



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMIÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DOUTORADO EM CIENCIA ANIMAL

CARLOS MAGNO BEZERRA DE AZEVEDO SILVA

**HIPOCALCEMIA: INTER-RELAÇÃO COM AS ESPÉCIES REATIVAS DO
OXIGÊNIO (ERO) E SUA INTERFERÊNCIA NO PERFIL METABÓLICO E
NA SAÚDE DE VACAS GIROLANDO**

MOSSORÓ-RN

2021

CARLOS MAGNO BEZERRA DE AZEVEDO SILVA

**HIPOCALCEMIA: INTER-RELAÇÃO COM AS ESPÉCIES REATIVAS DO
OXIGÊNIO (ERO) E SUA INTERFERÊNCIA NO PERFIL METABÓLICO E
NA SAÚDE DE VACAS GIROLANDO**

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semiárido, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Alves Barrêto Júnior (UFERSA).

Coorientador: Prof. Dr. Jefferson Filgueira Alcindo (UFJF).

MOSSORÓ-RN

2021

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

S586h Silva, Carlos Magno Bezerra de Azevedo.
HIPOCALCEMIA: INTER-RELAÇÃO COM AS ESPÉCIES
REATIVAS DO OXIGÊNIO (ERO) E SUA INTERFERÊNCIA NO
PERFIL METABÓLICO E NA SAÚDE DE VACAS GIROLANDO /
Carlos Magno Bezerra de Azevedo Silva. - 2021.
64 f. : il.

Orientador: Raimundo Alves Barrêto Júnior.
Coorientador: Jefferson Filgueira Alcindo.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal, 2021.

1. Bovinocultura leiteira. 2. Calcemia. 3.
Espécies reativas de oxigênio. 4. Metabolismo. 5.
Estresse metabólico. I. Barrêto Júnior, Raimundo
Alves, orient. II. Alcindo, Jefferson Filgueira,
co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

CARLOS MAGNO BEZERRA DE AZEVEDO SILVA

HIPOCALCEMIA: INTER-RELAÇÃO COM AS ESPÉCIES REATIVAS DO OXIGÊNIO (ERO) E SUA INTERFERÊNCIA NO PERFIL METABÓLICO E NA SAÚDE DE VACAS GIROLANDO

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semiárido, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal.

Aprovada em: 09/12/2021.

BANCA EXAMINADORA

4f7dd1c0978cc97d

Assinado digitalmente por 4f7dd1c0978cc97d
DN: CN=4f7dd1c0978cc97d
Razão: Eu sou o autor deste documento
Localização: sua localização de assinatura aqui
Data: 2021.12.13 08:58:31-03'00'
Foxit Reader Versão: 10.1.1

Prof. Dr. Raimundo Alves Barrêto Júnior (UFERSA)
Presidente e Orientador

Humberto de Mello Brandão
Humberto de Mello Brandão (14 de December de 2021 08:23 GMT-3)

Dr. Humberto de Mello Brandão (Embrapa Gado de Leite)
Membro Examinador

Jefferson Alcindo

Prof. Dr. Jefferson Filgueira Alcindo (UFJF)
Membro Examinador

REJANE DOS SANTOS SOUSA:01146713460

Assinado de forma digital por REJANE DOS SANTOS SOUSA:01146713460
Dados: 2021.12.13 11:05:58 -03'00'

Profa. Dra. Rejane dos Santos Sousa (UNIFESSPA)
Membro Examinador

WIRTON PEIXOTO COSTA:02866148479

Assinado de forma digital por WIRTON PEIXOTO COSTA:02866148479
Dados: 2021.12.13 15:25:46 -03'00'

Prof. Dr. Wirton Peixoto Costa (UFERSA)
Membro Examinador

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CARLOS MAGNO BEZERRA DE AZEVEDO SILVA nasceu na cidade de Campina Grande-PB, vivenciando o ensino agrícola desde o final do ensino fundamental, cursado na Escola Agrícola de Jundiaí (EAJ/UFRN), entre os anos de 1997 e 1998. De onde seguiu ao ensino médio, junto ao Colégio Agrícola Vidal de Negreiros (CAVN/UFPB), sendo concluinte do curso Técnico em Agropecuária (2002.2), profissão que exerceu no setor privado (Tapuio Agropecuária LTDA.), até retomar os estudos, ingressando no curso de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos-PB (2005.1), sendo concluinte do ano/semestre 2009.2. Realizou estágio final junto a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus Botucatu- SP, retornando a Paraíba, ingressou no ano de Programa de Aperfeiçoamento em Medicina Veterinária da própria UFCG (2010.1), onde, participou de uma série de reivindicações e mobilizações, culminando na primeira greve dos residentes do HV/CSTR/UFCG, que reivindicavam melhorias nas limitações impostas ao programa (corte da bolsa, ausência de horários para estudos e discussões de casos e material didático próprio para os residentes), até que em abril de 2010, desliga-se do programa. No mesmo ano/semestre (2010.1) foi aprovado em dois concursos públicos para Médico Veterinário, sendo convocado pelo Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano (IF Sertão PE), posse ocorrida em 23 de agosto de 2010, para exercício junto ao Campus Salgueiro- PE. Após dois anos, retorna ao CSTR, junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFCG, onde cursou o mestrado (2012), obtendo o título de Mestre em Medicina Veterinária no ano de 2014, sob orientação da Profa. Dra. Sara Vilar Dantas Simões. Em abril de 2013, foi redistribuído para a Universidade Federal da Paraíba, lotado no Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA), onde está sediado o CAVN, marcando assim, após 10 anos, seu retorno à instituição, agora como servidor, de onde afastou-se para participação no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Campus de Mossoró- RN, desde 2018, tendo desenvolvido, sob orientação do Prof. Dr. Raimundo Alves Barreto Júnior, seu projeto de doutorado junto a Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora- MG, no Campo Experimental José Henrique Brushi, Coronel Pacheco- MG.

Àqueles e àquelas que jamais me faltaram, responsáveis pelo o que eu fui, pelo que eu sou e pelo que me tornarei, dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu amor, esposa, amiga, mãe, minha companheira de aventuras e de sonhos, Geane Ribeiro de Aguiar Azevedo, sem você eu jamais chegaria até aqui, muito obrigado por existir em minha vida (por suportar minha alegria, minha tristeza, minha ira e minha calma). Perdão pelos momentos de ausência durante a construção deste trabalho.

À minha mãe. Professora Dinalva. Exemplo de perseverança, lição de resiliência e superação. Ser filho seu é uma oportunidade. Muito obrigado por todos os esforços, me perdoe as falhas e as ausências. Hoje, como pai, entendo que preparamos os filhos para voar, a senhora me deu asas, muito obrigado.

Aos meus filhos Miguel e Yasmin. Iniciei esta redação ouvindo Miguel sorrindo em frente à TV. Yasmin ainda se encontrava no conforto do útero de Geane, com 37 semanas. Por vocês busco, acima de tudo, ser um bom ser humano, não é fácil. O mundo precisa de vocês, torne-o melhor, assim como vocês me tornam. Talvez ainda não saibam, mas a força é de vocês. Em mim e em sua mãe, apenas o desejo de guia-los para a felicidade.

Ao meu pai João Alexandre da Silva. A paternidade me fez enxergar nossa curta convivência com outros olhos, dar importância a cada canção de ninar, troca de fraudas, alimentação e sorriso, obrigado. Sua ausência em alguns dos momentos desta jornada está perdoada. O senhor terá um filho doutor, mais do que isso, tem um filho feliz, obrigado!

À minha família. Meus avós José de Azevedo Cruz e Julita Bezerra de Azevedo (*in memoriam*), alicerces de todos nós. Aos meus irmãos Freud Sócrates Azevedo da Silva, José de Azevedo Cruz Neto, Altamar Douglas Bezerra de Azevedo Silva e Pollyana Bezerra de Azevedo Ribeiro, ainda vejo em vocês aquelas crianças cheias de medos, sonhos e determinação, nunca esqueçamos de onde saímos e de quem somos, se cheguei até aqui, vocês chegaram comigo. Aos meus tios: Carlos Alberto Bezerra de Azevedo, dos almoços de domingo, sempre em minha memória, e José Itamar Bezerra de Azevedo (*in memoriam*), de quem carrego aparência e guardo lembranças carinhosas.

Ao meu amigo Evaristo Dourado Santos. Sua partida inesperada doeu e ainda dói, mas encontro nas suas lembranças apenas boas recordações e sorrisos. O homem que sabia de tudo, de boa prosa, das apostas e das “resenhas”. Sei que tinha em você um amigo de verdade, sei que sabias que a recíproca era verdadeira, nos reencontraremos um dia e ouvirei você dizer “Ô retado, Azevedo”.

Aos amigos que a medicina veterinária me trouxe, com os quais possuo convivência diária, embora digital, possuo o calor de amizade verdadeira, contem sempre comigo.

Ao meu co-orientador e amigo Jefferson Filgueira Alcindo. Possuímos maturidade para dividir os papéis. Obrigado por todos os esforços, pela ética e pela orientação nos momentos mais difíceis, você foi um facilitador, abridor de portas, construtor de pontes, você é o cara.

Ao pesquisador Humberto de Mello Brandão (EMBRAPA), homem de fé, de família, com nível de dedicação ímpar, exemplo de profissional, com o qual é possível discutir, discordar e, muito frequentemente, aprender.

Ao meu orientador professor Barreto. Sua passagem em minha vida significou muito mais que uma orientação acadêmica. Agradeço pela oportunidade de crescimento profissional e, mais do que isso, pessoal.

Ao amigo Francisco Jocelho Alexandre de Souza. Foram experiências em tanto. Acredito que aprendemos muito um com o outro, obrigado pela paciência, você foi um grande companheiro.

Aos demais companheiros de Laboratório, pela divisão de sonhos e experiências.

Aos colaboradores da Embrapa Gado de Leite que contribuíram de alguma maneira com o desenvolvimento do nosso projeto. Foi uma grande satisfação poder fazer parte, mesmo que temporariamente, desta família.

Aos estagiários da Embrapa Gado de Leite, os Embrapianos. Conviver com vocês me fez voltar no tempo. Ali, misturavam-se vários sonhos e expectativas, de graduandos à doutorandos, tem certeza que vocês darão muito orgulho às suas famílias e instituições, o Brasil precisa de vocês.

À banca examinadora pela disponibilidade e compromisso de aperfeiçoar este trabalho.

Ao Centro de Ciência Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), que nunca apresentou obstáculo ao meu afastamento, pelo contrário, incentivou. Espero retornar e cumprir o papel profissional de buscarmos o melhor para o nosso Campus e para nossa Universidade, contem comigo.

À Universidade Federal do Semiárido (UFERSA) casa que aprendi a amar e que carregarei para sempre em minha formação.

À Embrapa Gado de Leite em sua sede, Juiz de Fora-MG, e seu Campo Experimental, Coronel Pacheco-MG, pelo profissionalismo e disponibilidade de material e de pessoal. Sou testemunha da importância desta instituição para a pesquisa e para a agropecuária nacional.

Às pessoas de todos os laboratórios e instituições parceiras, públicas ou privadas, que contribuíram com este trabalho.

À equipe da Fazenda Ingá, Bom Jesus-RN, em momentos diferentes, Rebertt, Fabrício e Matheus, que souberam, na minha necessária ausência, administrar com zelo e afinho. Dividimos um sonho e colheremos, juntos, os frutos.

Aos profissionais responsáveis por minha educação formal e informal. Cada um que de alguma forma possibilitou minha chegada até aqui. Da pré-escola ao doutorado. Do (a) professor (a), pelo empenho, paciência e transmissão de conhecimento; ao agente de serviços gerais, que propiciou o ambiente mais hígido possível.

Às matrizes leiteiras. Razão pela qual estamos todos aqui. Que a humanidade trate os animais com o respeito e paixão necessários.

Ao bom Deus que me faz instrumento da Sua graça. Não existe acaso, quando há fé.

Ninguém é suficientemente perfeito, que não possa aprender com o outro e, ninguém é totalmente destituído de valores que não possa ensinar algo ao seu irmão.

(São Francisco de Assis)

HIPOCALCEMIA: INTER-RELAÇÃO COM AS ESPÉCIES REATIVAS DO OXIGÊNIO (ERO) E SUA INTERFERÊNCIA NO PERFIL METABÓLICO E NA SAÚDE DE VACAS GIROLANDO

Silva, Carlos Magno Bezerra de Azevedo Silva. Hipocalcemia: inter-relação com as espécies reativas do oxigênio (ero) e sua interferência no perfil metabólico e na saúde de vacas Girolando. 2021. 59f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró-RN, Brasil, 2021.

RESUMO: Objetivou-se avaliar as concentrações de cálcio, sua inter-relação com o estresse oxidativo e as alterações sobre o metabolismo, parâmetros clínicos e a composição do leite durante o período de transição de vacas leiteiras Girolando. As coletas de sangue foram realizadas por meio de punção da veia coccígea, distribuídas em três momentos: 21 dias anteriores a previsão de parto (M1), 0-12 horas após o parto (M2) e sete dias após o parto (M3). As vacas foram divididas em dois grupos: T1, normocalcêmico (n=8); e T2, hipocalcêmico (n=7). O cálcio total (tCa) foi determinado no soro, sendo o Ca ionizado (iCa) obtido através de cálculos. Determinou-se o estresse oxidativo a partir da capacidade antioxidante total (CAT), da capacidade oxidante total (COT) e da peroxidação lipídica. O balanço energético foi estabelecido através do beta-hidroxibutirato (BHB) e da glicose; o metabolismo proteico foi determinado através da proteína total e da albumina (sangue), além da ureia (leite); o *status* metabólico mineral, resultou das avaliações do Ca, Mg, Na e Cl. A sanidade animal foi determinada através de exames clínicos, sendo aferidos: temperatura retal (TR), frequências cardíacas (FC) e respiratórias (FR), exame das mucosas, movimentos ruminais (MR), avaliação do escore de condição corporal (ECC) e estado geral de saúde (EGS). Amostras de leite foram coletadas para determinação do teor de gordura, proteína, lactose, extrato seco (ES), extrato seco desengordurado (ESD), ureia, contagem de células somáticas (CCS) e perfil da lactose (tamanho e potencial zeta). Todos os animais apresentaram redução das médias de cálcio (tCa e iCa) ao parto, evidenciando efeito de momento ($P<0,05$). Na avaliação do estresse oxidativo, a CAT sofreu influência do nível de cálcio, sugerindo uma maior exigência da ação antioxidante, mesmo efeito verificado no marcador de peroxidação lipídica (TBARS), onde uma menor concentração sérica de macro mineral, elevou os níveis do marcador, evidenciando os efeitos do estresse oxidativo, mesmo frente uma maior ação antioxidante. O BHB apresentou alteração (T2/M1), sendo estabelecido o diagnóstico de cetose subclínica sem, no entanto, apresentar efeito da calcemia ou do momento. O Mg apresentou efeito de momento ($P<0,05$), tendo o parto exercido influência para sua elevação. O cloro apresentou efeito da calcemia e de momento, contudo, assim como Na e K, apresentou médias compatíveis com seus valores de referência. A avaliação do pH apresentou-se dentro dos limites fisiológicos, sofrendo efeito de momento ($P<0,05$), com os animais experimentando médias mais elevadas ao parto. A FC variou acima dos padrões fisiológicos da espécie na maioria dos momentos, todavia, em detrimento desta observação, devido a manutenção dos padrões fisiológicos dos demais parâmetros aferidos, estima-se que os animais mantiveram a homeostase. Quanto as características da secreção láctea, não se verificou efeito da calcemia ou do momento ($P>0,05$). Conclui-se que o cálcio apresenta efeito sobre o equilíbrio das espécies reativas de oxigênio e os mecanismos de bloqueio (antioxidantes), entretanto, a hipocalcemia subclínica evidenciada durante o período de transição não apresentou

alterações significativas sobre os marcadores metabólicos avaliados, bem como, sobre seus parâmetros clínicos e na composição do leite de vacas Girolando.

Palavras-chave: bovinocultura leiteira, estresse metabólico, calcemia, espécies reativas de oxigênio.

ABSTRACT: This study aimed to evaluate calcium concentrations, their interrelationship with oxidative stress and changes in metabolism, clinical parameters and milk composition during the transition period in Girolando dairy cows. Blood collections were performed through puncture of the coccygeal vein, distributed in three moments: 21 days before the expected delivery (M1), 0-12 hours after delivery (M2) and seven days after delivery (M3). Cows were divided into two groups: T1, normocalcemic (n=8); and T2, hypocalcemic (n=7). Total calcium (tCa) was determined in serum, and ionized Ca (iCa) was obtained through calculations. Oxidative stress was determined from the total antioxidant capacity (TAC), the total oxidizing capacity (TOC) and the lipid peroxidation. Energy balance was established through beta-hydroxybutyrate (BHB) and glucose; protein metabolism was determined through total protein and albumin (blood), in addition to urea (milk); the mineral metabolic status resulted from the evaluations of Ca, Mg, Na and Cl. Animal health was determined through clinical examinations, being measured: rectal temperature (RT), heart (HR) and respiratory rates (RR), mucosal examination, ruminal contractions (RC), evaluation of the body condition score (BCS) and general health status (GHS). Milk samples were collected to determine the content of fat, protein, lactose, dry extract (DE), defatted dry extract (DDE), urea, somatic cell count (SCC) and lactose profile (size and zeta potential). All animals showed a reduction in calcium means (tCa and iCa) at parturition, showing a moment effect ($P<0.05$). In the evaluation of oxidative stress, TAC was influenced by the level of calcium, suggesting a greater requirement for the antioxidant action, the same effect seen in the lipid peroxidation marker (TBARS), where a lower serum macromineral concentration increased the levels of the marker, evidencing the effects of oxidative stress, even in the face of a greater antioxidant action. The BHB showed changes (T2/M1), and the diagnosis of subclinical ketosis was established without, however, showing the effect of calcemia or timing. Mg had a moment effect ($P<0.05$), with parturition having an influence on its elevation. Chlorine had an effect of calcemia and timing, however, as well as Na and K, it had averages compatible with its reference values. The evaluation of pH was within physiological limits, suffering the effect of moment ($P<0.05$), with the animals experiencing higher means at parturition. The HR varied above the physiological standards of the species at most times, however, to the detriment of this observation, due to the maintenance of the physiological standards of the other parameters measured, it is estimated that the animals maintained homeostasis. As for the characteristics of milk secretion, there was no effect of calcemia or timing ($P>0.05$). It is concluded that calcium has an effect on the balance of reactive oxygen species and blocking mechanisms (antioxidants), however, the subclinical hypocalcemia evidenced during the transition period did not show significant changes on the evaluated metabolic markers, as well as on its clinical parameters and in the milk composition of Girolando cows.

Key words: dairy cattle, metabolic stress, calcemia, reactive oxygen species.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1 Níveis séricos de cálcio total e valores de pH sanguíneo entre os tratamentos (T1 e T2) e seus respectivos tempos (M1, M2 e M3). Para o tCa, a linha representa o limite máximo da hipocalcemia (8 mg/dL), segundo Goff (2008), onde colunas abaixo da linha representam hipocalcemia. Para o pH, a linha representa o limite máximo fisiológico recomendado por Radostits et al. (2008), variando entre 7,35 e 7,50, onde colunas acima da linha são indicativas de alcalose..... 42

Capítulo II

- Figura 1 Representação da glicose e do BHB como marcadores do status do metabolismo energético em vacas Girolando normocalcêmicas (T1) e hipocalcêmicas (T2), nos momentos pré-parto (M1), parto (M2) e pós-parto (M3). A linha representa os limites fisiológicos para cada variável, e as letras (Glicose) o efeito ($P < 0,05$) de momento..... 56

LISTA DE GRÁFICOS

Capítulo II

Gráfico 1	Níveis de lactato sanguíneo de vacas leiteiras Girolando, durante o período de transição, dos tratamentos T1 e T2, em seus respectivos momentos de coletas (M1, M2 e M3).....	53
Gráfico 2	Variação do escore de condição corporal estabelecido entre as matrizes Girolando dos tratamentos T1 e T2, em seus respectivos momentos de coletas (M1, M2 e M3).....	57
Gráfico 3	Características físico-químicas, CCS e perfil da caseína de leite produzido por vacas Girolando sob normocalcemia (T1) e hipocalcemia subclínica (T2) no sétimo dia pós parto (M3).....	58

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1	Concentrações séricas do Cálcio total (tCa), Cálcio iônico (iCa), Magnésio total (Mg), Proteína total (PT), Albumina (Alb) e pH durante os tempos pré-parto, momento do parto e pós-parto de vacas Girolando normocalcêmicas e hipocalcêmicas.....	41
Tabela 2	Avaliação da capacidade antioxidante total, do ácido úrico, capacidade oxidante total e da peroxidação lipídica de vacas Girolando em condição de normocalcemia ou hipocalcemia durante o período de transição.....	43
Tabela 3	Médias e desvios padrões dos parâmetros de desempenho avaliados entre os tratamentos normocalcêmicos (T1) e hipocalcêmicos (T2)	44

Capítulo II

Tabela 1	Marcadores biológicos para avaliação do status do metabolismo mineral em vacas Girolando normocalcêmicas (T1) e hipocalcêmicas (T2), nos momentos pré (M1), parto (M2) e pós-parto (M3)	52
Tabela 2	Marcadores biológicos para avaliação do status do metabolismo proteico em vacas Girolando normocalcêmicas (T1) e hipocalcêmicas (T2), nos momentos pré (M1), parto (M2) e pós-parto (M3)	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ác. Úrico	Ácido Úrico
BHB	Beta-Hidroxibutirato
tCa	Calcio Total
iCa	Cálcio Iônico
CAT CUPRAC	Capacidade Antioxidante Total - Capacidade Antioxidante Cúprica Redutora
CAT FRAP	Capacidade Antioxidante Total - Capacidade de Redução Férrica do Plasma
CAT-ATBS	Capacidade Antioxidante Total - Inibição do Cátion ABTS 2,2'-Azino-Bis (3-Ethylbenzthiazoline-6-Sulphonic Acid)
CAT-ATBS+HRP	Capacidade Antioxidante Total - Inibição Do Cátion ABTS 2,2'-Azino-Bis (3-Ethylbenzthiazoline-6-Sulphonic Acid) somado a Determinação Quimioluminescente da Enzima HRP
CCS	Contagem De Células Somáticas
Cl	Cloro
COT	Capacidade Oxidante Total
DEL	Dias Em Lactação
ECC	Escore De Condição Corporal
EGS	Estado Geral De Saúde
ES	Extrato Seco
ESD	Extrato Seco Desengordurado
FC	Frequência Cardíaca
FR	Frequência Respiratória
Glu	Glicose
IA	Inseminação Artificial
iCa	Cálcio Iônico
K	Potássio
Lac	Lactato
MR	Movimentos Ruminais (Em Dois Minutos)
NA	Sódio
pH	Potencial de Hidrogênio
PT	Proteínas Totais
T°C	Temperatura Corpórea (Em Graus Celsius)
TBARS	Peroxidação Lipídica, Através da Determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. HIPÓTESES	20
3. OBJETIVOS.....	20
3.1. GERAL	20
3.2. ESPECÍFICOS.....	20
CAPÍTULO 1	21
INTER-RELAÇÃO ENTRE A HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA E O ESTRESSE OXIDATIVO DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO EM VACAS LEITEIRAS DA RAÇA GIROLANDO.....	21
CAPÍTULO II	45
HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS GIROLANDO: EFEITO SOBRE O METABOLISMO, PARÂMETROS CLÍNICOS E COMPOSIÇÃO DO LEITE	45
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
5. REFERÊNCIAS	63

1. INTRODUÇÃO

Uma possível causa para o aumento da prevalência de algumas enfermidades durante o período de transição é a diminuição da imunidade no periparto (ALERI et al., 2016). Parte disso, reflexo da depleção do Ca intracelular, que tem início dias antes do parto, ocorrendo diminuição do iCa das células mononucleares (KIMURA; REINHARDT; GOFF, 2006). Vacas com hipocalcemia também possuem declínio de iCa citosólico em neutrófilos, comprometendo as suas atividades fagocíticas e oxidativas (MARTINEZ et al., 2014).

A maioria do Cálcio do organismo animal (99%) está presente justamente na matriz inorgânica do osso, como hidroxiapatita, sendo a maior parte do Ca remanescente (0,9%) sequestrado pela membrana plasmática e retículo endoplasmático celular, assim, o fluido extracelular equivale a 0,1% da massa de Ca do corpo, com uma concentração total de Ca de, aproximadamente, 2,5 mM, destes, aproximadamente 50% (1,2 mM), estarão na forma ionizada (Ca^{2+}), que é a forma biologicamente ativa de Ca (ROSOL et al., 1995).

Níveis séricos totais de Ca $<2,0$ mmol/L, caracterizam hipocalcemia subclínica, enquanto concentrações séricas totais de Ca $<1,4$ mmol/L determinam o surgimento do quadro clínico (DEGARIS; LEAN, 2008; GOFF, 2008). No intuito de corrigir tal deficiência, o organismo ativa mecanismos homeostáticos que buscam elevar a disponibilidade de cálcio a partir do intestino e ossos. Inicialmente a homeostase do Ca é controlada pela glândula paratireoide, que apresenta células sensíveis ao declínio na concentração do cálcio sanguíneo e respondem com a secreção do paratormônio, ativando os mecanismos homeostáticos do Ca (GOFF, 2014), como aumento da reabsorção renal de cálcio urinário, da resorção óssea e da produção renal da forma ativa da vitamina D, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que aumenta a absorção intestinal de Ca da dieta (RAMBERG et al., 1984).

A hipocalcemia subclínica apresenta correlação com a imunossupressão (KIMURA; REINHARDT; GOFF, 2006), cetose, deslocamento do abomaso, hipomagnesemia, metrite, mastite, síndrome da vaca caída, retenção de placenta, diminuição da motilidade ruminal e intestinal, redução do consumo de matéria seca e diminuição da produção (DEGARIS; LEAN, 2008; GOFF, 2008; RODRÍGUEZ; ARÍS; BACH, 2017), além de consequências negativas no desempenho reprodutivo (CHAPINAL et al., 2012a; MARTINEZ et al., 2014b; CAIXETA et al., 2017a; MAHEN et al., 2018). Fazendo do cálcio um importante marcador da saúde da vaca em transição (SORDILLO; MAVANGIRA, 2014).

1 Concomitantemente, por ocasião do parto (CASTILLO et al., 2005; SORDILLO;
2 AITKEN, 2009) e início de lactação (CASTILLO et al., 2006) as vacas leiteiras estão
3 submetidas a outros distúrbios, dentre esses, o estresse oxidativo, elevando ainda mais a
4 susceptibilidade às doenças nesta fase (ABUELO et al., 2019). Nos últimos anos sua avaliação
5 tem contribuído cada vez mais para o conhecimento dos processos envolvidos em distúrbios
6 metabólicos e doenças infecciosas (CELI, 2011), ou mesmo, os efeitos dos seus tratamentos
7 (POSSENTI et al., 2018). Apesar de seu potencial deletério, as espécies reativas do oxigênio,
8 estão envolvidas em funções fisiológicas fundamentais às células e ao próprio organismo, como
9 os mecanismos de defesa celular, tornando inviável a vida na sua ausência. Por isso, o equilíbrio
10 entre a sua formação e a atividade do sistema antioxidante é fundamental (SILVA;
11 GONÇALVES, 2010).

12 Se tratando de um país preponderantemente tropical, é necessário considerar o papel dos
13 fatores ambientais nas avaliações e monitoramentos (BERNABUCCI et al., 2010). Outro
14 aspecto que precisa ser considerado é o perfil genético do rebanho. Na produção de leite
15 brasileira predominam vacas mestiças de Holandês x Zebu, aproveitam-se dos benefícios da
16 heterose ou vigor de híbrido (MIRANDA; FREITAS, 2009).

17 Recomenda-se assim, o acompanhamento do metabolismo animal, dos desequilíbrios
18 metabólicos e do balanço entre oxidantes e antioxidantes (AMIN et al., 2021). A limitação do
19 conhecimento científico acerca dos distúrbios ou comorbidades inseridos no período de
20 transição frente ao perfil genético preponderante no país, justifica o desenvolvimento do
21 presente trabalho.

22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

2. HIPÓTESES

H_0 - A hipocalcemia subclínica possui relação de causa ou efeito com o desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, bem como, com os desequilíbrios metabólicos, interferindo negativamente na produção e na saúde de vacas da raça Girolando.

H_1 - A hipocalcemia subclínica não possui relação de causa ou efeito com o desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, bem como, com os desequilíbrios metabólicos, não apresentando interferência na produção ou na saúde de vacas da raça Girolando.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

Avaliar as concentrações de cálcio, sua inter-relação com o estresse oxidativo e as alterações sobre o metabolismo, parâmetros clínicos e a composição do leite durante o período de transição de vacas leiteiras Girolando.

3.2. ESPECÍFICOS

- a) Avaliar a relação de causa ou consequência entre a hipocalcemia subclínica e o estresse oxidativo;
- b) Avaliar a relação entre a hipocalcemia subclínica e o *status* fisiológico dos principais macro minerais;
- c) Avaliar a relação entre a hipocalcemia subclínica e o metabolismo energético e proteico;
- c) Avaliar a interferência do quadro de hipocalcemia subclínica sobre a produção leiteira;
- d) Avaliar a interferência do quadro de hipocalcemia subclínica sobre a sanidade animal;
- e) Avaliar a interferência do quadro de hipocalcemia subclínica nas características qualitativas e quantitativas do leite.

CAPÍTULO 1

**INTER-RELAÇÃO ENTRE A HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA E O ESTRESSE
OXIDATIVO DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO EM VACAS LEITEIRAS DA
RAÇA GIROLANDO**

Periódico: Ciência Rural

Submetido em:

Conceito: A4 (Qualis 2017-2018)

Inter-relação entre a hipocalcemia subclínica e o estresse oxidativo durante o período de transição em vacas leiteiras da raça Girolando

Interrelationship between subclinical hypocalcemia and oxidative stress during the transition period in Girolando dairy cows

RESUMO

Objetivou-se avaliar as concentrações de cálcio e sua inter-relação com o estresse oxidativo durante o período de transição de vacas leiteiras Girolando. A partir do universo de 40 matrizes, monitoradas pelo período total de 51 dias, sendo, 30 anteriores e 21 dias posteriores ao parto, foram selecionadas 15 matrizes, considerando a idade (entre quatro e sete anos), número de partos (entre dois e quatro partos) e grupos sanguíneos (1/2, 3/4 e 5/8 Holandesa). As coletas de sangue foram realizadas por meio de punção da veia coccígea, distribuídas em três momentos: 21 dias anteriores ao parto (M1), 0-12 horas após o parto (M2) e sete dias após o parto (M3). As vacas foram divididas em dois grupos: T1, normocalcêmico (n=8); T2, hipocalcêmico (n=7). O cálcio total (Ca) foi determinado no soro, sendo o Ca ionizado calculado a partir desse resultado, considerando ainda os teores de albumina e da proteína total. O estresse oxidativo foi determinado pela mensuração da capacidade antioxidante total (CAT), da capacidade oxidante total (COT) e da peroxidação lipídica. A calcemia sofreu efeito (P<0,05) de momento, tanto para tCa, quanto iCa, tendo T2/M2, apresentado as menores médias. Os resultados demonstraram variações das concentrações de Mg, sob efeito do momento (P<0,05), mesmo perfil apresentado pelo pH, tendo T1/M1, registrado as menores médias. Quanto aos marcadores do balanço oxidativo, a atividade antioxidante CAT-CUPRAC e a peroxidação lipídica, aferida através da TBARS, apresentaram efeito da calcemia (P<0,05), com características semelhantes. Entretanto, os parâmetros de desempenho avaliados não apresentaram efeito entre os tratamentos. Em conclusão, o cálcio apresenta interferência sobre

o equilíbrio das espécies reativas de oxigênio, possuindo efeito sobre os mecanismos de bloqueio (antioxidantes), culminando na intensificação da peroxidação lipídica.

Palavras-chave: bovinocultura leiteira, estresse metabólico, calcemia, espécies reativas de oxigênio

ABSTRACT

The objective was to evaluate calcium concentrations and their interrelation with oxidative stress during the transition period of Girolando dairy cows. From the universe of 40 cows, monitored for a total period of 51 days, being 30 before and 21 days after birth, 15 cows were selected, considering age (between four and seven years), number of births (between two and four deliveries) and blood groups (1/2, 3/4 and 5/8 Holstein). Blood collections were performed by puncture of the coccygeal vein, distributed in three moments: 21 days before delivery (M1), 0-12 hours after delivery (M2) and seven days after delivery (M3). Cows were divided into two groups: T1, normocalcemic (n=8); T2, hypocalcemic (n=7). Total calcium (Ca) was determined in serum, and ionized Ca was calculated from this result, also considering the levels of albumin and total protein. Oxidative stress was determined by measuring total antioxidant capacity (CAT), total oxidizing capacity (TOC) and lipid peroxidation. Calcemia was affected ($P<0.05$) of the moment, both for tCa and iCa, with T2/M2 showing the lowest averages. The results showed variations in Mg concentrations, under the effect of the moment ($P<0.05$), the same profile presented by the pH, with T1/M1 recording the lowest averages. As for the oxidative balance markers, the antioxidant activity CAT-CUPRAC showed the effect of calcemia ($P<0.05$), the lipid peroxidation, measured by TBARS, showed a similar characteristic, influenced by calcemia. However, the performance parameters evaluated showed no effect between treatments. In conclusion, calcium interferes with the balance of reactive oxygen

species, having an effect on blocking mechanisms (antioxidants), culminating in the intensification of lipid peroxidation.

Key words: dairy cattle, metabolic stress, calcemia, reactive oxygen species

INTRODUÇÃO

O aumento do grau de especialização para a produção leiteira não foi acompanhado de um maior aporte na capacidade de ingestão de alimentos pelos bovinos (KOZLOSKI, 2016), pelo contrário, no terço final da gestação, o consumo diminui, além disso, o parto e a lactogênese possuem efeitos dramáticos sobre o metabolismo (GRUMMER, 1995). Como resultado, quase todas as vacas experimentarão algum grau de hipocalcemia por ocasião do parto (CAI et al., 2018) e início da lactação (GOFF, 2006).

A persistência deste quadro não é simplesmente o resultado do déficit de cálcio criado entre o suprimento dietético e as demandas provenientes da lactação, mas sim, consequência de uma má adaptação ao período de transição (MARTÍN-TERESO; MARTENS, 2014). Esta necessária adaptação fisiológica objetiva fornecer ao animal risco mínimo do estabelecimento dos distúrbios energéticos, da função ruminal e dos distúrbios do metabolismo (DEGARIS; LEAN, 2008), como o estresse oxidativo, intensificando os reflexos sobre a eficiência do sistema imunológico (SORDILLO; RAPHAEL, 2013).

Um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a defesa antioxidante leva ao estado de estresse oxidativo (FINAUD; LAC; FILAIRE, 2006) podendo ser afetado tanto pelo equilíbrio ácido-base, quanto pela homeostase do Ca (RAJAEERAD et al., 2021), o que motiva a hipótese de que as concentrações reduzidas de cálcio podem interferir no equilíbrio das espécies reativas de oxigênio. Portanto, objetivou-se avaliar o comportamento das concentrações de cálcio e a sua inter-relação com o estresse oxidativo durante o período de transição de vacas leiteiras Girolando.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização e manejo dos animais

O experimento foi conduzido no município de Coronel Pacheco- MG, apresentando latitude 21°33'26.9" e longitude 43°15'26.7", em altitude de 427 metros, com precipitação média anual de 1.600 mm, temperatura de e umidade relativa médias de 22,5 °C e 77%, respectivamente.

A partir do universo de 40 matrizes da raça Girolando, monitoradas pelo período total de 51 dias, sendo, 30 anteriores e 21 dias posteriores ao parto, foram selecionadas 15 matrizes para composição dos grupos experimentais, considerando a idade (entre quatro e sete anos), número de partos (entre dois e quatro partos) e grupos sanguíneos (1/2, 3/4 e 5/8 Holandesa). Durante o pré-parto os animais permaneceram em piquetes maternidade, compostos por *Brachiaria decumbens*, sendo adaptados ao manejo e a dieta que receberiam no pós parto, onde passaram a ser manejadas em galpões do tipo *free-stall*, recebendo dieta total, composta por silagem de milho e ração concentrada, na proporção de 1 Kg de ração para cada 3 kg de leite produzido.

Coleta de amostras

As coletas de sangue foram realizadas por meio de punção da veia coccígea, entre a 5ª e 6ª vértebra, utilizando-se tubos de coleta à vácuo contendo ou não anticoagulante para obtenção de sangue total e soro, respectivamente. Os tubos destinados a avaliação do balanço entre oxidantes e antioxidantes, eram protegidos da luz. As coletas foram distribuídas em três tempos: 21 dias anteriores a previsão de parto (M1), 0-12 horas após o parto (M2) e sete dias após o parto (M3).

1 *Desenho experimental*

2 Para determinar a relação entre a concentração sérica de cálcio e o estresse oxidativo,
3 as vacas foram divididas em dois grupos, com base nas concentrações médias de cálcio sérico
4 no momento do parto (M2), sendo: T1, normocalcêmico (tCa entre 8,5 e 10 mg/dL e iCa
5 >4mg/dL; n = 8); e T2, hipocalcêmico (tCa entre 5,5 e 8,0 mg/dL e iCa <4mg/dL n = 7). A
6 calcemia foi estabelecida de acordo com as recomendações de GOFF (2008) e NEVES et al.
7 (2017), para tCa e iCa, respectivamente. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética e
8 experimentação animal local.

10 *Níveis de cálcio*

11 No soro foram determinados o cálcio total (Ca). Os tubos foram centrifugados por 3.600
12 rpm durante 10 min e o soro removido para determinar a concentração de Ca total por
13 colorimetria, usando um Kit bioquímico LabTest para cálcio (LabTest Diagnostica S.A., Lagoa
14 Santa, Minas Gerais). Albumina e a proteína total foram determinadas nas mesmas amostras de
15 soro, também por colorimetria, usando LabTest Albumina e LabTest Total Kits bioquímicos de
16 proteínas, respectivamente (LabTest Diagnostica S.A., Lagoa Santa, Minas Gerais). As análises
17 foram realizadas usando um sistema bioquímico semiautomático analisador, modelo BIO-2000
18 IL (Bioplus, Produtos para Laboratórios Ltda, Barueri, São Paulo). O Ca ionizado foi calculado
19 de acordo com Silva et al. (2019), a partir da seguinte fórmula:

$$\text{iCa (mg/dL)} = \frac{6 \times \text{Ca} - [\text{Albumina mg/dL} + (0,19 \times \text{Proteínas totais mg/dL}) / 3]}{\text{Albumina mg/dL} + (0,19 \times \text{Proteínas totais mg/dL}) + 6}$$

23 *Marcadores do estresse oxidativo*

24 A avaliação dos marcadores de estresse oxidativo foi realizada através do soro. Todos
25 os procedimentos ocorreram na ausência de luz e as amostras permaneceram armazenadas à -

20°C até serem processadas. O estresse oxidativo foi determinado pela mensuração da capacidade antioxidante total (CAT), da Capacidade oxidante total (COT) e da peroxidação lipídica. A CAT foi determinada em bioquímico automatizado (BS-230, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Nanshan, China), por meio de três metodologias: a primeira, CAT-ATBS, pela inibição do cátion ABTS (2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), conforme descrito por EREL (2004); a segunda, CAT-CUPRAC, pela capacidade antioxidante cúprica redutora; e a terceira, CAT-FRAP, pela capacidade de redução férrica do plasma, descrita por BENZIE; STRAINT (1996). A COT foi determinada em bioquímico automatizado, pelo método colorimétrico do xilenol laranja (EREL, 2005). A peroxidação lipídica, determinada pela determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), seguindo a metodologia de HUNTER et al. (1985), e dos antioxidantes ácido úrico e albumina, em leitor de microplacas automatizado (Readwell Touch, Robonik PVT LTD, Thane, India), sendo os resultados obtidos após comparação das amostras a uma curva-padrão com concentrações variando de 0 a 100 µmol de malondialdeído/L. Todos os reagentes foram provenientes da Sigma-Aldrich Chemical Co (San Luis, EUA).

Parâmetros de desempenho

Para avaliação do desempenho foram mensurados a produção leiteira (PL) até o 21º dia, o total de dias em lactação (DEL) e o período entre o parto e o primeiro cio posterior (período de serviço, PS). Os animais foram ordenhados mecanicamente, duas vezes ao dia, e o volume de leite produzido mensurado através de medidor de leite apropriado (DeLaval) entre o sétimo e o 21º dia de lactação. As observações e anotações de cio foram realizadas pelo pessoal da fazenda. Os animais seguiram sob monitoramento até a secagem.

Modelo estatístico

O modelo adotado foi $Y_{ijk} = \mu + C_i + M + (C*M)_{ij} + cov(OP) + e_{ijkl}$, em que: Y é a observação; μ é uma constante; C_i são efeitos fixos de Calcemia; M é o efeito fixo de momento; $C*M$ é a interação calcemia e momento, OP é a covariável ordem de parto e e é o erro aleatório. Antes das análises foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de Kolmogorov para verificar a homocedasticidade. Considerou-se significância de 5%. As médias foram avaliadas pelo teste Tukey a 5% de significância. As variáveis proteína total, CAT- ATBS + HRP, não apresentaram normalidade, sendo adotado o modelo $Y_{ijk} = \mu + C_i + M + cov(OP) + e_{ijkl}$, em que: Y é a observação; μ é uma constante; C_i são efeitos fixos de Calcemia ; M é o efeito fixo de momento, OP é a covariável ordem de parto e e é o erro aleatório, comparadas pelo teste não- paramétrico de Kruskal Wallis à 5 % de significância. Para as variáveis de desempenho pós-parto o modelo adotado foi $Y_{ijk} = \mu + C_i + cov(OP) + e_{ijkl}$, em que: Y é a observação; μ é uma constante; C_i são efeitos fixos de calcemia, OP é a covariável ordem de parto e e é o erro aleatório. Os modelos foram ajustados sendo considerado 5% de significância. As médias foram avaliadas pelo teste Tukey a 5% de significância. Todas as análises foram realizadas no software R.

RESULTADOS

As concentrações de tCa, iCa, Mg, PT, Albumina e o pH sanguíneo estão apresentados na Tabela 1. A calcemia sofreu efeito ($P < 0,05$) do momento da coleta, tanto para tCa, quanto iCa, tendo M2, apresentado as menores médias, em ambos os tratamentos. Os resultados demonstraram que as variações das concentrações de Mg, embora não tenham apresentado efeito da calcemia, sofreram efeito do momento ($P < 0,05$). Mesmo perfil apresentado pelo pH, tendo T1/M1, registrado as menores médias, e T1/M2 as médias mais elevadas, como demonstrado na Figura 1, onde as variações do pH são comparadas as variações da calcemia.

No caso das PT e da albumina, além de não sofrerem efeito da calcemia, também não foi verificado interferência do momento de coleta, com exceção do T2/M1 nas PT.

A avaliação do estresse oxidativo é exposto na Tabela 2. Quanto aos marcadores da atividade antioxidante FRAP, ATBS + HRP, ATBS e o Ácido Úrico não apresentaram efeito ($P>0,05$), tanto da calcemia, quanto do momento. Já o marcador CAT-CUPRAC, apresentou efeito ($P<0,05$), sofrendo influência da calcemia. A COT não evidenciou efeito da calcemia, tampouco do momento da coleta. Todavia, a peroxidação lipídica, aferida através da TBARS, apresentou característica semelhante a CAT-CUPRAC, sob influência da calcemia.

Os parâmetros de desempenho avaliados não apresentaram efeito ($P>0,05$) entre os tratamentos, cujas médias e desvios padrões são apresentados na Tabela 3.

DISCUSSÃO

A hipocalcemia subclínica é caracterizada por níveis séricos de cálcio entre 1,38 e 2,0 mmol/L (GOFF, 2008). Desde a primeira coleta (M1), ainda que flutuando em uma faixa de normocalcemia, foi verificado efeito ($P<0,05$) da calcemia entre os tratamentos, o que se intensificou-se ao parto (M2), momento de escolha para formação dos tratamentos, comprovando a incapacidade da manutenção da normocalcemia no T2. NEVES et al. (2017) estabeleceram como fator preditor de risco para a hipocalcemia subclínica, níveis de 2,4 mmol/L (9,62 mg/dL) uma semana antes do parto. Vislumbrasse a possibilidade do estabelecimento de um ponto de corte que possa predizer os riscos de uma vaca apresentar hipocalcemia subclínica no início do período de transição, possibilitando maior tempo hábil para adoção de medidas corretivas.

Todos os animais, independente do tratamento, apresentaram redução das médias de cálcio, tanto do tCa, quanto do iCa, situação que perdurou até M3, no entanto, já evidenciado nesse momento, aumento nos níveis fisiológicos de iCa ($>4,0$ mg/dL), inclusive no T2.

Colaborando com o entendimento de BALLANTINE; HERBEIN (1991) cujas mudanças na porcentagem de iCa indicam a contribuição da reabsorção óssea em relação ao Ca dietético no intuito de suprir a exigência de Ca para a lactação.

Embora o paratormônio seja a principal resposta metabólica frente níveis reduzidos de cálcio, iniciando assim uma cascata de mecanismos homeostáticos para elevação do Ca sanguíneo (GOFF; LIESEGANG; HORST, 2014), a ativação e atuação de algumas das enzimas que regulam estas ações são Mg-dependentes, como por exemplo, a CaATPase, que bombeia o cálcio das células intestinais para a circulação (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014). O que evidencia a importância do Mg para manutenção da homeostasia no período de transição. Em nosso estudo, suas médias variaram dentro da faixa fisiológica, situada entre 1,9 e 2,4 mg/dL (GOFF, 2014). Chama atenção que em ambos os tratamentos, as médias apresentaram elevação no momento do parto (M2), indicando efeito inverso ao Ca. VENJAKOB et al. (2017) verificaram uma possível associação negativa entre as concentrações de cálcio e magnésio. A queda da concentração plasmática de Ca, concomitante a um aumento nas concentrações plasmáticas de Mg, também foi verificada por KRONQVIST (2011), que propuseram uma relação antagônica na capacidade absorptiva do organismo, entre os dois minerais. Provavelmente, decorrente do fato do transportador sanguíneo ser o mesmo para o Ca e o Mg, sendo desconhecido, até o momento, um sistema de controle endócrino, como ocorre entre o cálcio e o fósforo (GONZALEZ; SILVA, 2017). No geral, os riscos de desequilíbrio de Mg são maiores em vacas com concentrações mais elevadas de Ca, associadas a menores concentrações do próprio Mg ainda no pré-parto (CALDERÓN-AMOR et al., 2021).

No que se refere ao pH, o T1 apresentou médias superiores ao valor de referência em M2, sem, no entanto, ter interferido negativamente na manutenção da calcemia do respectivo tratamento. Embora cientes que o pH é um fator determinante para a eficiência do organismo na manutenção da normocalcemia (GOFF, 2008), é também de nosso conhecimento que

trabalhos que visavam a alteração do pH sanguíneo para verificação de seus efeitos sobre a calcemia, se depararam com a variação de pH e cálcio apenas restrita ao tempo, demonstrando a complexidade dos mecanismos de homeostasia envolvendo as duas variáveis, cuja eficiência, no que se refere ao pH, passa pela compensação respiratória do equilíbrio ácido-básico (GREGHI et al., 2014) e pela ação dos rins através da compensação urinária para manutenção do pH do sistêmico (OETZEL, 2013), sendo estas, possíveis explicações do porquê da leve alcalose não ter interferido significativamente na eficiência da manutenção da normocalcemia no T1.

As proteínas totais e a albumina tiveram suas médias oscilado dentro das margens fisiológicas, 6,7 – 7,75 g/dL (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997) e 2,1 – 3,6 g/dL (RADOSTITS et al., 2007), respectivamente, na quase totalidade do período experimental. A exceção foi verificada em T2/M1 que apresentou média de 6,69 g/dL, imediatamente abaixo do limite inferior.

O efeito da calcemia sobre a CAT-CUPRAC, evidenciou que frente a uma menor concentração sérica do macro mineral, induziu-se uma maior produção de antioxidantes, sugerindo antagonismo entre seus níveis, ou seja, diante de níveis reduzidos de cálcio, observou-se, maior ação antioxidante, provavelmente, indicando maior necessidade do organismo manter o equilíbrio oxidativo em T2. O aumento da peroxidação lipídica pode representar uma resposta ao aumento do desafio oxidativo, embora esta variação próxima ao parto esteja relatada e sujeita as características individuais do trabalho de parto, em si (CASTILLO et al., 2005). Sabe-se que as espécies reativas de oxigênios podem induzir um aumento de cálcio intracelular (FINAUD; LAC; FILAIRE, 2006), o que influenciaria negativamente os níveis extracelulares do mineral. Avaliando-se os resultados de nosso estudo, a média do marcador TBARS em T2/M1 representou mais do que o dobro da média em T1/M1, sugerindo-se um efeito de causa, que ajudaria a explicar a redução do cálcio em T2/M1, frente

ao grupo controle, mesmo com tamanha antecedência à data prevista para o parto. É necessário ainda estudos específicos, com adoção de modelos mais rígidos de controle, como na indução experimental, para verificar tal teoria.

Os parâmetros de desempenho avaliados, sugerem que mesmo diante dos desafios expostos até aqui, os animais conseguiram compensar os desarranjos metabólicos não havendo desarmonia entre os tratamentos (T1 e T2).

CONCLUSÃO

O cálcio apresenta interferência sobre o equilíbrio das espécies reativas de oxigênio, possuindo efeito sobre os mecanismos de bloqueio (antioxidantes), culminando na intensificação da peroxidação lipídica.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses. Não havendo interferências na concepção do estudo, nas coletas, análises ou interpretação dos dados, na redação ou na decisão de publicar o manuscrito e os seus resultados.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Durante a execução do estudo e ou escrita do manuscrito houve contribuição de todos os autores. Sendo sua versão final revisada e aprovada por todos.

REFERÊNCIAS

- ABUELO, A. et al. **Redox biology in transition periods of dairy cattle: Role in the health of periparturient and neonatal animals**AntioxidantsMDPI AG, , 1 jan. 2019. .
- BALLANTINE, H. T.; HERBEIN, J. H. Potentiometric Determination of Ionized and Total Calcium in Blood Plasma of Holstein and Jersey Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 2, p. 446–449, fev.

- 1 1991. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030291781903>>. Acesso
- 2 em: 29 out. 2021.
- 3 BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of
- 4 “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, jul. 1996.
- 5 Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003269796902924>>.
- 6 BERNABUCCI, U. et al. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated
- 7 ruminants. **Animal**, v. 4, n. 7, p. 1167–1183, 2010.
- 8 BLOCK, E. Manipulating Dietary Anions and Cations for Prepartum Dairy Cows to Reduce Incidence of
- 9 Milk Fever. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 12, p. 2939–2948, 1984. Disponível em:
- 10 <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030284816574>>.
- 11 CAI, C. et al. Changes of macrominerals and calcitropic hormones in serum of periparturient dairy
- 12 cows subject to subclinical hypocalcaemia. **Journal of Dairy Research**, v. 85, n. 1, p. 12–15, 22 fev.
- 13 2018. Disponível em:
- 14 <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0022029918000031/type/journal_article>.
- 15 CAIXETA, L. S. et al. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and
- 16 reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 94, p. 1–7, 2017a. Disponível em:
- 17 <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.01.039>>.
- 18 CAIXETA, L. S. et al. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and
- 19 reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 94, p. 1–7, 1 maio 2017b.
- 20 CALDERÓN-AMOR, J. et al. Prepartum factors associated with postpartum diseases in pasture-based
- 21 dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 196, p. 105475, 1 nov. 2021. Disponível em:
- 22 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587721002191>>. Acesso em: 16 out. 2021.
- 23 CASTILLO, C. et al. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. **The**
- 24 **Veterinary Journal**, v. 169, n. 2, p. 286–292, mar. 2005. Disponível em:
- 25 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023304000449>>.
- 26 CASTILLO, C. et al. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation

- 1 in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 80, n. 2, p. 133–139, abr. 2006.
- 2 CASTRO, A. L. O. et al. Parâmetros fisiológicos de vacas F1 Holandês x Zebu criadas em ambientes
- 3 com e sem sombreamento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 70, p. 722–730, 2018.
- 4 CELI, P. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. **Immunopharmacology and**
- 5 **Immunotoxicology**, v. 33, n. 2, p. 233–240, 2011.
- 6 CHAPINAL, N. et al. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease,
- 7 milk production, and early lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 10,
- 8 p. 5676–5682, 2012a. Disponível em:
- 9 <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030212004730>>.
- 10 CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites in the transition period with milk
- 11 production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p.
- 12 1301–1309, mar. 2012b.
- 13 CONTRERAS. Indicadores do metabolismo proteico utilizados no perfis metabólicos de rebanhos. In:
- 14 **Perfil metabólico em ruminantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. [s.l.: s.n.]p. 108.
- 15 COTTRILL, B. et al. Relationship between milk urea concentration and the fertility of dairy cows. n.
- 16 September 1997, 2002.
- 17 DA SILVA, D. C. et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy cows in the Sousa city micro-
- 18 region, Paraíba state. **Tropical Animal Health and Production**, v. 51, n. 1, p. 221–227, 25 jan. 2019.
- 19 DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles.
- 20 **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 58–69, abr. 2008. Disponível em:
- 21 <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.029>>.
- 22 EREL, O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free
- 23 radical reactions. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 2, p. 112–119, fev. 2004. Disponível em:
- 24 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912003001711>>.
- 25 EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical**
- 26 **Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1103–1111, dez. 2005. Disponível em:

1 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912005002298>>.

2 FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative Stress. **Sports Medicine**, v. 36, n. 4, p. 327–358, 2006.

3 Disponível em: <<http://link.springer.com/10.2165/00007256-200636040-00004>>. Acesso em: 10 out.
4 2021.

5 GOFF, J. P. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. **The Veterinary clinics of North
6 America. Food animal practice**, v. 16, n. 2, 2000.

7 GOFF, J. P. Major Advances in Our Understanding of Nutritional Influences on Bovine Health. **Journal
8 of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1292–1301, abr. 2006. Disponível em:

9 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203020672197X>>.

10 GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in
11 dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 50–57, abr. 2008. Disponível em:

12 <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.020>>.

13 GOFF, J. P. Calcium and Magnesium Disorders. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal
14 Practice**, v. 30, n. 2, p. 359–381, 2014. Disponível em:

15 <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2014.04.003>>.

16 GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic
17 Disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1260–1268, 1997. Disponível em:

18 <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030297760557>>.

19 GOFF, J. P.; LIESEGANG, A.; HORST, R. L. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A hypocalcemia
20 and milk fever risk factor. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1520–1528, mar. 2014. Disponível
21 em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030214000228>>.

22 GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2°
23 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2014.

24 GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. da. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 3° ed. Porto Alegre:
25 Editora da UFRGS, 2017.

26 GREGHI, G. F. et al. Suplemento mineral aniônico para vacas no periparto: parâmetros sanguíneos,

- 1 urinários e incidência de patologias de importância na bovinocultura leiteira. **Pesquisa Veterinária**
- 2 **Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 337–342, abr. 2014. Disponível em:
- 3 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2014000400007&lng=pt&tlng=pt)
- 4 [736X2014000400007&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2014000400007&lng=pt&tlng=pt)>.
- 5 GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy
- 6 cow. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 9, p. 2820, 1995. Disponível em:
- 7 <<https://academic.oup.com/jas/article/73/9/2820-2833/4632912>>.
- 8 HUNTER, M. I.; NLEMADIM, B. C.; DAVIDSON, D. L. Lipid peroxidation products and antioxidant
- 9 proteins in plasma and cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. **Neurochemical research**,
- 10 v. 10, n. 12, p. 1645–1652, dez. 1985. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4088434/>>.
- 11 Acesso em: 22 out. 2021.
- 12 JEONG, J. K. et al. Relationship between serum magnesium concentration during the transition
- 13 period, peri- and postpartum disorders, and reproductive performance in dairy cows. **Livestock**
- 14 **Science**, v. 213, n. December 2017, p. 1–6, 2018. Disponível em:
- 15 <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.04.013>>.
- 16 JORGENSEN, R. J. et al. Induced hypocalcaemia by Na₂EDTA infusion. A review. **Zentralbl**
- 17 **Veterinarmed A**, v. 46, n. 7, p. 389- 407., 1999.
- 18 KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5^o ed. San
- 19 Diego: Elsevier, 1997.
- 20 KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P. Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in
- 21 Immune Cells of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 7, p. 2588–2595, 2006. Disponível
- 22 em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206723359>>.
- 23 KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 3^o ed. ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2016.
- 24 KRONQVIST, C. et al. Effects of prepartum dietary calcium level on calcium and magnesium
- 25 metabolism in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1365–1373, 1 mar.
- 26 2011. Disponível em: <<http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022030211000919/fulltext>>.

Acesso em: 16 out. 2021.

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 1, p. 159–170, 2005.

MAHEN, P. J. et al. Effect of blood ionised calcium concentration at calving on fertility outcomes in dairy cattle. **Veterinary Record**, v. 183, n. 8, p. 263, 1 set. 2018.

MARTÍN-TERESO, J.; MARTENS, H. Calcium and Magnesium Physiology and Nutrition in Relation to the Prevention of Milk Fever and Tetany (Dietary Management of Macrominerals in Preventing Disease). **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 643–670, nov. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0749072014000577>>.

MARTINEZ, N. et al. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 2, p. 874–887, 2014a. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213008655>>.

MARTINEZ, N. et al. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 2, p. 874–887, fev. 2014b.

MCART, J. A. A. et al. Elevated non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. **Veterinary Journal**, v. 198, n. 3, p. 560–570, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.08.011>>.

MIRANDA, J. E. C.; FREITAS, A. F. **Raças e tipos de cruzamentos para produção de leite: heterose ou vigor híbrido** Comunicado Técnico 98, Embrapa Gado de Leite: Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica. [s.l: s.n.].

MOHRI, M.; SHARIFI, K.; EIDI, S. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. **Research in Veterinary Science**, v. 83, n. 1, p. 30–39, 2007.

NEVES, R. C. et al. Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3796–3804, 1 maio 2017. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203021730231X>>.

- 1 OETZEL, G. R. Oral calcium supplementation in peripartum dairy cows. **Veterinary Clinics of North**
- 2 **America - Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 447–455, 2013. Disponível em:
- 3 <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.03.006>>.
- 4 OLIVEIRA, R. S. B. R. et al. Metabolic profile in crossbred dairy cows with low body condition score in
- 5 the peripartum period. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 362–368, 2014.
- 6 OLTNER, R.; WIKTORSSON, H. UREA CONCENTRATIONS IN MILK AND BLOOD AS INFLUENCED BY
- 7 FEEDING VARYING AMOUNTS OF PROTEIN AND ENERGY TO DAIRY COWS. **Livestock Production**
- 8 **Science**, v. 10, p. 457–467, 1983.
- 9 PARMAR, A. N.; WHITE, N. E.; STELLA, L. The transient 42 second X-ray pulsar EXO 2030+375. II - The
- 10 luminosity dependence of the pulse profile. **The Astrophysical Journal**, v. 338, p. 373, 1989.
- 11 PATIDAR, B. S. et al. The Association Between Hypocalcemia and Outcome in COVID-19 Patients: a
- 12 Retrospective Study. **Research square**, 2021.
- 13 PIZONI, C. et al. Parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos de novilhas com hipocalcemia
- 14 subclínica pré-parto suplementadas com dieta aniônica [Anionic diet on clinical, haematological and
- 15 biochemical parameters of heifers with subclinical hypocalcemia prepartum]. **Arq. Bras. Med. Vet.**
- 16 **Zootec.**, v. 69, n. 5, p. 1130–1138, 2017. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-](http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9035)
- 17 [9035](http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9035)>.
- 18 POSSENTI, C. G. R. et al. Evaluation of oxidative stress in plasma of dairy cows with mastitis. **Ciencia**
- 19 **Animal Brasileira**, n. 19, 2018.
- 20 RADOSTITS, O. et al. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs**
- 21 **and goats**. 10^o ed. Philadelphia: Elsevier, 2007. v. 10
- 22 RAJAEERAD, A. et al. Low potassium diets with different levels of calcium in comparison with
- 23 different anionic diets fed to prepartum dairy cows: Effects on sorting behaviour, total tract
- 24 digestibility, energy metabolism, oxidative status and hormonal response. **Journal of Animal**
- 25 **Physiology and Animal Nutrition**, v. 105, n. 1, p. 14–25, 2021.
- 26 RAJALA-SCHULTZ, P. J. et al. Association Between Milk Urea Nitrogen and Fertility in Ohio Dairy Cows.

- 1 **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 2, p. 482–489, 2001. Disponível em:
- 2 <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74498-0](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74498-0)>.
- 3 RAMBERG, C. F. et al. Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient
- 4 hypocalcemia. 1984. Disponível em: <www.physiology.org/journal/ajpregu>. Acesso em: 7 nov. 2021.
- 5 RIBEIRO, E. S. et al. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving
- 6 grazing dairy cows supplemented with concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 9, p. 5682–
- 7 5697, set. 2013.
- 8 ROBERTSON, W. G.; MARSHALL, R. W.; WALSER, M. Calcium measurements in serum and plasma-
- 9 total and ionized. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 11, n. 3, p. 271–304, 1979.
- 10 ROCHE, J. R.; MORTON, J.; KOLVER, E. S. Roche et al_2002_Sulf. **J. Dairy Sci**, v. 85, p. 3444–3453,
- 11 2002.
- 12 RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and
- 13 postparturient diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, n. 2012, p. 7427–7434, 2017.
- 14 Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217306331>>.
- 15 ROSOL, T. J. et al. Pathophysiology of Calcium Metabolism. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 24, n. 2,
- 16 p. 49–63, 1995.
- 17 SILVA, C. M. B. de A. et al. Efeito das condições climáticas do semiárido sobre o comportamento
- 18 fisiológico de caprinos mestiços f1 Saanen x Boer. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 4, p. 195–199, 2011.
- 19 SILVA, A. A. da; GONÇALVES, R. C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em
- 20 grandes animais. **Ciência Rural**, v. 40, n. 4, p. 994–1002, 26 mar. 2010. Disponível em:
- 21 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000400040&lng=pt&tlng=pt)
- 22 [84782010000400040&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000400040&lng=pt&tlng=pt)>.
- 23 SORDILLO, L. M.; AITKEN, S. L. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy
- 24 cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 128, n. 1–3, p. 104–109, 15 mar. 2009.
- 25 SORDILLO, L. M.; MAVANGIRA, V. The nexus between nutrient metabolism, oxidative stress and
- 26 inflammation in transition cows. **Animal Production Science**, v. 54, n. 9, p. 1204, 2014.

- SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. **Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders***Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, jul. 2013. .
- TILLARD, E. et al. Precalving factors affecting conception risk in Holstein dairy cows in tropical conditions. **Theriogenology**, v. 68, n. 4, p. 567–581, 2007. Disponível em: <www.theriojournal.com>. Acesso em: 2 out. 2021.
- VALLDECABRES, A.; PIRES, J. A. A.; SILVA-DEL-RÍO, N. Effect of prophylactic oral calcium supplementation on postpartum mineral status and markers of energy balance of multiparous Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4460–4472, 1 maio 2018.
- VENJAKOB, P. L.; BORCHARDT, S.; HEUWIESER, W. Hypocalcemia—Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 11, p. 9258–9266, 1 nov. 2017.
- ZAMBRANO, W. J.; MARQUES, A. P. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras do pré-parto ao quinto mês da lactação Metabolic profile of crossbreed milking cows from calving to the fifth month of lactation. **Zootecnia Trop**, v. 27, n. 4, p. 475–488, 2009.

Tabela 1. Concentrações séricas e desvios padrões do Cálcio total (tCa), Cálcio iônico (iCa), Magnésio total (Mg), Proteína total (PT), Albumina (Alb) e pH durante os momentos pré-parto (M1), momento do parto (M2) e pós-parto (M3) de vacas Girolando sob tratamentos normocalcêmicos (T1) e hipocalcêmicos (T2).

<i>Momentos</i>	<i>Variáveis</i>					
	tCa (mg/dl)	iCa (mg/ dl)	Mg (mg/ dl)	PT (g/ dl)	Alb (g/dL)	pH
T1						
M1	8,75aA ± 0.51	4,78aA ± 0.31	2,03ab ± 0.15	6,91 ± 1.47	2.98 ± 0.38	7.45b ± 0.2
M2	8,3abA ± 0.44	4,54aA ± 0.29	2,23a ± 0.24	6,83 ± 1.34	2.95 ± 0.45	7.50a ± 0.2
M3	8,11abA ± 0.37	4,46aA ± 0.25	2,00b ± 0.23	7,11 ± 1.17	2.83 ± 0.46	7.48a ± 0.4
T2						
M1	8,02aB ± 0.41	4,32aB ± 0.35	2,22ab ± 0.15	6,69 ± 1.11	3.08 ± 0.53	7.45b ± 0.3
M2	6,94bB ± 0.47	3,71bB ± 0.17	2,29a ± 0.33	6,43 ± 0.64	3.07 ± 0.52	7.49a ± 0.2
M3	7,68a ± 0.49	4,2aA ± 0.25	1,92b ± 0.19	6,32 ± 0.43	2.99 ± 0.7	7.47a ± 0.2

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre os momentos do mesmo tratamento, letras maiúsculas diferentes revelam diferenças estatísticas entre os tratamentos.

7

8

9

10

11

12

13

14

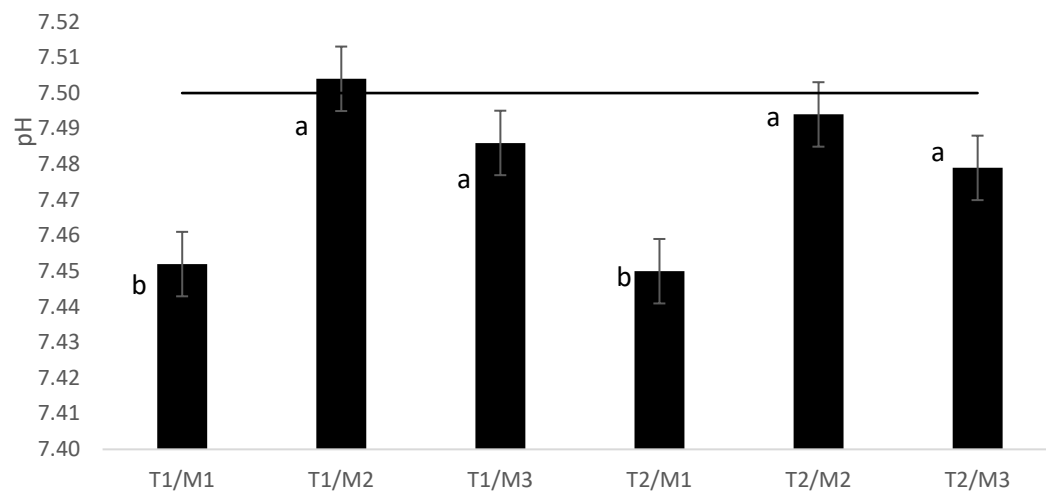
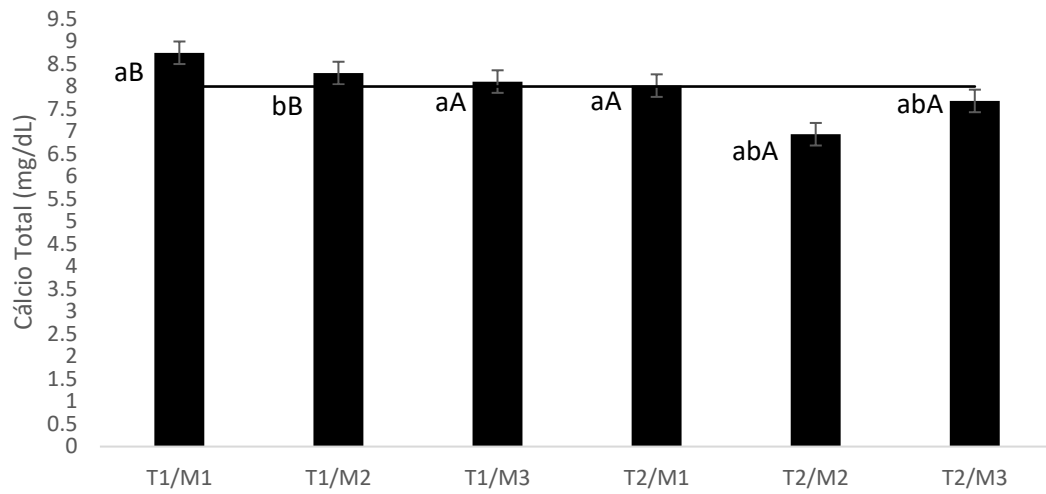


Figura 1. Níveis séricos de cálcio total e valores de pH sanguíneo entre os tratamentos (T1 e T2) e seus respectivos tempos (M1, M2 e M3). Para o tCa, a linha representa o limite máximo da hipocalcemia (8 mg/dL), segundo Goff (2008), onde colunas abaixo da linha representam hipocalcemia. Para o pH, a linha representa o limite máximo fisiológico recomendado por Radostits et al. (2008), variando entre 7,35 e 7,50, onde colunas acima da linha são indicativas de alcalose.

Tabela 2. Avaliação da capacidade antioxidante total, do ácido úrico, capacidade oxidante total e da peroxidação lipídica de vacas Girolando em condição de normocalcemia ou hipocalcemia durante o período de transição

<i>Momentos</i>	<i>Capacidade Antioxidante- CAT</i>				<i>ÁC. URI</i>	<i>Capacidade</i>	<i>Peroxidação</i>
	FRAP	CUPRAC	ATBS+HRP	ATBS		<i>Oxidante</i>	<i>Lipídica</i>
						COT	TBARS
T1							
M1	215,00	391,00a	648,00	587,00	1,15	43,80	8,31a
M2	225,00	405,00a	691,00	596,00	1,19	49,90	9,96a
M3	252,00	413,00a	716,00	665,00	1,41	54,20	7,09a
T2							
M1	215,00	451,00b	646,00	562,00	1,22	39,10	16,97b
M2	231,00	462,00b	661,00	604,00	1,24	39,20	10,95b
M3	228,00	440,00b	667,00	565,00	1,17	40,80	13,20b
p-Valor							
EPM	6,250	8,136	9,229	13,016	0,036	2,421	1,858
Ca	0,574	0,003	0,116	0,075	0,530	0,070	0,026
Tempo	0,252	0,790	0,098	0,354	0,427	0,542	0,773
Ca x Tempo	0,593	0,625	-	0,187	0,171	0,744	0,551

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre os tempos do mesmo tratamento.

Tabela 3. Médias e desvios padrões dos parâmetros de desempenho avaliados entre os tratamentos normocalcêmicos (T1) e hipocalcêmicos (T2).

<i>Tratamentos</i>	<i>Médias/ Desvio padrão</i>					
	Produção leiteira (PL)*		Dias em leite (DEL)		Período de serviço (PS)	
T1	20,1	± 3,18	180	± 45,09	80,8	± 5,32
T2	20,2	± 2,44	181	± 21,19	81,6	± 4,08

*Aferição da produção de leite realizada até o 21º dia após o parto

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

CAPÍTULO II

HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS GIROLANDO: EFEITO
SOBRE O METABOLISMO, PARÂMETROS CLÍNICOS E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Hipocalcemia subclínica em vacas leiteiras Girolando: efeito sobre o metabolismo, parâmetros clínicos e composição do leite

Subclinical hypocalcemia in Girolando dairy cows: effect on metabolism, clinical parameters and milk composition

RESUMO

Com o objetivo de avaliar as alterações sobre o metabolismo, parâmetros clínicos e a composição do leite sob hipocalcemia subclínica durante o período de transição, foram monitoradas 40 matrizes, pelo período total de 51 dias, sendo, 30 anteriores e 21 dias posteriores ao parto, das quais, selecionou-se 15 matrizes, considerando a idade (entre quatro e sete anos), número de partos (entre dois e quatro partos) e grupos sanguíneos (1/2, 3/4 e 5/8 Holandesa). As coletas de sangue foram realizadas por meio de punção da veia coccígea, 21 dias anteriores a previsão de parto (M1), 0-12 horas após o parto (M2) e sete dias após o parto (M3). Os níveis de tCa e iCa, apresentaram efeito da calcemia, justificando a divisão em dois tratamentos distintos: T1, normocalcêmicas, e, T2, hipocalcêmicas. O balanço energético foi estabelecido através da medição do beta-hidroxibutirato (BHB) e da glicose; para determinação do metabolismo proteico foram mensuradas, no sangue, a proteína total e a albumina, além da ureia, no leite; para determinação do *status* metabólico mineral, além do Ca, níveis sanguíneos de Mg, Na e Cl foram avaliados, bem como, o pH. A sanidade animal foi determinada através de exames clínicos, sendo aferidos: temperatura retal (TR), frequências cardíacas (FC) e respiratórias (FR), exame das mucosas, movimentos ruminais (MR), avaliação do escore de condição corporal (ECC) e estado geral de saúde (EGS). Amostras de leite foram coletadas para determinação do teor de gordura, proteína, lactose, extrato seco (ES), extrato seco desengordurado (ESD), ureia, contagem de células somáticas (CCS) e perfil da lactose (tamanho e potencial zeta). O BHB em T2/M1, apresentou alteração, sendo estabelecido o diagnóstico de cetose subclínica sem, no entanto, apresentar efeito da calcemia ou do momento da coleta. Os níveis de tCa e iCa, apresentaram efeito do momento ($P<0,05$), com as menores médias de T1 presentes no M3, enquanto no T2, foram observadas no M2. O Mg apresentou efeito ($P<0,05$) de momento, tendo o parto (M2) exercido influência para sua elevação, em ambos os tratamentos. O cloro apresentou efeito da calcemia e de momento, sendo as médias em T2 sempre menores que T1, com as menores médias evidenciadas em M3, em ambos, contudo, assim como Na e K, o Cl apresentou médias compatíveis com seus valores de

referência. A avaliação do pH apresentou-se dentro dos limites fisiológicos, sofrendo efeito ($P < 0,05$) de momento, com os animais experimentando médias mais elevadas ao parto. A FC variou acima dos padrões fisiológicos da espécie na maioria dos momentos, tanto em T1 quanto em T2, todavia, em detrimento desta observação, devido a manutenção dos padrões fisiológicos dos demais parâmetros aferidos, estima-se que os animais mantiveram a homeostase. Quanto as características da secreção láctea, não se verificou efeito da calcemia ou do tempo ($P > 0,05$), estando todas as variáveis dentro dos padrões fisiológicos ou regulamentados, como é o caso da CCS. Em conclusão, a hipocalcemia subclínica evidenciada durante o período de transição não apresentou alterações significativas sobre os marcadores metabólicos avaliados, bem como, sobre seus parâmetros clínicos e na composição do leite de vacas Girolando.

Palavras-chave: bovinocultura leiteira, metabolismo, calcemia, estresse metabólico

ABSTRACT

In order to evaluate changes in metabolism, clinical parameters and milk composition under subclinical hypocalcemia during the transition period, 40 cows were monitored for a total period of 51 days, 30 before and 21 days after parturition, of which, 15 cows were selected, considering age (between four and seven years), number of births (between two and four births) and blood groups (1/2, 3/4 and 5/8 Holstein). Blood collections were performed by puncture of the coccygeal vein, 21 days before the expected delivery (M1), 0-12 hours after delivery (M2) and seven days after delivery (M3). The levels of tCa and iCa showed an effect of calcemia, justifying the division of two different treatments, T1, normocalcemic, and T2, hypocalcemic. Energy balance was established by measuring beta-hydroxybutyrate (BHB) and glucose; total protein and albumin in blood, in addition to urea in milk, were the markers used to determine protein metabolism; to determine the mineral metabolic status, in addition to Ca, blood levels of Mg, Na and Cl were evaluated, as well as pH. Animal health was determined through clinical examinations, being measured: rectal temperature (RT), heart rate (HR) and respiratory (RR), mucosal examination, rumen contractions (RC), evaluation of the body condition score (BCE) and general health status (GHS). Milk samples were collected to determine the content of fat, protein, lactose, dry extract (DE), defatted dry extract (DDE), urea, somatic cell count (SCC) and lactose profile (size and zeta potential). The BHB in T2/M1 showed change, and the diagnosis of subclinical ketosis was established without, however, showing the effect of calcemia or the time of collection. The levels of tCa and iCa, suffered effect ($P < 0.05$) of the

moment, with the smallest means of T1 present in M3, while in T2, were observed in M2. The Mg had a significant effect ($P<0.05$) at the moment, with the parturition (M2) exerting an influence for its elevation, in both treatments. Chlorine had an effect of calcemia and moment, with the means in T2 always smaller than T1, with the smallest means shown in M3, in both, however, as well as Na and K, Cl presented means compatible with its reference values. The evaluation of pH was within physiological limits, suffering an effect ($P<0.05$) at the moment, with the animals experiencing higher means at parturition. The HR varied above the physiological standards of the species at most times, both at T1 and at T2, however, to the detriment of this observation, due to the maintenance of the physiological standards of the other parameters measured, it is estimated that the animals maintained homeostasis. As for the characteristics of milk secretion, there was no effect of calcemia or time ($P>0.05$), with all variables being within physiological or regulated standards, as is the case with CCS. In conclusion, the subclinical hypocalcemia evidenced during the transition period did not show significant changes on the metabolic markers evaluated, as well as on its clinical parameters and on the milk composition of Girolando cows.

Key words: dairy cattle, metabolism, calcemia, metabolic stress

INTRODUÇÃO

O perfis metabólicos (proteico, energético e mineral) são utilizados como procedimento de monitoramento rotineiro para o diagnóstico de eventuais transtornos, deficiências nutricionais e na prevenção de quadros subclínicos (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014), servindo como um sinal de alerta, possibilitam a realização dos diagnósticos pertinentes e as ações corretivas (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997).

Uma das principais fontes de distúrbios do metabolismo energético, o balanço energético negativo (BEN) decorre do aumento da demanda energética não suprida pela oferta, oriunda da ingestão de alimentos, durante o período de transição. Embora fisiologicamente normal, o BEN em excesso reflete uma má adaptação ao período, possuindo efeitos adversos à saúde e à produção após o parto (MCART et al., 2013). Vacas com desequilíbrio energético no pré-parto, por exemplo, possuem menores chances de concepção no primeiro serviço pós-parto (TILLARD et al., 2007), além de apresentar associação com o aumento do risco de deslocamento do abomaso (LEBLANC; LESLIE; DUFFIELD, 2005).

Presente no soro em três frações, o cálcio, apresenta-se ligado às proteínas (45%) ou a compostos de baixo peso molecular, como lactato, citrato e bicarbonato (10%); ambos, em equilíbrio com a chamada fração ionizada (45%), prontamente disponíveis para funções metabólicas (ROBERTSON; MARSHALL; WALSER, 1979; JORGENSEN et al., 1999). Sua deficiência, quando não associada à paresia e ao decúbito, é classificada como subclínica.

A hipocalcemia subclínica apresenta correlação com a imunossupressão (KIMURA; REINHARDT; GOFF, 2006), cetose, deslocamento do abomaso, hipomagnesemia, metrite, mastite, síndrome da vaca caída, retenção de placenta, diminuição da motilidade ruminal e intestinal, redução do consumo de matéria seca e diminuição da produção (DEGARIS; LEAN, 2008; GOFF, 2008; CHAPINAL et al., 2012a; RODRÍGUEZ; ARÍS; BACH, 2017), além de consequências negativas no desempenho reprodutivo (CHAPINAL et al., 2012b; MARTINEZ et al., 2014b; CAIXETA et al., 2017b; MAHEN et al., 2018).

A limitação de conhecimento sobre a fisiologia, metabolismo e perfil hormonal de animais mestiços (Girolando) dificulta a implantação de procedimentos que auxiliem no entendimento de aspectos clínicos e no diagnóstico dos distúrbios do periparto, limitando a aplicação de medidas profiláticas que minimizem problemas na esfera produtiva e reprodutiva nos rebanhos (ZAMBRANO; MARQUES, 2009). Portanto, este estudo teve por objetivo avaliar as alterações sobre marcadores do metabolismo proteico, energético e mineral de vacas Girolando (Holandesa x Gir Leiteiro) sob hipocalcemia subclínica durante o período de transição.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e manejo

Para este estudo foram monitoradas, durante 51 dias (30 dias antes e 21 dias pós-parto), foram monitoradas 40 matrizes, pelo período total de 51 dias, sendo, 30 anteriores e 21 dias posteriores ao parto, das quais, selecionou-se 15 matrizes, considerando a idade (entre quatro e sete anos), número de partos (entre dois e quatro partos) e grupos sanguíneos (1/2, 3/4 e 5/8 Holandesa). As matrizes passaram por um período de adaptação durante o pré-parto, após o parto, foram manejadas em galpões do tipo *free-stall*, tendo acesso diário a piquetes de *Brachiaria decubens*. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética e experimentação animal local.

Coleta de amostras

As coletas de sangue foram realizadas por meio de punção da veia coccígea, entre a 5^o e 6^a vértebras, utilizando-se tubos de coleta à vácuo contendo ou não anticoagulante para obtenção de sangue total e soro, respectivamente. As coletas foram distribuídas em três tempos: 21 dias anteriores a previsão de parto (M1), 0-12 horas após o parto (M2) e sete dias após o parto (M3).

Marcadores metabólicos

O balanço energético foi estabelecido através da medição do beta-hidroxibutirato (BHB) e da glicose, a classificação dos resultados seguiu os procedimentos de Valdecabres (2018), onde vacas com concentração de BHB no sangue $\geq 1,2$ mmol/L (LEBLANC; LESLIE; DUFFIELD, 2005) em pelo menos um dos momentos amostrados (M1, M2 e M3), foram diagnosticadas com cetose subclínica. Já a proteína total e a albumina, no sangue, além da ureia, no leite, foram os marcadores utilizados para determinação do equilíbrio proteico. Para determinação do status metabólico mineral, além do Ca, níveis sanguíneos de Mg, Na e Cl foram avaliados. Para avaliar o equilíbrio ácido-base foram avaliados o lactato e o pH.

Realização das análises sanguíneas

No sangue total foram determinados o beta-hidroxibutirato e a glicose, através de analisador para uso *point of care*, novaVet Ketone/Glucose (Nova Biomedical, Co., Waltham, EUA). Também foram analisados o pH sanguíneo, bem como, as determinações do Sódio (Na⁺), Potássio (K⁺), cloro (Cl⁻), Glicose (Gli) e Lactato (Lac), ambos, determinados através do Stat Profile Prime Plus VET (Nova Biomedical, Co., Waltham, EUA). No soro foram determinados o cálcio total (Ca), magnésio (Mg), albumina e proteína total. Os tubos foram centrifugados por 3.600 rpm durante 10 min e o soro removido para determinar a concentração de Ca total por colorimetria, usando um Kit bioquímico LabTest para cálcio (LabTest Diagnostica S.A., Lagoa Santa, Minas Gerais). Albumina e a proteína total foram determinadas nas mesmas amostras de soro, também por colorimetria, usando LabTest Albumina e LabTest Total Kits bioquímicos de proteínas, respectivamente (LabTest Diagnostica S.A., Lagoa Santa, Minas Gerais). As análises foram realizadas usando um sistema bioquímico semiautomático analisador, modelo BIO-2000 IL (Bioplus, Produtos para Laboratórios Ltda, Barueri, São Paulo).

Parâmetros indicadores de saúde

Para determinar a higidez dos animais foram realizados exames clínicos, sendo aferidos: temperatura retal (TR), frequências cardíacas (FC) e respiratórias (FR), exame das mucosas, para determinação de quadros de anemia, movimentos ruminais (MR), avaliação do escore de condição corporal (ECC) e estado geral de saúde (EGS). A identificação das vacas com distúrbios de saúde seguiu os procedimentos realizados por Valdecabres (2018), que considerou: febre, aumento da temperatura retal $\geq 39,5$ °C; retenção de placenta, presença de membranas fetais durante a primeira avaliação após o parto; e metrite, presença de corrimento vaginal anormal.

Coleta e análise do leite

Amostras foram coletadas em tubos tipo falcon estéril para realização das análises físico-químicas, através da determinação do teor de gordura, proteína, lactose, perfil da lactose (tamanho e potencial zeta), extrato seco (ES), extrato seco desengordurado (ESD), ureia e a contagem de células somáticas (CCS). Para realização da CCS as amostras individuais de leite foram acondicionadas em recipientes apropriados com Bronopol e encaminhadas em caixas isotérmicas diretamente ao Laboratório, onde ocorreu seu processamento.

Modelo estatístico

O modelo adotado foi $Y_{ijk} = \mu + C_i + M + (C*M)_{ij} + cov(OP) + e_{ijkl}$, em que: Y é a observação; μ é uma constante; C_i são efeitos fixos de Calcemia ; M é o efeito fixo de momento; $C*M$ é a interação calcemia e momento, OP é a covariável ordem de parto e e é o erro aleatório. Antes das análises foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de Kolmogorov para verificar a homocedasticidade. Os modelos foram ajustados sendo considerado 5% de significância. As médias foram avaliadas pelo teste Tukey a 5% de significância. As variáveis proteína total, glicose, BHB, frequência cardíaca, frequência respiratória, movimento ruminal, escore de mucosa, escore de condição corporal, não apresentaram normalidade, sendo estas adotando o modelo $Y_{ijk} = \mu + C_i + M + cov(OP) + e_{ijkl}$, em que: Y é a observação; μ é uma constante; C_i são efeitos fixos de calcemia ; M é o efeito fixo de momento, OP é a covariável ordem de parto e e é o erro aleatório, e comparadas pelo teste não- paramétrico de Kruskal Wallis à 5 % de significância. Para as variáveis leiteiras o modelo adotado foi $Y_{ijk} = \mu + C_i + cov(OP) + e_{ijkl}$; em que: Y é a observação; μ é uma

constante; C_i são efeitos fixos de Calcemia, OP é a covariável ordem de parto e e é o erro aleatório. Os modelos foram ajustados sendo considerado 5% de significância. As médias foram avaliadas pelo teste Tukey a 5% de significância. As variáveis lactose, CCS e período de serviço não apresentaram normalidade e foram comparadas pelo teste não-paramétrico de Kruskal Wallis à 5 % de significância. Todas as análises foram realizadas no software R.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias decorrentes da avaliação do metabolismo mineral são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Marcadores biológicos para avaliação do status do metabolismo mineral em vacas Girolando normocalcêmicas (T1) e hipocalcêmicas (T2), nos momentos pré (M1), parto (M2) e pós-parto (M3).

Variável	Tratamentos						p-Valor			
	T1			T2						
	M1	M2	M3	M1	M2	M3	EPM	Ca	Tempo	Ca x Tempo
tCa (mg/dL)	8,75aA	8,30abA	8,11abA	8,02aB	6,94bB	7,68aB	0,107	<0,001	<0,001	0,036
Mg (mg/dL)	2,03ab	2,23a	2,0b	2,22ab	2,29a	1,92b	0,039	0,406	0,008	0,306
Na (mmol/L)	140	140	139	140	141	140	0,259	0,118	0,145	0,886
K (mmol/L)	4,35	4,11	4,08	4,24	4,33	4,13	0,064	0,402	0,473	-
Cl (mmol/L)	106aA	106aA	104bA	108aB	108aB	106bB	0,348	0,005	0,006	0,787
pH	7,45b	7,50a	7,48a	7,45b	7,49a	7,47a	0,004	0,400	<0,001	0,915

Concentrações totais de cálcio entre 2,1 e 2,5 mmol/L (8,5 e 10 mg/dL), caracterizaram normocalcemia, enquanto a hipocalcemia subclínica foi estabelecida com níveis de cálcio total entre 2 e 1,38 mmol/L (8,0 e 5,5 mg/dL), seguindo as recomendações de Goff (GOFF, 2008). Os níveis de tCa apresentaram, além do esperado efeito da calcemia, justificando a divisão em tratamentos (T1 e T2), efeito do momento (P<0,05), com as menores médias de T1 presentes no M3, e de T2, no M2.

Com variações fisiológicas entre 1,9 e 2,4 mg/dL (GOFF, 2014), o Mg apresentou variações dentro desta faixa, não sofrendo interferência da calcemia, mas possuindo efeito (P<0,05) do momento, tendo o parto (M2), exercido influência para sua elevação, em ambos os

1 tratamentos. Alguns trabalhos sugerem eventuais benefícios de uma concentração mais
2 acentuada do magnésio durante o período de transição (2,60-4,17 mg/dL), associando essa
3 condição a menores incidências de distúrbios para o período, além de um melhor desempenho
4 reprodutivo (JEONG et al., 2018).

5 O cloro apresentou efeito ($P<0,05$) da calcemia e do momento de coleta, sendo as médias
6 em T2 sempre menores que T1, e as menores médias, dentro dos tratamentos, evidenciadas em
7 M3. Contudo, assim como Na e K, o Cl também apresentou médias compatíveis com seus
8 valores de referência. No geral, os macros minerais listados são importantes para o equilíbrio
9 do pH. Onde o excesso de cátions como K ou Na podem induzir uma alcalose metabólica, o
10 que inibiria a reabsorção óssea de Ca (GOFF; HORST, 1997). Por outro lado, o Cl, é um ânion
11 utilizado na formulação de dietas acidogênicas, justamente para ajustes da diferença cátion-
12 aniônica das dietas (DCAD) no intuito de aumentar a eficiência dos mecanismos homeostáticos
13 do cálcio (BLOCK, 1984; GOFF, 2000; ROCHE; MORTON; KOLVER, 2002).

14 A avaliação do pH apresentou suas médias dentro dos limites fisiológicos, entre 7,35 e
15 7,50 (RADOSTITS et al., 2007), entretanto, foi demonstrado efeito ($P<0,05$) de momento,
16 com os animais, em ambos os grupos, experimentando médias mais elevadas ao parto. O que
17 não comprometeu a homeostasia.

18 Produto intermediário do metabolismo dos glicídios e produto final da glicose anaeróbica,
19 o lactato, em condições normais é produzido no eritrócito, mas, sob atividade física intensa,
20 possui produção significativa pelo músculo esquelético; e, em ruminantes, pode ocorrer na
21 acidose láctica (GONZÁLEZ; SILVA, 2017). No presente estudo, os níveis de lactato
22 mantiveram-se dentro da normalidade fisiológica, conforme Gráfico 1, algo que, ao lado da
23 análise do pH, auxilia na avaliação do equilíbrio ácido-base. A aferição do lactato sanguíneo em
24 ruminantes pode ser utilizada como alternativa para detecção da acidose metabólica
25 (FIORENTIN et al., 2018). Algo que não foi verificado em nosso estudo.

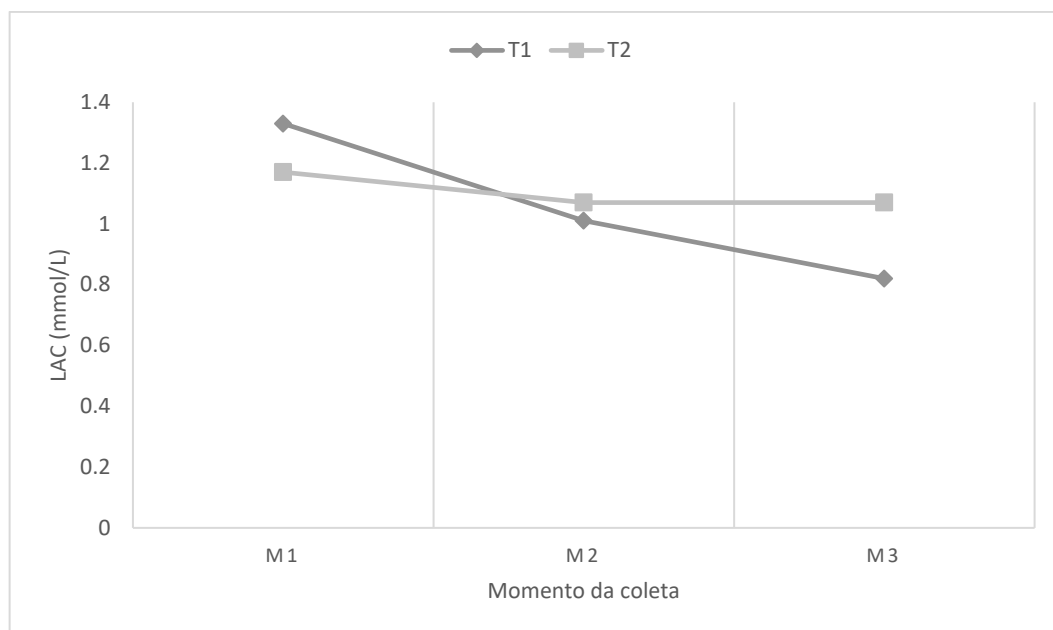


Gráfico 1. Níveis de lactato sanguíneo de vacas leiteiras Girolando, durante o período de transição, dos tratamentos T1 e T2, em seus respectivos momentos de coletas (M1, M2 e M3).

Fatores como nutrição, parto, lactação e enfermidades infecciosas, podem alterar a concentração sanguínea dos metabólitos proteicos (CONTRERAS, 2000). Os dados decorrentes dos marcadores do metabolismo das proteínas são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Marcadores biológicos para avaliação do status do metabolismo proteico em vacas Girolando normocalcêmicas (T1) e hipocalcêmicas (T2), nos momentos pré (M1), parto (M2) e pós-parto (M3).

Variável	Tratamentos						p-Valor			
	T1			T2			EPM	Ca	Tempo	Ca x Tempo
	M1	M2	M3	M1	M2	M3				
PT (g/dL)	6,91	6,83	7,11	6,69	6,43	6,32	0,172	0,333	0,922	-
Alb (g/dL)	2,98	2,95	2,83	3,08	3,07	2,99	0,077	0,371	0,825	0,988
Ureia* (mg/dL)	-	-	17	-	-	16,6	1,441	0,717	-	-

*Ureia do leite, aferida sete dias após o parto, para dirimir as alterações inerentes ao colostro.

Os valores de referência considerados para proteínas totais foi de 6,7 a 7,75 g/dL (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997); e para albumina, de 2,1 a 3,6 g/dL (RADOSTITS et al., 2007). As PT não apresentaram efeito ($P>0,05$). As matrizes no T1 obtiveram menores médias ao parto e maiores médias em M3, contudo, mantiveram a normoproteinemia. Porém, foi verificado no T2, níveis abaixo dos limites fisiológicos, ou seja, as matrizes que estiveram sob hipocalcemia, apresentaram, concomitantemente, hipoproteinemia. Condição associada por alguns autores ao agravamento do balanço energético negativo no puerpério (OLIVEIRA et al., 2014). Sendo relatada frequentemente em associação com a hipocalcemia, porém, justificada

pela hipoalbuminemia associada, o que reflete na redução do Ca ligado à proteína. Por exemplo, em humanos, pacientes com COVID-19 e hipocalcemia, apresentaram associação entre hipoproteïnemia e hipocalcemia, em 73,64% dos pacientes, contudo, quando a fração proteica foi restrita apenas a albumina, a associação foi de 96,36% (PATIDAR et al., 2021). Neste sentido, para melhor compreensão do resultado é necessário avaliar as frações proteicas: albumina e globulina. A albumina, em ambos os tratamentos (T1 e T2), representou normoalbuminemia, ou seja, o resultado verificado nas PT para T2, não caracteriza reflexo de alteração da albumina. Com a diferença entre a proteína sérica total e a albumina representando a concentração de globulina (MOHRI; SHARIFI; EIDI, 2007), provavelmente, a hipoproteïnemia se deu por redução de globulinas. A concentração de globulinas diminuiu semanas antes do parto, devido sua passagem para o colostro, recuperando seus valores até três semanas após o parto (GONZALEZ; SILVA, 2017), considerando-se assim, um achado comum.

No que se refere aos níveis de ureia no leite, suas concentrações não apresentaram efeito ($P>0,05$). Com médias entre 17 e 16,6 mg/dL, para T1 e T2, respectivamente, o marcador apresentou valores acima da referência, entre 8,5 a 11,5 mg/dL. A correlação do teor de ureia do leite com seus níveis sanguíneos possui correlação de 98% e é capaz de revelar o balanço entre proteína e energia na dieta (OLTNER; WIKTORSSON, 1983). Neste sentido, o resultado pode refletir um excesso de proteína da dieta. Algumas pesquisas correlacionaram concentrações elevadas de ureia no leite à diminuição da fertilidade (RAJALA-SCHULTZ et al., 2001), outras, no entanto, não confirmaram tal relação (COTTRILL et al., 2002).

Conforme apresentado na Figura 1, os marcadores do metabolismo energético situaram-se, na maior parte do tempo, dentro dos limites fisiológicos para ambos os tratamentos.

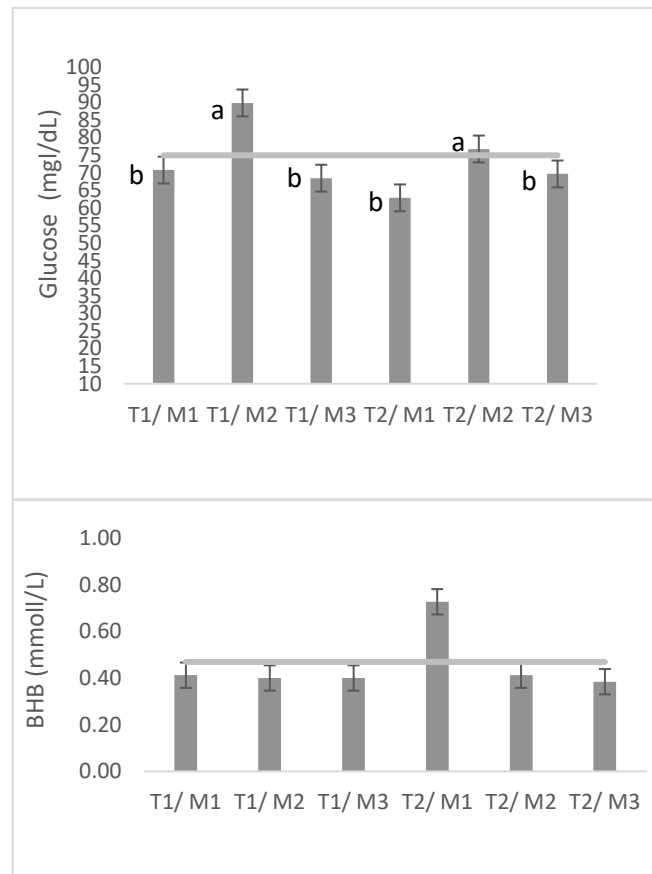


Figura 1. Representação da glicose e do BHB como marcadores do *status* do metabolismo energético em vacas Girolando normocalcêmicas (T1) e hipocalcêmicas (T2), nos momentos pré-parto (M1), parto (M2) e pós-parto (M3). A linha representa os limites fisiológicos para cada variável, e as letras (Glicose) o efeito ($P < 0,05$) de momento.

A glicose apresentou efeito de momento ($P < 0,05$), tendo o parto, exercido influência na elevação das médias em cada grupo (T1 e T2). Embora não tenha sofrido efeito da calcemia, avaliando as concentrações plasmáticas da glicose e do Ca, é possível inferir um antagonismo no momento do parto. A redução dos níveis de Ca sobre as células β pancreáticas, resulta em uma liberação reduzida de insulina, consequentemente, em uma maior concentração plasmática de glicose (VALLDECABRES; PIRES; SILVA-DEL-RÍO, 2018). Em nosso estudo, o T2 também apresentou tendência semelhante, embora as matrizes do tratamento normocalcêmico tenham apresentado as médias mais elevadas.

A mensuração do ácidos graxos não-esterificados (AGNEs) oferece uma melhor avaliação dentro do rebanho para o *status* do BEN, todavia, sua execução dispendiosa e desafiadora, justifica a opção por medidores de BHB sanguíneo, tipo *point of care*, convenientes e de resultados precisos na identificação de vacas com hipercetonemia (MCART et al., 2013). No presente trabalho, os níveis de BHB não apresentaram efeito da calcemia ou do momento e suas médias estiveram abaixo dos limites fisiológicos, 0,47 mmol/L (RADOSTITS; GAY;

HINCHCLIFF, 2008), exceto em T2/M1, onde foi estabelecido diagnóstico de cetose subclínica. Estudos anteriores, tanto com indução, quanto na ocorrência natural da hipocalcemia subclínica, verificaram elevação nas concentrações plasmáticas de BHB (RIBEIRO et al., 2013; MARTINEZ et al., 2014a). Entretanto, baseado nos resultados atuais, essa relação não parece clara, justamente, pela elevação do BHB ter ocorrido no momento onde foram evidenciadas as maiores concentrações de Ca para o tratamento.

As médias do ECC são apresentadas no Gráfico 2, com as mínimas registradas em M3 e as máximas em M2, para ambos os tratamentos.

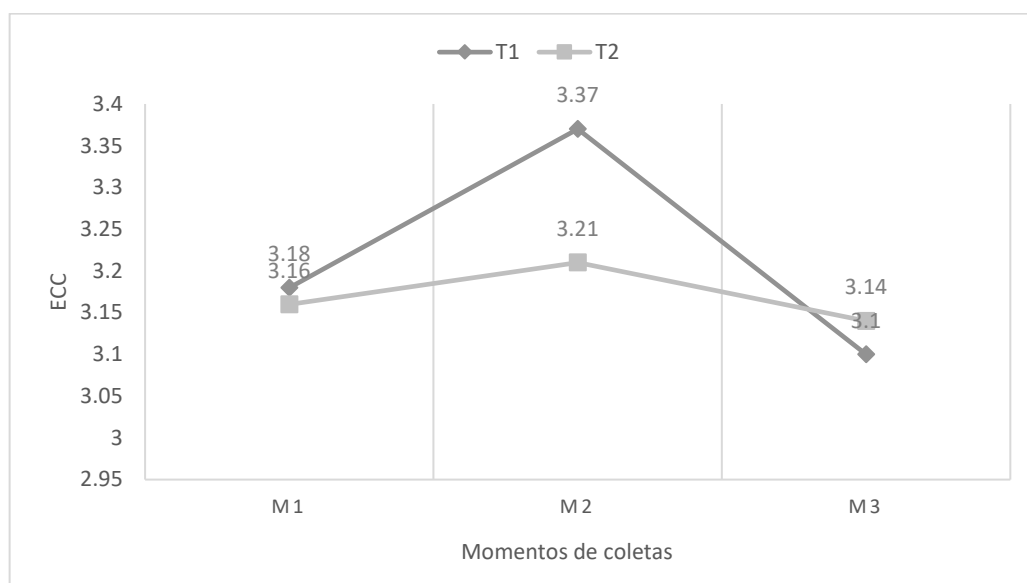


Gráfico 2. Variação do escore de condição corporal estabelecido entre as matrizes Girolando dos tratamentos T1 e T2, em seus respectivos momentos de coletas (M1, M2 e M3).

Alguns autores têm descrito uma relação entre o ECC no pré-parto e às concentrações de Ca ao parto, com aumento do escore corporal em detrimento da diminuição dos níveis de cálcio (SEDÓ et al., 2018). Em nosso estudo, a variável ECC não apresentou efeito ($P>0,05$), seja da calcemia, seja do momento da coleta, mantendo-se em níveis superiores a 3,0.

As características do leite produzido no sétimo dia pós-parto são apresentadas no Gráfico 3.

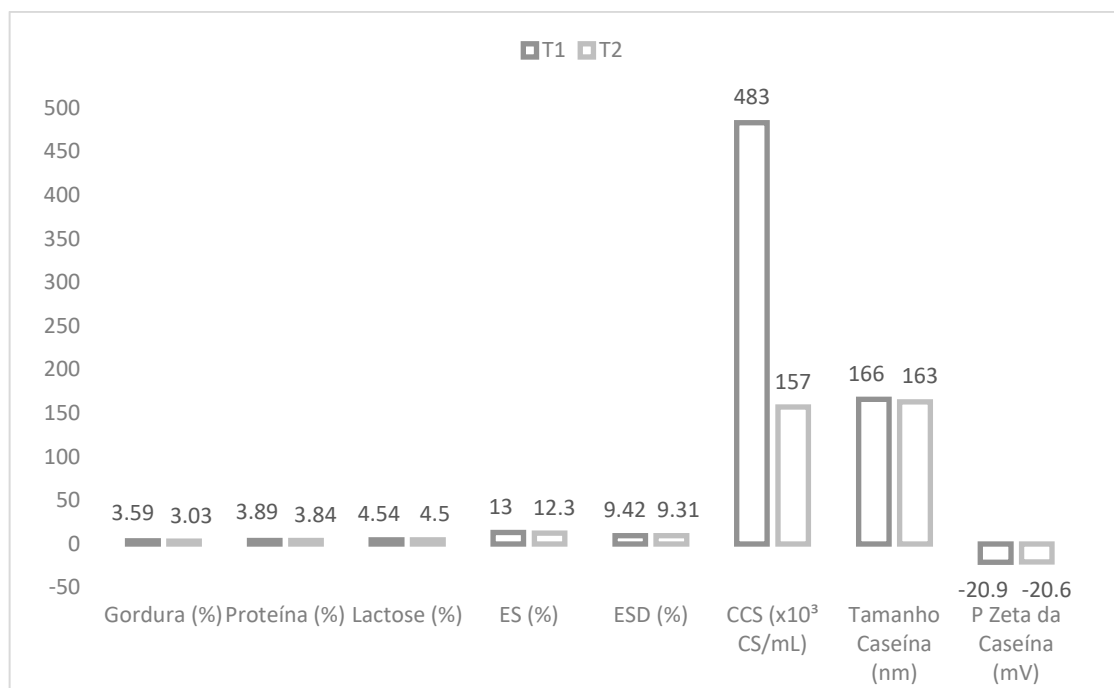


Gráfico 3. Características físico-químicas, CCS e perfil da caseína de leite produzido por vacas Girolando sob normocalcemia (T1) e hipocalcemia subclínica (T2) no sétimo dia pós parto (M3).

As variáveis que determinaram o perfil lácteo das matrizes não apresentaram efeito da calcemia ou do tempo ($P > 0,05$). O estudo das médias revela uma tendência de superioridade do T1 frente ao T2, entretanto, permanecendo, ambas, dentro dos padrões fisiológicos ou regulamentados, como é o caso da CCS, estabelecido em 500.000 cs/mL (BRASIL, 2018).

Dentre os parâmetros fisiológicos FR, MR, TR e a coloração das mucosas não revelaram efeito da calcemia ou de momento, com suas médias permanecendo dentro dos parâmetros fisiológicos indicadores de homeostase. Com a FC fisiológica fluando entre 60 e 80 bpm (PARMAR; WHITE; STELLA, 1989), apenas os animais do T2/M3, apresentaram médias dentro deste intervalo, nos demais, as médias variaram entre 81,8 (T2/M2) e 93 bpm (T1/M2). Castro et al. (2018) trabalhando com o mesmo perfil genético do nosso estudo, identificaram médias de FC acima dos padrões fisiológicos da espécie, creditando o resultado à distância percorrida pelos animais, somada a temperatura ambiente. A elevação da FC poderia, de fato, indicar estresse calórico, caso acompanhada de aumento da TR e FR (SILVA et al., 2011), o que não ocorreu. Em detrimento do aumento da FC, estima-se que os animais mantiveram a homeostase. Pizoni et al. (2017) também não evidenciaram alterações significativas nos parâmetros clínicos dos animais submetidos a hipocalcemia subclínica. O que evidencia a necessidade de meios e métodos indiretos para identificação dos distúrbios, corretamente denominados como subclínicos.

CONCLUSÕES

A hipocalcemia subclínica evidenciada durante o período de transição não apresentou alterações significativas sobre os marcadores metabólicos avaliados, bem como, sobre seus parâmetros clínicos e na composição do leite de vacas Girolando.

REFERÊNCIAS

- BLOCK, E. Manipulating Dietary Anions and Cations for Prepartum Dairy Cows to Reduce Incidence of Milk Fever. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 12, p. 2939–2948, 1984. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030284816574>>.
- CAIXETA, L. S. et al. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 94, p. 1–7, 1 maio 2017.
- CASTRO, A. L. O. et al. Parâmetros fisiológicos de vacas F1 Holandês x Zebu criadas em ambientes com e sem sombreamento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 70, p. 722–730, 2018.
- CHAPINAL, N. et al. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 10, p. 5676–5682, 2012a. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030212004730>>.
- CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1301–1309, mar. 2012b.
- CONTRERAS. Indicadores do metabolismo proteico utilizados no perfis metabólicos de rebanhos. In: **Perfil metabólico em ruminantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. [s.l: s.n.]p. 108.
- COTTRILL, B. et al. Relationship between milk urea concentration and the fertility of dairy cows. n. September 1997, 2002.
- DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 58–69, abr. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.029>>.
- GOFF, J. P. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 16, n. 2, 2000.
- GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 50–57, abr. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.020>>.
- GOFF, J. P. Calcium and Magnesium Disorders. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 30, n. 2, p. 359–381, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2014.04.003>>.

- 1 GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to
2 Metabolic Disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1260–1268, 1997. Disponível
3 em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030297760557>>.
- 4 GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. **Transtornos metabólicos nos animais**
5 **domésticos**. 2º ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2014.
- 6 GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. da. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 3º ed.
7 Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2017.
- 8 JEONG, J. K. et al. Relationship between serum magnesium concentration during the transition
9 period, peri- and postpartum disorders, and reproductive performance in dairy cows. **Livestock**
10 **Science**, v. 213, n. December 2017, p. 1–6, 2018. Disponível em:
11 <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.04.013>>.
- 12 JORGENSEN, R. J. et al. Induced hypocalcaemia by Na2EDTA infusion. A review. **Zentralbl**
13 **Veterinarmed A**, v. 46, n. 7, p. 389- 407., 1999.
- 14 KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic**
15 **Animals**. 5º ed. San Diego: Elsevier, 1997.
- 16 KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P. Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium
17 Signals in Immune Cells of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 7, p. 2588–2595,
18 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206723359>>.
- 19 LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced
20 abomasum in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 1, p. 159–170, 2005.
- 21 MAHEN, P. J. et al. Effect of blood ionised calcium concentration at calving on fertility
22 outcomes in dairy cattle. **Veterinary Record**, v. 183, n. 8, p. 263, 1 set. 2018.
- 23 MARTINEZ, N. et al. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses
24 and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 2, p. 874–887, 2014a.
25 Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213008655>>.
- 26 MARTINEZ, N. et al. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses
27 and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 2, p. 874–887, fev.
28 2014b.
- 29 MCART, J. A. A. et al. Elevated non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and their
30 association with transition dairy cow performance. **Veterinary Journal**, v. 198, n. 3, p. 560–
31 570, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.08.011>>.
- 32 MOHRI, M.; SHARIFI, K.; EIDI, S. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy
33 calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. **Research in**
34 **Veterinary Science**, v. 83, n. 1, p. 30–39, 2007.
- 35 OLIVEIRA, R. S. B. R. et al. Metabolic profile in crossbred dairy cows with low body condition
36 score in the peripartum period. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 362–368, 2014.
- 37 OLTNER, R.; WIKTORSSON, H. UREA CONCENTRATIONS IN MILK AND BLOOD AS
38 INFLUENCED BY FEEDING VARYING AMOUNTS OF PROTEIN AND ENERGY TO
39 DAIRY COWS. **Livestock Production Science**, v. 10, p. 457–467, 1983.
- 40 PARMAR, A. N.; WHITE, N. E.; STELLA, L. The transient 42 second X-ray pulsar EXO
41 2030+375. II - The luminosity dependence of the pulse profile. **The Astrophysical Journal**, v.

338, p. 373, 1989.

PATIDAR, B. S. et al. The Association Between Hypocalcemia and Outcome in COVID-19 Patients: a Retrospective Study. **Research square**, 2021.

PIZONI, C. et al. Parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos de novilhas com hipocalcemia subclínica pré-parto suplementadas com dieta aniônica [Anionic diet on clinical, haematological and biochemical parameters of heifers with subclinical hypocalcemia prepartum]. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 69, n. 5, p. 1130–1138, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9035>>.

RADOSTITS, O. et al. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10^o ed. Philadelphia: Elsevier, 2007. v. 10

RAJALA-SCHULTZ, P. J. et al. Association Between Milk Urea Nitrogen and Fertility in Ohio Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 2, p. 482–489, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74498-0](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74498-0)>.

RIBEIRO, E. S. et al. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 9, p. 5682–5697, set. 2013.

ROBERTSON, W. G.; MARSHALL, R. W.; WALSER, M. Calcium measurements in serum and plasma-total and ionized. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 11, n. 3, p. 271–304, 1979.

ROCHE, J. R.; MORTON, J.; KOLVER, E. S. Roche et al_2002_Sulf. **J. Dairy Sci**, v. 85, p. 3444–3453, 2002.

RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, n. 2012, p. 7427–7434, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217306331>>.

SILVA, C. M. B. de A. et al. Efeito das condições climáticas do semiárido sobre o comportamento fisiológico de caprinos mestiços fl Saanen x Boer. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 4, p. 195–199, 2011.

TILLARD, E. et al. Precalving factors affecting conception risk in Holstein dairy cows in tropical conditions. **Theriogenology**, v. 68, n. 4, p. 567–581, 2007. Disponível em: <www.theriojournal.com>. Acesso em: 2 out. 2021.

VALLDECABRES, A.; PIRES, J. A. A.; SILVA-DEL-RÍO, N. Effect of prophylactic oral calcium supplementation on postpartum mineral status and markers of energy balance of multiparous Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4460–4472, 1 maio 2018.

ZAMBRANO, W. J.; MARQUES, A. P. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras do pré-parto ao quinto mês da lactação Metabolic profile of crossbreed milking cows from calving to the fifth month of lactation. **Zootecnia Trop**, v. 27, n. 4, p. 475–488, 2009.

37
38
39
40
41
42

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A calcemia exerceu influência sobre os marcadores do estresse oxidativo, caracterizando desequilíbrio entre os níveis de oxidantes e antioxidantes, culminando no aumento da peroxidação lipídica, verificado pelo TBARS. Bem como, o efeito de momento ($P < 0,05$) exercido junto aos marcadores Ca, Mg, pH e glicose, por si só, caracteriza o período de transição como desafiador. Entretanto, os resultados verificados junto aos marcadores de reprodução e produção, além da composição do leite e parâmetros fisiológicos, evidenciam que, apesar das alterações metabólicas verificadas, os mecanismos compensatórios foram eficientes para o perfil genético trabalhado e o grau de desafio imposto.

5. REFERÊNCIAS

- ABUELO, A. et al. **Redox biology in transition periods of dairy cattle: Role in the health of periparturient and neonatal animals** *Antioxidants* MDPI AG, , 1 jan. 2019. .
- BERNABUCCI, U. et al. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. **Animal**, v. 4, n. 7, p. 1167–1183, 2010.
- CAIXETA, L. S. et al. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 94, p. 1–7, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.01.039>>.
- CASTILLO, C. et al. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 169, n. 2, p. 286–292, mar. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023304000449>>.
- CASTILLO, C. et al. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 80, n. 2, p. 133–139, abr. 2006.
- CELI, P. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 33, n. 2, p. 233–240, 2011.
- CHAPINAL, N. et al. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 10, p. 5676–5682, 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030212004730>>.
- DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 58–69, abr. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.029>>.
- GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 50–57, abr. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.020>>.
- GOFF, J. P. Calcium and Magnesium Disorders. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 30, n. 2, p. 359–381, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2014.04.003>>.
- KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P. Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 7, p. 2588–2595, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206723359>>.
- MAHEN, P. J. et al. Effect of blood ionised calcium concentration at calving on fertility outcomes in dairy cattle. **Veterinary Record**, v. 183, n. 8, p. 263, 1 set. 2018.
- MARTINEZ, N. et al. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 2, p. 874–887, fev. 2014.
- MIRANDA, J. E. C.; FREITAS, A. F. **Raças e tipos de cruzamentos para produção de leite: heterose ou vigor híbrido** *Comunicado Técnico 98, Embrapa Gado de Leite: Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica*. [s.l.: s.n.].
- POSSENTI, C. G. R. et al. Evaluation of oxidative stress in plasma of dairy cows with mastitis.

- 1 **Ciencia Animal Brasileira**, n. 19, 2018.
- 2 RAMBERG, C. F. et al. Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient
3 hypocalcemia. 1984. Disponível em: <www.physiology.org/journal/ajpregu>. Acesso em: 7
4 nov. 2021.
- 5 RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia
6 and postparturient diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, n. 2012, p. 7427–7434,
7 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217306331>>.
- 8 ROSOL, T. J. et al. Pathophysiology of Calcium Metabolism. **Veterinary Clinical Pathology**,
9 v. 24, n. 2, p. 49–63, 1995.
- 10 SILVA, A. A. da; GONÇALVES, R. C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias
11 em grandes animais. **Ciência Rural**, v. 40, n. 4, p. 994–1002, 26 mar. 2010. Disponível em:
12 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000400040&lng=pt&tlng=pt)
13 84782010000400040&lng=pt&tlng=pt>.
- 14 SORDILLO, L. M.; AITKEN, S. L. Impact of oxidative stress on the health and immune
15 function of dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 128, n. 1–3, p.
16 104–109, 15 mar. 2009.
- 17 SORDILLO, L. M.; MAVANGIRA, V. The nexus between nutrient metabolism, oxidative
18 stress and inflammation in transition cows. **Animal Production Science**, v. 54, n. 9, p. 1204,
19 2014.