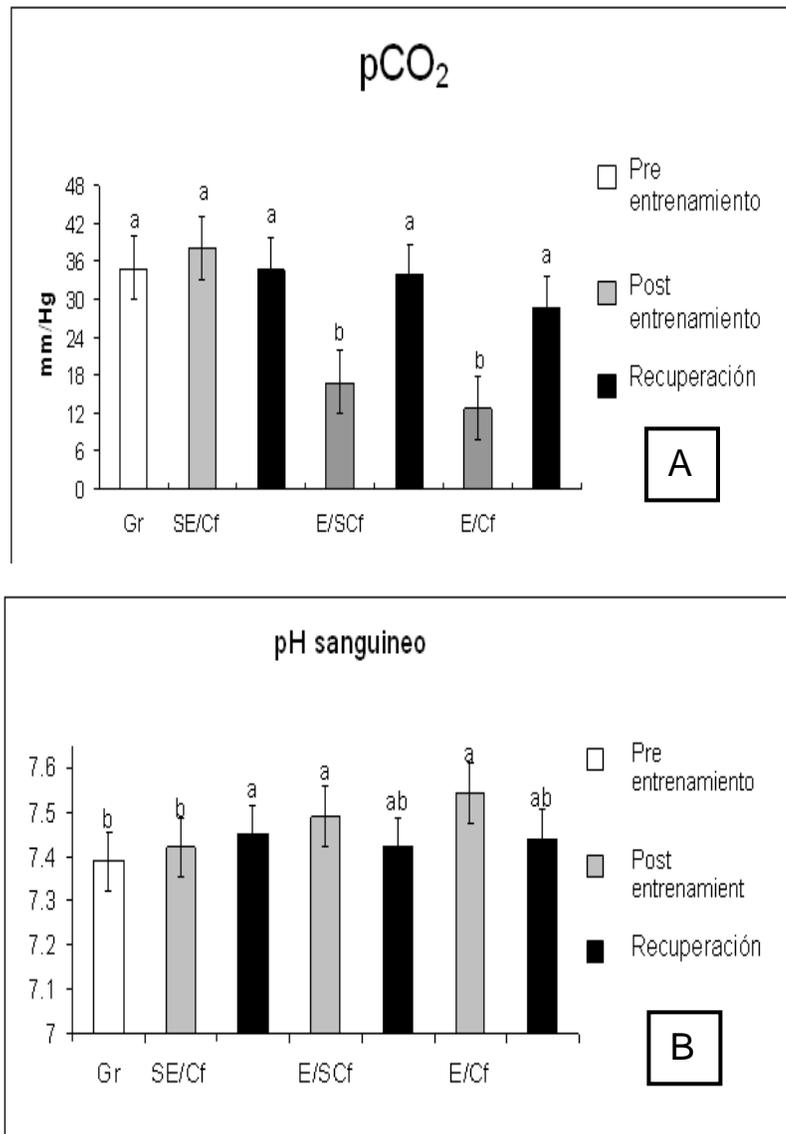
La TC (**Cuadro 1**) incrementó significativamente ( $P < 0.05$ ) en el periodo post entrenamiento sólo en los grupos E/SCF y E/CF. Posteriormente, en el periodo de recuperación la TC de los 3 grupos experimentales fue similar al GR.

Referente a los niveles de  $\text{Na}^+$  (**Cuadros 1 y 2**) no se observaron diferencias significativas en los grupos experimentales durante los 3 periodos de entrenamiento.

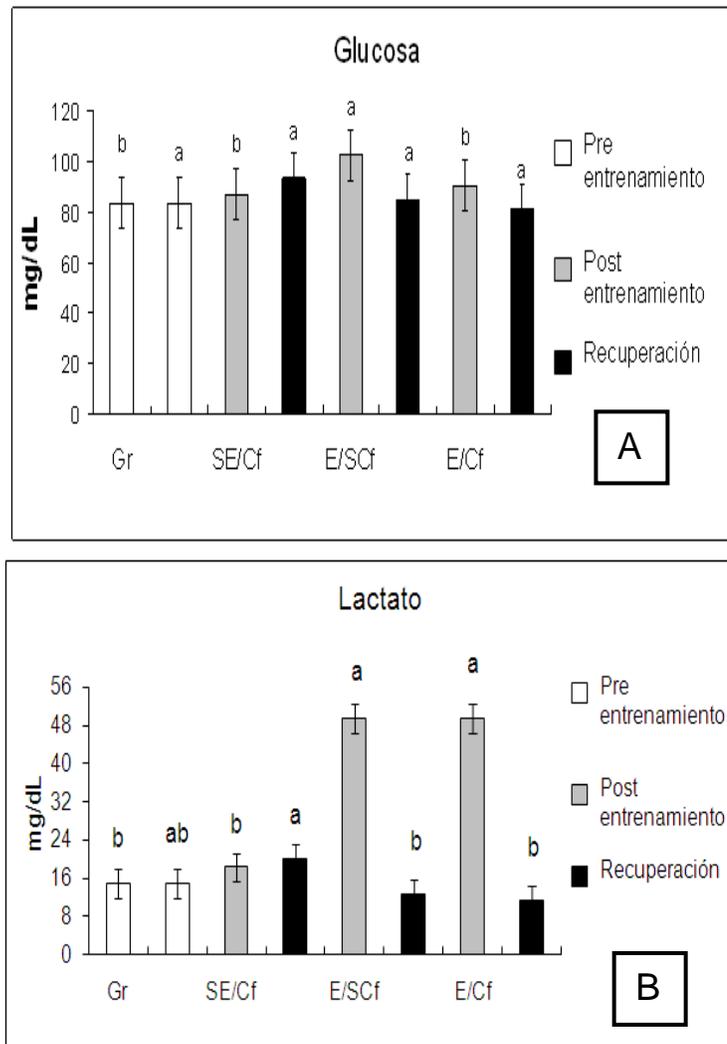
Las concentraciones de  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  (**Cuadro1**) disminuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ) en el periodo post entrenamiento en el grupo E/CF en comparación con los grupos GR y E/SCF. De manera similar, las concentraciones de  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  en los mismos grupos experimentales mantuvieron esta diferencia en el periodo de recuperación (**Cuadro 2**).



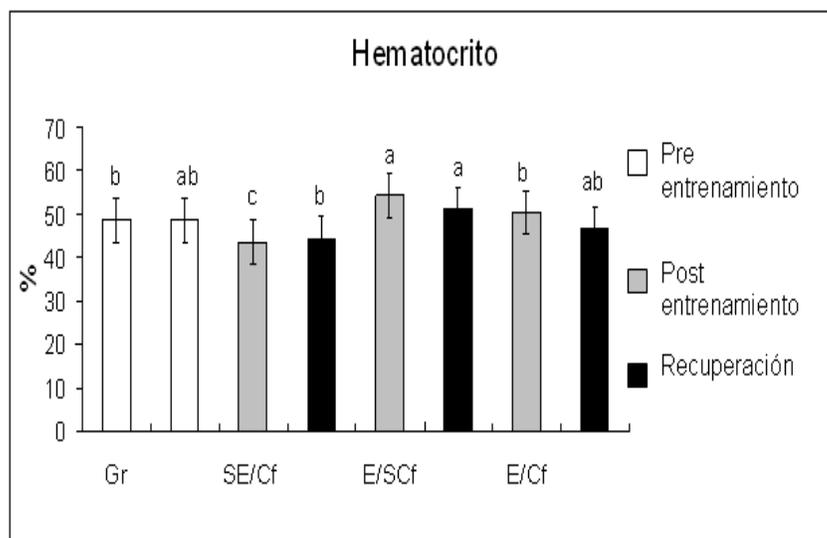
**Figura 1.** Efecto de los diferentes tratamientos de ejercicio y cafeína en la FC (A) y pO<sub>2</sub> (B) de perros evaluados en tres etapas del entrenamiento. Los datos se presentan como promedios ± EEM. Literales diferentes (a, b, c,) entre columnas indican diferencias significativas a la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ) entre los grupos y entre los diferentes periodos de muestreo.



**Figura 2.** Efecto de los diferentes tratamientos de ejercicio y cafeína en la pCO<sub>2</sub> (A) y pH sanguíneo (B) de perros evaluados en tres etapas del entrenamiento. Los datos se presentan como promedios ± EEM. Literales diferentes (a, b, c,) entre columnas indican diferencias significativas a la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ) entre los grupos y entre los diferentes periodos de muestreo. El pH fue analizado mediante la prueba de Kruskal-Wallis y es expresado como mediana (rango).



**Figura 3.** Efecto de los diferentes tratamientos de ejercicio y cafeína en los niveles de glucosa (A) y lactato (B) de perros evaluados en tres etapas del entrenamiento. Los datos se presentan como promedios  $\pm$  EEM. Literales diferentes (a, b, c,) entre columnas indican diferencias significativas a la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ) entre los grupos y entre los diferentes periodos de muestreo.



**Figura 4.** Efecto de los diferentes tratamientos de ejercicio y cafeína en los niveles de hematocrito de perros evaluados en tres etapas del entrenamiento. Los datos se presentan como promedios  $\pm$  EEM. a, b, c, Literales diferentes entre columnas indican diferencias significativas a la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ) entre los grupos y entre los diferentes periodos de muestreo.

**Cuadro 1.** Temperatura corporal (TC), pH y electrolitos de perros post entrenamiento en los diferentes grupos.

	<b>GR n=54</b>	<b>SE/CF n=18</b>	<b>E/SCF n=18</b>	<b>E/CF n=18</b>
<b>TC (°C)</b>	MED±EEM 38.15±0.12 <sup>c</sup>	MED±EEM 38.16±0.15 <sup>c</sup>	MED±EEM 40.36±0.32 <sup>a</sup>	MED±EEM 39.40±0.24 <sup>b</sup>
<b>pH*</b>	7.39±0.24 <sup>b</sup>	7.42±0.23 <sup>b</sup>	7.49±0.31 <sup>a</sup>	7.54±0.35 <sup>a</sup>
<b>Na<sup>+</sup> (mmol/L)</b>	148.60±0.97 <sup>a</sup>	146.55±1.08 <sup>a</sup>	148.50±1.63 <sup>a</sup>	148.61±1.40 <sup>a</sup>
<b>K<sup>+</sup> (mmol/L)</b>	4.04±0.09 <sup>ab</sup>	3.77±0.07 <sup>bc</sup>	4.32±0.06 <sup>a</sup>	3.61±0.08 <sup>c</sup>
<b>Ca<sup>2+</sup> (mmol/L)</b>	1.15±0.04 <sup>ab</sup>	1.00±0.04 <sup>bc</sup>	1.26±0.01 <sup>a</sup>	0.88±0.03 <sup>c</sup>

Los datos se presentan como promedios ± EEM. \* Analizada con Kruskal-Wallis y expresada como mediana (rango). Literales diferentes (a, b, c) en la misma fila, señalan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre grupos.

**Cuadro 2.** Temperatura corporal (TC), pH y electrolitos de perros en el periodo de recuperación en los diferentes grupos. (Basal vs 1 hr post rutina de ejercicio)

	<b>GR n=54</b>	<b>SE/CF n=18</b>	<b>E/SCF n=18</b>	<b>E/CF n=18</b>
<b>TC(°C)</b>	MED±EEM 38.15±0.12 <sup>ab</sup>	MED±EEM 38.45±0.1 <sup>a</sup>	MED±EEM 38.31±0.32 <sup>a</sup>	MED±EEM 37.34±0.48 <sup>b</sup>
<b>pH*</b>	7.39±0.24 <sup>b</sup>	7.45±0.12 <sup>a</sup>	7.42±0.18 <sup>ab</sup>	7.44±0.22 <sup>ab</sup>
<b>Na<sup>+</sup> (mmol/L)</b>	148.60±0.97 <sup>a</sup>	147.88±1.42 <sup>a</sup>	147.50±1.45 <sup>a</sup>	148.33±1.47 <sup>a</sup>
<b>K<sup>+</sup> (mmol/L)</b>	4.04±0.09 <sup>ab</sup>	3.58±0.07 <sup>bc</sup>	4.09±0.08 <sup>a</sup>	3.41±0.12 <sup>c</sup>
<b>Ca<sup>2+</sup> (mmol/L)</b>	1.15±0.04 <sup>ab</sup>	0.97±0.04 <sup>bc</sup>	1.33±0.02 <sup>a</sup>	0.92±0.05 <sup>c</sup>

Los datos se presentan como promedios ± EEM. \* Analizada con Kruskal-Wallis y expresada como mediana (rango). Literales diferentes (a, b, c) en la misma fila, señalan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre grupos.

## DISCUSIÓN

Este es el primer estudio en evaluar el efecto estimulante de la cafeína sobre el desempeño físico a través del perfil fisiometabólico y gasometría sanguínea en perros de alto rendimiento. En nuestro estudio, el incremento de la actividad física fue reflejado a través de cambios en los valores de los diferentes indicadores metabólicos y fisiológicos. La FC incremento inmediatamente después de finalizar la rutina de ejercicio en los grupos E/SCF y E/CF coincidiendo con lo reportado por Forero *et al.*, (2006) y específicamente en el grupo E/CF este incremento puede estar asociado al efecto inotrópico positivo (Sato y Vassalle, 1996) sobre el miocardio y un efecto cronotrópico positivo sobre el nódulo sinoauricular, lo que determina un aumento transitorio de la frecuencia cardiaca causado por la cafeína (Adams, 2003). Asimismo, Van Citters y Franklin, (1969) reportaron en perros Alaska una reducción de la FC, de 250/min en el primer minuto post ejercicio, y posteriormente una lenta disminución hasta acercarse a niveles basales de 80-100/min. De manera coincidente, en el presente estudio se observó una disminución de la FC post ejercicio de 150 a 90/min.

El incremento y disminución en las concentraciones de  $pO_2$  (51%) y  $pCO_2$  (59%), respectivamente, observados en este estudio en los grupos E/SCF y E/CF como respuesta al ejercicio, podría estar asociada a un proceso de hiperventilación (Cunningham, 2005) provocado como respuesta a la demanda física, la cual induce un proceso de hipocapnia (Fenger *et al.*, 2000), y a su vez un aumento en el  $pO_2$  por incremento en la entrada del gas (Taylor *et al.*, 1995). Aunado a esta situación, la estimulación de la cafeína en el centro respiratorio mejora la función respiratoria al aumentar la frecuencia y amplitud de los movimientos respiratorios (Gennaro, 2003; Franco *et al.*, 2011).

En nuestras observaciones, los grupos E/SCF y E/CF presentaron un incremento significativo ( $P < 0.05$ ) en las concentraciones de lactato posterior a la rutina de ejercicios, y consecutivamente una disminución en el periodo de recuperación. Nuestros datos concuerdan con observaciones previas realizadas

en Labradores Retrievers (Matwichuk *et al.*, 1999) y Galgos (Pieschl *et al.*, 1992) en los que se observó un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) en las concentraciones de lactato sanguíneo inmediatamente después de realizar ejercicio. En otro estudio con humanos, Graham *et al.*, (2000) y Stebbins *et al.*, (2001) observaron que la concentración de lactato en sangre arterial fue mayor después de la ingestión de cafeína durante el período de ejercicio ( $P < 0.05$ ).

En relación a la alcalemia que se presentó en los grupos E/SCF y E/CF está podría justificarse por el descenso en la  $p\text{CO}_2$  lo que incrementa el pH sanguíneo en los líquidos orgánicos para mantener el equilibrio ácido – base del organismo (Guyton y Hall, 2001).

Los incrementos significativos ( $P < 0.05$ ) y posteriores descensos de temperatura observados en los grupos E/SCF y E/CF podría ser asociado al aumento de la actividad metabólica en los músculos ejercitados, lo que coincide con lo reportado con Matwichuk *et al.*, (1999) en perros Labrador quienes observaron un notable incremento de la temperatura rectal después de la realización de ejercicio.

En relación a los incrementos de las concentraciones de glucosa en el grupo E/SCF, estos pueden ser asociados a la activación de la glucogenólisis por estímulo de la adrenalina lo que aumenta la liberación de glucosa a los músculos activos según progresa la intensidad del ejercicio (Ilkiw *et al.*, 1989). En contraste, se ha reportado en ratones, que el antagonismo de la adenosina puede reducir la absorción de glucosa (Vergauwen *et al.*, 1994, 1997; Han *et al.*, 1998) como lo observado en los grupos SE/CF y E/CF.

El alza del hematocrito puede estar determinado por la movilización esplénica de eritrocitos (Coyne *et al.*, 1990) en respuesta al ejercicio (García *et al.*, 1999) tal y como se observó en este estudio en el grupo E/SCF. Mientras que la

disminución del porcentaje de hematocrito encontrada en el grupo SE/CF puede estar asociado a hemodilución por sobrehidratación (Nuñez y Bouda, 2007).

En coincidencia con este estudio se han observado, disminuciones significativas de las concentraciones plasmática de potasio (Tarnopolsky ,1994) y calcio en equinos durante y posterior a competencias de resistencia (Rose *et al.*, 1980; Schott II *et al.*, 1997; Barton *et al.*, 2003). Estos datos se asemejan con los resultados reportados en perros Galgos en carreras de velocidad (Toll *et al.*, 1995), y en varones sometidos a ejercicio después de la ingesta de cafeína (Graham *et al.*, 2000; Mohr *et al.*, 2011). Sin embargo, Favero *et al.*, (1995) demostraron que el lactato por si mismo modifica la función del canal liberador de calcio del retículo sarcoplasmico ya que en presencia de lactato, la velocidad de liberación de calcio se inhibe en un 30% aun cuando la activación del canal de calcio es estimulado por la cafeína (Favero *et al.*, 1997). Lo que podría explicar la significativa disminución de calcio y potasio en el grupo E/CF sanguíneo durante el periodo post-entrenamiento y recuperación observada en el grupo.

## **CONCLUSIONES**

- Con la aplicación de cafeína, se aprecia una tendencia de restablecimiento más rápida en las variables FC y pO<sub>2</sub> (1 h post- ejercicio), en comparación con el grupo de perros que no recibieron el tratamiento.
- La concentración de glucosa sanguínea post entrenamiento fue significativamente menor en el grupo de perros tratados con cafeína Vs. los no tratados.
- La aplicación de cafeína no modifico los valores de pCO<sub>2</sub> y lactato post entrenamiento y/o en la recuperación, es decir, no se apreció menor fatiga muscular.

- El % de hematocrito post ejercicio, fue significativamente mayor en los perros tratados con cafeína.
- Los perros tratados con cafeína presentaron hipocaliemia e hipocalcemia inmediatamente después del entrenamiento y 1 h posterior al ejercicio (periodo de recuperación).
- Los resultados del presente estudio indican que la aplicación de cafeína causó alteraciones en la frecuencia cardíaca y temperatura corporal, así como desajustes en variables bioquímicas sanguíneas como la glucosa, hematocrito, potasio y calcio. Esto permite tener mayor conocimiento sobre los desajustes del perfil fisiometabólico del perro sometido a ejercicio, sin embargo se requieren de estudios adicionales que nos permitan estimar el potencial de rendimiento competitivo de las dos razas de perros más empleadas en el Ring Francés.

## **LITERATURA CITADA**

- Adams, R.H. 2003. Farmacología y terapéutica veterinaria. 2º ed. Ed Acribia, S.A.
- 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): 746-753.
- Brooks, G. A. and Gaesser, G. A. 1980. End points of lactate and glucose metabolism after exhausting exercise. *J Appl Physiol.* 49: 1057-1069.
- Coyne, C.P., Carlson, G.P., Spensley, M.S., and Smith, J. 1990. Preliminary investigation of alterations in blood viscosity, cellular composition, and electrophoresis plasma protein fraction profile after competitive racing activity in Thoroughbred horses. *Am J Vet Res* 51(12): 1956-1963.
- Cunningham, J. G. 2005. Fisiología Veterinaria. 3 ed. España. *Elsevier.* 575.

- Evans, D. L., Harris, C.R., and Snow, D.H. 1993. Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in Thoroughbred horses. *Equine Vet J.* 25: 441-445.
- Favero, T.G., Zable, A.C., Bowman, M.B., Thompson, A., and Abramson, J.J. 1995. Metabolic end products inhibit sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  release and [ $^3H$ ] ryanodine binding. *J Appl Physiol.* 78:1665-75.
- Favero, T.G., Zable, A.C., Colter, J.J., and Abramson, J.J. 1997. Lactate inhibits  $Ca^{2+}$  activated  $Ca^{2+}$  -channel activity from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J Appl Physiol.* 82: 447-52.
- Fenger, K.C., McKeever, H.K., Hinchcliff, W.K., and Kohn, W. C. 2000. Determinants of oxygen delivery and hemoglobin saturation during incremental exercise in horse. *Am J Vet Res.* 61 (10):1325–1332.
- Forero, L. J. H., Lozano, M. P. A. and Camargo, R. O. B. 2006. Parámetros fisiológicos en caninos pre y post competencia de agility en Bogotá, Colombia. *Rev Med Vet.* 12: 57-71.
- Franco, F. S., Costa, M. N., Ferreira, S.A. Carneiro-Junior M. A., and Natali A. J. 2011. The effects of a high dosage of creatine and caffeine supplementation on the lean body mass composition of rats submitted to vertical jumping training. *J Int Soc Sports Nutr.* 8(3).
- García, M., Guzmán, R., Cabezas, I., Merino, V., Palma, C. and Pérez, R. 1999. Evaluación del entrenamiento tradicional del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguíneas. *Arch Med Vet.* 31(2).
- Gennaro, R. A. 2003. Remington: Farmacia. 20ª ed. Ed Médica Panamericana. Buenos Aires 1368.
- Gómez, C., Petron, P. and Andaur, M. 2004. Medición post-ejercicio de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas en equinos de salto holsteiner. *Rev Científica.* 14 (3): 244-253.
- Graham, E.T., Helge, W.J., MacLean, A.D., Kiens, B., and Richter, A. E. 2000. Caffeine ingestion does not alter carbohydrate or fat metabolism in human skeletal muscle during exercise. *Journal of Physiology.* 529(3):837-847.
- Guyton, A.C. and Hall, J.E. 2001. Tratado de Fisiología Médica. *Mc Graw Hill-Interamericana.* México. 1167-1169.

- Han, D.H., Hansen, P. A., Nolte, L. A. and Holloszy, J.O. 1998. Removal of adenosine decreases the responsiveness of muscle glucose transport to insulin and contractions. *Diabetes* 47: 1671-1675.
- Hughson, R. L. and Tschakovsky, M.E. 1999. Cardiovascular dynamics at the onset of exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 31(7):1005-1010.
- Ilkiw, J.E., Davis, P.E., and Church, D.B. 1989. Hematologic, biochemical, blood-gas, and acid-base values in greyhounds before and after exercise. *Am J Vet Res.* 50 (4): 583-6.
- Matwichuk, C.L., Taylor, S.M. and Shmon, C.L. 1999. Changes in rectal temperature and hematologic, biochemical, blood gas, and acid-base values in healthy Labrador retrievers before and after strenuous exercise. *Am J Vet Res.* 60. 88-92.
- Mohr, M., Nielsen, J.J., and Bangsbo, J. 2011. Caffeine intake improves intense intermittent exercise performance and reduces muscle interstitial potassium accumulation. *J Appl Physiol.* 111. (5): 1372-9.
- Núñez, O. L. y Bouda J. 2007. Patología clínica veterinaria. FMVZ-UNAM. México. 349.
- Pieschl, R.L., Toll, P.W., Leith, D.E., Peterson, L.J., and Fedde, M.R. 1992. Acidbase changes in the running greyhound: contributing variables. *J Appl Physiol.* 73, 2297-2304.
- Reglamento de Ring francés. (1997). Disponible en: <http://www.voraus.com/v2/modules/wfsection/html/RingFrancesMexico.pdf> [Consultado el 27 de enero de 2013]
- Rose, R.J., Ilkiw, J.E., Arnold, K.S., Backhouse J.W. and Sampson, D. 1980. Plasma biochemistry in the horse during 3-day event competition. *Equine Vet J.* 12(3): 132-136.
- Satoh, H. and Vassalle, M.1996. Ca(++)-dependence of caffeine modulation of the rate-force relation in canine cardiac Purkinje fibers. *J Pharmacol Exp Ther.* 278 (2):826-835.
- Schott II, H.C., McGlade, K.S., Molander, H.A., Leroux, A.J. and 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(3):303-309.

- Stebbins, C.L., Daniels, J.W., and Lewis, W. 2001. Effects of caffeine and high ambient temperature on haemodynamic and body temperature responses to dynamic exercise. *Clin Physiol*. 21.(5) 528-33.
- Stephenson, D. G. 2008. Caffeine – a valuable tool in excitation–contraction coupling research. *J Physiol*, 586 (3): 695–696.
- Sumano, L. H., Ocampo, C. L., Pulido, G. 2000. Manual de farmacología clínica para pequeñas especies. Ed. Cuellar. México. 55
- Tarnopolsky, M. A. 1994. Caffeine and endurance performance. *Sport Med*, 18 (2), 109-25.
- Taylor, L. E., Ferrante, P. L., Kronfeld, D. S. and Meacham, T. N.1995. Acid-base variables during incremental exercise in sprint-trained horses fed a high-fat diet. *J Anim Sci*.73: (Issue 7), 2009-2018.
- Toll, P.W., Gaehtgens, P., Neuhaus, D., Pieschl, R.L. and Fedde M.R. 1995. Fluid, electrolyte, and packed cell volume shifts in racing Greyhounds. *Am J Vet Res*. 56 (2): 227-232.
- Udem, B.J., and Lichtenstein, L.M. 2003. Fármacos utilizados para el tratamiento del asma. En: Hardman J.G., Limbird L.E., Gilman A.G. (Eds). Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la terapéutica. México: Mc Graw-Hill Interamericana. 754.
- Van Citters, L. R. and Franklin L. D. 1969. Cardiovascular performance of Alaska sled dogs during exercise. *Circ Res*. 24:33-42.
- Vergauwen, L., Hespel, P. and Richter, E. A. (1994). Adenosine receptors mediate synergistic stimulation of glucose uptake and transport by insulin and by contractions in rat skeletal muscle. *Journal of Clinical Investigation* .93, 974-981.
- Vergauwen, L., Richter, E. A. and Hespel, P. (1997). Adenosine exerts a glycogensparing action in contracting rat skeletal muscle. *Am J Physiol*. 272, E762—768.

## CAPITULO IV

### DISCUSIÓN GENERAL:

Los resultados de la presente tesis muestran que la realización de ejercicio físico en caninos de las razas Pastor Belga Malinois y Holandés durante la modalidad de Ring Francés provoca modificaciones en las variables fisiometabólicas (frecuencia cardíaca, temperatura corporal, lactato y pH) y en la gasometría sanguínea ( $pO_2$  y  $pCO_2$ ) retornando a sus valores basales 1 h después de haber finalizado la sesión (capítulo 1). Asimismo la aplicación de cafeína y la realización de ejercicio (Grupo Ejercicio/cafeína) provocan una disminución en los electrolitos sanguíneos ( $Ca^{2+}$  y  $K^+$ ) durante el periodo post entrenamiento, manteniéndose esta disminución hasta 1 h después de haber finalizado la rutina (capítulo 2).

En este sentido, la disminución del potasio se puede relacionar con el incremento en la actividad de la bomba  $Na^+ / K^+$  en los músculos esqueléticos después del ejercicio, a través de la estimulación de cafeína (Clausen, 2010); ya que algunos de los mecanismos implicados en la salida y entrada del potasio a nivel celular dependen del gradiente de  $K^+$  transmembrana, de la actividad de la ATPasa, de la permeabilidad de la membrana al potasio y del pH (Tejeda, 2008). De manera similar la disminución del calcio observada en la presente tesis podría estar asociada a que la cafeína mejora potencialmente el acoplamiento de excitación-contracción aumentando la movilización y liberación del calcio desde el retículo sarcoplásmico (Davis y Green, 2009; Del Coso *et al.*, 2012) lo que causaría una disminución en los niveles séricos (García *et al.*, 1999; Moreno, 2008). Esta modificación en el calcio ionizado es también atribuido al cambio en el pH sanguíneo, ya que en la alcalosis aguda (capítulo 1 y 2) disminuye la forma ionizada del calcio plasmático (Núñez y Bouda, 2007) desplazándolo a la derecha y, aumentando la concentración de calcio unido a proteínas y unido a aniones, por

lo tanto, el efecto inmediato es la disminución de la concentración de calcio ionizado en plasma (Fuentes *et al.*, 1998).

Las disminuciones en el potasio plasmático observadas en este estudio, también han sido observadas en equinos (Tarnopolsky, 1994) especialmente durante competencias de resistencia (Schott II *et al.*, 1997; Barton *et al.*, 2003), y en perros Galgos después de una carrera de velocidad (Toll *et al.*, 1995). Así mismo, en varones sometidos a ejercicio después de la ingesta de cafeína (Graham *et al.*, 2000; Mohr *et al.*, 2011).

En congruencia con este estudio se han observado (capítulo 2) disminuciones significativas en las concentraciones de calcio plasmático en equinos durante y posterior a competencias de resistencia (Rose *et al.*, 1980; Barton *et al.*, 2003), así como en equinos pura sangre después de competencias de salto (Somardahl *et al.*, 1994) y en Galgos después de la temporada de carreras (Zaldívar *et al.*, 2011). Sin embargo, Favero *et al.*, (1995) demostraron que el lactato por si mismo modifica la función del canal liberador de calcio del retículo sarcoplasmico, es decir, que en presencia de lactato la velocidad de liberación de calcio se inhibe en un 30% aun cuando la activación del canal de calcio es estimulado por la cafeína (Favero *et al.*, 1997). Esto podría explicar la significativa disminución de calcio y potasio en el grupo E/CF sanguíneo durante el periodo post-entrenamiento y recuperación observada en esta tesis (capítulo 2).

Como se mencionó anteriormente, las modificaciones en las presiones de oxígeno y dióxido de carbono, son el resultado del proceso de hiperventilación (Cunningham, 2005) en respuesta a tres procesos principales: la primera hace referencia a tratar de cubrir las demandas de oxigenación (Fenger *et al.*, 2000; Olmos, 2010) y eliminación del CO<sub>2</sub> (Matwichuk *et al.*, 1999) en los músculos que están en actividad y que es acompañada por el incremento en la frecuencia cardiaca con el fin de sostener el aumento del metabolismo y facilitar la remoción

de los productos metabólicos de desecho (García *et al.*, 1999). La segunda es asociada a la termorregulación (Guyton y Hall, 2001) ya que se producen rápidos y frecuentes movimientos de pequeños volúmenes respiratorios sobre el espacio muerto respiratorio, de manera que las porciones superiores de las vías respiratorias se ponen en contacto con aire nuevo del exterior; esto enfría la mucosa debido a la evaporación del agua de las superficies mucosas, especialmente de saliva en la lengua (Guyton y Hall, 2001; Cunningham, 2005). La tercera se refiere a mantener el equilibrio ácido-base, ya que la hiperventilación lleva consigo a un descenso en los niveles de  $p\text{CO}_2$  (hipocapnia) (Fenger *et al.*, 2000) por aumento en su eliminación y a su vez a un aumento en la  $p\text{O}_2$  por incremento en la entrada para este gas (Taylor *et al.*, 1995; Matwichuk *et al.*, 1999). Esta disminución en la  $p\text{CO}_2$ , incrementa el pH sanguíneo (Guyton y Hall, 2001; Heitz y Horne, 2005; Forero *et al.*, 2006). Aunado a esta situación, la estimulación de la cafeína sobre el centro respiratorio mejora la función respiratoria al aumentar la frecuencia y amplitud de los movimientos respiratorios (Gennaro, 2003; Franco *et al.*, 2011) provocando una mayor eliminación del  $\text{CO}_2$ , lo que también explicaría la disminución en la concentración de  $p\text{CO}_2$  en el grupo E/CF (capítulo 2). En contraste con otras especies como los cerdos, se ha observado que posterior a un proceso de estrés conforme incrementan las concentraciones de lactato, se presenta una disminución del pH sanguíneo (Herpin *et al.*, 1996; Trujillo *et al.*, 2007; Becerril *et al.*, 2009).

Sin embargo, el incremento en la concentración de lactato durante el ejercicio es causado por la glucólisis anaerobia (Cohen *et al.*, 1993; Moreno, 2008) y en todas aquellas fases del esfuerzo en las que se produzca un desajuste entre las demandas de  $\text{O}_2$  de la fibra y las posibilidades de suministro existentes. Algunos inconvenientes del metabolismo láctico es su bajo rendimiento energético, la obligatoriedad de utilizar glucosa y la acumulación de ácido láctico como producto final, lo que en algunos casos inactiva los sistemas enzimáticos provocando la condición de fatiga (Barbany, 2002) además de que provee un

indicador de adaptación y del grado de entrenamiento de un atleta humano o animal, debido a que muestra que tanto ha afectado el sistema de energía aeróbica (Ready y Morgan, 1984). Asimismo refleja la dependencia de la vía anaeróbica como fuente de energía para realizar ejercicio, donde aquellos menos entrenados muestran una mayor producción de lactato (García *et al.*, 1999). Estos datos concuerdan con observaciones previas realizadas en perros Labrador Retriever (Matwichuk *et al.*, 1999; Steiss *et al.*, 2004), Husky Siberiano que realizaron carreras de trineo (Ready y Morgan, 1984), en Galgos (Pieschl *et al.*, 1992) y en perros realizando ejercicio de Agility (Rovira *et al.*, 2007b) en los cuales se observó un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) en las concentraciones de lactato sanguíneo inmediatamente después de realizar ejercicio. En otro estudio en humanos, Graham *et al.*, (2000) y Stebbins *et al.*, (2001) observaron que la concentración de lactato en sangre arterial fue mayor después de la ingestión de cafeína durante el período de ejercicio ( $P < 0.05$ ).

Como ya se señaló, el aumento de la FC es generado en respuesta al ejercicio como mecanismo adaptativo (González *et al.*, 2008), que lleva a un aumento del gasto cardiaco para facilitar el aporte de sangre a los tejidos y así satisfacer el incremento del requerimiento de oxígeno y demandas energéticas a los músculos activos. Estos resultados coinciden con lo reportado en un estudio realizado en humanos, en el que se observó que a dosis de 1 mg/kg a 3 mg/kg de cafeína usando una bebida energética la FC incrementó con respecto al grupo placebo (Del Coso *et al.*, 2012). El incremento en la FC puede estar influenciado por un efecto inotrópico positivo (Satoh y Vassalle, 1996) sobre el miocardio y un efecto cronotrópico positivo sobre el nódulo sinoauricular, lo que determina un aumento transitorio de la FC causado por la cafeína (Adams, 2003).

Van Citters y Franklin, (1969) reportaron en perros Alaska aumentos en la FC durante la fase de excitación previa a la carrera (de 100 a 150/min), y durante el periodo de la carrera (250 a 300/min), además de una disminución de la frecuencia cardiaca hasta que se aproximaron a los niveles basales de 80-

100/min. De manera similar en el capítulo 2 se mencionó una disminución de la FC post ejercicio de 150 a 90/min, lo que se encuentra dentro del rango descrito para la especie (70 - 180/min) por Birchard *et al.*, (2006).

Con relación al incremento en las concentraciones de glucosa observada en esta tesis (capítulo 1 y 2), está puede proceder de diversos sitios principalmente de la movilización de las reservas musculares (glucogenolisis muscular) así como de la incorporación de la glucosa sanguínea que llega al músculo procedente del estímulo adrenérgico sobre el hígado y páncreas por la liberación de glucagón, para iniciar la liberación de glucosa a los músculos activos según progresa su demanda energética e intensidad de ejercicio (Ilkiw *et al.*, 1989; Ramnanan *et al.*, 2011) ya que por cada molécula glucosa oxidada por completo se obtienen 38 ATP para la producción de energía (Barbany, 2002). Wasserman *et al.*, (1989) demostraron que cuando los perros se someten a ejercicio de moderada intensidad incrementa la utilización y producción de glucosa de una manera rápida, y que se mantiene durante el periodo de ejercicio.

El incremento del hematocrito observado en esta tesis (capítulo 2), puede estar asociado a la movilización esplénica de eritrocitos (Coyne *et al.*, 1990) en respuesta al ejercicio (García *et al.*, 1999), ya que uno de los factores del aumento en la cantidad de eritrocitos circulantes hasta en un 15% durante el ejercicio es la contracción esplénica en respuesta al aumento de la adrenalina circulante (Núñez y Bouda, 2007). En contraste, la disminución del porcentaje de hematocrito encontrada en el grupo SE/CF podría estar asociado a hemodilución por sobrehidratación (Núñez y Bouda, 2007), secuestro esplénico de eritrocitos (Meyer y Hervey, 2007) ó sobreentrenamiento (Ready y Morgan, 1984). Los valores bajos de eritrocitos pueden también aparecer en sangre cuando la masa total de eritrocitos es normal (anemia relativa) (Meyer y Hervey, 2007). No obstante, en el presente estudio el porcentaje de hematocrito en los diferentes

grupos de estudio se mantuvieron dentro de los rangos de referencia descritos por Núñez y Bouda, (2007) para la especie canina.

Los incrementos significativos ( $P < 0.05$ ) y posteriores descensos de temperatura (capítulo 1 y 2), podría ser explicado por el aumento de la actividad metabólica que tienen que realizar los animales para desarrollar el esfuerzo muscular exigido por el trabajo, ya que una porción de energía de los nutrientes se convierte en calor durante el metabolismo celular (Forero *et al.*, 2006), por lo que cerca del 25% de la energía química se aprovecha en trabajo y el resto de la energía se transforma en calor (Hill, 1998). Esto coincide con lo reportado con Matwichuk *et al.*, (1999) en perros Labrador donde mencionan que incrementó la temperatura rectal notablemente después de la realización de ejercicio ( $P < 0.01$ )

Sin embargo, las escasas modificaciones en los metabolitos sanguíneos que se observaron en los perros del grupo E/CF mencionado en el capítulo 2 se pueden atribuir a la dosis de la cafeína empleada (20 mg/kg SC), ya que en humanos se ha reportado que dosis bajas (1-2 mg/kg) (Cox *et al.*, 2002) o moderadas de cafeína (entre 3 y 6 mg/kg) parecen ser suficientes para mejorar varios tipos de desempeño, sin observarse mayores beneficios cuando la cafeína se consume en dosis más elevadas ( $\geq 9$  mg/kg) (Goldstein *et al.*, 2010; Tarnopolsky, 2010).

## REFERENCIAS

- Adams, R.H. (2003). *Farmacología y terapéutica veterinaria*. (2<sup>o</sup> ed): Acribía, S.A.
- Barbany, J.R. (2002). *Fisiología del ejercicio físico y del entrenamiento*. Barcelona: Paidotrobo. pp 193.
- Barton, M. H., Williamson, L., Jacks, S., y 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. *American Journal Veterinary Research*, 64(6), 746-753.
- Baynes, J. W., y Dominiczak, H. M. (2005). *Bioquímica médica*. (2<sup>a</sup> ed). España: Elsevier. pp 703.
- Bazzuchi, I., Felici, F. Montini, M., Figura, F., y Sacchetti, M. (2011). Caffeine improves neuromuscular function during maximal dynamic exercise. *Muscle & Nerve*, 43(6), 839-844.
- Becerril, H.M., Alonso, S.M., Flores, L.C., Guerrero, L.I., Olmos, H.A., Ramírez, N.R., y Mota, R.D. (2009). CO2 stunning may compromise swine welfare compared with electrical stunning. *Meat Science*, 81(1), 233-237.
- Birchard, S.J., y Sherding, R.G. (2006). *Manual clínico de procedimientos en pequeñas especies*. (2<sup>a</sup> ed). Madrid: McGraw Hill Interamericana. pp 1065.
- Boffi, F. (2007). *Fisiología del ejercicio en equinos deportistas*. Buenos Aires: Inter-Medica. pp 320.
- Brooks, G. A., y Gaesser, G. A. (1980). End points of lactate and glucose metabolism after exhausting exercise. *Journal of Applied Physiology*, 49 (6), 1057-1069.
- Clausen, T. (2010). Hormonal and pharmacological modification of plasma potassium homeostasis. *Fundamental y Clinical Pharmacology*, 24(5). 595-605.
- Cohen, D. N., Roussel, J. A., Lumsden, H. J., Cohen, A. C. Grift, E., y Lewis, C. (1993). Alterations of fluid and electrolyte balance in Thoroughbred Racehorses following strenuous exercise during training. *Canadian Journal Veterinary Research*, 57(1), 9-13.
- Collomp, H. Ahmaidi, S., Chatard, J.C., Audran, M., y Préfaut, CH. (1992). Benefits of caffeine ingestion on sprint performance in trained and untrained swimmers. *European Journal Applied Physiology*, 64(4), 377-380.

Coyne, C. P., Carlson, G. P., Spensley, M.S., y Smith, J. (1990). Preliminary investigation of alterations in blood viscosity, cellular composition, and electrophoresis plasma protein fraction profile after competitive racing activity in Thoroughbred horses. *American Journal Veterinary Research*, 51(12), 1956-1963.

Cox, G.R., Desbrow, B., Montgomery, P.G., Anderson, M.E., Bruce, C.R., Macrides, T.A., Martin, D.T., Moquin, A., Roberts, A. Hawley, J.A., y Burke ,L.M. (2002).Effect of different protocols of caffeine intake on metabolism and endurance performance. *Journal of Applied Physiology*, 93(3), 990–999.

Cunningham, J. G. (2005). *Fisiología Veterinaria*. (3 ed). España: Elsevier: 575.

Davis, J. K., y Green, J.M. (2009). Caffeine and anaerobic performance: ergogenic value and mechanisms of action. *Sports Medicine*, 39(10), 813-32.

Del Coso, J., Muñoz, G., y Muñoz-Guerra, J. (2011).Prevalence of caffeine use in elite athletes following its removal from the World Anti-Doping Agency list of banned substances. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, 36 (4), 555–561.

Del Coso, J., Salinero, J.J., González, M.C., Abián, V. J., and Pérez, G. B. (2012). Dose response effects of a caffeine-containing energy drink on muscle performance: a repeated measure design. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 9:21 doi: 10.1186/1550-2783-9-21

Egawa, T., Hamada, T., Ma, X., Karaike, K., Kameda, N., Masuda, S., Iwanaka, N., y Hayashi, T. (2011). Caffeine activates preferentially  $\alpha$ 1-isoform of 5'AMP-activated protein kinase in rat skeletal muscle. *Acta Physiologica*, 201(2), 227-38.

Favero ,T.G., Zable, A.C., Bowman, M.B, Thompson, A., y Abramson, J.J. (1995). Metabolic end products inhibit sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  release and [ $^3H$ ] ryanodine binding. *Journal of Applied Physiology*, 78(5), 1665-1672.

Favero, T.G., Zable, A.C., Colter, J.J., y Abramson, J.J. (1997). Lactate inhibits  $Ca^{2+}$  activated  $Ca^{2+}$  –channel activity from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *Journal of Applied Physiology*, 82(2), 447-52.

Federation Cynologique Internationale: Disponible en <http://www.fci.be/nomenclature.aspx> (Consultado el 27 de enero de 2013).

Federación Canófila Mexicana. Disponible en: [http://www.fcmac.org.mx/cgi-bin/systemium/tourist.pl?action=file\\_show&categoria=/DEPORTESCANINOS&elemento=ring.xml](http://www.fcmac.org.mx/cgi-bin/systemium/tourist.pl?action=file_show&categoria=/DEPORTESCANINOS&elemento=ring.xml). [Consultado el 27 de enero de 2013]

- Fenger, K.C., McKeever, H.K., Hinchcliff, W.K., y Kohn, W. C. (2000). Determinants of oxygen delivery and hemoglobin saturation during incremental exercise in horse. *American Journal Veterinary Research*, 61(10), 1325–1332.
- Ferraz, C.G., Teixeira, N.A.R., Mataqueiro, M.I., Lacerda, N. J.C., y Queiroz, N. A. (2008). Effects of intravenous administration of caffeine on physiologic variables in exercising horses. *American Journal of Veterinary Research*, 69 (12), 1670-1675.
- Forero, L. J. H., Lozano, M. P. A., y Camargo, R. O. B. (2006). Parámetros fisiológicos en caninos pre y post competencia de agility en Bogotá, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 12, 57-71.
- Franco, F. S., Costa, M. N., Ferreira, S.A. Carneiro-Junior M. A., y Natali A. J. (2011). The effects of a high dosage of creatine and caffeine supplementation on the lean body mass composition of rats submitted to vertical jumping training. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 8 (3),1-8.
- Fuentes, A.X., Castiñeiras, M.J.L., y Queralto, J.M.C. (1998). *Bioquímica clínica y patología molecular*. Vol II( 2 ed). España, Barcelona: Reverté.
- García, M., Guzmán, R., Cabezas, I., Merino, V., Palma, C., y Pérez, R. (1999). Evaluación del entrenamiento tradicional del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguíneas. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 31(2).
- Gennaro, R. A. (2003). *Remington: Farmacia*. (20<sup>a</sup> ed). Buenos Aires: Médica Panamericana. pp 1368.
- Goldstein, R.E., Ziegenfuss, T., Kalman, D., Kreider, R., Campbel, B., Wilborn C., Taylor, L. et al.(2010). International society of sport nutrition position stand: caffeine and performance. *Journal of the International Society of Sport Nutrition*, 7(5),1-15.
- González, A. J., Crandall, C. G., y Jonson, J. M. (2008). The cardiovascular challenge of exercising in the heat. *Journal of Physiology*, 586(1), 45–53.
- Graham, E.T, Helge, W.J., MacLean, A.D., Kiens, B., y Richter A.E. (2000). Caffeine ingestion does not alter carbohydrate or fat metabolism in human skeletal muscle during exercise. *Journal of Physiology*, 529(3), 837-847.
- Graham, T.E., y Spriet, L. L. (1991). Performance and metabolic responses to a high caffeine dose during prolonged exercise. *Journal of Applied Physiology*, 71 (6), 2292-2298.

- Grandjean, D., y Vaissaire, J.J.P. (2003). *Enciclopedia del perro*. Aniwa publishing, Royal Canin. 436-449.
- Guyton, A.C., y Hall, J.E. (2001). *Tratado de Fisiología Médica*. México: Mc Graw Hill-Interamericana. pp1167-1169.
- Heitz, U., y Horne, M. M. (2005). *Fluidos, electrolitos y equilibrio ácido – base*. (5ª ed). España: Elsevier. pp 392.
- Herpin, P., Le Dividich, J., Hulin, J.C., Fillaut, M., de Marco, F., y Bertin, R. (1996). Effects of the level of asphyxia during delivery on viability at birth and early postnatal vitality of newborn pigs. *Journal Animal Science*, 74, 2067-2075.
- Hill, C. R. (1998). The Nutritional Requirements of Exercising Dogs. *Journal of Nutrition*, 128(12), 2686S–2690S.
- Hughson, R. L., y Tschakovsky, M.E. (1999). Cardiovascular dynamics at the onset of exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 31(7), 1005-1010.
- Ikiw, J.E., Davis, P.E., y Church, D.B. (1989). Hematologic, biochemical, blood-gas, and acid-base values in greyhounds before and after exercise. *American Journal Veterinary Research*, 50 (4), 583-586.
- Krämer, E.M. (2011). *Razas de perros*. (2ª ed). España: Hispano Europea. pp 158.
- Lewis, M. S., Graber, O.B. P., Giddens, F. J., y Bucher, L. (2004). *Enfermería medicoquirúrgica: valoración y cuidados de problemas clínicos*. (6ª ed). España: Elsevier. pp 2078.
- López, Ch. J., y Fernández, V. A. (2006). *Fisiología del ejercicio*. (3ª ed). España: Médica panamericana. pp 989.
- López Ch, J., y López M, L. M. (2008). *Fisiología clínica del ejercicio*. Madrid: Médica panamericana. pp 507.
- Martins, S.A., Shkryl, M. V., Martha, C. Nowycky, C. M., y Shirokova, N. (2008). Reactive oxygen species contribute to Ca<sup>2+</sup> signals produced by osmotic stress in mouse skeletal muscle fibres. *Journal of Physiology*, 586(1), 197-210.
- Mathews, C.K., Van Holde, K.E., y Ahern, K.G. (2002). *Bioquímica*. (3ª ed). España: Addison Wesley. pp 484, 530-535, 618-619, 935.

Matwichuk, C.L., Taylor, S.M., y Shmon, C.L. (1999). Changes in rectal temperature and hematologic, biochemical, blood gas, and acid-base values in healthy Labrador retrievers before and after strenuous exercise. *American Journal Veterinary Research*, 60 (1), 88-92.

Meyer, J.D., y Hervey, W.J. (2007). *Medicina laboratorial veterinaria. Interpretación y diagnosis*. (3ª ed). España: Multimedica Ediciones Veterinaria. pp 452.

Mishchenko, S. V., y Monogarov, V. D. (1998). *Fisiología del deportista: (bases científicas de la preparación, fatiga y recuperación de los sistemas funcionales del organismo de los deportistas de alto nivel)*. (2ª ed). España: Paidotribo. pp 328.

Mohr, M., Nielsen, J.J., y Bangsbo, J. (2011). Caffeine intake improves intense intermittent exercise performance and reduces muscle interstitial potassium accumulation. *Journal of Applied Physiology*, 111 (5), 1372-1379.

Moreno, L. S. M. (2008). Importancia de las valoraciones bioquímicas como medio de control del entrenamiento en deportistas de alto rendimiento. *Compumedicina.com*® Año IX - Núm. 149. Disponible en: [http://www.compumedicina.com/verpdf.php?art=../medicinadep/md\\_011208.pdf](http://www.compumedicina.com/verpdf.php?art=../medicinadep/md_011208.pdf) [Consultado el 05 de agosto de 2012]

Mota, R. D., Becerril, H. M., Flores, L. C., Sánchez, A. P., González, L. M., Olmos, H. A., Ramírez, N. R., y Alonso, S. M. (2006). Effects of mid-summer transport duration on pre- and post-slaughter performance and pork quality in México. *Meat Science*.73: 404-412.

Muñoz, M. E. J., y García, X. (1998). *Fisiología VI. Células, órganos y sistemas*. México: *Fondo de Cultura Económica*. pp 241.

Núñez, O. L., y Bouda J. (2007). *Patología clínica veterinaria*. México: FMVZ-UNAM. pp 349.

Olmos, Z.R. (2010). Sistema circulatorio, hemodinamia, circulaciones especiales y respuesta del ejercicio del sistema cardiovascular al ejercicio y la hemorragia. En: Caballero, Ch. S.C. (ed), *Fisiología veterinaria e introducción a la fisiología de los procesos productivos*. México: FMVZ-UNAM. pp 347-374.

Orozco, G.H., Mota, R.D., Bonilla, J.H., Trujillo, O. M.E., Becerril, H. M., Hernández G.R., y Villanueva G. D. (2010). Effects of administration of caffeine on metabolic variables in neonatal pigs with peripartum asphyxia. *American Journal Veterinary Research*, 71 (10), 1214-9.

Pollet, R. (2007). *Pastor Belga*. España: Hispano Europea. pp 160.

Pieschl, R.L., Toll, P.W., Leith, D.E., Peterson, L.J., y Fedde, M.R. (1992). Acid-base changes in the running greyhound: contributing variables. *Journal of Applied Physiology*, 73(6),2297-2304.

Ramnanan, C.J., Edgerton, D.S., Kraft, G., y Cherrington A.D. (2011). Physiologic action of glucagon on liver glucose metabolism. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 13(1), 118-125.

Ready, A.E., y Morgan, G. (1984). The physiological response of Siberian Husky dogs to exercise: Effect of interval training. *Canadian Veterinary Journal*, 25(2),86-91.

Reglamento de Ring francés. (1997). Disponible en: <http://www.voraus.com/v2/modules/wfsection/html/RingFrancesMexico.pdf> [Consultado el 27 de enero de 2013]

Robergs, R.A., Hutchinson, H., Hendee, S.P., Madden, S., y Siegler, J. (2005). Influence of Pre-Exercise Acidosis and Alkalosis on the Kinetics of Acid-Base Recovery Following Intense Exercise. *International Journal Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 15(1), 59-74.

Rose, R.J., Ilkiw, J.E., Arnold, K.S., Backhouse J.W., y Sampson, D. (1980). Plasma biochemistry in the horse during 3-day event competition. *Equine Veterinary Journal*, 12(3), 132-136.

Rovira, S., Muñoz, A., y Benito, M. (2007a). Fluid and electrolyte shifts during and after Agility competitions in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69(1), 31-35.

Rovira, S., Muñoz, A., y Benito, M. (2007b). Hematologic and biochemical changes during canine agility competitions. *Veterinary Clinical Pathology*, 36(1),30-5.

Satoh, H., y Vassalle, M. (1996). Ca(++)-dependence of caffeine modulation of the rate-force relation in canine cardiac Purkinje fibers. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 278(2), 826-835.

Schott II, H.C., McGlade, K.S., Molander, H.A., Leroux, A.J., y Hines, M.T.(1997). Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses competing in 50- and 100-mile endurance rides. *American Journal Veterinary Research*, 58(3), 303-309.

Sommardahl, C.S., Andrews, F.M., Saxton, A.M., Geiser, D.R., y Maykuth, P.L. (1994). Alterations in blood viscosity in horses competing in cross country jumping. *American Journal Veterinary Research*, 55(3), 389-394.

Specterman, M., Bhuiya, A., Kuppuswamy, A. Strutton, P.H., Catley, M., y Davey, N.J.(2005). The effect of an energy drink containing glucose and caffeine on human corticospinal excitability. *Physiology and Behavior*, 83(5):723-8

Stebbins, C.L., Daniels, J.W., y Lewis, W. (2001). Effects of caffeine and high ambient temperature on haemodynamic and body temperature responses to dynamic exercise. *Clinical Physiology*, 21(5), 528-33.

Stephenson, D. G.(2008). Caffeine – a valuable tool in excitation–contraction coupling research. *Journal of Physiology*, 586 (3), 695–696.

Steiss, J., Ahmad, H.A., Cooper, P., y Ledford, C. (2004). Physiologic responses in healthy Labrador Retrievers during field trial training and competition. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(2), 147-151.

Taragano de Azar, R. (2000). *Pastor Belga*. Argentina: Albatros. pp193.

Tarnopolsky, M. A. (1994). Caffeine and endurance performance. *Sport Medicine*, 18 (2), 109-25.

Tarnopolsky, M.A. (2008). Effect of caffeine on the neuromuscular system-potential as an ergogenic aid. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, 33(6),1284-9.

Tarnopolsky M.A. (2010). Caffeine and Creatine Use in Sport. *Annals of Nutrition Metabolism*, 57(2), 1-8.

Taylor, L. E., Ferrante, P. L., Kronfeld, D. S., y Meacham, T. N. (1995). Acid-base variables during incremental exercise in sprint-trained horses fed a high-fat diet. *Journal Animal Science*, 73(7), 2009-2018.

Taylor, S., Shmon, C. L., Shelton, G.D., y Minor, K. (2008). Exercise-Induced Collapse of Labrador Retrievers: Survey Results and Preliminary Investigation of Heritability. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 44(6), 295-301.

Tejeda, C.F.(2008). Alteraciones del equilibrio del Potasio: Hipopotasemia. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 2(3), 129-133.

Toll, P.W., Gaehtgens, P., Neuhaus, D., Pieschl, R.L., y Fedde, M.R. (1995). Fluid, electrolyte, and packed cell volume shifts in racing Greyhounds. *American Journal Veterinary Research*, 56 (2): 227-232.

Tortora, J. G. y Reynolds, G. S. (2000). *Principios de anatomía y fisiología*. (9 ed). México: Oxford, University Press. pp 1175.

Trujillo, O. M. E., Mota, R. D., Olmos, H. A., Alonso, S. M., González, L. M., Orozco, G. H., Ramírez, N. R., and Ocampo, N. A. A. (2007). A study of piglets born by spontaneous parturition under uncontrolled conditions: Could this be a naturalistic model for the study of intrapartum asphyxia?. *Acta Biomedica*, 78(1), 29-35.

Undem, B.J., y Lichtenstein, L.M. (2003). *Fármacos utilizados para el tratamiento del asma*. En: Hardman J.G., Limbird L.E., Gilman A.G. (Eds). Goodman y Gilman. *Las Bases Farmacológicas de la terapéutica*. México: Mc Graw-Hill Interamericana. pp 754.

Van Citters, L. R., y Franklin L. D. (1969). Cardiovascular performance of Alaska sled dogs during exercise. *Circulation Research*, 24, 33-42.

Van Soeren, M.H., y Graham, T.E. (1998). Effect of caffeine on metabolism, exercise endurance, and catecholamine responses after withdrawal. *Journal of Applied Physiology*, 85, 1493-1501.

Villat, V., (2001). *Fisiología y metodología del entrenamiento: De la teoría a la práctica*. (1ª ed). Barcelona: Paidotribo. pp 194.

Viru, A., y Viru, M. (2003). *Análisis y control del rendimiento deportivo*. Barcelona: Paidotribo. pp 286.

Wasserman, K. (1994). Coupling of external to cellular respiration during exercise: the wisdom of the body revisited. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*. 266(4), E519 - E539.

Wasserman, D.H., Spalding, J.A. Lacy, D.B. et al. (1989). Glucagon is a primary controller of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis during muscular work. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 257(1), E108- E117.

Warren, L. K., Lawrence, L. M., y Thompson, K. N. (1999). The influence of betaine on untrained and trained horses exercising to fatigue. *Journal Animal Science*, 77(3), 677-684.

Wilmore, H.J., y Costill, D.L. (2004). *Physiology of sport and exercise*. (5ª ed). Barcelona: Paidotribo. pp 715.

Williams, H. (2002). *Nutrición para la salud, la condición física y el deporte*. (5ª ed). Barcelona: Paidotribo. pp 511.

World Antidoping Web Site [Internet]. Consultado el 17 Noviembre 2012. [<http://www.wadaama.org/>].

Zaldívar, L.S., Marín, L.M., Iazbik, M.C., Westendorf, S.N., Hensley, S., y Couto, C.G. (2011). Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(4), 414-425.