

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CLARISSA HOLANDA RAMIRES

**PARÂMETROS SANGUÍNEOS EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE
TRANSIÇÃO E SEU IMPACTO NO DESEMPENHO PRODUTIVO**

CURITIBA

2013

CLARISSA HOLANDA RAMIRES

**PARÂMETROS SANGUÍNEOS EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE
TRANSIÇÃO E SEU IMPACTO NO DESEMPENHO PRODUTIVO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa Nutrição Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida
Co-orientador: Prof. PhD. Geraldo Tadeu dos Santos.

CURITIBA

2013

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“PARÂMETROS SANGUÍNEOS EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO E SEU IMPACTO NO DESEMPENHO PRODUTIVO”** apresentada pela Mestranda **CLARISSA HOLANDA RAMIRES** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APTA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 19 de dezembro de 2013

Professor Dr. Rodrigo de Almeida
Presidente/Orientador

Professora Dra. Rosângela Locatelli Dittrich
Membro

Professor Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Membro

Ao Rafael e Clara razões da minha vida.

Por todo o amor e pelos ensinamentos.

AGRADECIMENTOS

Para cada etapa da nossa vida, pessoas são importantes para que possamos alcançar o que almejamos por um longo tempo. E para que essa conquista seja alcançada, por diversas vezes temos que deixar de lado pessoas que tanto amamos, mas que independente de tudo sempre estarão ao nosso lado nos apoiando e não deixando a peteca cair.

Muitas são as pessoas a quem quero agradecer por mais esse objetivo alcançado, mas em primeiro lugar agradeço a minha família. Família essa que sempre unida alcançou os objetivos em comum, mesmo enfrentando tantos obstáculos e surpresas da vida. Ao meu pai, Ramires (in memoriam), minha mãe Rita Célia e aos meus irmãos Patrícia e Manoel, meus mais sinceros agradecimentos. Sem o apoio de vocês eu não estaria aqui concluindo mais essa etapa.

Agora também tenho a minha família. Meu esposo, Rafael, tão dedicado e atencioso que sem o apoio dele não teria chegado até aqui. São anos de companheirismo, respeito e dedicação. Esse amor tão bonito resultou no nosso bem mais precioso, um presente lindo, a nossa filha Clara. Não tenho palavras para agradecer todo o seu empenho em cuidar da nossa pequena nas semanas que fiquei fora coletando os dados desse projeto. Saber que podia contar com você amenizava a saudade que sentia. E ter a certeza de que você é um super pai e um super marido. Amo vocês eternamente!

Agradeço de maneira especial o meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo de Almeida, que há sete anos se dedica na minha orientação. Já passamos pela orientação na graduação, pós-graduação e agora no mestrado. O sonho de um dia ser professora está cada vez mais perto, e tenha a certeza que você é um mestre a quem eu me espelho. Se chegar um dia a ser como o senhor, tenho a certeza que serei uma boa docente e que estarei fazendo o meu trabalho com amor, respeito e dedicação. Meu sincero agradecimento por todo apoio, confiança e ensinamentos ao longo desses anos de convivência.

Ao Prof. PhD. Geraldo Tadeu dos Santos, meu co-orientador nesse projeto, meus sinceros agradecimentos por toda a ajuda, em especial pela compra do material para a análise laboratorial. Sem isso, esse trabalho não chegaria ao final.

Ao Prof. Félix González da UFRGS, obrigada pela ajuda na compreensão dos resultados desse estudo.

À equipe do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, Profa. Rosangela L. Dittrich, coordenadora do laboratório que gentilmente cedeu o uso do equipamento

para as análises e orientou com os resultados e ao Olair e Tieme pelas incontáveis conversas e momentos de descontração nas intermináveis tardes de análise, o meu muito obrigado.

A todos do Laboratório de Nutrição Animal pelo auxílio nas análises bromatológicas.

Meus sinceros agradecimentos as Cooperativas Capal, Batavo e Castrolanda e a todos os produtores participantes deste projeto. Sem a ajuda primorosa de todos os técnicos, veterinários, zootecnistas e nutricionistas, esse projeto não teria saído. Um agradecimento especial ao Rodrigo Navarro que por diversas vezes me acompanhou nas coletas a campo e sempre estava disposto a ajudar.

Não posso deixar de sempre agradecer aos animais, nesse caso as vacas leiteiras, que de alguma forma contribuíram para a realização desse projeto pessoal.

A Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa – APCBRH, pela cessão dos dados dos animais para a confecção dos resultados. Obrigada José Augusto Horst pelo empenho e a Dayane por sempre atender as minhas solicitações tão prontamente.

Algumas vezes imaginamos que não iremos mais encontrar algumas pessoas que passaram pela nossa vida, e de repente, por obra do destino trabalhamos novamente juntos. Rafael Marcelo Silva, sem palavras para agradecer todo o apoio dado, pela ajuda a campo e por ter sido “meu estagiário” nesses meses de coleta.

A Kemin do Brasil, meu muito obrigado pelo apoio financeiro nesse projeto. Sem a ajuda de vocês, o caminho para a concretização desse trabalho seria muito mais difícil. Espero sinceramente que os resultados desse estudo ajudem vocês.

E por fim, agradeço a Universidade Federal do Paraná, minha segunda casa, que mais uma vez me deu toda a estrutura necessária para minha formação e para onde pretendo voltar e compartilhar todo o meu conhecimento.

RESUMO

A intensificação da bovinocultura leiteira tem levado muitos animais a desenvolverem desordens metabólicas que acarretam reduções na produtividade e na eficiência reprodutiva de vacas leiteiras. Grande parte dessas doenças ocorre no período entre o final da gestação e início da lactação, intervalo conhecido como período de transição. Nesse período ocorre intensa mobilização de tecido adiposo devido ao menor consumo de matéria seca e conseqüentemente, vacas recém-paridas entram em algum grau de balanço energético negativo (BEN). Esse desbalanço temporário entre consumo e exigência altera a concentração de diversos metabólitos sanguíneos que são associados com produção de leite e função hepática. Assim, conhecer o comportamento de metabólitos sanguíneos que refletem o status nutricional dos animais é uma ferramenta importante para adequar o manejo e evitar as perdas causadas pelas enfermidades. No primeiro capítulo realizou-se a revisão bibliográfica sobre o período de transição. Esta revisão discorreu sobre as típicas desordens metabólicas que acometem o período periparturiente e os metabólitos sanguíneos indicadores do status energético e sua influência sobre a produção leiteira, a reprodução e enfermidades, além de comentar sobre os metabólitos indicadores da função hepática nessa categoria animal. O segundo capítulo teve como objetivo avaliar o efeito das concentrações dos metabólitos sanguíneos sobre a produção de leite em vacas recém-paridas em rebanhos paranaenses. Também correlacionaram dois testes de avaliação da concentração de cetonas no sangue e verificou em um grupo de animais no pós-parto as condições do metabolismo hepático para o desenvolvimento de fígado gorduroso. Concentrações altas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no grupo pré-parto e em multíparas no pós-parto reduzem a produção de leite e concentrações altas de beta-hidroxibutirato (BHBA) em multíparas e colesterol total nas duas categorias animais aumentam a produção leiteira. Os resultados sugerem ainda que os animais amostrados no pós-parto não apresentaram lesão hepática. Os dois testes de medição de corpos cetônicos foram altamente correlacionados entre si, indicando que a metodologia através de tiras-teste é uma importante ferramenta a campo, auxiliando técnicos a monitorar a incidência de cetose subclínica ou clínica.

Palavras-chave: ácidos graxos não esterificados, beta-hidroxibutirato, AST, GGT, colesterol.

ABSTRACT

The intensification of dairy cattle has led many animals to develop metabolic disorders that cause reductions in productivity and reproductive efficiency of dairy cows. Most of these diseases are triggered in the period between late pregnancy and early lactation, interval known as the transition period. During this period, intensive mobilization of adipose tissue occurs due to lower consumption of dry matter intake and consequently, fresh cows come into some degree of negative energy balance (NEB). This temporary imbalance between consumption and requirement changes the concentration of various blood metabolites that are correlated with milk yield and liver function. Thus, determining the behavior of blood metabolites that reflect the nutritional status of the animals is an important tool to adapt the entire management and avoid losses caused by diseases. In the first chapter held a bibliographic review of the transition period. This review also talked about the metabolic disorders that affect the periparturiente period and blood metabolites indicators of energy status and its influence on milk production, reproduction and disease. This first chapter also talked about the metabolites indicators of liver function of animals. The second chapter was to evaluate the effect of concentrations of blood metabolites on milk production in fresh cows in herds Paraná. Also correlated two tests the concentration of ketones in the blood and found in a group of animals postpartum conditions of hepatic metabolism to the development of fatty liver. High concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA) in the group prepartum and multiparous postpartum reduce milk production and high concentrations of beta- hydroxybutyrate (BHBA) in multiparous and cholesterol total in both categories animals increase milk production. The results also suggested that animals sampled postpartum showed no liver damage. The two tests of measurement of ketone bodies were highly correlated, indicating that the methodology to test strip is an important tool in the field, assisting technicians to monitor the incidence of subclinical or clinical ketosis.

Key-words: nonesterified fatty acids, beta-hydroxybutyrate, AST, GGT, cholesterol.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

TABELA 1 – Valores de referência dos parâmetros sanguíneos em ruminantes.....	07
TABELA 2 – Valores de referência de ácidos graxos não esterificados para vacas leiteiras no período de transição	12
TABELA 3 – Valores de referência de β -hidroxibutirato para vacas leiteiras no período de transição	14

CAPÍTULO II – PARÂMETROS SANGUÍNEOS EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO E SEU IMPACTO NO DESEMPENHO PRODUTIVO

TABELA 1 – Média e desvio-padrão das análises bromatológicas das amostras de dieta total (TMR)	52
TABELA 2 – Análise descritiva das variáveis estudadas do grupo pré-parto em 30 rebanhos leiteiros.....	53
TABELA 3 – Coeficientes da correlação de Pearson para os parâmetros bioquímicos no grupo pré-parto	56
TABELA 4 – Coeficientes de correlações de Pearson entre os metabólitos sanguíneos e as variáveis analisadas no grupo pré-parto.....	56
TABELA 5 – Efeitos Mistos para o efeito AGNE, BHBA, covariáveis, e rebanho como efeito aleatório na produção de leite mensurada aos 100 dias pela projeção corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305, kg) para todos os animais amostrados no período pré-parto (n =197)	57

TABELA 6 – Análise descritiva das variáveis estudadas do grupo pós-parto em 30 rebanhos leiteiros.....	59
TABELA 7 – Coeficientes da correlação de Pearson para os parâmetros bioquímicos no grupo pós-parto.....	63
TABELA 8 – Coeficientes de correlações de Pearson entre os parâmetros sanguíneos e as covariáveis analisadas para o grupo pós-parto	65
TABELA 9 – Efeitos Mistos para o efeito AGNE, BHBA, covariáveis, e rebanho como efeito aleatório na produção de leite mensurada aos 100 dias pela projeção corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305, kg) para todos os animais amostrados no período pós-parto (n =285)	67
TABELA 10 – Efeitos Mistos para o efeito AGNE, BHBA, Colesterol, covariável, e rebanho como efeito aleatório na produção de leite mensurada aos 100 dias pela projeção corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305, kg) para primíparas amostradas no pós-parto (n = 105)	71
TABELA 11 – Efeitos Mistos para o efeito AGNE, BHBA, Colesterol, covariável, e rebanho como efeito aleatório na produção de leite mensurada aos 100 dias pela projeção corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305, kg) para múltíparas amostradas no pós-parto (n = 180)	72
TABELA 12 – Valores médios e desvios-padrão dos parâmetros sanguíneos avaliados no grupo pós-parto (n=66).....	76
TABELA 13 – Valores médios dos parâmetros sanguíneos do grupo pós-parto (primíparas e múltíparas) de acordo com a classificação para colesterol total (n=66)	77

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

FIGURA 1 – Perfil metabólico na cetose em bovinos22

FIGURA 2 – Perfil metabólico na lipidose hepática em bovinos24

CAPÍTULO II – PARÂMETROS SANGUÍNEOS EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO E SEU IMPACTO NO DESEMPENHO PRODUTIVO

FIGURA 1 – Concentrações séricas de AGNE (mmol/L*100), BHBA (mmol/L*100), AST (U/L) e Colesterol (mg/dL) em primíparas e múltíparas do grupo pré-parto amostradas nos 30 rebanhos leiteiros no ano de 201355

FIGURA 2 – Valores médios de produções de leite (kg), no grupo pré-parto de acordo com a concentração de AGNE (mmol/L)58

FIGURA 3 – Concentrações séricas de AGNE (mmol/L*100), BHBA (mmol/L*100), AST (U/L) e Colesterol (mg/dL) em primíparas e múltíparas do grupo pós-parto amostradas nos 30 rebanhos leiteiros no ano de 201361

FIGURA 4 – Frequência absoluta da concentração de BHBA (mmol/L) por tiras-teste em animais no pós-parto (n=285)63

FIGURA 5 – Produção de leite média (kg) do grupo pós-parto de acordo com a concentração de BHBA no soro e nas tiras-teste68

FIGURA 6 – Produção de leite média (kg) do grupo pós-parto de acordo com os níveis de colesterol69

FIGURA 7 – Produção de leite média (kg) de primíparas no grupo pós-parto de acordo com os níveis de colesterol71

FIGURA 8 – Produção de leite média (kg) de multíparas no grupo pós-parto de acordo com a concentração de AGNE	72
FIGURA 9 – Produção de leite média (kg) de multíparas no grupo pós-parto de acordo com a concentração de BHBA	73
FIGURA 10 – Produção de leite média (kg) de multíparas no grupo pós-parto de acordo com os níveis de colesterol	74
FIGURA 11– Valores médios das concentrações dos parâmetros de acordo com a classificação por colesterol total em 66 amostras no grupo pós-parto.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

AGNE	Ácidos Graxos Não Esterificados
AST	Aspartato Aminotransferase
BHBA	Beta-Hidroxibutirato
ECC	Escore de Condição Corporal
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
GGT	Gama Glutamiltransferase
PLID 305	Produção de Leite Corrigida a Idade Adulta e aos 305 dias
MS	Matéria seca
PB	Proteína Bruta

SUMÁRIO

RESUMO	01
ABSTRACT	01
CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS	01
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1 PERÍODO DE TRANSIÇÃO EM VACAS LEITEIRAS	03
2.2 BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO (BEN) E ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL (ECC)	04
2.3 PARÂMETROS SANGUÍNEOS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS	06
2.3.1 Glicose	07
2.3.2 Colesterol	08
2.3.2.1 Lipoproteínas	10
2.3.3 Ácidos graxos não esterificados (AGNE)	11
2.3.4 Beta-hidroxiacetato (BHBA)	13
2.3.5 Cetogênese	15
2.3.6 Aspartato aminotransferase (AST)	16
2.3.7 Gama-glutamiltransferase (GGT)	18
2.3.8 Albumina	19
2.4 DOENÇAS METABÓLICAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO	20
2.4.1 Cetose	20
2.4.2 Lipidose hepática	22
2.5 UTILIZAÇÃO DA RAZÃO GORDURA/PROTEÍNA NA IDENTIFICAÇÃO DE CETOSE	25
2.6 UTILIZAÇÃO DO ÍNDICE AGNE:COLESTEROL NA IDENTIFICAÇÃO DE DOENÇAS	26
2.7 IMPACTO DOS METABÓLITOS SANGUÍNEOS AGNE E BHBA NA PRODUÇÃO LEITEIRA, REPRODUÇÃO E ENFERMIDADES	27
2.7.1 Produção Leiteira	27
2.7.2 Reprodução de vacas leiteiras	29
2.7.3 Enfermidades em vacas leiteiras	30

REFERÊNCIAS	32
CAPÍTULO II – PARÂMETROS SANGUÍNEOS EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO E SEU IMPACTO NO DESEMPENHO PRODUTIVO .	
.....	41
RESUMO	41
ABSTRACT	42
1. INTRODUÇÃO.....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1 ESTUDO DA POPULAÇÃO	45
2.2 COLETA E ANÁLISE DE ALIMENTOS	46
2.3 ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL (ECC) E PESO CORPORAL	46
2.4 COLETA DE SANGUE E ANÁLISE BIOQUÍMICA DOS PARÂMETROS SAGUÍNEOS.....	47
2.5 PRODUÇÃO DE LEITE.....	49
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	50
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
3.1 COMPOSIÇÃO DA DIETA	51
3.2 PRODUÇÃO DE LEITE NO GRUPO PRÉ-PARTO (GRUPO 1).....	53
3.3 PRODUÇÃO DE LEITE NO GRUPO PÓS-PARTO (GRUPO 2)	58
3.4 ANÁLISE DA FUNÇÃO HEPÁTICA DE UM GRUPO NO PÓS-PARTO	74
4. CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO GERAL

Segundo a *Food and Agriculture Organization* (FAO, 2013), a produção mundial de leite de vaca em 2012 atingiu quase 600 milhões de toneladas, das quais 32,3 bilhões de toneladas foram produzidas no Brasil, quinto colocado no ranking mundial, o que representa 5,3% da produção mundial. Em 2012, a produção leiteira do Paraná ocupou o terceiro lugar da produção nacional, com 3,97 bilhões de litros anuais ou 12,3% da produção nacional (IBGE, 2012), atrás de Minas Gerais com 8,4 bilhões de litros e Rio Grande do Sul com 4,10 bilhões de litros anuais.

A pecuária paranaense ocupa um importante papel no cenário da pecuária leiteira nacional. A região dos Campos Gerais, região que abrange 18 municípios, é uma das principais bacias leiteiras do país, representada principalmente pelos municípios de Castro, Carambeí e Arapoti. A cidade de Castro foi o primeiro município em volume de leite produzido em 2012 no Brasil, com 227 mil litros de leite captados (IBGE, 2012).

Nesse contexto, o desenvolvimento da pecuária leiteira nos últimos anos tem levado à intensificação nos sistemas de produção com o objetivo de obter maior rentabilidade com o mínimo custo (WITTEWER, 2000). Entretanto, este aumento da produção de leite está associado a uma maior incidência de problemas clínicos nos animais, os quais podem diminuir a produtividade e a eficiência reprodutiva no início da lactação (HAYIRLI et al., 2002).

O período entre o final da gestação e o início da lactação, intervalo conhecido como período de transição, é o estágio do ciclo produtivo em que ocorrem diversas modificações fisiológicas e metabólicas nas vacas leiteiras que promovem a diminuição da ingestão de alimentos, fazendo com que o animal não consiga adquirir pela dieta os nutrientes necessários para a manutenção e produção leiteira, tendo que, desta forma, mobilizar estes nutrientes deficitários de suas reservas teciduais (GRUMMER, 1995; DRACKLEY, 1999).

A intensidade da mobilização tecidual pode ser avaliada por exames sanguíneos, denominado de perfil metabólico, que permite quantificar a

concentração de vários parâmetros provenientes da mobilização e realizar o monitoramento da adequação das vacas às exigências crescentes de energia, proteína e minerais. Além disso, o perfil metabólico permite o diagnóstico de transtornos metabólicos, de deficiências nutricionais como preventivo de enfermidades subclínicas, além da pesquisa de problemas de saúde e do desempenho produtivo de um rebanho (LEBLANC, 2006a; DUFFIELD e LEBLANC, 2009).

A aplicação do perfil metabólico sanguíneo, em associação com as características do rebanho, localização geográfica e estado fisiológico dos animais, oferece uma importante ferramenta para o diagnóstico e prevenção de distúrbios metabólicos, muitas vezes presentes na forma subclínica que afetam a saúde, a fertilidade e a capacidade reprodutiva dos rebanhos (GONZÁLEZ, 2000).

Objetivou-se nesse trabalho quantificar as concentrações séricas de quatro parâmetros sanguíneos (ácidos graxos não esterificados, beta-hidroxibutirato, aspartato aminotransferase e colesterol) nos períodos pré e pós-parto e correlacionar estes analitos com a produção de leite de vacas de alta produção, avaliar a correlação entre os níveis séricos de BHBA por duas metodologias (colorimétrico enzimático e tiras-teste a campo) e avaliar as concentrações séricas de gama-glutamilttransferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), colesterol e albumina para avaliar as condições hepáticas de um grupo de animais no pós-parto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PERÍODO DE TRANSIÇÃO EM VACAS LEITEIRAS

O período seco das vacas compreende os últimos dois meses de gestação, sendo uma fase importante para o sucesso da futura lactação e também por ser um período de menores exigências nutricionais. O período de transição é considerado uma fase de maior desafio na vida de uma vaca leiteira, sendo descrita por Drackley (1999) como a “última fronteira” do conhecimento da bovinocultura leiteira, e o sucesso nesse período determina a rentabilidade da vaca durante a lactação.

O período de transição é definido como o intervalo compreendido entre as três últimas semanas antes do parto e as três primeiras semanas seguintes ao parto (GRUMMER, 1995). Nesse período aproximado de seis semanas ocorrem diversas mudanças hormonais e metabólicas, que influenciam no metabolismo energético, proteico e mineral das vacas e na utilização de nutrientes (BELL, 1995; GRUMMER, 1995).

Dentre as diversas alterações que ocorrem nessa fase, um fato marcante é a redução do consumo de matéria - seca (CMS). Segundo Drackley (1999) essa redução na ingestão inicia-se por volta das três últimas semanas antes do parto. Contudo, é nesse momento em que há uma maior necessidade de suporte nutricional para o crescimento fetal e para o início da síntese do colostro. Essa alta demanda metabólica, decorrente da lactação, somada a baixa capacidade de consumo, resulta em um balanço energético negativo e perda de condição corporal.

Todos esses fatores de estresse parecem favorecer a incidência de desordens metabólicas que estão associadas a esse período. Dentre as diversas doenças que ocorrem no pós-parto, pode-se citar a hipocalcemia, cetose, fígado gorduroso, retenção de placenta, metrite e deslocamento de abomaso (GRUMMER, 1995, GOFF e HORST, 1997; DRACKLEY, 1999; CHUNG et al., 2008; OSPINA et al., 2010a, CHAPINAL et al., 2011, McART et al., 2012).

A chave da biologia do período de transição em vacas está relacionada ao metabolismo lipídico e, além disso, ao balanço energético negativo e extensa perda

de condição corporal durante o período periparturiente que também podem interferir no sucesso reprodutivo subsequente (DRACKLEY, 1999).

2.2 BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO (BEN) E ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL (ECC)

O balanço energético negativo (BEN) é caracterizado pelo desbalanço temporário entre a alta demanda energética para o parto associado à menor capacidade de ingestão de alimentos pouco antes do parto, fazendo com que esses animais mobilizem as próprias reservas corporais. Essa mobilização de reservas, em especial de tecido adiposo, tem interferência negativa nas funções produtiva e reprodutiva de vacas leiteiras (BUTLER, 2005; ROCHE et al., 2009).

Assim, muitas vacas no período de transição entram em BEN por três razões principais: aumento da demanda energética para o parto, decréscimo do CMS pouco antes do parto e atraso no aumento do CMS comparado com o aumento da demanda energética devido à produção leiteira (GERLOFF, 2000; HAYIRLI et al., 2002).

As principais consequências do BEN estão associadas com o desencadeamento do complexo cetose-esteatose hepática (SIMÕES et al., 2006), com o atraso da primeira ovulação pós-parto (BEAM e BUTLER, 1997) e diminuição da eficiência reprodutiva. Além disso, a intensidade do balanço energético negativo promove efeitos prejudiciais na saúde e produção de vacas leiteiras devido a suspeita relação entre deficiência de energia e imunossupressão (KEHRLI et al., 1989; HAMMON et al., 2006; SCALIA et al., 2006).

De acordo com Rastani et al. (2005) o tempo médio de duração do BEN, tanto para primíparas quanto para múltiparas é de cinco semanas, mas a duração deste período é evidentemente afetada por inúmeros fatores, particularmente o volume de leite produzido. A rápida adaptação da vaca a esse desbalanço durante o início da lactação proporciona saúde e produtividade, enquanto que uma baixa adaptação pode ter como consequência múltiplos problemas, incluindo os clínicos e a diminuição da produção leiteira (DUFFIELD et al., 2009).

Um correto manejo no período seco e no período de transição visam minimizar os efeitos do BEN. Diversas são as técnicas para diminuir essa

mobilização, dentre elas uma ferramenta importante é monitorar o grau de mobilização de reservas corporais através da avaliação de Escore de Condição Corporal (ECC).

A avaliação do ECC permite avaliar, de forma quantitativa, o grau de deposição ou perda de gordura corporal ou reservas de energia (WITTWER, 2000), sendo um método rápido, prático e sem custos. Seu objetivo é avaliar as reservas de tecido adiposo dos animais, utilizando escalas que variam de 1 (um) a 5 (cinco) pontos, onde o escore 1 representa a vaca excessivamente magra e o escore 5 representa a vaca demasiadamente obesa (WILDMAN et al., 1982; EDMONSON et al., 1989).

Vários estudos tentam mostrar a relação entre a condição corporal com saúde e reprodução de vacas leiteiras (HUZZEY et al., 2007; OSPINA et al., 2010b). Huzzey et al. (2007) mostraram que vacas que parem gordas, ou, além disso, vacas que perdem 1 ponto ou mais de ECC no início da lactação têm riscos mais alto de enfrentar situações adversas, como maior período de serviço e de intervalo entre partos (WILTBANK et al., 2006).

Vacas que chegam ao final da gestação com condição corporal acima de 3,5 (na escala de 1 a 5) estão mais propensas a desenvolver a esteatose hepática e cetose. Animais obesos antes do parto têm menor consumo de matéria - seca do que aqueles em condição corporal adequada. Isto é, em parte, devido ao grau de adiposidade corpórea afetar as concentrações de leptina. Portanto, vacas com maiores quantidades de tecido adiposo podem ter concentrações mais altas de leptina no final da gestação o que, indiretamente, inibe o apetite (SANTOS, 2006). Este último autor ainda menciona que além das vacas mais gordas consumirem menos alimentos antes do parto, elas também apresentam maior depressão de consumo nas duas últimas semanas de gestação.

O excesso de mobilização corporal que ocorre para amenizar o BEN tem como consequência a produção aumentada de diversos metabólitos na corrente sanguínea, dentre os quais se destacam os ácidos graxos não esterificados (AGNE) e o β -hidroxibutirato (BHBA). Estes em elevada concentração indicam excesso de mobilização corporal e BEN pronunciado (GRUMMER, 1995; GOFF e HORST, 1996; DRACKLEY, 1999; CHUNG et al., 2008; OSPINA et al., 2010a).

A interpretação dos valores plasmáticos de BHBA e AGNE quando realizados em conjunto com a avaliação do ECC, permite uma maior acurácia na interpretação do balanço energético do animal (OSPINA et al., 2010a).

2.3 PARÂMETROS SANGUÍNEOS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Uma metodologia eficaz para determinar o grau de BEN em ruminantes é a avaliação do perfil metabólico. Esse método foi empregado por Payne (1970), para referir-se ao estudo de componentes hemato-bioquímicos específicos, cujo objetivo é avaliar, diagnosticar e prevenir transtornos metabólicos, servindo como um indicador do estado nutricional do rebanho ou animal.

Segundo González (2000), o uso do perfil metabólico em ruminantes além de monitorar a adaptação metabólica e diagnosticar desequilíbrios de homeostase de nutrientes pode também revelar as causas que estão por trás de uma manifestação de doença nutricional ou metabólica. Contudo, o uso do perfil metabólico como uma ferramenta rotineira, passa por dificuldades, uma vez que faltam valores de referência adequados para a pecuária brasileira, além de a concentração de certos metabólitos serem sensíveis a algumas variações como estado fisiológico do animal, clima, época do ano, jejum e estresse, além do alto custo da técnica para a sua determinação, em especial a de AGNE.

As principais vias metabólicas do organismo animal são determinadas pelos componentes bioquímicos analisados. Para representar o metabolismo energético são analisados os níveis de glicose, colesterol, ácidos graxos não esterificados (AGNE) e β -hidroxibutirato (BHBA). As concentrações circulantes de AGNE e BHBA indicam quão eficiente está sendo a adaptação do animal ao BEN, já que a concentração de AGNE reflete a magnitude da mobilização da gordura corporal a partir das reservas e o BHBA reflete a oxidação incompleta da gordura no fígado (LEBLANC, 2010).

Níveis de ureia, proteínas totais, albumina, globulinas e hemoglobina representam o metabolismo proteico. No metabolismo mineral são pesquisados os níveis de cálcio, fósforo, magnésio, potássio, ferro, cobre, entre outros (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). Adicionalmente são estudados parâmetros indicadores do

funcionamento hepático, tais como as enzimas AST (aspartato aminotransferase), GGT (gama-glutamilttransferase) e GDH (glutamato desidrogenase), bem como albumina e colesterol (WITTWER, 2000). A TABELA 1 apresenta os valores de referência dos parâmetros bioquímicos em ruminantes.

TABELA 1 – Valores de referência dos parâmetros sanguíneos em ruminantes.

Metabólito	Unidade	González e Silva (2006)	Kaneko et al. (2008)
Ácidos graxos não esterificados	mmol/L	8,8 – 20,6	8,5 – 28,2
Beta-hidroxibutirato	mmol/L	< 0,97	< 0,97
Colesterol	mg/dL	80 – 120	80 – 120
Glicose	mg/dL	45 – 75	45 – 75
Triglicérides	mg/dL	0 – 14	0 – 14
Aspartato aminotransferase (AST)	U/L	78 – 132	78 – 132
Gama glutamilttransferase (GGT)	U/L	6,1 – 17,4	6,1 – 17,4
Albumina	g/L	27 – 38	30,3 – 35,5

Fonte: Adaptado de Kaneko et al. (2008) e González e Silva (2006).

2.3.1 Glicose

A glicose é o principal combustível metabólico, sendo vital para o funcionamento dos órgãos, crescimento fetal e produção de leite. Em vacas leiteiras, a maior parte da demanda energética para produção de leite é atendida pela gliconeogênese (HERDT, 2000).

O fígado é o órgão responsável pela sua síntese a partir de moléculas precursoras na via da gliconeogênese, sendo que nos ruminantes, a principal fonte de glicose é o ácido graxo volátil propiônico seguido por aminoácidos glucogênicos, tais como cisteína, aspartato, metionina, valina, entre outros e derivados do metabolismo lipídico como o glicerol (VAN SOEST, 1994).

A glicemia é regulada pelo sistema endócrino, que inclui a insulina que estimula a captação de glicose pelos tecidos, o glucagon e as catecolaminas que estimulam a degradação do glicogênio e os corticosteróides que promovem a gliconeogênese. A somatotropina diminui a oxidação da glicose a nível tecidual para que este nutriente esteja disponível no úbere, permitindo a síntese de lactose e

incrementando desta forma a produção de leite (MARQUEZ e RODEMACHER, 1999).

Devido a esse forte controle homeostático hormonal sobrepondo às alterações que a dieta possa causar sobre esse parâmetro, a determinação da glicemia foi aos poucos sendo descartada do perfil metabólico. Outro motivo é a dificuldade em controlar na prática a rápida glicólise *in vitro* que ocorre nas amostras de sangue (WITTEWER, 2000) e também devido a sensibilidade desse metabólito aos níveis de estresse (GONZÁLEZ, 2000).

Em vacas leiteiras de alta produção, os requerimentos energéticos são atendidos pela alimentação adequada e gliconeogênese normal. Caso haja uma falha em uma destas duas vias, ocorre mobilização de triglicerídeos que servem como fonte de energia (GONZÁLEZ e SILVA, 2006), isto é, a hipoglicemia acompanhada de mobilização de reservas corporais é indicadora de desequilíbrio energético que ocorre principalmente no início da lactação.

Segundo Bell (1995) as alterações no metabolismo lipídico que ocorrem no período de transição visam preservar as concentrações de glicose para posterior utilização pelo feto. Bruss (2008) comenta que a falta de oxaloacetato no fígado leva a um aumento dos corpos cetônicos, podendo ocasionar cetose. Por outro lado, a excessiva mobilização de lipídeos pode levar a uma infiltração gordurosa no fígado.

Portanto, durante a mobilização de reservas corporais, fruto do BEN, a glicemia está mais baixa e conseqüentemente há aumento nas concentrações de AGNE e BHBA.

2.3.2 Colesterol

O colesterol é uma molécula essencial para os animais, uma vez que é precursor de hormônios esteroides, vitamina D, além de ser necessário para a formação de membranas e para a síntese de ácidos biliares. O colesterol pode ser de origem exógena, isto é, proveniente da dieta e de origem endógena, ou seja, sintetizado a partir do acetil-CoA, no fígado, gônadas e intestino (KANEKO, 2008).

Os ruminantes produzem praticamente todo o colesterol, principalmente via fígado. Após a alimentação, cerca de 95% dos lipídios plasmáticos totais estão associados as lipoproteínas de alta densidade (HDL), as lipoproteínas de baixa

densidade (LDL) ou as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), e apenas 5% circulam na forma de AGNE ligados a albumina. Aproximadamente 90% dos lipídios ligados as lipoproteínas são transportados aos tecidos periféricos na forma de fosfolipídios e colesterol (KOZLOSKI, 2009). A exportação do colesterol via fígado é em grande parte realizada pelo VLDL para a circulação e utilização em outros tecidos. A concentração sanguínea de colesterol total indica os níveis das lipoproteínas (KANEENE et al., 1997).

A enzima hidroxil-3-metil-glutaril-CoA redutase 3 (HMG-CoA redutase) é quem realiza o controle da síntese de colesterol, sendo a sua atividade inibida por sua fosforilação e estimulada pela adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc) intracelular. Os hormônios insulina e glucagon controlam os níveis de AMPc, sendo que em condições de aumento na concentração de insulina ocorre estímulo na produção de colesterol, enquanto que em condições de menor concentração de insulina ou aumento do glucagon ocorre diminuição na síntese de colesterol (BRUSS, 2008).

As concentrações plasmáticas de colesterol variam de acordo com a condição fisiológica do animal, sua produção leiteira, estágio de lactação e dieta (BORGES, 2001). Esse aumento durante a lactação pode ser explicado pelo aumento da síntese de lipoproteínas plasmáticas (GONZÁLEZ e SILVA, 2006), uma vez que a concentração de colesterol é um bom indicador do metabolismo energético no fígado, principalmente na exportação de lipídios na forma de VLDL (NDLOVU et al., 2007).

O uso da determinação dos níveis plasmáticos de colesterol é indicado em vacas leiteiras para avaliar o balanço energético. Níveis plasmáticos baixos de colesterol indicam um quadro de déficit energético e comprometimento da função hepática, enquanto que concentrações aumentadas ocorrem em resposta à ingestão de níveis elevados de energia na forma de lipídios (WITTER, 2000).

A concentração de colesterol tem seu nível máximo durante a gestação em função do aumento da síntese de esteroides gonadais que ocorre nesse momento. Contudo, vacas em lactação podem apresentar hipercolesterolemia (aumento dos níveis plasmáticos de colesterol) fisiológica, devido à mobilização lipídica causada pela lactação e ao aumento na síntese de lipoproteínas plasmáticas (MARGOLLES, 1983). Segundo Seifi et al. (2003) o colesterol está positivamente relacionado com o

aumento na produção de leite nas vacas sendo um bom indicador da capacidade da vaca em mobilizar reservas lipídicas para a lactação.

Os níveis de colesterol no dia do parto são baixos aumentando ao longo das primeiras semanas e voltam a cair no final do período de lactação. Concentrações baixas desse metabólito foram associadas à esteatose hepática (GRUM et al., 1996; BOBE et al., 2003) e retenção de placenta (KANEENE et al., 1997).

Escore de condição corporal e mobilização de reservas corporais também estão relacionados com os níveis plasmáticos de colesterol. Kim e Suh (2003) verificaram que vacas que perderam mais ECC no primeiro mês de lactação tiveram menores concentrações de colesterol (167 *versus* 183 mg/dL).

Poucos estudos nacionais foram realizados nos últimos anos para determinar os valores de referência da concentração de colesterol em função da gestação e do puerpério. Costa (1991) avaliou a influência do período gestacional e do pós-parto sobre os valores de colesterol e triglicérides estabelecendo valores de referência para essas fases. Nesse estudo com 88 fêmeas da raça Holandesa foram verificados valores médios de colesterol entre 98,2 e 165,3 mg/dL. Mancio (1994) indicou que valores de colesterol iguais a 118,5 mg/dL eram os ideais para bovinos. Oliveira (1995) verificou que os valores normais para novilhas variam de 94 a 108 mg/dL. Segundo Kaneko (2008) os valores de referência para bovinos estão entre 80 e 120 mg/dL, sendo estes valores os mesmos utilizados pelo Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LacVet) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2.3.2.1 Lipoproteínas

As lipoproteínas são aglomerações alveolares (micelas) de lipídeos e de proteínas, que são suspensos em plasma ou linfa. Sua função principal é transportar a maioria dos lipídios (hormônios esteróides e ácidos graxos de cadeia longa) entre os tecidos, além de realizar a esterificação do colesterol. Mais da metade do lipídio em quilomicrons e VLDL são triglicerídeos (TG), enquanto que nas lipoproteínas LDL e HDL a maioria dos lipídios não são triglicerídeos. Nas espécies domésticas, a HDL é normalmente a lipoproteína mais abundante no plasma em jejum (BRUSS, 2008).

Tanto VLDL quanto quilomicrons servem como meios para distribuir triglicerídeos pelos tecidos. No caso dos quilomicrons, o TG é produto da digestão de gordura enquanto que no caso do VLDL, o TG é sintetizado no fígado (BRUSS, 2008).

Ainda segundo Bruss (2008) a capacidade do fígado em sintetizar os componentes proteicos do VLDL é estimulada pela dieta rica em carboidratos. Esse estímulo ocorre devido ao aumento da insulina e menor concentração dos níveis de glucagon no plasma.

A capacidade intrínseca do fígado em sintetizar os componentes lipídicos excede a sua capacidade inerente em sintetizar os componentes proteicos, sendo esse um fator fundamental no desenvolvimento do fígado gorduroso (BRUSS, 2008).

Ruminantes têm uma capacidade limitada em sintetizar e secretar VLDL no fígado, sendo o excesso estocado no próprio órgão. Essa limitação promove uma maior deposição de gordura hepática e de distúrbios metabólicos como fígado gorduroso e cetose que aparecem devido à produção aumentada de corpos cetônicos (BELL, 1995).

A diminuição da síntese de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) contribui para o acúmulo de gordura no fígado, sendo isso resultado de uma menor exportação de TG dos hepatócitos (MUKHERJEE e GOLLAN, 2002).

2.3.3 Ácidos Graxos Não Esterificados (AGNE)

Os ácidos graxos livres ou não esterificados no sangue podem ter origem exógena, provenientes da digestão e absorção de gorduras, ou endógena, provenientes da lipólise dos triglicerídeos armazenados no tecido adiposo (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

Os AGNE são metabólitos oriundos da quebra de moléculas de gordura das reservas corporais, com objetivo de fornecer aporte da energia deficitária durante o BEN. Assim, a concentração plasmática de AGNE é frequentemente um indicador para avaliar a intensidade da mobilização das reservas de gordura corporal em vacas leiteiras durante o período periparturiente (BRICKNER et al., 2007).

No fígado, o metabolismo de AGNE depende da disponibilidade de glicose, bem como da sua taxa de mobilização, uma vez que esse órgão remove os AGNE

do sangue. Desse modo, os AGNE podem ter diferentes destinos no fígado: 1) serem completamente oxidados para a produção de energia, através da β -oxidação; 2) parcialmente oxidados, o que resulta na produção de corpos cetônicos; 3) esterificados a glicerol e armazenados como triglicerídeos (DRACLEY, 1999). Um quarto destino de AGNE, a exportação de triglicerídeos via VLDL pelo fígado tem sido considerada. Contudo, ruminantes não são competentes em exportar todos os triglicerídeos na forma VLDL e quantidades significativas são estocadas no fígado. Essa limitação na exportação pode causar acúmulo hepático de gordura, levando o animal ao quadro de esteatose hepática (SANTOS, 2006).

A concentração plasmática dos AGNE, em vacas saudáveis, aumenta a partir dos quinze dias que antecedem o parto alcançando o pico no dia do parto ou no primeiro dia pós-parto, reduzindo sua concentração nos dias seguintes devido ao aumento do CMS (LEBLANC et al., 2005, SOUZA, 2005, GUO et al., 2007; CHUNG et al., 2008, FRIGOTO et al., 2010, VEIGA, 2013).

LeBlanc et al. (2005) sugerem que as mensurações das concentrações plasmáticas ou séricas de AGNE podem ser realizadas já no pré-parto (4 a 10 dias antes do parto) uma vez que as vacas podem começar a mobilizar reservas energéticas na última semana antes do parto, principalmente as vacas sob maior risco de desordens metabólicas.

Diversos autores mencionam os valores de referência para a análise dos AGNE, sendo que muitos diferenciam essas concentrações em limiares e os correlacionam com produção de leite, reprodução e incidência de doenças metabólicas. A Tabela 2 mostra os valores de referência de ácidos graxos não esterificados.

TABELA 2 – Valores de referência de ácidos graxos não esterificados para vacas leiteiras no período de transição.

Autores	Valores AGNE pré-parto (mmol/L)	Valores AGNE pós-parto (mmol/L)
Quiroz-Rocha et al. (2009)	$\leq 1,0$	0,1 a 1,4
Ospina et al. (2010b)	$\leq 0,33$	$\leq 0,72$
Chapinal et al. (2012)	$\leq 0,5$	$\leq 1,0$
Kaneko (2008)	0,25 a 0,40	0,25 a 0,40

Os ácidos graxos requerem ser ativados e transformados em metabólitos intermediários ativos, tanto na síntese quanto na oxidação. Para que as cadeias carbônicas atravessem a membrana mitocondrial para oxidação, é necessário que o ácido graxo seja ativado pela sua respectiva acil-CoA sintetase (tioquinase). A ativação de ácidos graxos pode ocorrer na membrana externa mitocondrial, nos peroxissomos e no retículo endoplasmático liso. A enzima carnitina palmitoil transferase I (CPT I) é regulada pela disponibilidade de energia da célula, isto é, pela concentração de malonil CoA, que é um intermediário no processo de lipogênese. A atividade da CPT I e a taxa de β -oxidação aumentam durante o BEN, muito provavelmente devido ao decréscimo da concentração de insulina, o que inibe a síntese de malonil CoA nas células hepáticas (SANTOS, 2006).

Quando ocorre aumento da mobilização de ácidos graxos nos adipócitos, as células hepáticas convertem o excedente de acetil-CoA em corpos cetônicos (GRUMMER, 1995; HERDT, 2000), e altas concentrações desses corpos cetônicos podem levar o animal ao quadro de cetose.

2.3.4 Beta-hidroxibutirato (BHBA)

D-hidroxibutirato, acetoacetato e acetona são os três compostos normalmente agrupados como corpos cetônicos e são produzidos pelo fígado oriundos do metabolismo de lipídeos nos ruminantes (LENHINGER, 2006).

O 3-hidroxibutirato tem o seu grupamento cetona substituído por um grupamento hidroxil pela enzima 3-hidroxibutirato desidrogenase na mitocôndria dos hepatócitos. Como esse grupamento OH está localizado no terceiro carbono da cadeia (conhecido também como carbono β), esse composto é chamado de 3-hidroxibutirato ou β -hidroxibutirato (SANTOS, 2006). Além disso, o 3-hidroxibutirato pode existir como estereoisômeros, tendo as formas L (+) e D (-).

A concentração de corpos cetônicos é diferente entre monogástricos e ruminantes. Geralmente, a concentração em ruminantes é maior devido à contínua produção de 3-hidroxibutirato pelo rúmen. A oxidação do butirato em 3-hidroxibutirato é um mecanismo de defesa dos ruminantes, já que a β -oxidação do butirato pode consumir de 30 a 70% de todo o butirato produzido no rúmen,

resultando em concentrações plasmáticas de 3-hidroxibutirato de 1 a 3 mg/dL em animais bem alimentados (SANTOS, 2006).

O ácido butírico, proveniente da dieta é transformado na fermentação ruminal via acetoacetato em BHBA. Já a mobilização da gordura corporal promove o aumento da concentração de ácidos graxos de cadeia longa que são convertidos no fígado em acetoacetato e depois em BHBA, que pode ser utilizado como fonte energética ou na síntese de gordura do leite (WITTEWER, 2000).

O 3-hidroxibutirato é o corpo cetônico mais facilmente mensurado, uma vez que ele é o mais estável nos fluídos corpóreos. A produção ruminal desse metabólito resulta em variações diurnas na sua concentração sanguínea, sendo o pico diário observado cerca de 3 a 4 horas após o consumo de alimento (SANTOS, 2006).

A concentração plasmática desse metabólito aumenta linearmente nos últimos três dias que antecedem ao parto (LEBLANC et al., 2005) mas seu aumento é mais expressivo após o parto, atingindo o pico aproximadamente no quinto dia de lactação, decrescendo sua concentração nos dias seguintes, particularmente em vacas sadias (GUO et al., 2007; CHUNG et al., 2008, FRIGOTTO et al., 2010, McART et al., 2012, VEIGA, 2013).

Os valores de referência para beta-hidroxibutirato variam entre os autores e suas regiões de estudo. A Tabela 3 apresenta os valores referenciais de diversos autores.

TABELA 3 – Valores de referência de β -hidroxibutirato para vacas leiteiras no período de transição.

Autores	Valores BHBA	
	pré-parto (mmol/L)	pós-parto (mmol/L)
Quiroz-Rocha et al. (2009)	0,22 – 0,88	0,22 – 1,18
Ospina et al. (2010a)	-	≤ 0,97
Chapinal et al. (2012)	≤ 0,60	≤ 1,2
Kaneko (2008)	≤ 0,97	≤ 0,97

O aumento na concentração de corpos cetônicos (β -hidroxibutirato, acetoacetato e acetona) caracteriza o quadro de cetose. Esta doença reduz o consumo alimentar e por consequência a produção de leite (OSPINA et al., 2010b; CHAPINAL et al., 2012, McART et al., 2012).

Diversos estudos têm sido realizados para validar a metodologia a campo da mensuração de beta-hidroxibutirato utilizando tiras-teste de medição de cetona. Iwersen et al. (2009) compararam dois métodos de medição de cetose subclínica: concentração de BHBA fotometricamente e determinação de BHBA com o uso de tiras-teste (Precision Xtra meter, Abbott Laboratories). Os autores consideraram limiares de 1,2 a 1,4mmol/L de BHBA para avaliar a especificidade e sensibilidade na determinação de cetose subclínica e tiveram como resultado 88 a 96% e 96 a 97%, respectivamente. A correlação entre essas duas metodologias foi alta ($r=0,95$) e os autores concluíram que o uso de tiras-teste é uma boa prática no diagnóstico de cetose subclínica nas propriedades.

Para avaliar se um rebanho tem maior possibilidade de desenvolver a doença, são analisadas duas mensurações que auxiliam na avaliação do grau de cetose: a taxa de incidência e taxa de prevalência. Taxa de incidência refere-se ao número de vacas que desenvolveram cetose em algum momento durante o início da lactação, tipicamente nos primeiros 30 dias no leite dividido pelo número total de vacas que passaram por este período de tempo, ou ainda, a incidência normalmente é calculada como o dobro do valor da prevalência. Taxa de prevalência, é a quantidade de animais com cetose naquele momento (fotografia) no rebanho. É calculada pela divisão do número de vacas cetóticas pelo número de vacas amostradas (McART et al., 2012).

2.3.5 Cetogênese

Cetogênese é o acúmulo de corpos cetônicos pelo fígado que se dá basicamente pela falha no metabolismo de glicídios e de ácidos graxos voláteis. Essa falha ocorre pela falta de propionato que leva a uma excessiva transformação de triglicerídeos em ácidos graxos livres para produção de energia. Essa conversão aumenta a quantidade de acetil-CoA, que supera a sua capacidade de utilização no ciclo de Krebs, aumentando as demandas de oxaloacetato (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

Segundo Faulkner e Pollock (1991) o propionato inibe a cetogênese hepática nos ruminantes. Essa inibição é devido à menor produção da enzima carnitina aciltransferase I (CPT I) no fígado desses animais pela metilmalonil-CoA, um

metabólito do propionato. Sem a enzima ativa, os ácidos graxos de cadeia longa não conseguem entrar na mitocôndria e serem oxidados em cetonas (BRUSS, 2008).

Em outras palavras, as cetonas são produtos primários do metabolismo intermediário (BRUSS, 2008) sendo altamente regulada e tida como a última etapa do metabolismo energético de lipídeos. Os corpos cetônicos são controlados por três pontos chaves: lipólise e influxo de ácidos graxos livres na corrente sanguínea; entrada de ácidos graxos na forma de acil-CoA na mitocôndria; e atividade da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA sintetase dentro da mitocôndria (SANTOS, 2006).

Os corpos cetônicos podem ser mensurados no sangue, leite e urina. O acetoacetato e o 3-hidroxi-3-metilglutarato são os corpos cetônicos predominantes na circulação sanguínea, sendo que o 3-hidroxi-3-metilglutarato é o mais estável nos fluídos corpóreos e, portanto, o mais facilmente mensurado. O acetoacetato pode ser descarboxilado a acetona e se torna instável nas amostras de sangue, leite e urina, sendo relativamente difícil sua mensuração (LEBLANC, 2006).

Os níveis de corpos cetônicos são menores no leite quando comparados ao sangue. Essa menor concentração se dá pela utilização do 3-hidroxi-3-metilglutarato pela glândula mamária para a síntese *de novo* de gordura do leite, limitando sua transferência para o leite o que resulta em concentrações de 10 a 20% de corpos cetônicos dos níveis sanguíneos. Já as concentrações de corpos cetônicos na urina são maiores do que no sangue, cerca de 3 a 4 vezes, fazendo com que os testes de cetose subclínica pelo método das fitas de reação colorimétrica tenham alta sensibilidade, mas baixa especificidade, isto é, mais vacas são detectadas com cetose subclínica quando a urina é a amostra utilizada, mas quase a metade delas é devido a reações falso positivas (SANTOS, 2006).

2.3.6 Aspartato aminotransferase – AST

A aspartato aminotransferase, anteriormente chamada de transaminase glutâmica-oxaloacética (GOT) é encontrada principalmente no fígado, eritrócitos e nos músculos esquelético e cardíaco. É utilizada como indicador de necrose nesses tecidos, em especial nas lesões hepáticas. A AST é uma enzima mitocondrial e

citossólica de escape, necessitando de uma lesão maior para ser liberada na corrente sanguínea (HOFFMANN e SOLTER, 2008).

Altas concentrações de AST em vacas leiteiras estão relacionada com a síndrome do fígado gorduroso (CEBRA et al., 1997), baixo apetite e o aparecimento de cetose em vacas leiteiras no início da lactação (STEEN, 2001). Os níveis também se elevam em caso de hemólise, deficiência de selênio/vitamina E e no exercício físico intenso. Em ruminantes, a AST é um marcador de necrose sendo um indicador do funcionamento hepático, sendo sua concentração sanguínea analisada em vacas leiteiras no período pré-parto, com objetivo de prevenir doenças metabólicas no pós-parto (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

A sensibilidade da AST em bovinos é de 94% para lipidose hepática, 100% para leptospirose e de 53% para abscessos hepáticos (KANEKO, 2008). A análise desse componente no perfil bioquímico é ainda feita devido à sensibilidade relativamente alta para a detecção de lesões no fígado, lesões nos miócitos e por sua estabilidade no soro (HOFFMANN e SOLTER, 2008).

Em estudo realizado por Stojevic et al. (2005), que analisaram a atividade enzimática da AST em vacas leiteiras saudáveis durante a lactação e no período seco, conclui-se que a atividade da aspartato aminotransferase apresentou diferenças significativas entre os três períodos de lactação (de 10 a 45 dias de produção; 46 a 90 dias e acima de 91 dias até o final da produção de leite) e o período seco. Liu et al. (2012) trabalharam com vacas leiteiras no pós-parto e mediram no sangue e leite a atividade das enzimas hepáticas (ALT, AST, GGT e ALP), e encontraram valores superiores para a enzima AST ($76,99 \pm 13,56$ U/L) aos encontrados por Stojevic et al. (2005) mas igualmente importante para esse período.

Os valores de referência para a AST em ruminantes variam entre autores. Segundo González e Silva (2006), vacas com altos valores de AST (> 35 U/L) antes do parto são mais susceptíveis a sofrerem de infertilidade, febre do leite e retenção de placenta se comparadas a vacas com baixos valores (< 25 U/L). A relação entre valores altos de AST associado a valores baixo de colesterol e de albumina revelam com certa precisão, transtornos na função hepática. Segundo Kaneko (2008) valores entre 78 a 132 U/L são considerados os ideais para vacas leiteiras.

Os valores de aspartato aminotransferase acima de 100 U/L, são indicativos de lesões hepáticas (SEVINC et al., 1998; OETZEL, 2004; XU e WANG, 2008; GONZALEZ et al., 2011).

2.3.7 Gama-glutamyltransferase - GGT

Um número de enzimas são compartimentalizadas nos hepatócitos e epitélio do ducto biliar. A lesão no hepatócito pode resultar na liberação de enzimas para a circulação e a colestase pode aumentar a liberação pelo epitélio biliar. Os níveis séricos dessas enzimas podem ser indicadores da integridade do hepatócito e da excreção biliar (KANEKO, 2008).

A gama-glutamyltransferase (GGT) é uma enzima de indução e sua síntese ocorre na maioria dos tecidos com maior atividade no pâncreas, rins e glândula mamária de bovinos, além de estar presente, em menor atividade, nos hepatócitos, epitélio de ductos biliares, pulmões e vesículas seminais (HOFFMAN e SOLTER, 2006).

A GGT, frequentemente é mensurada por ser um importante marcador de desordens hepatobiliares e colestases em grandes animais. O aumento da GGT no soro de grandes animais é um dos indicadores mais confiáveis de lesão hepática e obstrução biliar (SMITH, 2009). A colestase é o aumento nas concentrações de ácidos biliares no fígado e no plasma. Esse aumento dos ácidos biliares ou de outros constituintes da bile pode estimular a síntese e liberação de GGT. Em bovinos, a atividade aumentada de GGT tem melhor sensibilidade diagnóstica do que a de fosfatase alcalina para detectar colestase ou outros distúrbios biliares em bovinos (STOCKHAM e SCOTT, 2011).

Em estudo realizado por Stojevic et al. (2005) que analisaram a atividade enzimática da GGT em vacas leiteiras saudáveis durante a lactação e no período seco concluíram que a atividade da gama-glutamyltransferase apresentou diferenças significativas entre o período de lactação e o período seco ($17,11 \pm 4,51$ U/L). Liu et al. (2012) trabalharam com vacas leiteiras no pós-parto e mediram a concentração das enzimas hepáticas (ALT, AST, GGT e ALP) no sangue e leite e encontraram valores superiores para a enzima GGT ($76,99 \pm 13,56$ U/L) aos encontrados por Stojevic et al. (2005).

Os valores referenciais para a atividade sérica de GGT para bovinos estão entre 6,1 a 17,4 U/L (KANEKO, 2008). Já para Smith (2009) o valor de referência está entre 15 e 39 U/L.

2.3.8 Albumina

A albumina corresponde aproximadamente a 50% das proteínas circulantes e contribui com 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo. A albumina é o indicador nutricional mais sensível para determinar o status nutricional proteico do animal a longo prazo e sua concentração é afetada pelo funcionamento hepático, disponibilidade de proteínas na dieta, equilíbrio hidroeletrolítico e por perdas de proteínas em alguma doença (TENNANT e CENTER, 2008).

No início da lactação ocorre uma queda nas concentrações de albumina, devendo recuperar-se durante o pós-parto, porém esse aumento não ocorre em animais com dietas pobres em proteína (GONZÁLEZ, 1997). Menores concentrações de albumina estão relacionadas com queda na síntese hepática de proteínas e no consumo.

A albumina é sintetizada no citoplasma dos hepatócitos, sendo que o fígado é o sítio exclusivo da síntese de albumina. A degradação dessa proteína ocorre tanto no fígado quanto em outros tecidos, incluindo músculo, rim e pele. A albumina tem duas funções principais na circulação geral: determina a pressão osmótica no plasma e é uma das principais proteínas de transporte de metabólitos, que por causa da ligação de albumina, permanecem em solução aquosa estável no plasma. Fatores como idade, status hormonal, parto e lactação influenciam as proteínas plasmáticas (TENNANT e CENTER, 2008).

Segundo Contreras (2000), a queda nos níveis de albumina é ocasionada pela redução da capacidade de síntese no fígado, devido ao acúmulo de gordura que este órgão sofre no início da lactação.

Concentração sérica de albumina tem sido relacionada com produção de leite. Rowlands et al. (1977) relataram níveis de 29,0 g/L em vacas com produção de menos de 15 kg de leite/dia e níveis de 32,2 g/L em animais produzindo mais de 30 kg de leite/dia. A baixa concentração de albumina irá gerar não somente queda da produção em quantidade, mas também em qualidade, reduzindo o teor de sólidos não gordurosos no leite (PAYNE e PAYNE, 1987, citado por GONZÁLEZ, 1997). Em trabalho realizado no sul do Brasil foram observados níveis mais elevados de albumina nas vacas de melhor produção leiteira (GONZÁLEZ e ROCHA, 2008).

Segundo González e Silva (2006) os níveis normais de albumina nas vacas leiteiras varia de 27 a 38 g/L. Kaneko (2008) indica como níveis ideais de albumina

valores entre 30,3 a 35,5 g/L. Uma deficiência protéica é indicada por níveis baixos de albumina e ureia, enquanto que falha hepática é demonstrada por níveis baixos de albumina e níveis normais ou altos de uréia, acompanhados de altos níveis de enzimas (AST, fosfatase alcalina, SDH), (GONZÁLEZ,1997).

2.4 DOENÇAS METABÓLICAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Diversas doenças são decorrentes das alterações metabólicas e fisiológicas que ocorrem durante o período de transição, sendo as mais comuns a cetose e esteatose hepática, mais popularmente conhecida como fígado gorduroso (GRUMMER, 1995, GOFF e HORST, 1997; DRACKLEY, 1999; CHUNG et al., 2008; OSPINA et al., 2010a).

2.4.1 Cetose

A cetose é reconhecida como uma das mais importantes doenças metabólicas de vacas leiteiras e ocorre entre a segunda e sétima semana de lactação afetando a produção e a reprodução (BAIRD, 1982).

A cetose bovina pode ter diferentes origens: cetose por subalimentação, cetose alimentar e cetose espontânea. A cetose subalimentar ocorre quando a vaca leiteira recebe quantidade insuficiente de calorias para atender as demandas da lactação, além das demandas exigidas para manutenção. Esta cetose pode ser originada ainda quando o animal tem alguma outra doença (hipocalcemia, mastite e metrite) que suprime ainda mais o consumo de nutrientes (BRUSS, 2008).

A cetose alimentar ocorre quando a vaca alimenta-se de uma silagem ruim com alto teor de ácido butírico, que por sua vez não consegue ser todo metabolizado pelo epitélio ruminal, sendo portanto, liberado para a circulação sanguínea (BRUSS, 2008). E por fim, a cetose espontânea é a mais complexa e ainda a menos compreendida. Ocorre normalmente em vacas leiteiras de alta produção que estão próximas ao pico de lactação, que tem uma boa alimentação e de qualidade e sem outra manifestação de doença. A cetose espontânea geralmente está acompanhada de uma menor produção leiteira (BAIRD, 1982).

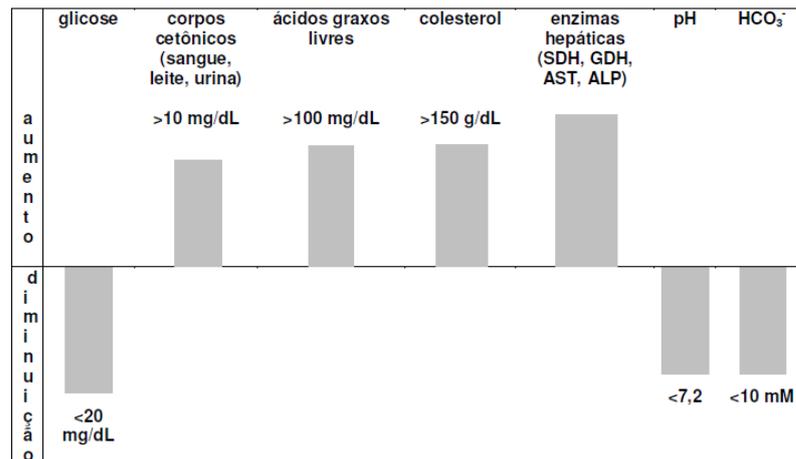
A teoria da hipoglicemia é ainda a mais aceita para caracterizar a cetose em vacas leiteiras de alta produção, já que altas produções leiteiras aumentam a taxa de utilização de glicose pela glândula mamária, equivalendo a uma taxa de gliconeogênese hepática grande. A hipoglicemia que ocorre é devido à menor concentração de insulina plasmática e maiores níveis de glucagon circulante, que aumenta a atividade da enzima lipase sensível ao hormônio no tecido adiposo, que por sua vez aumenta os níveis plasmáticos de ácidos graxos não esterificados. Por consequência, mais AGNE chega ao fígado que não conseguirá oxidá-lo completamente ou reesterificá-lo, resultando em cetogênese (BAIRD, 1982).

A cetose pode ser classificada na forma clínica e subclínica. A cetose clínica é caracterizada pela presença de sinais clínicos característicos, como hipofagia marcante, fezes escassas e de consistência firme, redução na produção de leite, perda excessiva de peso e, em casos severos, sintomas neurológicos, como incoordenação motora, bruxismo, cegueira e tentativa constante de lambear objetos. A cetose subclínica caracteriza-se pelas concentrações excessivas de corpos cetônicos (acetoacetato, acetona e beta-hidroxibutirato) no sangue, leite e urina, sem a presença dos sintomas clínicos (SANTOS, 2006).

A cetose subclínica está relacionada com aumento no risco de desordens metabólicas no pós-parto como deslocamento de abomaso e metrite (DUFFIELD et al., 2009, OSPINA et al., 2010a), que podem aumentar o risco de descarte desse animal do rebanho durante o início da lactação. Além da relação com as doenças, a cetose subclínica também tem relação com menor produção de leite no início da lactação (OSPINA et al., 2010b, CHAPINAL et al., 2011) e pode afetar negativamente a reprodução (OSPINA et al., 2010b).

A determinação de cetose subclínica é realizada através da análise da concentração do BHBA no sangue. Vários limiares têm sido recomendados, mas os valores referenciais mais usuais são os propostos por Oetzel (2004), que sugere o limite de concentração de BHBA para cetose subclínica de 1,2 mmol/L. Outros estudos porém, propõe limites entre 1,0 e 1,4 mmol/L.

A Figura 1 abaixo apresenta o perfil metabólico de animais com cetose, através da avaliação da condição energética (glicose, BHBA, AGNE e colesterol) e da avaliação da evolução da doença através da análise da atividade das enzimas hepato-específicas.



Fonte: González et al. (2000).

FIGURA 1 – Perfil metabólico na cetose em bovinos.

O controle da cetose está relacionado diretamente com uma nutrição adequada do animal durante o período de transição. O correto manejo de condição corporal (vacas chegarem ao final de gestação com escore entre 3,00 e 3,50) associado a mudanças pequenas na alimentação no periparto e dietas ricas em silagem ou carboidratos altamente solúveis visam minimizar a ocorrência de cetose. Além desses primeiros cuidados, o uso de precursores gliconeogênicos, niacina e colina tem se tornado uma alternativa para reduzir a incidência de cetose no rebanho (SANTOS, 2006, GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

2.4.2 Lipidose hepática

Lipidose hepática, esteatose hepática ou fígado gorduroso são sinônimos de uma desordem metabólica multifatorial que acomete vacas leiteiras no período periparto, sendo caracterizada pela presença excessiva de lipídios dentro do fígado, que ocorre quando há um acúmulo de triglicerídeos acima da capacidade hepática em liberá-los como lipoproteínas (MACLACHLAN e CULLEN, 1998). A concentração de lipídios que se acumulam nos hepatócitos dos animais acometidos pela doença varia de 60 a 125 g/dia, nos primeiros dez dias pós-parto (AMETAJ et al., 2002).

As causas da ocorrência dessa doença são múltiplas, mas de maneira geral, a privação de alimento, aumento da demanda energética ou interferência na formação das lipoproteínas hepáticas, que impedem a exportação de lipídeos do

fígado para a circulação, são responsáveis pelo aparecimento da esteatose hepática (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). O fígado gorduroso é uma consequência do balanço energético negativo (MERCK, 1996).

A síntese de lipoproteínas é um papel fundamental na ocorrência ou não da doença, isto é, qualquer fator que interfira nessa síntese resultará em acúmulo de gordura no fígado. As hepatotoxinas, deficiência de colina e jejum prolongado são exemplos de alteração na síntese de lipoproteínas (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

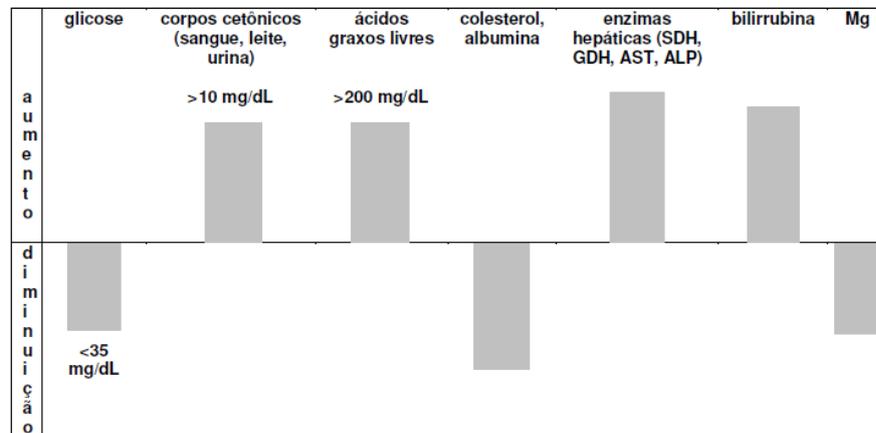
Novamente, o correto manejo alimentar é um fator chave para a diminuição da ocorrência dessa desordem. Vacas leiteiras que recebem grandes quantidades de alimentos energéticos no período seco estão mais dispostas a chegarem com sobrepeso ao parto e por consequência a desenvolverem a doença (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). O principal fator de risco nutricional para o fígado gordo é a obesidade. Em vacas obesas ($ECC \geq 4,0$), lipólise do tecido adiposo aumenta mais durante situações metabolicamente e imunologicamente desafiadoras, como o período periparturiente, do que em vacas com ECC normal (RUKKWAMSUK et al., 1998). Vacas obesas têm uma maior diminuição na ingestão de alimentos em tais situações e, portanto, têm um BEN mais acentuado (STOCKDALE, 2001).

Geralmente, animais com lipidose hepática também são acometidos de outras desordens, tais como, cetose, febre do leite, mastite e metrite, deslocamento de abomaso e retenção de placenta (MERCK, 1996).

É importante frisar que a manutenção da saúde do fígado é importante para que as vacas leiteiras de alta produção passem por um período de transição tranquilo, uma vez que aumento na infiltração gordurosa no fígado diminui as funções vitais desse órgão, e por consequência, reduzem o fluxo ou secreção da bile (BOBE et al., 2004) reduzem a síntese de ésteres de colesterol (KATOH, 2002), e aumentam o estresse oxidativo (BERNABUCCI et al., 2005).

Os sinais clínicos da lipidose hepática não são específicos. O grau de infiltração gordurosa depende do peso corporal (reservas de gordura) e do grau de deficiência no consumo energético. Em casos severos (>34% de gordura infiltrada), hipoglicemia, cetonemia, aumento de AGNE e BHBA e de enzimas hepáticas (AST e GGT) são observadas, em conjunto com a queda nos níveis de colesterol, albumina e insulina (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). A mortalidade dessa doença pode chegar a 25% dos casos em animais não tratados (AMETAJ, 2005).

Segundo González e Silva (2006), o uso dos perfis metabólicos é uma ferramenta útil na determinação do fígado gorduroso, para isso, é necessário medir parâmetros que avaliem a condição energética (glicose, AGNE, BHBA, colesterol) e como prova fundamental a determinação das enzimas hepáticas, de albumina e bilirrubina para avaliar o grau de lesão hepática (FIGURA 2).



Fonte: González et al., (2000)

FIGURA 2 – Perfil metabólico na lipidose hepática em bovinos.

Vacas leiteiras com fígado gorduroso têm a saúde prejudicada, menor produção leiteira e desempenho reprodutivo comprometido durante várias semanas, até que as concentrações de triglicerídeos no fígado voltem aos níveis basais o que sugere que o fígado gorduroso é associado com alterações metabólicas e hormonais (BOBE et al., 2004).

Segundo Grummer (2008) a prevenção ou tratamento de fígado gorduroso pode ser subdividido em três formas: 1) reduzir a concentração sanguínea de AGNE, diminuindo a lipólise do tecido adiposo; 2) aumentar a oxidação completa de AGNE hepática; 3) aumentar a taxa de exportação de VLDL pelo fígado. A primeira estratégia tem suas limitações, já que parte desses AGNE são deslocados para a glândula mamária e transferidos para o leite. A segunda estratégia também pode ser desvantajosa, uma vez que a completa oxidação de AGNE produz ATP, fonte de energia para as células, porém se a oxidação completa continua além do necessário para fornecimento de energia para o fígado, o excesso deve ser desacoplado resultando em energia perdida na forma de calor. Por fim, a última forma é a mais lógica, mas ainda pouco se sabe sobre a limitação da exportação de VLDL pelo fígado dos ruminantes.

2.5 UTILIZAÇÃO DA RAZÃO GORDURA/PROTEÍNA NA IDENTIFICAÇÃO DE CETOSE

Atualmente, para a identificação de cetose em rebanhos leiteiros são utilizadas fitas de reação colorimétrica para medição na urina ou ainda análises das concentrações de cetonas tanto no sangue quanto no leite. Entretanto, o uso da razão gordura/proteína (G/P) do leite também pode ser um indicativo na avaliação do status energético do animal e da cetose subclínica (DUFFIELD et al., 1997), sendo também um indicador de lipomobilização e do BEN no pós-parto (TONI et al., 2011).

Distúrbios metabólicos podem ser refletidos na composição química do leite, portanto, alterações nos teores de gordura e proteína em amostras de leite individual de vacas durante a lactação podem sugerir deficiências nutricionais (ČEJNA e CHLADEK, 2005).

Uma vaca em balanço energético negativo mobiliza suas reservas de gordura a fim de atender sua demanda energética. Uma parte dos ácidos graxos mobilizados são diretamente incorporados na gordura do leite, resultando em um aumento da porcentagem de gordura do leite. Em contrapartida, é comum que a porcentagem de proteína do leite se reduza no início da lactação devido à redução do aporte energético (DUFFIELD et al., 1997).

Para avaliar a nutrição, o estudo da razão de gordura e proteína no leite é um fator importante. Segundo Čejna e Chladek (2005) a razão G/P ideal é de 1,2 a 1,4. Valores mais baixos são susceptíveis de acidose ruminal subclínica, que pode colocar em risco o desempenho reprodutivo de vacas e aumentar a possibilidade de desenvolvimento de distúrbios do metabolismo mineral. A razão gordura/proteína maior que 1,4 identifica sinais de déficit de energia e cetose subclínica se corpos cetônicos estiverem presentes.

Heuer et al. (1999) demonstraram que vacas com razão de gordura/proteína acima de 1,5, têm um risco maior de incidência de mastite, laminite, cetose e cisto ovariano. Nesse estudo também demonstraram haver um impacto negativo na reprodução e maior susceptibilidade de desenvolver outras doenças como, deslocamento de abomaso e esteatose hepática. Toni et al. (2011) avaliaram a razão gordura/proteína do leite no pós-parto como parâmetro indicador da lipomobilização no início da lactação e preditor da produção leiteira e tempo de

descarte durante a lactação e concluíram que animais com razão gordura/proteína acima de 2,0 tiveram menor produção de leite e mais chances de desenvolver alguma doença metabólica.

O perfil da razão entre estes dois componentes torna-se uma ferramenta prática, barata e não invasiva de utilização nos rebanhos leiteiros para monitorar a prevalência de cetose subclínica no rebanho. Se mais de 40% das vacas com menos de 30 dias pós-parto apresentarem uma razão de gordura/proteína do leite igual ou maior que 1,5, esta razão é sugestiva de um rebanho com alta incidência de cetose subclínica (DUFFIELD et al., 1997).

2.6 UTILIZAÇÃO DO ÍNDICE AGNE:COLESTEROL NA IDENTIFICAÇÃO DE DOENÇAS

As concentrações séricas de AGNE e colesterol têm sido largamente estudadas para associar com doenças no pós-parto em vacas leiteiras (MARGOLLES, 1983; GRUM et al., 1996; BOBE et al., 2003; OSPINA et al., 2010a, CHAPINAL et al., 2011), uma vez que esses dois metabólitos são indicadores do status energético.

O fígado é responsável pela captura e metabolização de AGNE em relação direta com sua concentração no sangue. Uma vez no fígado, AGNE podem ser parcialmente metabolizados em corpos cetônicos ou usados na síntese de triglicerídeos.

O colesterol é um metabólito importante devido a sua relação com as lipoproteínas. Os níveis de colesterol são analisados para auxiliar na avaliação do balanço energético negativo.

Altas concentrações de ácidos graxos não esterificados associados com baixos níveis séricos de colesterol são sugestivos de situações em que a gordura se acumula nos hepatócitos, induzindo a condição de fígado gorduroso.

O índice AGNE:Colesterol tem sido sugerido como um índice da função do fígado e um indicador de lipidose hepática. Holtenius (1989) avaliou a concentração de AGNE, colesterol, fosfolipídios e o índice AGNE:Colesterol em vacas multíparas e verificou uma maior concentração dessa taxa em animais com infiltração gordurosa no fígado.

Esse índice é calculado através da divisão entre níveis de AGNE sobre níveis de colesterol (AGNE:Colesterol), sendo expresso na base mmol/L. Vacas com aumento na razão AGNE:Colesterol no final do período seco ($\geq 0,2$) e recém-paridas ($\geq 0,3$) tiveram mais risco de doenças no pós-parto (ANDERSON e RINGS, 2009).

Kalaitzakis et al. (2010) realizaram um estudo clínico-patológico em 36 vacas da raça Holandesa entre saudáveis e com hipocalcemia e verificaram que vacas recém-paridas saudáveis, o índice AGNE:Colesterol ideal foi de 0,17. Em vacas com hipocalcemia e infiltração gordurosa leve, esse índice foi para 0,24; animais com hipocalcemia que apresentaram na avaliação clínico-patológica uma taxa de 0,53 foram considerados com infiltração moderada, e vacas com hipocalcemia e com índice de AGNE:Colesterol de 0,73 foram consideradas com infiltração gordurosa severa no fígado. Nesse estudo, os índices de AGNE:Colesterol foram cerca de três vezes maior em vacas com infiltração moderada no fígado e mais de quatro vezes maior em vacas com doença hepática gordurosa em comparação com as vacas de referência.

2.7 IMPACTO DOS METABÓLITOS SANGUÍNEOS AGNE E BHBA NA PRODUÇÃO DE LEITE, REPRODUÇÃO E ENFERMIDADES

A concentração dos metabólitos sanguíneos, em especial de AGNE e de BHBA, tem influência direta na produção e reprodução de vacas leiteiras, além de indicar maior incidência das principais enfermidades que acometem as vacas no período periparturiente (GRUMMER, 1995, GOFF & HORST, 1997; DRACKLEY, 1999; DUFFIELD et al., 1999; CHUNG et al., 2008; OSPINA et al., 2010a, OSPINA et al., 2010b, CHAPINAL et al., 2012).

2.7.1 Produção de leite

Altas concentrações de ácidos graxos não esterificados e beta-hidroxibutirato exercem um efeito negativo na produção leiteira fazendo com que os animais tenham uma menor produção de leite. Os altos níveis séricos de AGNE exercem maior influência na produção de leite quando comparados às maiores concentrações

de BHBA. Essa maior associação entre concentrações de AGNE e produção de leite ocorre provavelmente devido à relação fisiológica direta entre AGNE e a mobilização de lipídios (OSPINA et al., 2010b).

Duffield et al. (1999) avaliaram o impacto da hipercetonemia no início da lactação em vacas leiteiras e verificaram uma redução de 1,9 kg/dia na produção de leite no primeiro controle mensal após o parto quando a concentração de BHBA foi $\geq 1,4$ mmol/L na primeira semana e de 3,3 kg/dia quando o BHBA foi $\geq 2,0$ mmol/L na segunda semana após o parto. Quando os animais apresentaram concentrações de BHBA acima de 1,8 mmol/L na primeira semana pós-parto, a produção de leite acumulada teve um decréscimo de 300 kg em toda a lactação.

Ospina et al. (2010b) correlacionaram os efeitos das altas concentrações de AGNE no pré-parto e de AGNE e BHBA no pós-parto com a produção leiteira acumulada aos 305 dias e verificaram que tanto vacas quanto novilhas no pré-parto produziram 683 kg a menos quando concentrações de AGNE foram superiores a 0,33 mmol/L. No pós-parto, vacas adultas apresentaram menor produção de leite (647 kg a menos) quando AGNE foi $\geq 0,72$ mmol/L e quando BHBA foi ≥ 10 mg/dL a produção foi inferior em 393 kg de leite. Já novilhas no pós-parto produziram em 305 dias, 488 kg a mais quando as concentrações de AGNE foram $\geq 0,57$ mmol/L e 403 kg a mais quando BHBA foi ≥ 9 mg/dL. Uma possível explicação para este distinto comportamento entre primíparas e múltiparas é o conceito de homeorrese, isto é, novilhas necessitam equilibrar a manutenção, a produção leiteira e o crescimento e como resultado elas mobilizam mais energia na forma de lipídeos prontamente disponíveis do que as vacas.

Chapinal et al. (2012) avaliaram a associação dos metabólitos no período de transição com a produção de leite e demonstraram que vacas com altos níveis de AGNE e BHBA na primeira e segunda semana após o parto ($\geq 0,7$ e $\geq 1,0$ mmol/L para AGNE e $\geq 1,4$ e $\geq 1,2$ mmol/L para BHBA, respectivamente) foram associados com menor produção de leite no primeiro controle leiteiro oficial.

Um recente estudo mostrou que vacas com cetose produziram 2,2 kg/leite a menos por dia para os primeiros 30 dias de controle comparadas com vacas que não apresentaram cetose (McART et al., 2012).

2.7.2 Reprodução de vacas leiteiras

O desempenho reprodutivo de vacas leiteiras é associado negativamente com o BEN no início da lactação (BUTLER, 2003), uma vez que durante o BEN, extensa lipólise é observada e produtos do metabolismo lipídico parecem influenciar a capacidade dos oócitos e o desenvolvimento embrionário (SANTOS et al., 2012). Vacas com maior perda corporal durante os primeiros 65 dias pós-parto estão mais propensas a não ovular após o período voluntário de espera (PVE) e apresentaram menores taxas de prenhez na primeira inseminação artificial (SOUZA, 2005; SANTOS et al., 2009).

Segundo Santos et al. (2012) desordens e doenças no parto que afetam o trato reprodutivo estão obviamente relacionadas com queda na fertilidade. Desordens como distocia, metrite e endometrite clínica foram observadas em 14,6, 16,1 e 20,8% das vacas leiteiras no pós-parto em grandes confinamentos dos EUA, respectivamente (Santos et al., 2011). Vacas com pelo menos uma das doenças apresentaram reduções de 50 a 63% na retomada da ciclicidade ovariana, até o final do período voluntário de espera (PVE), e reduções de 25 a 38% na taxa de prenhez após a primeira inseminação artificial no pós-parto, em comparação com vacas saudáveis. Além disso, vacas com distocia e aquelas com diagnóstico de endometrite clínica apresentaram 55 a 67% mais propensão a perder prenhez durante os primeiros 60 dias de gestação em comparação com vacas sadias.

Em estudo realizado por Ribeiro et al. (2011) demonstrou-se que vacas afetadas com doenças clínicas, subclínicas ou ambas aumentaram a anovulação, redução de prenhez por IA e aumento das taxas de aborto. Estes dados sugerem que animais doentes no início da lactação sofrem impacto na sua fertilidade, ou seja, manter um animal saudável minimiza os riscos de problemas clínicos e subclínicos, beneficiando a fertilidade dessas vacas.

Ospina et al. (2010b) demonstraram que vacas no pós-parto com excessiva mobilização corporal reduziram a chance de prenhez no PVE (menos 16% de taxa de prenhez em vacas com AGNE \geq 0,72 mmol/L). Além disso, concentrações elevadas de AGNE e BHBA diminuiriam as chances de concepção. Novamente, assim como no desempenho produtivo, níveis de AGNE acima dos limiares indicados geralmente estão mais associados com desempenho reprodutivo do que

BHBA, provavelmente pela maior relação fisiológica entre AGNE e BEN (HERDT, 2000).

A cetose é uma das doenças metabólicas que mais está associada à queda no desempenho reprodutivo. É importante frisar que a saúde animal pré e pós-parto refletem na reprodução por pelo menos dois meses. Vacas leiteiras que apresentaram cetonemia durante as primeiras semanas de lactação reduziram a probabilidade de prenhez na primeira inseminação (WALSH et al., 2007). No estudo realizado por Walsh et al. (2007) em que verificaram o intervalo médio até a prenhez entre vacas com cetose e vacas sem cetose, concluiu-se que o intervalo até a nova prenhez foi de 108 dias para vacas sem cetose e de 124 dias para animais que apresentaram cetose subclínica na primeira ou segunda semana pós-parto.

2.7.3 Enfermidades em vacas leiteiras

As principais enfermidades que estão relacionadas com os metabólitos sanguíneos são a cetose e esteatose hepática, porém outras desordens também são importantes no período periparturiente, como mastite, metrite e deslocamento de abomaso (GRUMMER, 1995, GOFF e HORST, 1997; DRACKLEY, 1999; DUFFIELD et al., 1999; WALSH et al., 2007; CHUNG et al., 2008; OSPINA et al., 2010a, OSPINA et al., 2010b, CHAPINAL et al., 2012, McART et al., 2012).

Altas concentrações de AGNE ($> 0,4$ mmol/L) nos últimos sete a dez dias que antecedem o parto estão relacionadas com o aumento de 2 a 4 vezes no risco de deslocamento de abomaso (CAMERON et al., 1998; LeBLANC et al., 2005; OSPINA et al., 2010c); 2 vezes mais risco de retenção de placenta (LeBLANC et al., 2004; QUIROZ-ROCHA et al., 2009); aumento de duas vezes na taxa de descarte antes dos 60 dias de lactação e 1,5 vezes na taxa de descarte antes do final da lactação (DUFFIELD et al., 2005).

Vacas com níveis elevados de BHBA e consequente cetose subclínica têm mais risco de desenvolverem algum tipo de desordem no pós-parto. McArt et al. (2012) mostraram que para cada aumento de $0,1$ mmol/l de BHBA, a chance de desenvolver deslocamento de abomaso foi 10% maior e 40% mais probabilidade de haver descarte nos primeiros 30 dias de lactação.

Em um recente estudo realizado em dez países europeus, Surthar et al. (2013) avaliaram 528 rebanhos, com um total de 5.884 vacas amostradas no período pós-parto (2 a 15 dias) e tiveram como resultado que concentrações de BHBA $\geq 1,4$ mmol/L; $\geq 1,1$ mmol/L; $\geq 1,7$ mmol/L; tiveram 1,7; 10,5 e 6,9 mais chances de desenvolver metrite, cetose clínica e deslocamento de abomaso comparado com vacas que apresentaram menores níveis séricos de BHBA.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, D.E., RINGS, M. **Current veterinary therapy: food animal practice**. St.Louis, MO: Saunders Elsevier. In: PENN STATE EXTENSION, 2009.
- AMETAJ, B. N., et al. Acute phase response indicates inflammatory conditions may play a role in the pathogenesis of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85 (suppl. 1):189, 2002 (Abstr.)
- AMETAJ, B.N. A new understanding of the causes of fatty liver in dairy cows. **Advances in Dairy Technology**, v.17, p.97-112, 2005.
- BAIRD, D.G. Primary ketosis in the high producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.1-10, 1982.
- BEAM, S.W., BUTLER, W.R. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.121-131, 1998.
- BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2820-2833, 1995.
- BERNABUCCI, U., et al. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2017-2026, 2005.
- BOBE, G., B. N. et al. Potential treatment of fatty liver with 14-day subcutaneous injections of glucagon **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3138–3147, 2003.
- BOBE, G., YOUNG, J.W., BEITZ, D.C. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.3105-3124, 2004.
- BORGES, A. M., et al. Concentração plasmática de colesterol total e lipoproteína de alta densidade em novilhas mestiças doadoras de embriões tratadas com somatotropina bovina recombinante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, 2001.
- BRICKNER, A.E., RASTANI, R. R., GRUMMER, R.R. Technical Note: Effect of sampling protocol on plasma non esterified fatty acid concentration in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2219–2222, 2007.

BRUSS, M.L. Lipids and ketones. IN: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.), In: **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, p.81-115, 2008.

BUTLER, W.R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, v.83, p.211-218, 2003.

CAMERON, R. E. B., et al. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.132–139, 1998.

CEBRA, C. K., F. B. GERRY, D. M. GETZY, M. J. FETTMAN. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle: Retrospective study of serum biochemical abnormalities. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.11, p.231-237, 1997.

ČEJNA, V., CHLÁDEK, G. The importance of monitoring changes in milk fat to milk protein ratio in Holstein cows during lactation. **Journal of Central European Agriculture**. v.6, p.539-546, 2005.

CHAPINAL, N.; et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.4897–4903, 2011.

CHUNG, Y.M. et al. Effects of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p.2744-2758, 2008.

CONTRERAS, P. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (Eds). **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, 2000.

COSTA, S.G. **Perfil lipídico de vacas holandesas variedade HPB, em diferentes fases da gestação**. 57p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, 1991.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2259–2273, 1999.

DUFFIELD, T. F., K. D. LISSEMORE, B. W. MCBRIDE, K. E. LESLIE. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.571–580, 2009.

DUFFIELD, T.F., LEBLANC, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. In: **Southwest Nutrition and Management Conference**, 24, Arizona, p.106-114, 2009.

EDMONSON, A. J.; et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.72, p.68–81, 1989.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **The statistic division: Dairy cattle in the word**. Disponível em <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 19 out. 2013.

FRIGOTTO, T.A. **Monitoramento clínico e produtivo de vacas leiteiras no período de transição**. 61p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

GERLOFF, B. J. Dry cow management for the prevention of ketosis and fatty liver in dairy cows. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v.16, p.283–292, 2000.

GOFF, J. P., HORST, E R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1260–1268, 1997.

GONZÁLEZ, F.H.D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivo da Faculdade de Veterinária – UFRGS**, Porto Alegre, v.25, 1997.

GONZÁLEZ, F.H.D., ROCHA, J.A.R. Variation in the metabolic profile of Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arquivo da Faculdade de Veterinária – UFRGS**, v.26, p.52-64, 1998.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. Ed, Editora da UFRGS, Porto Alegre, 2006, 358p.

GONZALEZ F.H.D. **Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes**. In: GONZALEZ, F.H.D., BARCELLOS, J.O., OSPINA, H., RIBEIRO, L.A.O. (Eds). Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

GONZALEZ, F.D., et al. Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. **Journal of Veterinary Science**, v.12, p.251–255, 2011.

GRUM, D. E., et al. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1850–1864, 1996.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p.2820-2833, 1995.

GUO, J., PETERS, R. R., KOHN, R. A. Effect of a transition diet on production performance and metabolism in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5247–5258, 2007.

HAMMON, D. S., et al. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.113, p.21–29, 2006.

HAYIRLI, A., BERTICS, S. J., GRUMMER, R. R. Effects of slowrelease insulin on production, liver triglyceride and metabolic profiles of Holsteins in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2180–2191, 2002.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v.16, p.215–230, 2000.

HEUER, C., et al. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.295–304, 1998.

HOFFMAN, W.E., SOLTER, P.F. Diagnostic enzymology of domestic animals. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L.(eds.). In: **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: academic press, p.350-373,2008.

HOLTENIUS P. Plasma lipids in normal cows around partus and in cows with metabolic disorders with and without fatty liver. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.30, p.441–445, 1989.

HUZZEY, J.M., et al. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risks for metritis. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3220-3233, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 19 out. 2013.

KANEENE, J.B. et al. The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v.31, p.59-72, 1997.

KALAITZAKIS, E., et al. Clinicopathological evaluation of downer dairy cows with fatty liver. **Canadian Veterinary Journal**, v.51, p.615–622, 2010.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th ed., Elsevier Academic Press, San Diego- California, 2008.

KANEKO, J.J, HARVEY, J.W, BRUSS, M. **Appendices**. In: KANEKO, J.J, HARVEY, J.W, BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th ed. San Diego: Academic press, 2008.

KATOH, N. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.64, p.293–307, 2002.

KEHRLI, M.E., NONNECKE, B.J., ROTH, J.A. Alterations in bovine PMN function during the periparturient period. **American Journal of Veterinary Research**, v.50, p.207-214, 1989.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2009. 216p.

LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS VETERINÁRIAS. **Valores de referência**. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/lacvet/?page_id=60>. Acesso: 10 out. 2013.

LEBLANC, S. Monitoring programs for transition dairy cows. **XXIV World Buiatrics Congress**, Nice – França, 2006.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p. s29-s35, 2010.

LEHNINGER, A.L. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 4 ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

LIU, P.; et al. Bioactivity evaluation of certain hepatic enzymes in blood plasma and milk of Holstein cows. **Pakistan Veterinary Journal**, p.601-604, 2012.

MANCIO, A.B. **Plano nutricional, gonadotrofina coriônica humana (Hcg) e amamentação na função reprodutiva e metabólica de fêmeas bovinas**. 1994. 158p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MANUAL MERCK DE VETERINÁRIA: **Um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário.** Clarence M. Fraser, editor. - 7. ed. -- São Paulo: Roca, 1996. cap 7 – Distúrbios metabólicos.

MARGOLLES, E. Metabolitos sanguíneos em vacas altas produtoras durante la gestación-lactancia em las condiciones de cuba y su relacion com transtornos del metabolismo. **Revista Cubana de Ciencia Veterinaria**, p.221-230, 1983.

MCART, J.A.A., NYDAM, D.V., OETZEL, G.R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.5056-5066, 2012.

MACLACHLAN, N.J., CULLEN, J.M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: CARLTON, W.W. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2. ed. 672p. Porto Alegre: Artmed, cap.2. p.95-131, 1998.

MARQUEZ, A. C.; RADEMACHER, M. A. Indicadores bioquímicos sanguíneos de los desequilibrios energéticos en ganado lechero. In: **Memórias del Seminário Internacional en Reproducción y Metabolismo de la vaca lechera**. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Manizales, Columbia, 1999.

MUKHERJEE, S., GOLLAN, J.L. Assessment of liver function. In: **Sherlock's diseases of the liver and biliary system** – Edited by Dooley, J.S. et al. Wiley – Blackwell – 12 th ed., 2002.

NDLOVU, T., et al. Assessing the nutritional status of beef cattle: current practices and future prospects. **African Journal of Biotechnology**, v.6, p.2727-2734, 2007.

OLIVEIRA, F.N. **Concentração sanguínea de progesterona e metabólicos lipídicos em novilhas tratadas com norgestomet e valerato de estradiol (syncro-matib) e submetidas a dieta hiperlipidêmica**. 75p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa – UFV, 1995.

OSPINA, P. A., et al. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. **Journal of Dairy Science**, v.93, p. 3595–3601, 2010a.

OSPINA, P. A., et al. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern united states. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1596–1603, 2010b.

OSPINA PA , et al. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and disease

incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.3595–3601, 2010c.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v.20, p.651–674, 2004.

PAYNE, J.M., et al. The use of metabolic test in dairy herds. **Veterinary Record**, v.87, p.150-157, 1970.

QUIROZ-ROCHA, G.F., et al. Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. **Canadian Veterinarian Journal**, v.50, p.383-388, 2009.

RASTANI, R.R., et al. Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: milk production, energy balance, and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p.1004-1014, 2005.

RIBEIRO, E.S., et al. Effect of postpartum diseases on reproduction of grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94 (e-suppl. 1), p.63, 2011.

ROCHE, J.R., et al. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health and welfare. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.5769-5801, 2009.

ROWLANDS, G.J., LITTLE, W., KITCHENHAM, B.A. Relationships between blood composition and fertility in dairy cows – A fields study. **Journal of Dairy Research**, v.44, p.1-7, 1977.

RUKKWAMSUK, T., WENSING, T., GEELLEN, M. J. H. Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2904–2911, 1998

SANTOS, J.E.P. Distúrbios Metabólicos. In: Berchielli, T.T, Pires, A.V., Oliveira, G.S. **Nutrição de Ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2006. p.423-495.

SCALIA, D., et al. In vitro effects of nonesterified fatty acids on bovine neutrophils oxidative burst and viability. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.147-154, 2006.

SEIFI, H.A., MIRSHOKRAIE, P., FARZANEH, N. Metabolic profile test in Iran: variations of metabolites around parturition at dairy cattle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.44, (Suppl 1):P1213, 2003.

SEVINC. M., et al. The clinical-chemical parameters, serum lipoproteins and fatty infiltration of the liver in ketotic cows. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Science**, v.22, p.443–447, 1998.

SIMÕES J., MADUREIRA, M., DIAS DA SILVA, A. Prevenção das patologias metabólicas de alta produção. **Veterinária Técnica**, v.11, p.20-30, 2006.

SMITH, B.P. **Large animal internal medicine**. 4a ed. St. Louis, Missouri-US: Mosby- Elsevier, 2009, 1821p.

SOUZA, R.M. **Avaliação da função hepática e do lipidograma no período puerperal e pós-puerperal e suas inter-relações com os distúrbios reprodutivos de fêmeas bovinas da raça holandesa, criadas no Estado de São Paulo**. 196fs. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2005.

STEEN, A. Field study of dairy cows with reduced appetite in early lactation: clinical examinations, blood and rumen fluid analyses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.42, p. 219-228, 2001.

STOJEVIC, Z. et al. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period, **Veterinarski Archives**, v.75 (1), p.67-73, 2005.

STOCKDALE, C. R. Body condition at calving and the performance of dairy cows in early lactation under Australian conditions: A review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.41, p.823–839, 2001.

SUTHAR, V.S., et al. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.2925–2938, 2013.

TENNANT, B.C., CENTER, S.A. Hepatic Function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.), **Clinical Biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic press, p.379-412, cap. 13, 2008.

TONI, F., et al. Early lactation ratio of fat and protein percentage in milk is associated with health, milk production, and survival. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.1772-1783, 2011.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 476p. 1994.

VEIGA, I.R.F.M. **Efeito de dietas aniônicas adicionadas de cromo e metionina no período de transição de vacas leiteiras sobre perfil metabólico e hormonal e**

produção de leite. 124fs. Tese (doutorado). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013 (dados ainda não publicados).

WALSH, R.B, et al. Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**; v.90, p.315–324, 2007.

WILTBANK, M, et al. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v.65, p.17-29, 2006.

WILDMAN E.E., et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to standard production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.495-501, 1982.

WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H. ET AL. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2000. p.9-22.

Xu, C., Wang, Z. Comparative proteomic analysis of livers from ketotic cows. **Veterinary Research Communication**, v.32, p.263-273, 2008.

CAPÍTULO II – PARÂMETROS SANGUÍNEOS EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO E SEU IMPACTO NO DESEMPENHO PRODUTIVO

RESUMO

No período de transição, intervalo entre as 3 semanas antes e 3 semanas após o parto, vacas leiteiras entram em algum grau de balanço energético negativo (BEN) imediatamente após o parto. Os metabólitos circulantes ácidos graxos não esterificados (AGNE), β -hidroxibutirato (BHBA) e colesterol são comumente usados como índices de BEN ou de cetose em vacas leiteiras. Concentrações de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT) e albumina indicam a ocorrência de lipidose hepática. Objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos das concentrações dos parâmetros na produção de leite no período pré e pós-parto, a função hepática no período pós-parto e ainda secundariamente avaliar a determinação de BHBA por duas metodologias. Amostras de sangue foram coletadas de 197 animais no pré-parto (de -14 a -1 dia) e de 285 animais no pós-parto (de +1 a +14 dias) oriundas de 30 rebanhos paranaenses. Sessenta e seis observações do pós-parto foram analisadas para avaliar o metabolismo hepático. Após a colheita, amostras de sangue foram centrifugadas e o soro analisado para os parâmetros AGNE, BHBA, AST, GGT, colesterol e albumina. A significância dos efeitos fixos e das covariáveis incluídos no modelo foi analisada pelo procedimento de modelos mistos, sendo produção de leite projetada para 305 dias e corrigida a idade adulta considerada variável dependente. Os valores médios e seus respectivos desvios-padrão para o pré-parto foram: $0,23 \pm 0,21$ mmol/L AGNE; $0,46 \pm 0,27$ mmol/L BHBA; $57,48 \pm 16,34$ U/L AST e $84,00 \pm 19,14$ mg/dL colesterol. No pré-parto, correlações significativas ($P < 0,05$) foram encontradas entre AGNE, idade e ordem de lactação, indicando que vacas mais velhas mobilizam mais reservas corporais. Houve associação significativa ($P < 0,05$) e negativa entre AGNE e produção de leite, indicando que animais com concentrações elevadas desse analito têm um decréscimo (760 kg) na produção. Os valores médios e desvios-padrão para o pós-parto foram: $0,53 \pm 0,40$ mmol/L AGNE; $0,64 \pm 0,44$ mmol/L BHBA no soro; $0,67 \pm 0,50$ BHBA na tira; $85,17 \pm 31,50$ U/L AST e $84,35 \pm 23,45$ mg/dL colesterol. No grupo pós-parto, AGNE e BHBA foram ($P < 0,05$) correlacionados entre si e com AST e colesterol. A associação com produção leiteira somente foi significativa ($P < 0,05$) e positiva com BHBA e colesterol demonstrando que animais com níveis séricos altos desses analitos produziram mais leite (852 kg e 492 kg, respectivamente). Ao analisar separadamente múltiparas no pós-parto, animais com altas concentrações de AGNE produziram menos leite (793 kg). Os dois testes de cetose, BHBA bioquímico e BHBA por tiras-teste são altamente correlacionados ($r=0,95$) entre si, indicando que as tiras-teste são uma excelente ferramenta a campo para diagnóstico de cetose. A avaliação dos animais amostrados para verificar a função hepática sugeriu que não há algum tipo de lesão, uma vez que todos os metabólitos indicadores estavam dentro da faixa de normalidade.

Palavras-chave: Ácidos Graxos Não Esterificados, β -Hidroxibutirato, AST, GGT, Colesterol.

CHAPTER II – BLOOD PARAMETERS IN DAIRY COWS IN TRANSITION PERIOD AND IMPACT ON PRODUCTIVE PERFORMANCE.

ABSTRACT

In the transition period, interval between 3 weeks before and 3 weeks after parturition, dairy cows enter some degree of negative energy balance (NEB) immediately after parturition. Circulating metabolites nonesterified fatty acids (NEFA), β -hydroxybutyrate (BHBA) and cholesterol are commonly used as indices of NEB or ketosis in transition dairy cows. As concentrations of aspartate aminotransferase (AST), gamma glutamyltransferase (GGT) and albumin indicate the occurrence of hepatic lipidosis. The objective of this study was to evaluate the effects of concentrations of metabolites in milk production on pré-and postpartum, the hepatic function in the postpartum period and still secondarily to evaluate the determination of BHBA by two methodologies. Blood samples were collected from 197 animals in the prepartum (-14 to -1 day) and 285 animals postpartum (from +1 to +14 days) collected from 30 herds Paraná. Sixty-six observations postpartum were analyzed to assess the hepatic metabolism. After collection, blood samples were centrifuged and the serum was analyzed for metabolites NEFA, BHBA, AST, GGT, albumin and cholesterol. The significance of the fixed effects and the covariates included in the model was analyzed using the mixed models procedure, and milk production projected for 305 days and corrected adult age considered the dependent variable. The mean values and their standard deviations for the prepartum were: 0.23 ± 0.21 mmol/L NEFA, 0.46 ± 0.27 mmol/L BHBA; 57.48 ± 16.34 U/L AST and 84.00 ± 19.14 mg/dL cholesterol. In prepartum, significant correlations ($P < 0.05$) were found between NEFA, age and parity, indicating that older cows mobilized more body reserves. As there was a significant ($P < 0.05$) and negative association between milk production and NEFA, indicating that animals with high analyte concentrations that have a decrease (760 kg) in production. The values mean and standard deviations for the postpartum were: 0.53 ± 0.40 mmol/L NEFA, 0.64 ± 0.44 mmol/L BHBA in serum, 0.67 ± 0.50 BHBA in the strip, 85.17 ± 31.50 U/L AST and 84.35 ± 23.45 mg/dL cholesterol. Postpartum group, NEFA and BHBA were ($P < 0.05$) correlated among themselves and correlated with AST and cholesterol. The association with milk production was only significant ($P < 0.05$) and positive with BHBA and cholesterol, demonstrating that animals with high serum levels of these analytes produced more milk (852 kg and 492 kg, respectively). When analyzing separately multiparous postpartum, animals with high concentrations of NEFA produced less milk (793 kg). The two tests of ketosis, BHBA by biochemical and BHBA by test strips are highly correlated ($r = 0.95$) with each other, indicating that the test strips are an excellent tool for field diagnosis of ketosis. The evaluation of animals sampled for liver function suggested that there is no type of injury, since all indicators metabolites were within the normal interval.

Key-words: nonesterified fatty acids, β -hydroxybutyrate, AST, GGT, Cholesterol.

1. INTRODUÇÃO

A produção de leite em vacas leiteiras têm aumentado ao longo dos anos e com isso, os animais passaram a ser mais susceptíveis a desordens metabólicas, especialmente cetose, lipidose hepática, hipocalcemia e deslocamento de abomaso durante o período periparturiente.

O período de transição, comumente definido como o intervalo de tempo entre as 3 semanas anteriores e 3 semanas posteriores ao parto (GRUMMER et al., 1995) é um período em que as vacas leiteiras passam por diversas mudanças fisiológicas e hormonais, além de haver um aumento na demanda energética causada pelo crescimento fetal e início da lactação, ao mesmo tempo em que a ingestão de matéria seca diminui. Como consequência desse desbalanço temporário, vacas leiteiras passam por algum grau de balanço energético negativo (BEN) imediatamente após o parto (HERDT, 2000).

A avaliação do metabolismo energético do animal pode ser verificada pela mensuração de alguns metabólitos sanguíneos, em especial, ácidos graxos não esterificados (AGNE), β -hidroxibutirato (BHBA) e colesterol. Adicionalmente são estudados parâmetros indicadores do funcionamento hepático, tais como as enzimas AST (aspartato aminotransferase), GGT (gama-glutamilttransferase) e GDH (glutamato desidrogenase), bem como albumina e colesterol (WITTWER, 2000).

O grau do BEN pode ser identificado pelo aumento nas concentrações circulantes de AGNE e de BHBA, uma vez que a concentração de AGNE reflete a magnitude da mobilização da gordura corporal a partir das reservas e o BHBA reflete a oxidação incompleta da gordura no fígado (LEBLANC, 2010).

As reservas corporais são mobilizadas na forma de AGNE e contribuem em geral com os requerimentos de energia durante o início da lactação. O fígado remove uma grande porção dos AGNE circulantes e os metaboliza na forma de corpos cetônicos, como BHBA ou os reesterifica nos hepatócitos como triglicerídeos (HERDT, 2000).

O fígado desempenha um papel importante no metabolismo animal e vacas leiteiras de alta produção são mais susceptíveis a desenvolverem alguma doença hepática durante o período de transição (KALAITZAKIS et al., 2010). O diagnóstico de fígado gorduroso é realizado mediante a determinação da quantidade de gordura

nesse órgão por biópsia, porém há uma grande variedade de parâmetros bioquímicos que com certa precisão avaliam as condições do fígado de forma não invasiva (BOBE, 2004). Enzimas hepáticas são indicadores do metabolismo hepático e alterações nas suas concentrações revelam com certa precisão algum tipo de lesão nesse órgão. Aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima de escape, ou seja, para ser liberada na corrente sanguínea deve ocorrer uma lesão maior nos hepatócitos (HOFFMANN e SOLTER, 2008). Gama-glutamilttransferase (GGT) é uma enzima hepática de indução e seus níveis séricos indicam com confiabilidade lesão no fígado e obstrução biliar (KANEKO, 2008).

Albumina é uma proteína que também tem forte relação com o metabolismo hepático, uma vez que esse órgão é o sitio exclusivo de síntese dessa proteína. Com isso, alterações na concentração desse analito também indicam lesão hepática (KANEKO, 2008).

Assim, objetivou-se neste estudo quantificar e avaliar as concentrações séricas de quatro parâmetros sanguíneos (ácidos graxos não esterificados, beta-hidroxibutirato, aspartato aminotransferase e colesterol) nos períodos pré e pós-parto e correlacionar com a produção leiteira de vacas de alta produção; correlacionar os níveis séricos de BHBA por duas metodologias (colorimétrico enzimático e tiras-teste a campo) e avaliar as condições hepáticas de um grupo de animais no pós-parto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no período de abril a junho de 2013, período de maior frequência de partições nas regiões avaliadas. Foram coletadas informações de 28 rebanhos comerciais de alta produção na região dos Campos Gerais (municípios de Arapoti, Carambeí e Castro) e dados de dois rebanhos comerciais próximos a Curitiba (Palmeira e Piraquara), totalizando 30 rebanhos comerciais.

2.1 ESTUDO DA POPULAÇÃO

Os rebanhos leiteiros participantes neste estudo foram selecionados por conveniência e concordância de seus proprietários. Para a inclusão do rebanho no estudo, alguns critérios foram adotados: 1) número mínimo de 120 animais em lactação; 2) compartilhar os dados do controle leiteiro oficial emitido pela Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH); 3) ter um nutricionista responsável pelas dietas dos animais.

Foram amostrados 537 animais de um universo de 7.610 animais em lactação, o que representa 7% da população de vacas destes 30 rebanhos. Na edição dos dados, animais foram excluídos do banco de dados por estarem fora do período de coleta (-14 a + 14 dias em relação ao parto) e com isso, o universo populacional amostrado reduziu-se para 482 animais no período de transição. Os animais foram separados em dois grupos de estudo: Grupo 1: com - 14 a - 1 dia no pré-parto e Grupo 2: com + 1 a + 14 dias no pós-parto. A média de idade dos animais amostrados foi de $47,24 \pm 22,04$ meses.

Para o grupo pré-parto (G1) foram avaliados 197 animais, entre novilhas e vacas e para o grupo pós-parto (G2) foram avaliadas 285 vacas, entre primíparas e múltiparas. Tanto no pré quanto no pós-parto foram feitas as avaliações de escore de condição corporal (ECC), medição do peso corporal por fita de perímetro torácico e coleta de sangue para análises de AGNE, BHBA, AST e colesterol. Em cada rebanho amostrado eram anotados os dados de nascimento, data do parto e ordem de lactação para posterior análise, assim como foram coletados os dados de produção leiteira nos 4 primeiros controles oficiais, teores de gordura e proteína no primeiro controle mensal após o parto e a projeção de produção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias através do relatório cedido pela Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), sob prévia autorização individual de cada produtor participante.

Para avaliar a função hepática de animais no grupo pós-parto, foram amostrados 66 animais (entre primíparas e múltiparas) do total de 285 observações. A seleção desses animais foi realizada de acordo com a concentração de colesterol inicial e estes foram estratificados em 3 categorias: hipocolesterolêmico (abaixo de 80 mg/dL), normal (80 a 120 mg/dL) e hipercolesterolêmico (acima de 120 mg/dL).

Para esse grupo avaliou-se as enzimas gama-glutamilttransferase (GGT) e albumina, além dos demais metabólitos analisados em todos os animais.

2.2 COLETA E ANÁLISE DE ALIMENTOS

Nas 30 fazendas foram coletados os dados de composição das dietas dos lotes pré e pós-parto e foi coletada uma amostra da dieta total de cada lote. As amostras da dieta total eram coletadas diretamente do cocho ou do vagão misturador, colocadas em sacos plásticos específicos, identificadas e congeladas até a realização da análise química, no Laboratório de Nutrição Animal da UFPR, dos parâmetros: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).

A MS total foi obtida através da secagem em estufa a 105°C, após a realização da pré-secagem (55°C) até peso constante, sendo as amostras secas moídas em moinhos do tipo Willey, em peneiras com crivos de 1 mm. A PB foi obtida pelo método de Dumas, que determina o N total através da combustão da amostra. As frações fibrosas foram determinadas pelo método sequencial de *Filter Bag Technique* da Ankom[®] (FBT), que determina primeiro a FDN e com o peso do resíduo determina a FDA, pelo método descrito por VAN SOEST et al. (1991).

2.3 ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL (ECC) E PESO CORPORAL

Todos os animais amostrados tiveram seus pesos corporais estimados através da fita de perímetro torácico e logo após a pesagem era realizada a avaliação do escore de condição corporal (ECC) no qual eram avaliados por inspeção visual da pelve e inserção da cauda, costelas e lombo, seguindo a escala de 1 a 5 pontos proposta por Wildman et al. (1982) e Edmonson et al. (1989), com intervalos de 0,25, sendo que para esse estudo foi considerado como escore ideal o valor de até 3,50. A avaliação foi feita pelo mesmo observador em todos os rebanhos amostrados.

2.4 COLETA DE SANGUE E ANÁLISES BIOQUÍMICAS DOS PARÂMETROS SANGUÍNEOS

Amostras de sangue dos animais no pré e pós-parto para determinação da concentração dos quatro parâmetros (AGNE, BHBA, colesterol e AST) e amostras de sangue do grupo pós-parto para análise de GGT e albumina foram coletadas via punção da veia-artéria coccígea, através de tubos a vácuo sem anticoagulante de 10 mL. O processamento das amostras foi realizado imediatamente após a coleta e o soro separado por centrifugação (3000 rpm por 12 minutos). O soro foi retirado com o auxílio de pipeta Pasteur e acondicionado em microtubos devidamente identificados e congelados a -20°C até posterior análise no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Somente foram analisadas as amostras não hemolisadas e antes de cada análise bioquímica, uma amostra controle era feita para determinar o intervalo de valores dos analitos. Todas as análises bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automático (modelo BS-200, Mindray, Shenzhen, China).

A determinação das concentrações séricas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi quantificada por metodologia colorimétrica enzimática utilizando-se kit comercial da marca Randox (kit NEFA FA115, Randox, Antrim, Reino Unido). O princípio do método baseia-se na ação das enzimas acil-CoA-sintetase na presença de ATP e cofatores sobre o AGNE, originando acil-CoA, AMP e PPI (pirofosfato inorgânico); a acil-CoA é oxidada originando peróxido de oxigênio que age favorecendo a reação N-etil-N (2-hidroxi-3-sulfopropil) m-toluidina com 4-aminoatipirina, presentes no reagente, dando origem a um complexo de coloração púrpura, sendo os valores expressos em mmol/L.

Os teores séricos de β -hidroxibutirato foram quantificados através do kit comercial da Randox, utilizando método colorimétrico enzimático (kit Ranbut D-3hidroxybutyrate RB1007, Randox, Antrim, Reino Unido). O princípio da ação está baseado na oxidação do D-3-hidroxibutirato em acetoacetato pela enzima desidrogenase 3-hidroxibutirato. Concomitante com esta oxidação o cofator NAD^+ é reduzido a NADH e a correspondente variação de absorbância pode ser diretamente correlacionada com a concentração de BHBA, cujos resultados são expressos em mmol/L.

As análises de aspartato aminotransferase (AST) foram realizadas pelo método cinético UV, otimizado de acordo com a IFCC (Federação Internacional de Química Clínica e Medicina Laboratorial) com o uso do kit TGO (ASAT), da marca Kovalent[®], sendo os resultados expressos em U/L. A metodologia da análise está baseada no princípio da ação catalítica da AST sobre o 2-oxoglutarato, originando L-glutamato e oxalacetato, este último convertido a L-malato pela ação da enzima malato desidrogenase, ocorrendo simultaneamente à oxidação de NADH para NAD⁺.

Para a análise do colesterol total foram utilizados os reagentes da Kovalent[®] (Colesterol CHOD-PAP) que usam o método enzimático colorimétrico para a sua determinação, após a hidrólise e oxidação enzimática. O indicador colorimétrico é uma quinonimina que é gerada a partir da 4-aminoantipirina e fenol pelo peróxido de hidrogênio sob a ação catalítica da peroxidase (Reação de Trinder), sendo os resultados expressos em mg/dL.

Gama-glutamiltransferase (GGT) foi analisada pelo método colorimétrico cinético de acordo com a padronização da IFCC, usando reagente da marca Dialab (Gamma-GT). O princípio da análise consiste no gamma-GT que catalisa a transferência do ácido glutâmico aos receptores como a glicilglicina. Este processo libera a 5-amino-2-nitrobenzoate que pode ser medida em 405 nm. O aumento da absorvância neste comprimento de onda é diretamente relacionado à atividade da gamma-GT. Os valores são expressos em U/L.

Para a análise da albumina foram utilizados reagentes da Dialab (Albumina-BCG), através do método do verde de bromocresol (BCG), sendo que o princípio desse procedimento é baseado na reação entre a albumina, presente na amostra, e o verde de bromocresol, em meio ácido, originando um complexo cuja intensidade da coloração azul esverdeada é proporcional à concentração de albumina presente na amostra e os resultados expressos em mg/dL, sendo posteriormente convertidos a g/dL.

Para o grupo pós-parto (285 animais), além da coleta de sangue em tubos para a análise laboratorial, também foi coletado uma gota de sangue para análise da concentração sanguínea de β -cetonas através de tiras-teste (*Precision Xtra – blood β -ketones test strips*) no aparelho Optium Xceed, da marca Abbott Laboratories (Abbott Park, IL). Esse aparelho mede a concentração de cetonas no sangue

aproximadamente em 10 segundos após o início da análise permitindo ao produtor uma rápida resposta em relação à prevalência de acetonemia no seu rebanho.

Para esse parâmetro foram utilizados como referência as recomendações de OETZEL (2004) que criou classes no período pós-parto para avaliar a distribuição das vacas leiteiras em relação à cetose, segundo os níveis de BHBA. As classes foram divididas em três categorias: 1) animais com valores menores que 1,2 mmol/L, eram considerados saudáveis; 2) valores entre 1,2 a 2,9 mmol/L, animais com cetose subclínica; e 3) valores acima de 2,9 mmol/L, animais com cetose clínica.

A avaliação da função hepática do grupo pós-parto foi realizada através da análise de quatro parâmetros: colesterol total, AST, GGT e albumina. Solberg (1999), citado por Kaneko (2008), estimou um tamanho mínimo de amostra teórico para estimar o percentual 100α e o $100(1 - \alpha)$. Esse percentual representa o intervalo de confiança de uma amostra e seu coeficiente de confiança. Assim, segundo esse autor, um mínimo de 40 amostras dentro da população de estudo é capaz de estimar os percentuais 2,5 e 97,5 da curva de distribuição normal de Gauss. Com isso, para a avaliação hepática foram separadas 66 amostras de sangue do grupo pós-parto, entre primíparas e multíparas. O critério de escolha foi o parâmetro colesterol total em que os resultados foram estratificados em três classes, com as amostras escolhidas aleatoriamente dentro de cada classe:

- hipocolesterolêmico (< 80 mg/dL): 22 observações (8 primíparas e 14 multíparas)
- colesterol normal (80 – 120 mg/dL): 23 observações (8 primíparas e 15 multíparas)
- hipercolesterolêmico (>120 mg/dL): 21 observações (7 primíparas e 14 multíparas)

2.5 PRODUÇÃO DE LEITE

Os dados de produção de leite foram obtidos junto ao Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros (PARLPR) da APCBRH. Os quatro primeiros controles leiteiros mensais (aproximadamente 100 dias de lactação) foram utilizados para avaliar a associação da produção leiteira com diferentes categorias de covariáveis (ordem de lactação, idade, ECC, razão gordura/proteína, dias pré e pós-parto) e com as variáveis AGNE, BHBA e colesterol.

Os teores de gordura e proteína do primeiro controle leiteiro também foram extraídos dos relatórios mensais de controle leiteiro para determinar a razão

gordura/proteína, assim como foram utilizados os dados da projeção corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305), baseada nos quatro primeiros controles mensais para a associação com os analitos.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram estratificados baseados no tempo da amostra coletada, pré ou pós-parto. Não houve ajuste para intervalos de tempo diferentes, porque após a exclusão inicial, a duração do intervalo foi a mesma (-14 a - 1 dia e 1 a + 14 dias) para todos os indivíduos. Com isso esse modelo permitiu o agrupamento de vacas em rebanho, sendo este incluído como efeito aleatório.

A estatística descritiva foi gerada com o procedimento PROC FREQ do SAS (SAS, v.9, Institute Inc., Cary, NC), bem como as médias pelo PROC MEANS do mesmo programa. Produção de leite foi a variável dependente de interesse e foi obtida através da projeção corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305), avaliado aos 100 dias de controle leiteiro.

Os metabólitos AGNE, BHBA e colesterol foram avaliados como preditores principais em dois modelos, tanto no pré-parto quanto no pós-parto. Correlações simples de Pearson foram realizadas através do procedimento PROC CORR do SAS (SAS, v.9, Institute Inc., Cary, NC), para estimar as correlações entre os quatro parâmetros sanguíneos AGNE, BHBA, AST e colesterol, bem como foram estimadas as correlações dos parâmetros com as demais variáveis; idade, ordem de lactação, dias pré-parto, escore de condição corporal (ECC), peso corporal, teor de gordura e proteína (no 1º controle leiteiro após o parto), razão gordura/proteína (G/P) e projeção da produção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305).

Análises foram inicialmente realizadas para avaliar a associação entre produção de leite através dos quatro primeiros controles testados e diferentes categorias de covariáveis (região, ordem de lactação, idade, ECC, teor de gordura, teor de proteína, razão gordura/proteína, índice AGNE:Colesterol) e após os resultados foram analisados pelo procedimento de modelo misto (PROC MIXED; SAS Institute Inc., Cary, NC), considerando rebanho como efeito aleatório.

Escore de condição corporal foi dicotomizado em $<$ ou $\geq 3,50$, assim como parição (ordem de lactação) foi dicotomizada em primíparas e múltíparas. A razão

gordura/proteína foi estabelecida usando como parâmetro o ponto de corte de 1,4 (ČEJNA E CHLADEK, 2005) e o índice AGNE:Coolesterol o limiar ideal foi de 0,3 (ANDERSON e RIGGS, 2009). Valores de AST foram dicotomizados, seguindo sugestões de autores (SEVINC et al., 1998; OETZEL, 2004; XU e WANG, 2008; GONZALEZ et al., 2011) em menor ou maior do que 100 U/L, bem como os valores de colesterol foram agrupados em 3 classes, seguindo o valor referenciado por Kaneko (2008) como o ideal para vacas: hipocolesterolêmico (< 80 mg/dL); normal (80 – 120 mg/dL) e hipercolesterolêmico (> 120 mg/dL).

O efeito das concentrações de AGNE e BHBA foi avaliado de forma dicotomizada, utilizando valores críticos de Ospina et al. (2010b), uma vez que não foi possível determinar os valores críticos no presente levantamento devido ao número limitado de animais amostrados, bem como pelo fato de que as incidências clínicas das principais doenças não foram estimadas no presente estudo. As interações de segunda grandeza foram testadas e por não terem alcançado significância ($P > 0,05$) foram removidas do modelo estatístico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 COMPOSIÇÃO DAS DIETAS

Dos 30 rebanhos amostrados, apenas oito propriedades trabalhavam com dieta total misturada (TMR) para os animais no lote pré-parto e somente quinze rebanhos forneciam essa dieta para o lote pós-parto, o que caracteriza a limitada adoção dessa prática de manejo já consagrada na categoria de vacas em lactação.

As dietas fornecidas ao grupo de animais amostrados de modo geral estavam dentro dos valores recomendados pelo NRC (2001), exceto pelos teores de FDN (fibra em detergente neutro) que estão acima do indicado para o período de transição, tanto para primíparas quanto para múltiparas. A média e desvio-padrão da composição bromatológica das dietas são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1 – Média e desvio-padrão das análises bromatológicas das amostras de dieta total (TMR).

Análise Bromatológica	Pré-Parto (n=8)	Recomendação NRC (2001)	Pós-Parto (n=15)	Recomendação NRC (2001)
MS (%) ¹	38,89 ± 4,44	-	44,74 ± 4,77	-
PB (%) ²	12,32 ± 2,44	14-15	14,52 ± 2,35	16-17
FDA (%) ³	23,43 ± 2,15	25-29	19,26 ± 2,10	20-21
FDN (%) ⁴	44,87 ± 2,91	32-36	37,48 ± 3,23	29-33

Fonte: Dados do autor; adaptado do NRC (2001).

¹ Matéria seca

² Proteína bruta

³ Fibra em detergente ácido

⁴ Fibra em detergente neutro

A composição das dietas pré e pós-parto dos rebanhos amostrados foram agrupados em três categorias: volumosos, concentrados e aditivos. A porcentagem refere-se ao número de produtores que utilizavam determinado ingrediente na composição da dieta. Dentre os volumosos, os ingredientes mais utilizados nas dietas pré-parto foram: silagem de milho (100%), pré-secado de aveia/avevém (40%), feno (60%), palha (6%), aveia verde (6%) e pastagem (3%). Na parte dos concentrados, 73% dos produtores utilizam ração ou dieta aniônica, 57% usam ração tipo convencional, farelo de soja (37%), casca de soja (13%), fubá (10%) e milho moído (3%). Os aditivos foram agrupados como aqueles ingredientes que não se enquadram na classificação de volumosos e concentrados. Nessa categoria, o ingrediente mais utilizado é a gordura protegida (10%), seguida de levedura (7%) e sal mineral (10%).

Para o lote pós-parto a composição da dieta era: silagem de milho (100%), pré-secado (73%), feno (60%), palha e aveia verde (6%) e pastagem (3%). Na categoria de concentrados, 97% dos produtores forneciam ração convencional aos animais, seguido de 73% farelo de soja, 57% casca de soja, 27% caroço de algodão, 23% de fubá e 10% de outros (milho grão úmido, cevada, polpa cítrica, gérmen de milho, soja tostada). Dentre os aditivos, o bicarbonato de sódio é o mais utilizado (70%), seguido por sal mineral lactação (46%), gordura protegida (30%), complexo de vitamina (16%) e levedura, ureia de liberação lenta e suplementação vitamínica mineral (13%).

Apesar das distintas inclusões de ingredientes, a dieta base fornecida aos animais entre os rebanhos amostrados era muito parecida, o que reflete na homogeneidade do grupo e assim na condição geral de saúde desses animais.

3.2 PRODUÇÃO DE LEITE NO GRUPO PRÉ-PARTO (GRUPO 1)

Os dados de novilhas e vacas amostradas no período pré-parto foram analisados em conjunto devido à associação entre as concentrações de AGNE e BHBA e produção de leite ser similar entre os grupos de parição. Os resultados dos valores médios e os respectivos desvios-padrão das variáveis e covariáveis analisadas são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 – Análise descritiva das variáveis estudadas do grupo pré-parto em 30 rebanhos leiteiros.

Variável	Média ± DP
Idade, meses (n = 197)	49,7 ± 23
Dias Pré-parto (n = 197)	- 6,9 ± 4,1
Ordem de Lactação (n = 197)	2,67 ± 1,49
Escore de Condição Corporal (n = 197)	3,27 ± 0,33
Peso Corporal, kg (n = 197)	696,5 ± 81,8
Ácidos graxos não esterificados (mmol/L) (n = 197)	0,23 ± 0,21
Beta-hidroxibutirato (mmol/L) (n = 197)	0,46 ± 0,27
Aspartato aminotransferase (U/L) (n = 196)	57,48 ± 16,34
Colesterol (mg/dL) (n = 196)	84,00 ± 19,14
Razão Gordura/Proteína (n = 179)	1,22 ± 0,25
Prod. Leite Idade Adulta (PLID 305) (n = 180)	10.682 ± 2.135

Fonte: Dados do autor.

Dentre os animais amostrados, 26% eram fêmeas nulíparas (novilhas) e 74% eram fêmeas prestes a parir pela segunda vez ou mais (vacas). Os animais agrupados no período pré-parto têm uma expectativa de produção média corrigida à idade adulta e aos 305 dias de 10.682 litros, o que corresponde a uma produção

média de 35 litros diários, evidenciando que os rebanhos amostrados no presente levantamento eram de alta produtividade.

Os dados de escore de condição corporal (ECC) indicaram que 67% dos animais no pré-parto estavam dentro dos limites aceitáveis, ou seja, inferior a 3,50 (na escala de 1 a 5) que é um escore intermediário desejável (ROCHE et al, 2009) já que essas vacas necessitam de reservas corporais no pós-parto imediato, período em que ocorre BEN, mas este ECC idealmente não deveria ser excessivo. Esse valor de ECC nos permite dizer que os produtores estão fazendo um correto acompanhamento do escore dos animais durante o período seco e o final da gestação, e com isso, os animais estão chegando próximo ao parto com condição corporal ideal.

Para os níveis de AGNE, os valores médios encontrados ($0,232 \pm 0,21$ mmol/L) estão bem abaixo dos citados por Drackley (2000) como sendo o esperado para esse período devido à aproximação do parto e menor consumo de matéria seca (entre 0,8 e 1,2 mmol/L), o que sugere que os animais do grupo pré-parto poderão não sofrer com alguma desordem metabólica no pós-parto. Apenas 21% dos animais amostrados estavam acima do limiar proposto como o ideal (OSPINA et al. 2010b) que foi inferior a 0,33 mmol/L de AGNE. Este resultado também sugere que o grau de mobilização corporal no período de pré-parto foi limitado, indicando que na maioria das vacas o BEN somente teve início do dia do parto ou nos dias seguintes.

A razão gordura/proteína indicou que 84% das vacas amostradas no pré-parto ficaram dentro da faixa recomendada de até 1,4, o que sugere que os animais amostrados no pré-parto, após parirem, produzirão leite com teores de gordura não elevados, não indicando portanto, uma intensa mobilização das reservas de tecido adiposo e a conseqüente transferência dos AGNE para o leite. Aqui também cabe uma ressalva que esta razão gordura/proteína pode estar um pouco subestimada, pois foi obtida no primeiro controle leiteiro oficial após o parto e muitas vacas tiveram sua amostra de leite coletada até 40 dias após o parto, período em que o BEN já está na sua fase menos crítica.

Segundo a literatura (STOJEVIC et al., 2005, KALAITZAKIS et al., 2010) valores altos de AST associados com baixos níveis séricos de colesterol total e de albumina indicam transtornos na função hepática. Os valores de AST médios ficaram bem abaixo (57,48 U/L) do limiar estabelecido (78-132 U/L) como seguro (TABELA 2).

Segundo Kaneko (2008) o valor referencial de colesterol total sérico é de 80 a 120 mg/dL. Das observações totais de colesterol, mais da metade da amostragem (52%) situou-se dentro da faixa recomendada tanto para primíparas quanto multíparas, porém 42% dos animais estavam hipocolesterolêmicos (< 80 mg/dL), o que poderia sugerir um quadro de déficit energético. Apenas 6% dos animais observados apresentaram hipercolesterolemia (> 120 mg/dL). Os resultados desses dois parâmetros (AST e colesterol) sugerem que as novilhas e vacas amostradas no grupo pré-parto não apresentavam lesão hepática.

A Figura 1 apresenta os valores médios das concentrações dos quatro parâmetros estudados de acordo com a ordem de lactação no pré-parto.

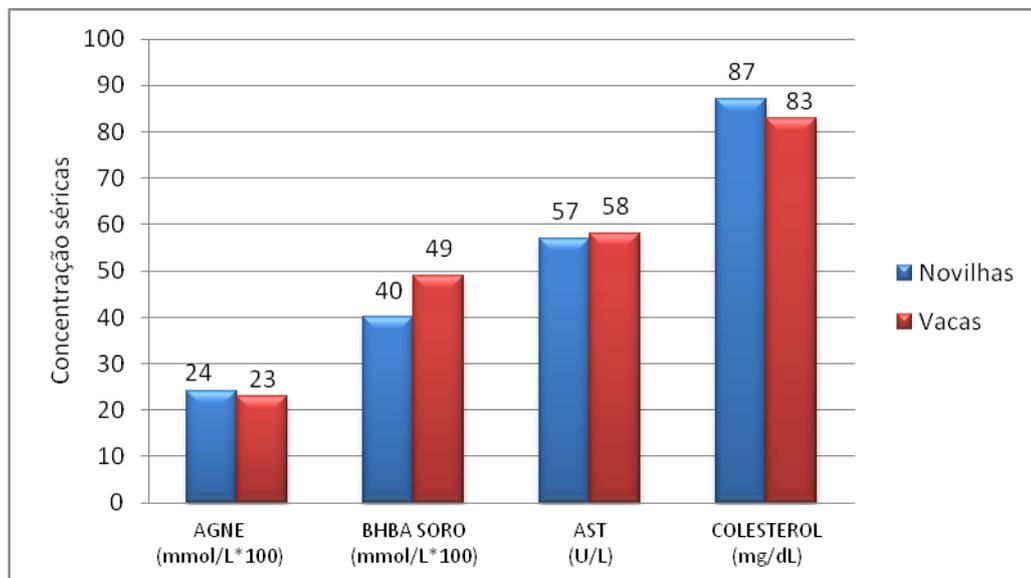


FIGURA 1 – Concentrações séricas de AGNE (mmol/L*100), BHBA (mmol/L*100), AST (U/L) e Colesterol (mg/dL) em novilhas e vacas do grupo pré-parto amostradas em 30 rebanhos leiteiros.

As correlações entre as análises bioquímicas séricas dos parâmetros são apresentados na Tabela 3. Associações entre os indicadores de lipomobilização, isto é, AGNE e BHBA não foram significativas ($P < 0,05$) assim como não houve correlação entre eles e colesterol. No período pré-parto, a única correlação estimada entre os metabólitos sanguíneos que apresentou significância ($P < 0,01$) e teve mediana magnitude ($r = 0,26$) foi entre AST e colesterol.

TABELA 3 – Coeficientes da correlação de Pearson para os parâmetros bioquímicos no grupo pré-parto.

	AGNE	AST	Colesterol
BHBA	0,005 ^{NS}	-0,044 ^{NS}	-0,005 ^{NS}
AGNE		-0,126 ^{NS}	0,080 ^{NS}
AST			0,262 ^{**}

Fonte: Dados do Autor.

NS (não significativo)

** P<0,01

Os resultados das correlações entre os parâmetros e as demais variáveis são apresentados na Tabela 4. No presente estudo e no grupo pré-parto, ECC, peso corporal e teor de gordura no leite não foram associados ($P>0,05$) com os metabólitos sanguíneos estudados. Para o metabólito BHBA, apenas o teor de proteína no leite teve correlação significativa ($P<0,05$) e de mediana magnitude. A correlação entre AST e as demais variáveis também não apresentaram resultados significativos ($P>0,05$).

TABELA 4 – Coeficientes de correlações de Pearson entre os metabólitos sanguíneos e as variáveis analisadas no grupo pré-parto.

	AGNE	BHBA	AST	Colesterol
Idade	0,16 [*]	0,04 ^{NS}	-0,06 ^{NS}	-0,12 ^{NS}
Ordem de lactação	0,15 [*]	0,03 ^{NS}	-0,04 ^{NS}	-0,16 [*]
Dias Pré-parto	0,23 ^{**}	-0,04 ^{NS}	-0,05 ^{NS}	-0,21 [*]
Escore condição corporal	-0,07 ^{NS}	-0,06 ^{NS}	-0,10 ^{NS}	-0,02 ^{NS}
Peso Corporal	0,04 ^{NS}	0,08 ^{NS}	-0,07 ^{NS}	-0,07 ^{NS}
Teor de gordura	0,11 ^{NS}	0,06 ^{NS}	-0,02 ^{NS}	0,08 ^{NS}
Teor de proteína	-0,10 ^{NS}	0,17 [*]	0,10 ^{NS}	0,01 ^{NS}
Razão gordura/proteína	0,18 [*]	-0,07 ^{NS}	-0,06 ^{NS}	0,07 ^{NS}
Prod. Leite Idade Adulta (PLID 305)	-0,17 [*]	0,015 ^{NS}	-0,02 ^{NS}	0,04 ^{NS}

Fonte: Dados do autor.

NS (não significativo)

* P<0,05

**P<0,01

De acordo com a Tabela 4, a variável idade dos animais apenas apresentou significância ($P<0,05$) com AGNE, demonstrando que animais mais velhos apresentam maiores concentrações séricas desse metabólito.

Em relação à ordem de lactação (novilhas *versus* vacas), vacas tiveram maiores concentrações séricas de AGNE e menores níveis de colesterol total, devido à maior mobilização de tecido adiposo e maior pico de produção que ocorre nesses animais. Segundo Grummer (1993) a mobilização tecidual aumenta gradativamente os níveis séricos de AGNE no sangue à medida que o animal se aproxima do parto, podendo dobrar entre o 17º e o segundo dia pré-parto. Esse

resultado corrobora os encontrados por Souza (2005), Guo et al. (2007), Chung et al. (2008), Frigotto et al. (2010) e Veiga (2013) que encontraram maiores concentrações plasmáticas de AGNE nos dias que antecederam o parto alcançando seu pico no dia zero e no primeiro dia pós-parto. No presente levantamento a correlação de 0,23 entre AGNE e dias pré-parto, demonstrada na Tabela 4, confirma esta tendência.

A concentração de colesterol em relação ao dias que antecedem o parto apresentou efeito significativo ($P < 0,01$) indicando que quanto mais próximo do parto, os valores séricos de colesterol total são menores. Isso é justificado pela própria fisiologia do animal, uma vez que os níveis de colesterol têm sua concentração máxima durante a gestação, com queda nos níveis no dia do parto e aumento ao longo das primeiras semanas (VEIGA, 2013).

A covariável projeção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias apresentou correlação negativa apenas com AGNE ($r = -0,17$; $P < 0,05$), o que indica a excelência deste metabólito em relação aos demais analitos. Novilhas ou vacas com níveis aumentados desse analito no pré-parto produzem menos leite na lactação que se aproxima, mesmo resultado encontrado por Chapinal et al. (2012).

Vacas com altas concentrações de AGNE ($\geq 0,33$ mmol/L) no pré-parto (TABELA 5) produziram 760 kg de leite a menos ($P = 0,04$) do que vacas com menores concentrações de AGNE. Ordem de parição e ECC não apresentaram efeitos significativos na produção leiteira ($P > 0,05$). No caso da ordem de parição isto certamente ocorreu porque a produção de leite projetada para 305 dias também já era corrigida a idade adulta. E no caso do ECC, a ausência do efeito pode ser resultado da pequena proporção de animais parindo com ECC elevado, como já citado acima.

TABELA 5 – Efeitos mistos para os efeitos de ordem de parição, ECC e AGNE na produção de leite corrigida para idade adulta e 305 dias (PLID 305, kg) para todos os animais amostrados no período pré-parto ($n = 197$).

Variável	Diferença em PLID 305 (kg)	Erro-padrão	Valor - P
Ordem de lactação ¹	-238	345	0,49
ECC ²	431	335	0,20
AGNE ³	-760	366	0,04

Fonte: Dados do autor.

¹Ordem de lactação dicotomizada como 1 primípara e 2 múltipara

²ECC dicotomizado como $<$ ou $\geq 3,50$.

³Ácidos graxos não esterificados dicotomizado como $<$ ou $\geq 0,33$ mmol/L

A Figura 2 apresenta os valores médios das produções de leite (kg) corrigida a idade adulta e aos 305 dias de acordo com a concentração de AGNE.

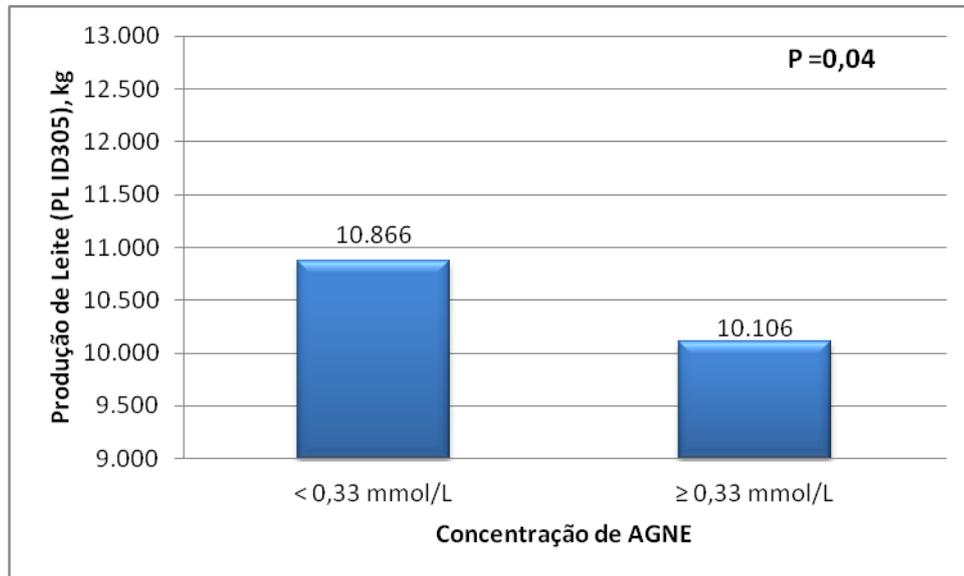


FIGURA 2 – Valores médios de produções de leite (kg), do grupo pré-parto de acordo com a concentração de AGNE (mmol/L)

A Figura 2 demonstra que animais que estão situados dentro da faixa ideal (até 0,33 mmol/L de AGNE) tiveram maiores produções de leite. Os resultados desse estudo foram similares aos estudos americanos (Ospina et al. 2010a; Chapinal et al. 2011) que encontraram uma redução na produção de leite de 683 kg de leite em animais com concentrações maiores que 0,33 mmol/L de AGNE e de 1,6 kg leite/dia em vacas multíparas com concentrações acima de 0,50 mmol/L de AGNE, respectivamente.

3.3 PRODUÇÃO DE LEITE NO GRUPO PÓS-PARTO (GRUPO 2)

Os dados de vacas primíparas e multíparas amostradas no pós-parto foram combinados na análise devido à associação entre as concentrações de AGNE e BHBA e produção de leite ser similar entre os grupos de parição. Contudo, para melhor entendimento dos resultados de todos os animais, dois modelos (somente primíparas e somente multíparas) também foram criados e analisados. A média e os

respectivos desvios-padrão das variáveis e covariáveis analisadas no grupo pós-parto são apresentados na Tabela 6.

TABELA 6 – Análise descritiva das variáveis estudadas do grupo pós-parto em 30 rebanhos leiteiros.

Variável	Média ± DP
Idade, meses (n = 285)	44,8 ± 21,1
Dias Pós-parto (n = 285)	6,9 ± 4,0
Ordem de Lactação (n = 285)	2,33 ± 1,40
Escore de Condição Corporal (n = 285)	3,10 ± 0,31
Peso Corporal, kg (n = 285)	660,9 ± 77,8
Ácidos graxos não esterificados (mmol/L) (n = 285)	0,525 ± 0,400
Beta-hidroxibutirato (mmol/L) (n = 285)	0,636 ± 0,435
Beta-hidroxibutirato- tira (mmol/L) (n = 283)	0,671 ± 0,500
Aspartato aminotransferase (U/L) (n = 283)	85,17 ± 31,50
Colesterol (mg/dL) (n = 285)	84,35 ± 23,45
Razão Gordura/Proteína (n = 264)	1,22 ± 0,25
Prod. Leite Idade Adulta (PLID 305) (n = 262)	11.034 ± 2181

Fonte: Dados do autor.

Dentre os animais amostrados, 37% eram primíparas e 63% multíparas, com idade média de 44,8 meses. O ECC médio foi de 3,10 (escala de 1 a 5) que é considerado um escore adequado para animais recém-paridos. Os animais agrupados no período pós-parto têm uma expectativa de produção média corrigida à idade adulta e aos 305 dias de 36,8 litros de leite por dia.

No pós-parto, 81% dos animais (231 vacas de um total de 285) apresentaram ECC <3,50 demonstrando que a maioria dos animais estava em condições ideais no pós-parto e que este grupo de animais provavelmente apresentou um bom manejo no período anterior.

Em relação aos metabólitos sanguíneos, vacas leiteiras de alta produção com baixa lipomobilização apresentam valores de AGNE de até 0,25 mmol/L, quando o BEN é estabilizado durante a lactação (FONSECA et al., 2004). Poucos trabalhos sugerem os limiares dos níveis séricos de AGNE que identificam maior

lipomobilização em vacas leiteiras, mas Oetzel (2004) observou que concentrações de AGNE acima de 0,4 mmol/L são indicativas de problemas com equilíbrio energético e consequente maior mobilização de tecido adiposo. Já para associar concentrações de AGNE com cetose, os valores dos níveis séricos sugeridos são de >0,70 mmol/L.

Nesse estudo, 147 de 285 vacas no pós-parto (51,6%) apresentaram evidências de algum grau de lipomobilização e 73 animais (26%) tiveram valores de AGNE superiores a 0,7 mmol/L, o que poderia indicar cetose subclínica. O resultado de lipomobilização do presente estudo é menor do que os achados por González et al. (2011) que verificaram que 67% das vacas no início da lactação estavam mobilizando reservas corporais.

Os níveis séricos de AGNE também podem ser associados com produção leiteira, isto é, animais com concentrações até 0,72 mmol/L produzem mais leite comparado com animais que apresentam concentrações maiores (OSPINA et al., 2011b, CHAPINAL et al., 2012). Nesse estudo, 75% das vacas estavam abaixo dos limiares propostos para a classe de AGNE, ou seja, tinham concentrações menores do que 0,72 mmol/L.

A razão gordura/proteína é mais um indicador na avaliação do status energético do animal e da cetose subclínica (DUFFIELD et al., 1997). Segundo Čejna e Chladek (2005), a razão G/P ideal varia de 1,2 a 1,4. A razão gordura/proteína maior que 1,4 identifica sinais de déficit de energia e cetose subclínica e valores inferiores a 1,1 indicam acidose. No presente estudo, apenas 19% das vacas amostradas no grupo pós-parto tinham razão gordura/proteína superior ao limiar estabelecido, o que sugere que a maior parte dos animais (81%) não apresentavam déficit de energia moderado ou severo ou ainda algum indício de cetose subclínica.

O índice AGNE:Colesterol ($<$ ou \geq 0,3) também é um indicador de acetonemia, pois vacas recém-paridas com altas concentrações de AGNE e baixas de colesterol indicam uma lipomobilização intensa e uma incapacidade hepática de exportar o excesso de ácidos graxos livres que chegam ao fígado. No presente levantamento, 70% dos animais observados estavam dentro dos limiares propostos como os ideais ($<$ 0,03) sugerindo novamente que a grande maioria das vacas observadas no pós-parto não apresentou essa desordem metabólica.

O colesterol total apresentou frequências muito parecidas entre animais hipocolesterolêmicos (<80 mg/dL) e normais (80 – 120 mg/dL). No grupo pós-parto, 46% das vacas foram classificadas como hipocolesterolêmicas, 46% das vacas apresentaram concentrações consideradas normais e apenas 8% das vacas classificaram-se como hipercolesterolêmicas.

A Figura 3 apresenta os valores médios das concentrações dos parâmetros estudados e da concentração de BHBA nas tiras-teste, de acordo com a ordem de lactação.

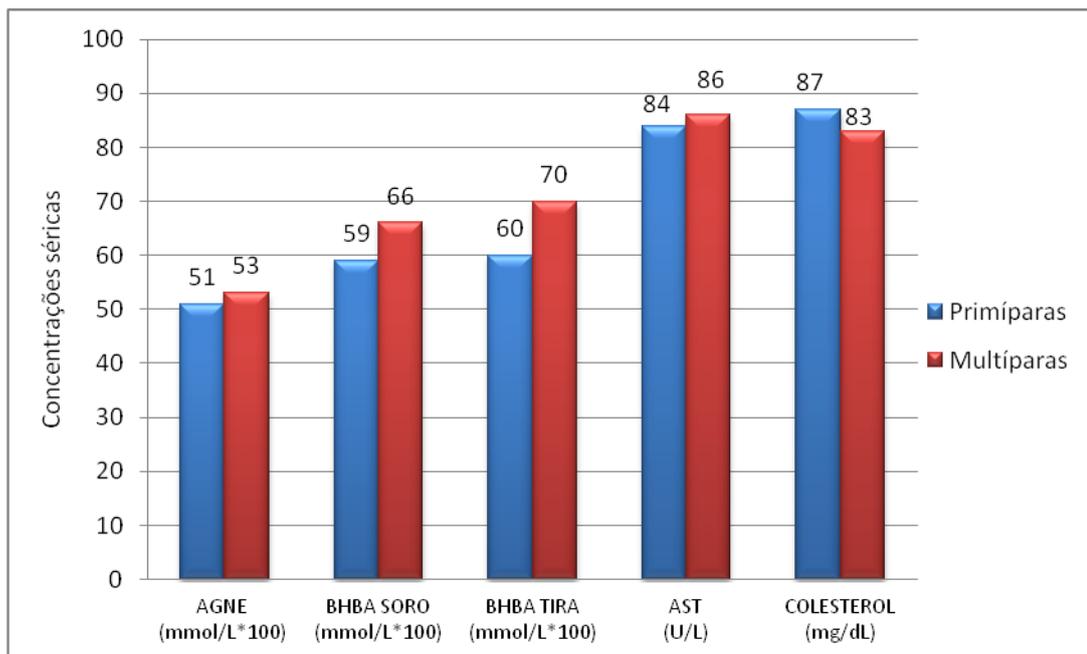


FIGURA 3 – Concentrações séricas de AGNE (mmol/L*100), BHBA soro (mmol/L*100), BHBA tira (mmol/L*100) AST (U/L) e Colesterol (mg/dL) em primíparas e múltíparas do grupo pós-parto amostradas em 30 rebanhos leiteiros.

Em relação à enzima AST, os valores médios encontrados foram de $85,17 \pm 31,50$ U/L, sendo o valor máximo de 263,50 U/L, valor esse acima do encontrado por González et al. (2011) que verificaram valores máximos de 184,5 U/L em vacas amostradas na Espanha. Nesse mesmo trabalho, os animais foram divididos em alta e baixa lipomobilização, sendo os valores de AST encontrados de $93,08 \pm 30,36$ U/L e de $83,98 \pm 15,86$ U/L, respectivamente para cada uma dessas categorias. Assim, as vacas amostradas no presente estudo têm uma concentração média muito próxima das médias encontradas nas vacas de baixa mobilização, sendo que

apenas 19% das vacas tinham concentrações superiores 100 U/L, limite considerado como sugestivo de lesão hepática.

A cetose subclínica ou clínica é uma das principais desordens metabólicas que acometem as vacas leiteiras no período pós-parto (BAIRD, 1982) estando relacionada com o aumento no risco de desenvolver outras enfermidades características dessa fase, como deslocamento de abomaso e metrite (DUFFIELD et al., 2009, OSPINA et al., 2010b). Concentrações séricas de BHBA abaixo de 0,97 mmol/L são associadas com maior produção leiteira (DUFFIELD et al., 2009; OSPINA et al., 2010b; CHAPINAL et al., 2012). Os níveis de BHBA no presente estudo mostraram que 86% dos animais apresentaram concentrações abaixo desse ponto de corte.

Seguindo as recomendações de Oetzel (2004) classes de BHBA foram criadas para os resultados de cetonas através da análise bioquímica e análise através das tiras-teste. Na análise bioquímica de BHBA, para a primeira classe (< 1,2 mmol/L) 91,6% das vacas amostradas foram consideradas saudáveis; 7,8% dos animais foram classificados com cetose subclínica (1,2 a 2,9 mmol/L), e apenas 0,7% estavam dentro da faixa de cetose clínica (>3,0 mmol/L). De acordo com esses resultados, a prevalência de cetose (proporção de animais que apresentaram resultado positivo em um determinado momento) foi de 8,5%; com isso podemos estimar a taxa de incidência (número de animais que desenvolvem cetose a qualquer momento) em 19% de cetose subclínica nos rebanhos amostrados.

Esses resultados são menores do que o apresentado em estudo realizado em Ontário (Canadá), que encontrou o pico de incidência de cetose subclínica de 30%, sendo a ocorrência maior na primeira semana após o parto. Suthar et al. (2013), encontraram para rebanhos europeus uma prevalência de 21,8% de cetose subclínica (43,6% de incidência).

Na análise de BHBA por tiras-teste, 87% das vacas amostradas foram consideradas saudáveis; 12% dos animais apresentaram cetose subclínica e apenas 1% das vacas estavam com acetonemia (FIGURA 4). Assim, a prevalência de cetose usando tiras-teste neste estudo foi de 13% e, a incidência estimada foi de 26% de cetose subclínica nos rebanhos amostrados. McArt et al. (2012) em estudo realizado para descrever a epidemiologia de cetose subclínica em vacas leiteiras norte-americanas no início da lactação encontraram no 5º dia uma pico de prevalência de 28,9%.

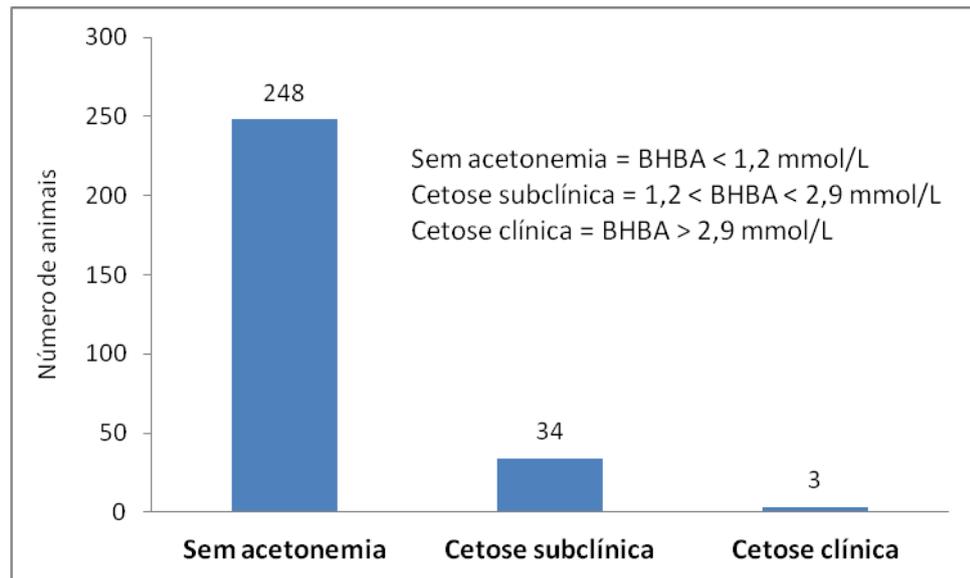


FIGURA 4 - Frequência absoluta da concentração de BHBA (mmol/L) por tiras-teste em animais no pós-parto (n=285).

As correlações entre os quatro metabólitos sanguíneos, tiras-teste de BHBA e índice AGNE:Coolesterol são apresentados na Tabela 7.

TABELA 7 – Coeficientes de correlação de Pearson para os parâmetros bioquímicos no grupo pós-parto.

	AGNE	BHBA tira	AST	Coolesterol	AGNE:Coolesterol
BHBA Soro ¹	0,49**	0,95**	0,27**	-0,08 ^{NS}	0,47**
AGNE ²		0,52**	0,31**	-0,18*	0,92**
BHBA tira			0,31**	-0,10 ^{NS}	0,51**
AST ³				-0,06 ^{NS}	0,30**
Coolesterol					-0,44**

Fonte: Dados do Autor.

NS (não significativo)

* P<0,05

** P<0,01

¹ Beta-hidroxibutirato

² Ácidos graxos não esterificados

³ Aspartato aminotransferase

O parâmetro AGNE foi significativo (P<0,01) com as concentrações de BHBA soro, BHBA tira, AST e índice AGNE:Coolesterol, e significativo (P<0,05) com coolesterol. Isso indica que quanto maior a concentração de ácidos graxos não esterificados, maior a concentração de beta-hidroxibutirato tanto no sangue quanto

nas tiras, o que pode ser justificado pelo fato de BHBA ser uma conseqüência do excesso de AGNE que é captado pelo fígado dos ruminantes e não consegue ser todo metabolizado, sendo então convertido a corpos cetônicos. Devido a essa lipomobilização, valores altos da aspartato aminotransferase são encontrados, indicando que o metabolismo hepático está metabolizando esses ácidos graxos que chegam ao fígado (GONZÁLEZ et al., 2011).

Concentrações de AGNE e colesterol apresentam uma correlação negativa ($r = -0,18$) o que demonstra que quanto maior o nível de AGNE, menor a concentração de colesterol. Tais resultados demonstram que com a maior mobilização de reservas energéticas ocorre mais lipólise havendo maior liberação de AGNE no sangue com redução nas concentrações de compostos lipídicos, como por exemplo, o colesterol total. Esse resultado é condizente com os achados por Veiga (2013), que também encontrou uma correlação negativa ($r = -0,28$) entre os dois analitos.

As concentrações séricas de AGNE são, segundo Duffield (2000), melhor indicador de desequilíbrio energético em animais no pré-parto, sendo que para animais no pós-parto as variações nas concentrações de BHBA são uma ferramenta mais útil.

Uma alta e positiva correlação ($r = 0,95$) foi encontrada entre as mensurações da concentração de BHBA determinado pela tiras-teste (*Precision Xtra*) e pelo método colorimétrico enzimático (bioquímico). Este resulta corrobora os encontrados por Iwersen et al. (2009) que também verificaram uma alta correlação entre as duas metodologias. Isso implica que a mensuração por tiras-teste é uma excelente ferramenta de diagnóstico a campo para análise de cetose subclínica e cetose clínica.

As correlações estimadas entre BHBA, AGNE e AST foram positivas e de mediana magnitude ($P < 0,01$) demonstrando que concentrações mais altas de AGNE e BHBA são acompanhadas por concentrações elevadas de AST no pós-parto. Estudo realizado por Djoković et al. (2013) também encontraram correlação positiva entre AGNE e AST ($r = 0,34$) em vacas Simental na Servia no início da lactação. Diferentemente dos resultados anteriores, González et al. (2011) encontraram correlação negativa ($r = -0,46$) entre esses dois parâmetros. No presente estudo, os dados da enzima AST e do colesterol sugerem que o processo de lipomobilização não foi suficiente para causar lesões no fígado em vacas no pós-parto imediato.

O índice AGNE:Colesterol apresentou altas e significativas ($P < 0,01$) correlações com todas as outras variáveis. Isso demonstra que esse índice é de fato um bom indicador de lipomobilização e de incidência de fígado gorduroso.

As correlações entre os quatro parâmetros sanguíneos, tiras-teste de BHBA e índice AGNE/Colesterol e as demais variáveis são apresentadas na Tabela 8.

TABELA 8 – Coeficientes de correlações de Pearson entre os parâmetros sanguíneos e as covariáveis analisadas para o grupo pós-parto.

	AGNE ¹	BHBA ² Soro	BHBA ² tira	AST ³	Colesterol	AGNE:Colesterol
Idade	0,27**	0,20**	0,24**	0,12*	-0,22**	0,32**
Ordem lactação	0,26**	0,18**	0,22**	0,09 ^{NS}	-0,18**	0,30**
Dias Pós-parto	-0,16**	0,03 ^{NS}	0,01 ^{NS}	0,02 ^{NS}	0,40**	-0,23**
ECC	0,17**	0,09 ^{NS}	0,10 ^{NS}	-0,02 ^{NS}	-0,07 ^{NS}	0,15**
Peso	0,18**	0,15**	0,16**	0,04 ^{NS}	-0,16**	0,20**
Teor de gordura	-0,27**	0,18**	0,17**	-0,03 ^{NS}	-0,20**	0,31**
Teor de proteína	0,21**	-0,20**	-0,19**	-0,11 ^{NS}	-0,01 ^{NS}	-0,12**
Razão gordura/proteína	0,37**	0,28**	0,27**	0,04 ^{NS}	-0,20**	0,37**
PLID 305 ⁴	-0,08 ^{NS}	0,14*	0,09 ^{NS}	-0,01 ^{NS}	0,29**	-0,18**

Fonte: Dados do autor.

NS (não significativo)

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

¹ Ácidos graxos não esterificados

² Beta-hidroxibutirato

³ Aspartato aminotransferase

⁴ Produção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias

As variáveis idade e ordem de lactação apresentaram correlações significativas ($P < 0,01$) com praticamente todas as variáveis analisadas, sinalizando que animais mais velhos apresentam maiores concentrações de AGNE, BHBA e menores concentrações de colesterol. Este resultado demonstra que animais mais velhos mobilizam mais reservas corporais comparado a animais jovens. Essa maior mobilização pode estar relacionada ao maior pico de produção de leite que esses animais apresentam.

O efeito de dias pós-parto demonstrou correlação negativa com AGNE ($r = -0,16$), ou seja, as concentrações desse metabólito vão diminuindo à medida que o pós-parto avança. Isso é condizente com a literatura, que mostra o pico de concentração de AGNE se dá no dia zero ou primeiro dia pós-parto (GUO et al., 2007; CHUNG et al., 2008; FRIGOTTO, 2010; VEIGA, 2013).

Dias pós-parto e colesterol têm correlação positiva e significativa ($r = 0,40$; $P < 0,01$), o que condiz com o estado fisiológico do animal, já que a concentração plasmática de colesterol tende a aumentar com as semanas após o parto. Esse

resultado confirma os achados por Ruas et al. (2000) e Veiga (2013) que encontraram valores mais altos de colesterol em função dos dias pós-parto, assim como Ruegg et al. (1992) que também encontraram concentrações mais altas de colesterol (98,7 mg/dL) em amostras no 4º dia após o parto. Esse aumento ainda foi diretamente relacionado com maior produção de leite.

A alteração dos níveis de colesterol em relação ao estágio de lactação e produção de leite está relacionada com o metabolismo de lipoproteínas (RAPHAEL et al., 1973, PUPPIONE et al., 1978). Puppione et al. (1978) sugeriram que o aumento de lipoproteínas durante a lactação pode ser resultado do aumento de VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) pelo metabolismo da glândula mamária para síntese de gordura de leite. O aumento do VLDL para a produção de gordura do leite de vacas em lactação pode também levar a um aumento do HLD no fígado. O catabolismo de VLDL deve ser mais acelerado em vacas de maior produção de leite, pois os AGNE que inundam o parênquima hepático no pós-parto somente podem ser exportados após reesterificados e combinados com VLDL.

A razão gordura/proteína está intimamente ligada aos teores de AGNE, BHBA e índice AGNE:Colesterol, como pode ser constatado pelas correlações significativas ($P < 0,01$) e de mediana magnitude na Tabela 8. Isso ocorre devido à intensa mobilização de tecido adiposo para a síntese de leite, já que animais de alta produção leiteira fazem mais lipólise devido ao desequilíbrio energético momentâneo que enfrentam no pós-parto imediato. Esse estudo confirma os achados por Toni et al. (2011) que indicaram que a razão gordura/proteína é um bom indicador de lipomobilização.

A projeção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305), apresentou significância com BHBA ($r = 0,14$; $P < 0,05$), colesterol ($r = 0,29$; $P < 0,01$) e correlação negativa ($r = -0,19$; $P < 0,01$) com índice AGNE:Colesterol. Estes resultados sugerem que animais com valores de BHBA acima de 0,97 mmol/L e valores de colesterol > 80 mg/dL e índice de AGNE:Colesterol abaixo de 0,3, produzirão mais leite comparado com os demais animais.

Esses números diferem dos relatados por Duffield et al. (2009). Tais autores mostraram que vacas com concentrações séricas de BHBA $\geq 1,4$ mmol/L na primeira semana e $\geq 2,0$ mmol/L na segunda semana pós-parto, produzem 1,9 kg e 3,3 kg a menos de leite, respectivamente, no primeiro controle leiteiro mensal após o parto. Chapinal et al. (2012) concluíram que elevadas concentrações de AGNE ($\geq 0,7$

mmol/L) e de BHBA ($\geq 1,4$ mmol/L) na primeira semana após o parto estavam associadas com menor produção leiteira (-1,8 kg de leite/dia e -2,4 kg de leite/dia, respectivamente) no primeiro controle mensal. Ospina et al. (2010b) estimaram menor produção de leite (-393 kg) em vacas no pós-parto com valores de BHBA acima de 10 mg/dL.

Muitos desses resultados controversos na literatura podem ser explicados principalmente pelas características diferentes de rebanho e pelas diferenças no ponto de corte (limiares) que cada autor utiliza, fazendo com que a inflexão da mobilização de gordura corporal deixe de ser benéfica dependendo dos outros metabólitos e condições ambientais (CHAPINAL et al., 2012).

Os efeitos de ordem de lactação, ECC, AGNE, BHBA e classes de colesterol foram analisados por procedimento de modelos mistos, tendo rebanho como efeito aleatório e produção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias como variável dependente (TABELA 9).

TABELA 9 – Efeitos mistos para o efeito AGNE, BHBA, covariáveis na produção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305, kg) para todos os animais amostrados no período pós-parto (n =285).

Variável	Diferença em PLID 305 (kg)	Erro-padrão	Valor – P
Ordem de lactação ¹	-149	250	0,55
ECC ²	259	310	0,40
AGNE ³	-374	313	0,23
BHBA ⁴	852	365	0,02
Colesterol (normal vs. hipo) ⁵	883	472	0,01
Colesterol (hiper vs.hipo) ⁵	1376	459	0,01

Fonte: Dados do autor.

¹ Ordem de lactação dicotomizado como 1 primíparas e 2 múltiparas

² ECC dicotomizado como $<$ ou $\geq 3,50$.

³ Ácidos graxos não esterificados dicotomizado como $<$ ou $\geq 0,72$ mmol/L

⁴ Beta-hidroxibutirato dicotomizado como $<$ ou $\geq 0,97$ mmol/L

⁵ Classes de Colesterol (<80 mg/dL-hipocolesterolemia); (80-120mg/dL-normal); (>120 mg/dL- hipercolesterolemia)

Os resultados da análise conjunta do grupo pós-parto indicaram que ordem de lactação não foi uma importante fonte de variação (P=0,55) na variável produção de leite corrigida para 305 dias e à idade adulta. Da mesma forma, classe de AGNE também não alcançou significância (P=0,23) quando primíparas e múltiparas foram analisadas em conjunto. Contudo, nessa mesma análise categoria de BHBA (P=0,02) dicotomizado em $<$ ou $\geq 0,97$ mmol/L, e categoria de concentrações de colesterol (P<0,01) classificados como hipocolesterolêmico (<80 mg/dL), normal (80

a 120 mg/dL) e hipercolesterolêmico (<120 mg/dL), foram importantes fontes de variação na produção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305).

Animais com maiores valores de BHBA (>0,97 mmol/L) produziram 852 litros de leite a mais, em comparação aos animais com níveis séricos menores do que este limiar. A Figura 5 apresenta os valores médios das produções de leite (kg) de acordo com as concentrações dicotomizadas (< ou \geq 0,97 mmol/L) de BHBA através da metodologia colorimétrica enzimática (soro).

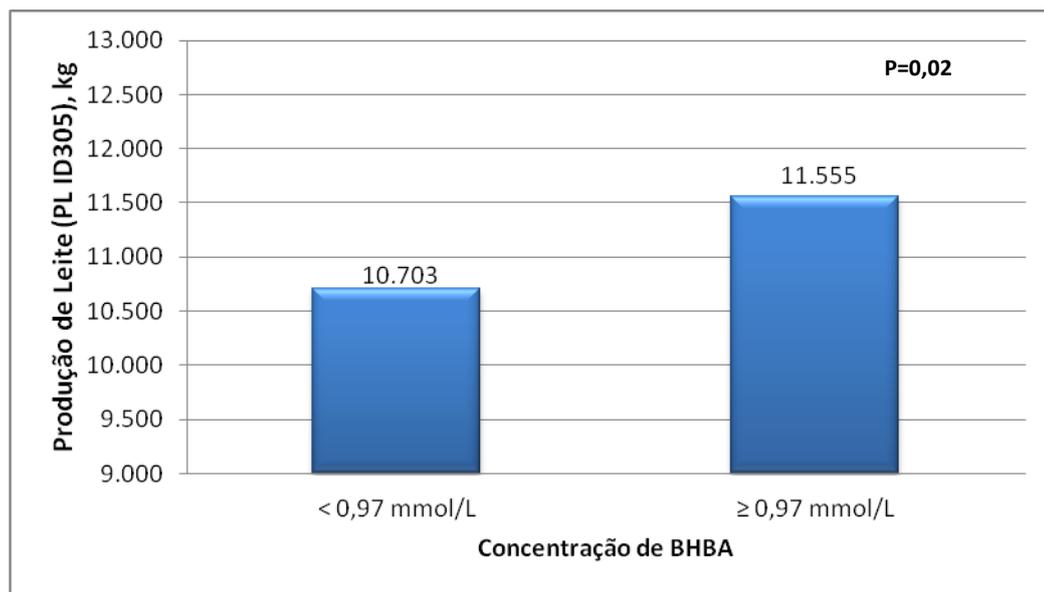


FIGURA 5 – Produção de leite média (kg) do grupo pós-parto de acordo com a concentração de BHBA no soro.

De acordo com a Figura 5 é possível perceber que animais com concentrações séricas de BHBA no soro acima dos valores considerados como referenciais (< 0,97 mmol/L) produziram mais leite comparado aos animais com concentrações menores desse limiar. Apesar de outros autores terem verificado situação diferente, esse resultado nos mostra que animais de maior produção leiteira apresentam maior mobilização corporal e por consequência acumulam mais BHBA.

Animais hipercolesterolêmicos (>120 mg/dL) produziram 492 e 1376 litros de leite a mais comparado com animais com valores normais e concentrações reduzidas de colesterol total, respectivamente. A Figura 6 apresenta os valores médios das produções de leite (kg) de acordo com os níveis de colesterol proposto.

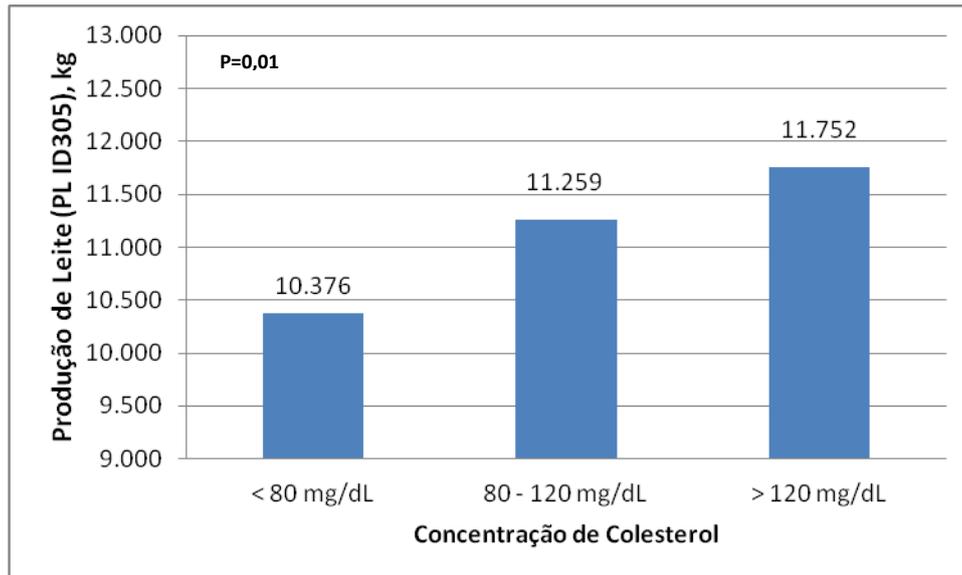


FIGURA 6 – Produção de leite média (kg) do grupo pós-parto de acordo com os níveis de colesterol.

De acordo com a Figura 6 animais com concentrações altas de colesterol (> 120 mg/dL) apresentaram maiores produções leiteiras. Esse resultado corrobora os encontrados por Schwalm e Schultz, (1976), Seifi et al. (2003) e Ruegg et al. (1992), que também verificaram uma relação positiva entre colesterol e produção de leite. Ruegg et al. (1992) por exemplo, verificaram que animais com maiores concentrações desse analito (> 120 mg/dL), produziram 14 litros de leite a mais comparado com animais com concentrações menores (< 100 mg/dL). González e Rocha (1998) sugerem que valores altos de colesterol em animais com altas produções de leite indicam que esse metabólito reflete a mobilização lipídica das reservas corporais para a lactogênese. Porém, o resultado do presente estudo, difere dos achados por Lean et al. (1992) que analisaram uma série temporal de dados e verificaram que concentrações de colesterol tem relação negativa com produção de leite.

Essa maior produção de leite verificada em vacas com maiores concentrações de BHBA e colesterol, pode ser explicada pela intensa lipólise (e consequente maior produção de corpos cetônicos) em vacas de maior produção. No caso da maior produção de leite verificada em vacas hipercolesterolêmicas, isto demonstra que apesar da intensa mobilização das reservas corporais, os ácidos graxos livres que chegam ao fígado foram exportados via VLDL. É importante

ressaltar, portanto, que vacas de alta produção podem contornar essa situação de lipólise e cetogênese sem entrar em estado clínico.

Por conta do distinto comportamento das concentrações de AGNE na produção de leite, os dados foram estratificados por ordem de lactação (primíparas versus múltiparas) para verificar a associação desses analitos com o modelo apresentado, adotando o mesmo procedimento de Ospina et al. (2010). Em primíparas, após o controle dos efeitos, concentrações de AGNE e BHBA não apresentaram associação com produção de leite. Esse resultado difere dos achados por Ospina et al. (2010b) e Chapinal et al. (2012) que verificaram associação desses analitos com produção leiteira. Porém, no estudo realizado por Ospina et al. (2010b), novilhas apresentaram uma relação inversa entre metabólitos e produção. Novilhas com concentrações $\geq 0,57$ mmol/L de AGNE tiveram aumento na produção de leite de 488 kg ($P=0,02$) e quando BHBA foi analisado separado de AGNE, houve um aumento de 403 kg de leite ($P=0,04$) em novilhas que tinham concentração acima de 10mg/dL de BHBA.

O presente estudo apresentou uma tendência ($P=0,10$) de aumento na produção de leite (1214 kg) em primíparas com concentrações séricas de BHBA acima de 0,97 mmol/L e efeito significativo ($P<0,01$) em vacas com concentração de colesterol acima de 120 mg/dL, que produziram 1103 kg a mais em comparação a vacas com limiares normais e 2150 kg de leite a mais comparado com primíparas hipocolesterolêmicas (TABELA 10).

Essa maior produção em novilhas pode ser explicada pelo conceito de homeorrese, já que essa categoria animal apresenta uma circunstância fisiológica única, ou seja, novilhas têm que manter um equilíbrio entre manutenção, crescimento e produção de leite e, como resultado podem mobilizar mais recursos energéticos como lipídio mais rapidamente do que vacas (BAUMAN e CURRIE, 1980).

TABELA 10 – Efeitos mistos para os efeitos de categoria de AGNE, de BHBA, de colesterol, e a variável ECC na produção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PL ID305) para primíparas amostradas no pós-parto (n = 105).

Variável	Diferença em PLID 305 (kg)	Erro-padrão	Valor - P
ECC ¹	646	419	0,19
AGNE ²	-30	399	0,95
BHBA ³	1214	452	0,10
Colesterol (normal vs. hipo) ⁴	1048	621	0,01
Colesterol (hiper vs. hipo) ⁴	2152	608	0,01

Fonte: Dados do autor.

¹ECC dicotomizado como < ou ≥ 3,50.

²Ácidos graxos não esterificados dicotomizado como < ou ≥ 0,72 mmol/L

³Beta-hidroxibutirato dicotomizado como < ou ≥ 0,97 mmol/L

⁴Classes de Colesterol (<80mg/dL-hipocolesterolemia); (80-120mg/dL-normal); (>120mg/dL- hipercolesterolemia)

A Figura 7 apresenta os valores médios de produção de leite (kg) de primíparas segundo os níveis de colesterol.

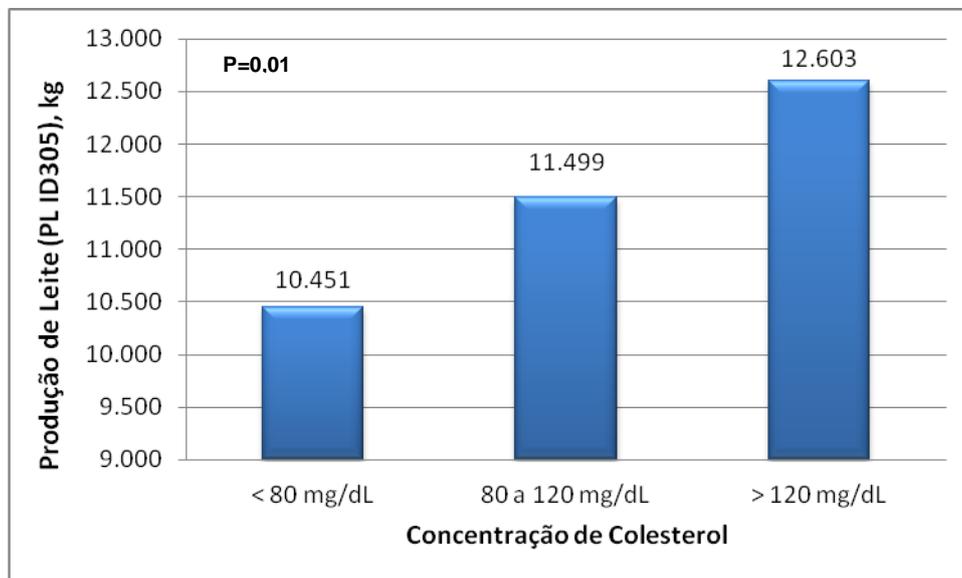


FIGURA 7 – Produção de leite média (kg) de primíparas no grupo pós-parto de acordo com os níveis de colesterol.

Primíparas com concentrações mais altas de colesterol apresentaram maiores médias de produção leiteira. Esse resultado sugere que tais animais estão mobilizando reservas corporais para lactogênese.

Em múltiparas, depois do controle dos efeitos, animais com níveis séricos de AGNE acima do limiar estabelecido como ideal (<0,72 mmol/L) tiveram uma redução na produção leiteira de 793 kg ao final da lactação corrigida (P<0,05). Esse resultado sugere que essa categoria animal está mobilizando reserva corporal, porém boa

parte dessa energia vinda da quebra dos ácidos graxos está sendo disponibilizada como fonte energética para produção de leite, já que animais com concentrações de BHBA $\geq 0,97$ mmol/L, tiveram efeito positivo com produção leiteira (PLID 305) com um acréscimo de 966 kg de leite no final da lactação ($P=0,03$).

Múltiparas com concentrações normais ou com hipercolesterolemia demonstraram um aumento de 926 kg e 1106 kg respectivamente, comparado com animais com menores concentrações de colesterol (TABELA 11).

TABELA 11 – Efeitos mistos para os efeitos de AGNE, BHBA, Colesterol e a covariável ECC, na produção de leite corrigida a idade adulta e aos 305 dias (PLID 305) para múltiparas amostradas no pós-parto ($n = 180$).

Variável	Diferença em PLID 305 (kg)	Erro-padrão	Valor – P
ECC ¹	-112	419	0,79
AGNE ²	-792	399	0,04
BHBA ³	966	452	0,03
Colesterol (normal vs. hipo) ⁴	926	621	0,05
Colesterol (hiper vs. hipo) ⁴	1106	608	0,05

Fonte: Dados do autor.

¹ECC dicotomizado como $<$ ou $\geq 3,50$.

²Ácidos graxos não esterificados dicotomizado como $<$ ou $\geq 0,72$ mmol/L

³Beta-hidroxibutirato dicotomizado como $<$ ou $\geq 0,97$ mmol/L

⁴Classes de Colesterol (<80 mg/dL-hipocolesterolemia); (80-120mg/dL-normal); (>120 mg/dL- hipercolesterolemia)

A Figura 8 apresenta os valores médios de produção de leite (kg) de múltiparas no grupo pós-parto segundo a dicotomização de AGNE.

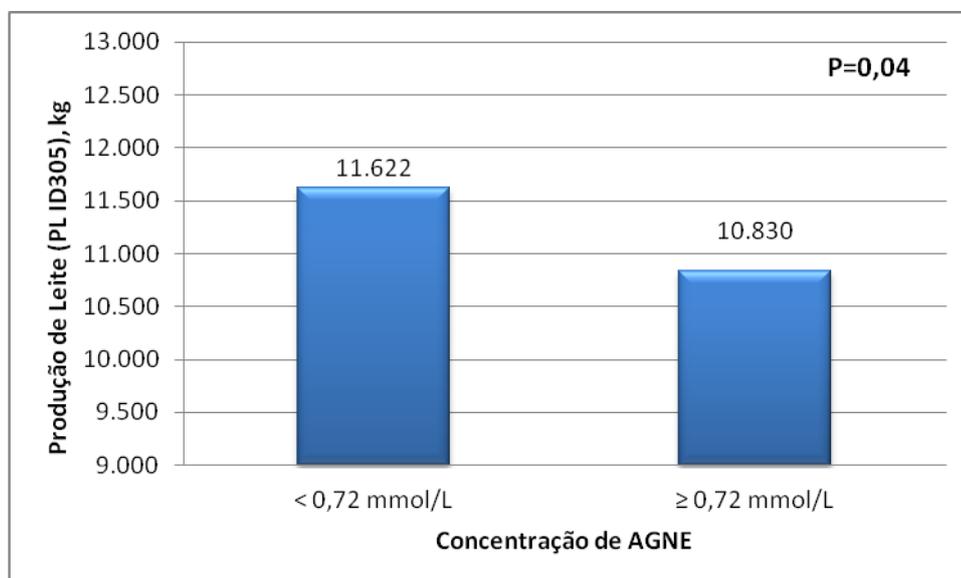


FIGURA 8 – Produção de leite média (kg) de múltiparas no grupo pós-parto de acordo com a concentração de AGNE.

Múltiparas com concentrações mais altas de AGNE produziram menos leite (FIGURA 8), comparado com animais com concentrações dentro da faixa ideal (<0,72 mmol/L). Esse resultado corrobora os achados por Ospina et al. (2010b) e Chapinal et al. (2012) que também verificaram menores produções de leite para essa categoria no pós-parto.

Animais com duas ou mais lactações e com valores de BHBA acima do limiar sugerido como ideal (<0,97 mmol/L), produziram mais leite se compararmos com animais dentro da faixa ideal (FIGURA 9).

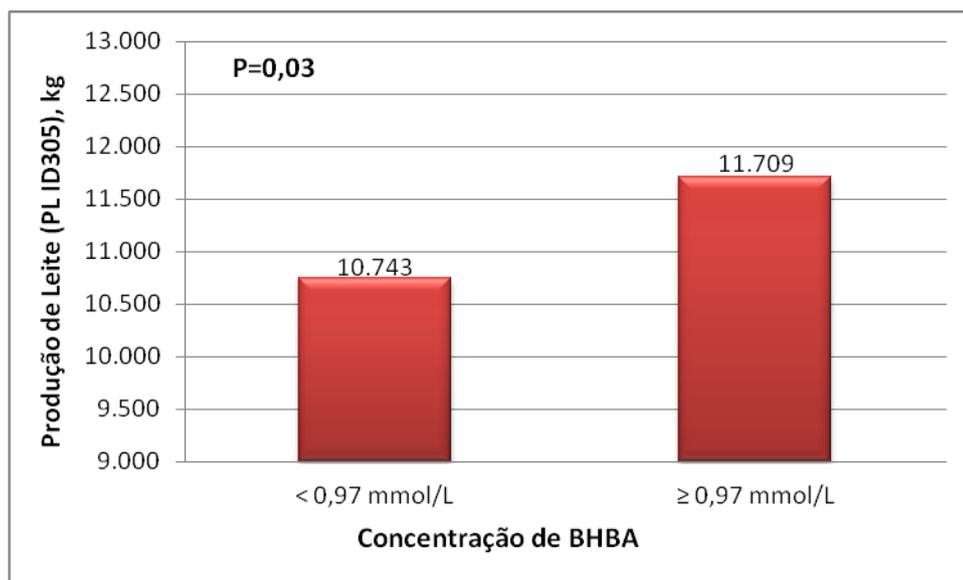


FIGURA 9 – Produção de leite média (kg) de múltiparas no grupo pós-parto de acordo com a concentração de BHBA.

O resultado encontrado no presente estudo são diferentes dos achados por Duffield et al. (2009), Ospina et al. (2010b) e Chapinal et al. (2010) que verificaram menores produções leiteiras em múltiparas com concentrações de BHBA acima de 0,97 mmol/L. O resultado da presente análise sugere que boa parte da mobilização de reservas corporais foi direcionada para produção de leite.

Em relação a concentração de colesterol, vacas hipercolesterolêmicas também apresentaram maiores produções de leite (FIGURA 10).

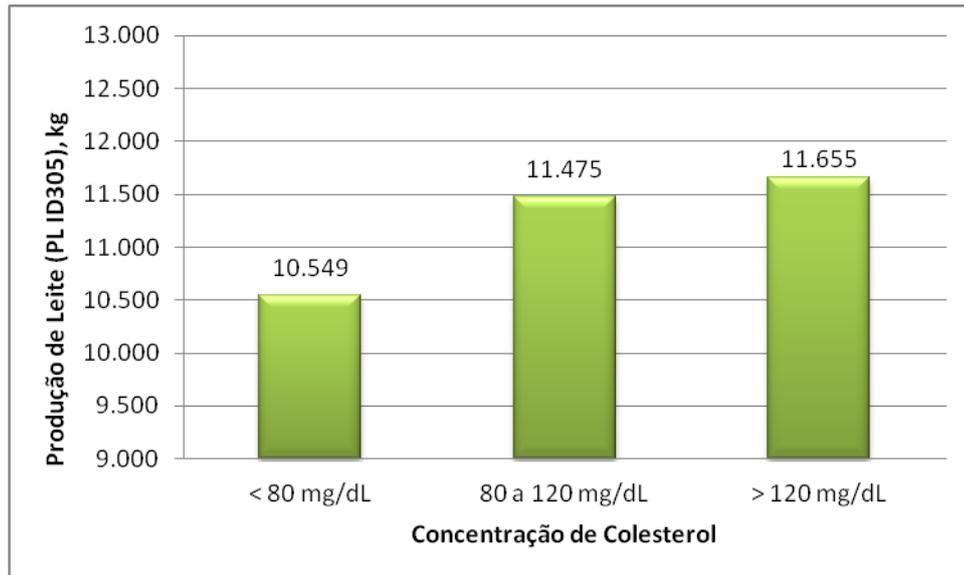


FIGURA 10 – Produção de leite média (kg) de multíparas no grupo pós-parto de acordo com os níveis de colesterol.

Essa maior produção de leite para vacas com maiores concentrações de colesterol total corrobora os verificados por Seifi et al. (2003) e Ruegg et al. (1992), que também verificaram que o colesterol total está positivamente relacionado com produtividade leiteira. Esse resultado sugere que a intensa lipólise que ocorre nessa categoria animal está sendo direcionada para produção de leite (lactogênese).

3.4 ANÁLISE DA FUNÇÃO HEPÁTICA DE UM GRUPO NO PÓS-PARTO

A lipidose hepática ocorre quando há acúmulo de triglicerídeos acima da capacidade hepática em exportá-los como lipoproteína (MAcLACHLAN e CULLEN, 1998). Os sinais clínicos dessa desordem não são específicos, porém em casos de infiltração gordurosa, ocorre aumento das concentrações séricas de AGNE, BHBA, das enzimas hepáticas AST, GGT em conjunto com a queda nos níveis de colesterol e albumina (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

O colesterol total foi estratificado em três níveis para verificar a sua correlação anterior com produção leiteira, já que animais com concentrações mais altas desse analito produziram mais leite do que os outros animais. Baixas concentrações de colesterol total (<80 mg/dL) estão associadas com lesão hepática.

Das 66 amostras, 23 eram primíparas e 43 multíparas escolhidas de forma aleatória. Os valores médios dos analitos de acordo com a classificação por colesterol total são apresentados na Figura 11.

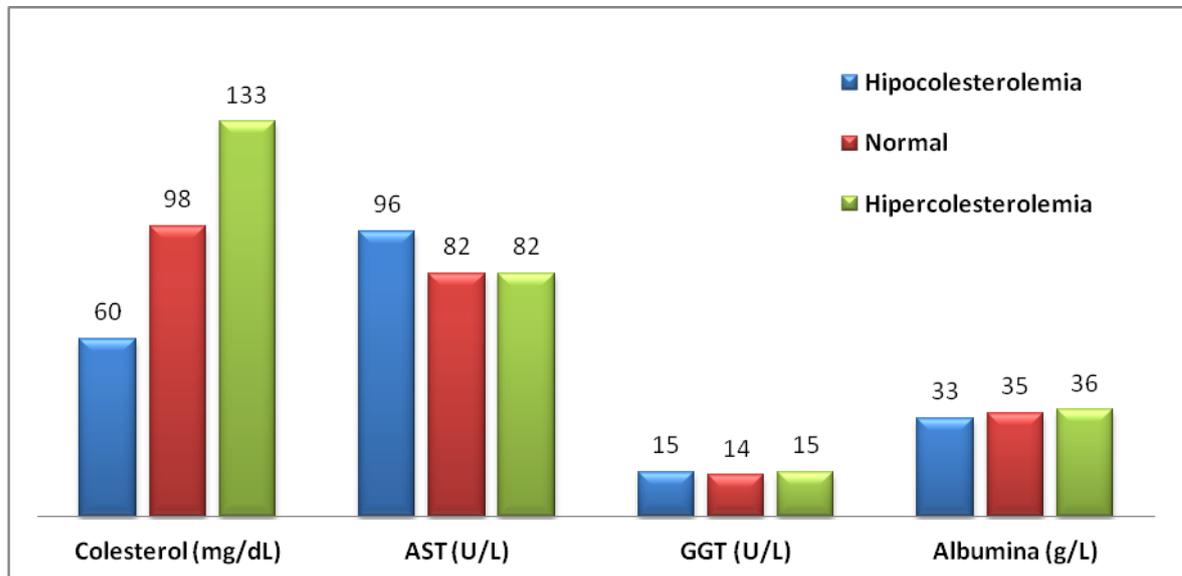


FIGURA 11 – Valores médios das concentrações dos parâmetros de acordo com a classificação por colesterol total em 66 amostras no grupo pós-parto.

As médias de GGT no soro nos diferentes níveis de colesterol total no período pós-parto podem ser observadas na Figura 11. O valor de referência descrito por Kaneko (2008) está entre 6,1 a 17,4 U/L. No presente trabalho, os valores médios de GGT ficaram dentro do intervalo limite sugerido, tanto para primíparas quanto para multíparas (TABELA 13).

Outra enzima importante para identificar uma potencial infiltração gordurosa é a AST. Este levantamento mostrou que as médias para esse grupo amostrado no pós-parto também estão dentro dos limiares sugeridos como ideal (78-132 U/L) tanto para primíparas quanto para multíparas (TABELA 13). Esse resultado nos indica, segundo os limiares propostos por Kaneko (2008) e amplamente utilizados por laboratórios clínicos, que os animais amostrados neste estudo não apresentam comprometimento hepático, já que altas concentrações da atividade sérica da GGT é um dos indicadores mais confiáveis de lesão hepática e obstrução biliar em grandes animais (STOCKHAM e SCOTT, 2011) e altos níveis da AST também são um indicador do funcionamento hepático comprometido (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

Kalaitzakis et al. (2010) analisaram os níveis séricos de GGT e AST e os associaram com infiltração gordurosa de acordo com o exame clínico - patológico em vacas leiteiras saudáveis e com hipocalcemia. Esses autores verificaram que animais considerados como saudáveis, apresentavam uma concentração de 19,04 U/L para GGT e de 46,8 U/L para AST. Em animais com infiltração gordurosa leve no fígado, as concentrações foram maiores, 19,3 U/L para GGT e 83,9 U/L para AST. E finalmente em animais com infiltração gordurosa moderada, as concentrações médias observadas foram de 21,4 U/L para GGT e 241 U/L de AST.

A albumina é outro parâmetro que está relacionado com a função hepática, já que a concentração desse analito é afetada pela redução na capacidade do fígado em sintetizá-la devido ao acúmulo de gordura que este órgão vem sofrendo no início da lactação, ou seja, baixas concentrações desse metabólito estão associadas com fígado gorduroso (CONTRERAS, 2000). O nível sérico recomendado para albumina é de 30,3 a 35,5 g/L (KANEKO, 2008). O presente trabalho encontrou valores médios de 34,0 g/L para o grupo pós-parto analisado (TABELA 12). Ao dicotomizar os resultados por ordem de lactação, tanto primíparas quanto multíparas (TABELA 13) ainda estavam dentro da faixa considerada ideal (34,13 g/L e 34,47 g/L, respectivamente).

TABELA 12 – Valores médios e desvios-padrão dos parâmetros sanguíneos avaliados no grupo pós-parto (n=66).

Metabólito sanguíneo	Média ± DP
Aspartato aminotransferase (U/L)	86,9 ± 22,7
Colesterol (mg/dL)	96,6 ± 27,3
Gama-glutamilttransferase (U/L)	14,5 ± 1,91
Albumina (g/L)	34,0 ± 0,54
AGNE:colesterol	0,25 ± 0,09

Fonte: Dados do autor.

O presente estudo encontrou uma média de 96,6 mg/dL de níveis de colesterol, sendo que primíparas tinham concentrações um pouco maiores comparado as multíparas, mas igualmente dentro do intervalo ideal (97,7 mg/dL e 96,7 mg/dL, respectivamente).

TABELA 13 – Valores médios dos parâmetros sanguíneos do grupo pós-parto (primíparas e múltiparas) de acordo com a classificação para colesterol total (n=66).

Parâmetros	Níveis de Colesterol	Primíparas	Múltiparas
Colesterol (mg/dL)	Hipocolesterolemia ¹	66,2	56,3
	Normal ²	97,3	98,9
	Hipercolesterolemia ³	129,6	134,8
	Média Geral	97,7	96,7
Aspartato aminotransferase (U/L)	Hipocolesterolemia	125,0	78,6
	Normal	77,5	85,2
	Hipercolesterolemia	69,0	89,3
	Média Geral	90,5	84,4
Gama glutamiltransferase (U/L)	Hipocolesterolemia	15,3	14,4
	Normal	14,0	13,5
	Hipercolesterolemia	11,9	16,9
	Média Geral	13,7	14,9
Albumina (g/L)	Hipocolesterolemia	33,4	32,6
	Normal	35,0	34,4
	Hipercolesterolemia	34,0	36,4
	Média Geral	34,1	34,5

Fonte: Dados do Autor.

¹ Hipocolesterolemia < 80 mg/dL de colesterol

² Normal 80 - 120 mg/dL de colesterol

³ Hipercolesterolemia > 120 mg/dL de colesterol

A lipidose hepática também pode ser avaliada de acordo com o índice AGNE:Colesterol. Essa razão é um bom indicador visto que idealmente a concentração de AGNE deveria ser limitada e a concentração de colesterol indica capacidade do fígado em exportar triacilgliceróis em excesso. Segundo Anderson e Rings (2009), o índice abaixo de 0,3 em animais recém-paridos é ideal para que vacas tenham um menor risco de desenvolver doenças metabólicas.

A avaliação dos animais observados no grupo pós-parto encontrou um índice de AGNE:Colesterol de 0,25 (TABELA 12). Esse resultado está dentro do limite estabelecido indicando que a maioria dos animais amostrados não apresentava desordem metabólica.

Após a avaliação de todos os resultados bioquímicos, uma pequena fração dos animais amostrados apresentou baixos valores de colesterol total, baixos valores de albumina e altos valores de GGT e AST, sugerindo uma pequena incidência de disfunção hepática.

4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos para o grupo pré-parto vacas leiteiras com concentrações séricas de AGNE acima do limiar sugerido, produziram menos leite comparado com animais dentro do padrão sugerido. O AGNE é o melhor indicativo de perda na produção leiteira para o grupo pré-parto, visto sua concentração ser maior nesse período. Em geral, animais amostrados no grupo pré-parto apresentaram boas condições corporais, com pouca mobilização de reservas corporais e valores ideais de AST e colesterol total.

Os resultados obtidos para o grupo pós-parto indicaram que os metabólitos sanguíneos AGNE e BHBA são positivamente associados. Animais com maiores níveis séricos de BHBA e hipercolesterolêmicos produziram mais leite do que animais com valores considerados ideais.

Ao analisar os efeitos dos metabólitos sobre a produção leiteira separando primíparas de múltiparas o resultado foi distinto. Para primíparas, os valores de AGNE e BHBA não estavam correlacionados com produção de leite corrigida à idade adulta e aos 305 dias, havendo somente uma forte associação entre níveis altos de colesterol e maior produtividade leiteira.

Para a categoria de múltiparas no pós-parto, animais com altas concentrações de AGNE tiveram um decréscimo de leite, porém animais com concentrações mais baixas de BHBA e concentrações baixas de colesterol produziram menos leite comparado com os demais.

A metodologia de análise de concentração de cetonas pelo método das tiras-teste apresentou uma correlação alta com os níveis de BHBA medidos no sangue de forma bioquímica.

Os resultados sugerem que o grupo de animais no pós-parto amostrados para avaliação da função hepática não apresentaram algum tipo de lesão mais grave que poderia comprometer as funções desse órgão, tendo em vista que as concentrações de todos os metabólitos analisados como indicadores do metabolismo hepático estavam dentro do intervalo considerado normal.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, D.E., RINGS, M. **Current veterinary therapy: food animal practice**. St.Louis, MO: Saunders Elsevier. IN: PENN STATE EXTENSION, 2009.
- AMETAJ, B. N., et al. Acute phase response indicates inflammatory conditions may play a role in the pathogenesis of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85 (suppl. 1):189, 2002 (Abstr.)
- AMETAJ, B.N. A new understanding of the causes of fatty liver in dairy cows. **Advances in Dairy Technology**, v.17, p.97-112, 2005.
- BAIRD, D.G. Primary ketosis in the high producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.1-10, 1982.
- BEAM, S.W., BUTLER, W.R. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.121-131, 1998.
- BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2820-2833, 1995.
- BERNABUCCI, U., et al. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2017-2026, 2005.
- BOBE, G., B. N. et al. Potential treatment of fatty liver with 14-day subcutaneous injections of glucagon **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3138–3147, 2003.
- BOBE, G., YOUNG, J.W., BEITZ, D.C. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.3105-3124, 2004.
- BORGES, A. M., et al. Concentração plasmática de colesterol total e lipoproteína de alta densidade em novilhas mestiças doadoras de embriões tratadas com somatotropina bovina recombinante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 5, 2001.
- BRICKNER, A.E., RASTANI, R. R., GRUMMER, R.R. Technical Note: Effect of sampling protocol on plasma non esterified fatty acid concentration in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2219–2222, 2007.

BRUSS, M.L. Lipids and ketones. IN: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.), In: **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, p.81-115, 2008.

BUTLER, W.R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, v.83, p.211-218, 2003.

CAMERON, R. E. B., et al. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.132–139, 1998.

CEBRA, C. K., F. B. GERRY, D. M. GETZY, M. J. FETTMAN. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle: Retrospective study of serum biochemical abnormalities. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.11, p.231-237, 1997.

ČEJNA, V., CHLÁDEK, G. The importance of monitoring changes in milk fat to milk protein ratio in Holstein cows during lactation. **Journal of Central European Agriculture**. v.6, p.539-546, 2005.

CHAPINAL, N.; et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.4897–4903, 2011.

CHUNG, Y.M. et al. Effects of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p.2744-2758, 2008.

CONTRERAS, P. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (Eds). **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, 2000.

COSTA, S.G. **Perfil lipídico de vacas holandesas variedade HPB, em diferentes fases da gestação**. 57p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, 1991.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2259–2273, 1999.

DUFFIELD, T. F., K. D. LISSEMORE, B. W. MCBRIDE, K. E. LESLIE. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.571–580, 2009.

DUFFIELD, T.F., LEBLANC, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. In: **Southwest Nutrition and Management Conference**, 24, Arizona, p.106-114, 2009.

EDMONSON, A. J.; et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.72, p. 68–81, 1989.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **The statistic division: Dairy cattle in the word**. Disponível em <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 19 out. 2013.

FRIGOTTO, T.A. **Monitoramento clínico e produtivo de vacas leiteiras no período de transição**. 61p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

GERLOFF, B. J. Dry cow management for the prevention of ketosis and fatty liver in dairy cows. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v.16, p.283–292, 2000.

GOFF, J. P., HORST, E R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1260–1268, 1997.

GONZÁLEZ, F.H.D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivo da Faculdade de Veterinária – UFRGS**, Porto Alegre, v.25, 1997.

GONZÁLEZ, F.H.D., ROCHA, J.A.R. Variation in the metabolic profile of Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arquivo da Faculdade de Veterinária – UFRGS**, v.26, p.52-64, 1998.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. Ed, Editora da UFRGS, Porto Alegre, 2006, 358p.

GONZALEZ F.H.D. **Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes**. In: GONZALEZ, F.H.D., BARCELLOS, J.O., OSPINA, H., RIBEIRO, L.A.O. (Eds). Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

GONZALEZ, F.D., et al. Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. **Journal of Veterinary Science**, v.12, p.251–255, 2011.

GRUM, D. E., et al. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1850–1864, 1996.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2820-2833, 1995.

GUO, J., PETERS, R. R., KOHN, R. A. Effect of a transition diet on production performance and metabolism in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5247–5258, 2007.

HAMMON, D. S., et al. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.113, p.21–29, 2006.

HAYIRLI, A., BERTICS, S. J., GRUMMER, R. R. Effects of slowrelease insulin on production, liver triglyceride and metabolic profiles of Holsteins in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2180–2191, 2002.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v.16, p.215–230, 2000.

HEUER, C., et al. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.295–304, 1998.

HOFFMAN, W.E., SOLTER, P.F. Diagnostic enzymology of domestic animals. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L.(eds.). In: **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: academic press, p.350-373, 2008.

HOLTENIUS P. Plasma lipids in normal cows around partus and in cows with metabolic disorders with and without fatty liver. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.30, p.441–445, 1989.

HUZZEY, J.M., et al. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risks for metritis. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3220-3233, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 19 out. 2013.

IWERSEN, M., et al. Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.2618-2624, 2009.

KANEENE, J.B. et al. The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v.31, p.59-72, 1997.

KALAITZAKIS, E., et al. Clinicopathological evaluation of downer dairy cows with fatty liver. **Canadian Veterinary Journal**, v.51, p.615–622, 2010.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th ed., Elsevier Academic Press, San Diego- California, 2008.

KANEKO, J.J, HARVEY, J.W, BRUSS, M. **Appendices**. In: KANEKO, J.J, HARVEY, J.W, BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th ed. San Diego: Academic press, 2008.

KATOH, N. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.64, p.293–307, 2002.

KEHRLI, M.E., NONNECKE, B.J., ROTH, J.A. Alterations in bovine PMN function during the periparturient period. **American Journal of Veterinary Research**, v.50, p.207-214, 1989.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2009. 216p.

LEBLANC, S. Monitoring programs for transition dairy cows. **XXIV World Buiatrics Congress**, Nice – França, 2006.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p. s29-s35, 2010.

LEHNINGER, A.L. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 4 ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

LIU, P.; et al. Bioactivity evaluation of certain hepatic enzymes in blood plasma and milk of Holstein cows. **Pakistan Veterinary Journal**, p.601-604, 2012.

MANCIO, A.B. **Plano nutricional, gonadotrofina coriônica humana (Hcg) e amamentação na função reprodutiva e metabólica de fêmeas bovinas**. 1994. 158p. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MANUAL MERCK DE VETERINÁRIA: **Um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. Clarence M. Fraser, editor. - 7. ed. -- São Paulo: Roca, 1996. cap 7 – Distúrbios metabólicos.

MARGOLLES, E. Metabolitos sanguíneos em vacas altas produtoras durante la gestación-lactancia em las condiciones de cuba y su relacion com transtornos del metabolismo. **Revista Cubana de Ciencia Veterinaria**, p.221-230, 1983.

MCART, J.A.A., NYDAM, D.V., OETZEL, G.R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.5056-5066, 2012.

MACLACHLAN, N.J., CULLEN, J.M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: CARLTON, W.W. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2. ed. 672p. Porto Alegre: Artmed, cap.2. p.95-131, 1998.

MARQUEZ, A. C.; RADEMACHER, M. A. Indicadores bioquímicos sanguíneos de los desequilibrios energéticos en ganado lechero. In: **Memórias del Seminário Internacional en Reproducción y Metabolismo de la vaca lechera**. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Manizales, Columbia, 1999.

MUKHERJEE, S., GOLLAN, J.L. Assessment of liver function. In: **Sherlock's diseases of the liver and biliary system** – Edited by Dooley, J.S. et al. Wiley – Blackwell – 12 th ed., 2002.

NDLOVU, T., et al. Assessing the nutritional status of beef cattle: current practices and future prospects. **African Journal of Biotechnology**, v.6, p.2727-2734, 2007.

OLIVEIRA, F.N. **Concentração sanguínea de progesterona e metabólicos lipídicos em novilhas tratadas com norgestomet e valerato de estradiol (syncro-matib) e submetidas a dieta hiperlipidêmica**. 75p. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Viçosa – UFV, 1995.

OSPINA, P. A., et al. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.3595–3601, 2010a.

OSPINA, P. A., et al. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern united states. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1596–1603, 2010b.

OSPINA, P.A., et al. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and disease

incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.3595–3601, 2010c.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v.20, p.651–674, 2004.

PAYNE, J.M., et al. The use of metabolic test in dairy herds. **Veterinary Record**, v.87, p.150-157, 1970.

QUIROZ-ROCHA, G.F., et al. Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. **Canadian Veterinarian Journal**, v.50, p.383-388, 2009.

RASTANI, R.R., et al. Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: milk production, energy balance, and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1004-1014, 2005.

RIBEIRO, E.S., et al. Effect of postpartum diseases on reproduction of grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94 (e-suppl. 1), p.63, 2011.

ROCHE, J.R., et al. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health and welfare. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.5769-5801, 2009.

ROWLANDS, G.J., LITTLE, W., KITCHENHAM, B.A. Relationships between blood composition and fertility in dairy cows – A fields study. **Journal of Dairy Research**, v.44, p.1-7, 1977.

RUKKWAMSUK, T., WENSING, T., GEELLEN, M. J. H. Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2904–2911, 1998.

SANTOS, J.E.P. Distúrbios Metabólicos. In: Berchielli, T.T, Pires, A.V., Oliveira, G.S. **Nutrição de Ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2006. p.423-495.

SCALIA, D., et al. In vitro effects of nonesterified fatty acids on bovine neutrophils oxidative burst and viability. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.147-154, 2006.

SCHWAH, I. W., SCHNLRZ, L. H.. Relationship of insulin concentration to blood metabolites in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.59,1976.

SEIFI, H.A., MIRSHOKRAIE, P., FARZANEH, N. Metabolic profile test in Iran: variations of metabolites around parturition at dairy cattle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.44, (Suppl 1):P1213, 2003.

SEVINC. M., et al. The clinical-chemical parameters, serum lipoproteins and fatty infiltration of the liver in ketotic cows. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Science**, v.22, p.443–447, 1998.

SIMÕES J., MADUREIRA, M., DIAS DA SILVA, A. Prevenção das patologias metabólicas de alta produção. **Veterinária Técnica**, v.11, p.20-30, 2006.

SMITH, B.P. **Large animal internal medicine**. 4a ed. St. Louis, Missouri-US: Mosby- Elsevier, 2009, 1821p.

SOUZA, R.M. **Avaliação da função hepática e do lipidograma no período puerperal e pós-puerperal e suas inter-relações com os distúrbios reprodutivos de fêmeas bovinas da raça holandesa, criadas no Estado de São Paulo**. 196fs. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2005.

STEEN, A. Field study of dairy cows with reduced appetite in early lactation: clinical examinations, blood and rumen fluid analyses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.42, p.219-228, 2001.

STOJEVIC, Z. et al. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period, **Veterinarski Archives**, v.75, p.67-73, 2005.

STOCKDALE, C. R. Body condition at calving and the performance of dairy cows in early lactation under Australian conditions: A review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.41, p.823–839, 2001.

STOCKHAM, S.L., SCOTT, M.A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Gaunabara Kogan, 2011, 729 p.

SUTHAR, V.S., et al. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.2925–2938, 2013.

TENNANT, B.C., CENTER, S.A. Hepatic Function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.), **Clinical Biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic press, p.379-412, cap. 13, 2008.

TONI, F., et al. Early lactation ratio of fat and protein percentage in milk is associated with health, milk production, and survival. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.1772-1783, 2011.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 476p. 1994.

VEIGA, I.R.F.M. **Efeito de dietas aniônicas adicionadas de cromo e metionina no período de transição de vacas leiteiras sobre perfil metabólico e hormonal e produção de leite**. 124fs. Tese (Doutorado). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013 (dados ainda não publicados).

WALSH, R.B, et al. Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**; v.90, p.315–324, 2007.

WILTBANK, M, et al. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v.65, p.17-29, 2006.

WILDMAN E.E., et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to standard production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.495-501, 1982.

WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H. ET AL. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2000. p.9-22.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento do comportamento dos metabólitos sanguíneos envolvidos com o metabolismo energético dos animais durante o período de transição é uma ferramenta importante para a pecuária leiteira, devendo se tornar uma prática adotada por técnico e produtores. Quanto mais resultados forem obtidos, mais conhecimentos teremos sobre esse período ainda tão pouco explorado no Brasil e igualmente importante para produção leiteira.

A utilização do monitoramento do perfil metabólico proporciona aos criadores adotar medidas de manejo no período periparturiente, de modo a evitar a intensificação do balanço energético negativo e com isso, minimizar a incidência de desordens metabólicas e consequente queda na produção leiteira e atrasos na reprodução.

Os metabólitos sanguíneos e as enzimas hepáticas permitem um diagnóstico das condições gerais dos animais, principalmente em relação aos riscos de doenças no pré e pós-parto e também sobre a produção leiteira.

A partir desse trabalho, sugere-se realizar o monitoramento bioquímico das concentrações circulantes de analitos sanguíneos e de enzimas hepáticas para a avaliação da saúde dos animais. Outra sugestão é tornar uma prática entre produtores e técnicos à utilização de tiras-teste para medição de cetonas na própria fazenda, e com isso realizar um diagnóstico mais precoce de cetose.