

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**AVALIAÇÃO METABÓLICA DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS A
DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE PREVENÇÃO DO BALANÇO
ENERGÉTICO NEGATIVO NO PÓS-PARTO.**

ALEJANDRA M. BARRERA G.

Porto Alegre, 2010.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS.

AVALIAÇÃO METABÓLICA DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS A
DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE PREVENÇÃO DO BALANÇO
ENERGÉTICO NEGATIVO NO PÓS-PARTO

Autor: Alejandra M. Barrera García

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Patologia Clínica.

Orientador: Félix H. Diaz González.

B272a Barrera Garcia, Alejandra M.

Avaliação metabólica de vacas leiteiras submetidas a diferentes estratégias de prevenção do balanço energético negativo no pós-parto. / Alejandra M. Barrera Garcia - Porto Alegre: UFRGS, 2010.

83 f.; il. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2010. Felix Hilário Diaz González, Orient.

1. Bioquímica Veterinária: bovinos 2. Vaca Leiteira 3. Lipidose hepática 4. Indicadores bioquímicos 5. Cetose I. Diaz Gonzalez, Félix Hilário, Orient. II. Título.

CDD 612.015

Catálogo na fonte preparada pela Biblioteca da

Faculdade de Veterinária da UFRGS.

Alejandra M. Barrera García

Avaliação metabólica de vacas leiteiras submetidas a diferentes estratégias de prevenção do balanço energético negativo no pós-parto.

Aprovada em 31 de março de 2010

Félix H. D. González
Orientador e Presidente Comissão

Cláudio Estevão Farias Cruz (UFRGS)
Membro da Comissão

Marcio Nunes Corrêa (UFPEL)
Membro da Comissão

Marcelo da Silva Cecim (UFSM)
Membro da Comissão

Dedico este trabalho

Ao homem mais importante da minha vida, meu Pai, quem me deu a melhor herança
que um ser humano pode receber: educação.

A minha mãe do coração, Elsitá, por ter tanto amor para meu Pai, minha irmã e eu.

Ao meu grande amor, Diego, pela força, amor e cumplicidade.

A minha irmã, Johanna, pelo amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Meses atrás parecia tão longe este momento. Nunca um ano se apresentou com tantas provas e obstáculos, posso dizer com certeza que as aprendizagens obtidas durante este processo marcarão meu caminho de hoje em diante.

Os agradecimentos ao início foram escritos de forma comum, algo assim como uma mini-história, logo após surgiram os pessoais que no meu caso particular foram os seguintes:

Sem dúvida os maiores agradecimentos serão sempre para o meu pai Gonzalo e sua esposa Elsita, devo a vocês tudo que eu sou, lhes agradeço todos os esforços por fazer realidade meu maior sonho, pelo apoio incondicional, por ensinar-me que não existem metas impossíveis de lograr, e que todos nossos anseios são possíveis de alcançar. A minha irmã Johanna pelas incontáveis palavras de carinho e conselhos sempre oportunos. As minhas tias Gladys, Alicia e Rosita, que sempre me deram forças para não desfalecer. Muito obrigada amada família pelo seu apoio constante apesar da distância, sem vocês eu não teria chegado até aqui.

Ao meu amor Diego pelo constante apoio, companhia, paciência e amor, durante estes anos. Muito obrigada por ter sido meu anjo da guarda em todo momento, agradeço as tuas críticas, ajuda incondicional na coleta do material e desenvolvimento deste trabalho. Aos meus sogros Bibi e Raul pelos momentos de atenção e carinho, sempre procurando fazer minha vida melhor ao estar longe de casa, muito obrigada, amo vocês.

Ao meu orientador Félix H. González pela oportunidade, confiança, paciência e amizade.

Aos colegas Rômulo Campos e Felipe Cardoso pela ajuda, colaboração e conhecimentos passados desinteressadamente.

Ao professor João Batista pela confiança e ajuda na aquisição de recursos financeiros para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Análises Clínicas “LACVet” pelas horas desinteressadas de trabalho: Simone Tostes de Oliveira, Nicole Hlavac, Elisa Barp

Neuwald, Luciana Lacerda, Fernanda Voll Ventura, Camila Serina Lasta, Ana Elize, e Amanda. Aos Estagiários da Unidade de Reprodução de Bovinos Ricardo e Diogo pela colaboração nas coletas do material.

Aos proprietários do Tambo Bayer, Sr. Dirceu Bayer e filho Diter pelo acolhimento e oportunidade, possibilitando a realização deste trabalho, aos funcionários Mary e Paulo, pela confiança, ajuda e imensa colaboração prestada na realização das coletas para este experimento.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos.

À Química Geral do Nordeste (QGN) pelo auxílio financeiro que viabilizou a aquisição dos reagentes comerciais e compra dos medicamentos.

Aos meus eternos amigos, Pedro, Ivan e Diego, que apesar da distância estão sempre presentes em minha vida.

A Isabella, Federico e Pablito pela companhia e amor incondicional.

A Deus por brindar-me a oportunidade de escolher esta maravilhosa profissão.

Finalmente a Ramón Andrés quem foi minha fonte de inspiração, por quem iniciou este grande sono, e mesmo que já não esteja ao meu lado, sempre me acompanha.

Muito Obrigada!!!!

“O veterinário que confia só no laboratório para seus diagnósticos carece de experiência, e quem diz não precisar do laboratório carece de conhecimentos”

(Wittwer e Böhmwald)

AValiação metabólica de vacas leiteiras submetidas a diferentes estratégias de prevenção do balanço energético negativo no pós-parto.

Autor: Alejandra M. Barrera García.

Orientador: Félix Hilario Diaz González.

RESUMO

No início da lactação, alterações metabólicas produto do severo balanço energético negativo (BEN) predispõem ao desenvolvimento de lipidose hepática e cetose. O objetivo deste trabalho foi avaliar, através de indicadores bioquímicos, a condição metabólica em vacas leiteiras, durante os primeiros 60 dias de lactação submetidas a três tratamentos preventivos que poderiam melhorar o status energético no início da lactação e por tanto, auxiliar na prevenção de lipidose hepática e cetose. Além disso, buscou-se definir quais dos parâmetros laboratoriais utilizados na avaliação da condição metabólica, seriam mais úteis no direcionamento do diagnóstico e prevenção de transtornos metabólicos por lipomobilização. Cinquenta e quatro vacas multíparas da raça Holandesa foram alocadas em quatro grupos: controle, precursor da glicose (1-2 propaneidol: propileno-glicol: 300 mL/48 horas), protetor hepático (Mercepton:20 mL/48 horas), e suplemento energético (ácidos graxos poli-insaturados protegidos: Megalac-E:250 g/vaca/dia), administrados durante os primeiros 30 dias após o parto. Amostras de sangue e urina foram coletadas nos dias 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 após o parto, no horário da tarde antes da segunda ordenha, e realizou-se avaliação do escore da condição corporal (ECC) em cada amostragem. Foram coletadas amostras de soro e plasma para análise de ácidos graxos não esterificados (NEFA), albumina, aspartato-aminotransferase (AST), β -hidroxibutirato (BHB), colesterol, glicose, globulinas, proteína total, triglicerídeos e uréia, através de espectrofotometria utilizando kits diagnósticos. Na urina, determinou-se o pH e corpos cetônicos. No presente trabalho foram considerados pontos de corte para cetose subclínica concentrações séricas de BHB $\geq 1,4$ mmol/L e de NEFA $\geq 0,7$ mmol/L. Foi encontrada uma incidência de 24% para cetose subclínica. Os resultados do presente estudo não demonstram o efeito preventivo de nenhum dos três tratamentos, confirmando que até agora não existe tratamento para superar o BEN. Valores séricos de AST, colesterol total e BHB, assim como a determinação de corpos cetônicos na urina são bons parâmetros bioquímicos no diagnóstico e prognóstico de lipomobilização no pós-parto inicial.

Palavras-chave: lipidose hepática, cetose, indicadores bioquímicos, vaca leiteira.

Metabolic evaluation of dairy cows under three different strategies for preventing negative energy balance in early postpartum

ABSTRACT

In early lactation dairy cattle experience metabolic alterations, caused by severe negative energy balance (NEB). This disbalance predisposes the development of fat liver and ketosis. The aim of this study was to evaluate a metabolic condition by biochemical indicators in high yielding dairy cows (≥ 25 kg/day) during the first sixty days of lactation. Cows were subjected to three preventive treatments that we hypothesed could improve the energy status in early lactation and therefore aid in the prevention of fat liver and ketosis. In addition, the trial had the aim of defining which of those laboratory parameters used for evaluating metabolic condition would be more useful for diagnostic and prevention of metabolic disease resulted from lipolysis. Fifty four multiparous Holstein cows were divided into four groups: control, glucose precursor (1-2 propaneidol - propylen-glyol: 300 mL/48 hours), hepatic protector (Mercepton 20 mL/ 48 hours), and protected fatty acids poli-unsaturated (Megalac-E: 250 g/cow/day). Blood and urine samples were collected on days 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 postpartum and in each period body condition score (BCS) was evaluated. Blood concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA); albumin, AST, β -hydroxybutyrate (BHB), total cholesterol, glucose, total protein, urea and triglycerides were determined through espectrophotometry by diagnostic kits. In urine determinations of ketone bodies and pH were performed. In the present study a cut-off point for subclinical ketosis was defined when blood concentration of BHB $\geq 1,4$ mmol/L and concentration of blood NEFA $\geq 0,7$ mmol/. The incidence of subclinical ketosis was 24%. The results of the present study do not demonstrate the preventive effect of any of the three treatments for overcoming the NEB. Serum levels of AST, total cholesterol and BHB and urine ketone bodies are good biochemical parameters for the diagnostic and prevention of lipolysis in early postpartum.

Key-words : fatty liver, ketosis, biochemical indicators, early lactation, dairy cattle.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO		pág.
Figure 1.	Average concentration of (a) glucose (mmol/L), (b) non-esterified fatty acids (mmol/L), (c) β -hydroxybutyrate (mmol/L), (d) cholesterol (mmol/L), (e) average of body condition score in dairy cows of control group (CN), propylene glycol (PG), Mercepton (Mp) and Megalac E (Mg-E).	43
 Anexos		
Figura 1	Concentração média de glicose (mmol/L).	60
Figura 2	Concentração média de AGNE (mmol/L)	60
Figura 3	Concentração média de BHB (mmol/L)	61
Figura 4	Concentração média de colesterol (mmol/L)	61
Figura 5	Concentração média de triglicerídeos (mmol/L)	62
Figura 6	Concentração média de corpos cetônicos na urina (mg/dL)	62
Figura 7	Concentração média de uréia (mmol/L)	63
Figura 8	Concentração média de proteína total (g/L)	63
Figura 9	Concentração média de globulinas (g/L)	64
Figura 10	Concentração média de albumina (g/L)	64
Figura 11.	Concentração média de aspartato-aminotransferase (U/L)	65
Figura 12.	Escore de condição corporal nas primeiras oito semanas de lactação	65

LISTA DE TABELAS

ARTIGO		pág
Table 1	Ingredients and nutrient composition of the basal early lactating cow total mixed ration (TMR).	40
Table 2-	Average, standard deviation, probability values (<i>p</i>) for blood metabolites analyzed in each treatment group (average for eight weeks).	41
Table 3	Average, standard deviation, probability values (<i>p</i>) analysis of variance of blood metabolites in dairy cows analyzed in each treatment group during the first eight weeks of lactation.	42
ANEXOS		
Tabela 4	Coeficientes de correlação de Pearson entre BHB e NEFA	64
Tabela 5.	Porcentagem de amostras por grupo que apresentaram aumento na concentração sanguínea de BHB e NEFA	64

SUMÁRIO		Pág
1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	OBJETIVOS.....	5
2.1	Objetivo Geral.....	5
2.2	Objetivos Específicos.....	5
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1	TRANSTORNOS METABÓLICOS POR LIPOMOBILIZAÇÃO.....	6
3.1.1	Complexo lipidose hepática-cetose em vacas leiteiras de alta produção.....	7
3.1.1.1	Etiologia da lipidose hepática em vacas leiteiras.....	8
3.1.2	Etiologia da cetose das vacas leiteiras.....	12
3.1.3	Patogênese do complexo lipidose hepática – cetose nas vacas leiteiras...	13
3.2	Uso do perfil metabólico como ferramenta diagnóstica de transtornos metabólicos por lipomobilização em bovinos leiteiros.....	14
3.2.1	Diagnóstico laboratorial da lipidose hepática e da cetose em vacas leiteiras.....	15
3.3	Estratégias preventivas da lipidose hepática e cetose em vacas leiteiras.....	17
4	RESULTADOS.....	22
	Metabolic evaluation of periparturient dairy cows submitted to three strategies to diminish the effects of negative energy balance.....	23
	Abstract	23
	Resumo	24
	Introduction	25

	Materials and Methods	26
	Results and Discussion	30
	Conclusions	35
	Acknowledgements	35
	Referências	36
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
	CONCLUSÕES.....	46
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
	ANEXOS.....	60

LISTA DE SIGLAS

AcAc	Acetoacetato
AGNE	Ácidos graxos não esterificados.
BHB	β-hidroxibutirato
BEN	Balanco energético negativo
CAT	Ciclo dos ácidos tricarboxílicos
Cn	Grupo controle
CO₂	Dióxido de carbono
DMI	Dry matter intake (Consumo de material seca, sigla em inglês)
DMS	Diferença mínima significativa
DP	Desvio padrão.
ECC	Escore de condição corporal
FAO	Food and Agriculture Organization
GLM	General linear model (Modelo geral linearizado, sigla em inglês)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LHS	lipase hormônio sensível
NAD	Nicotin adenin nucleotídeo
NEFA	Non-esterified fatty acids (Ácidos graxos não esterificados, sigla em inglês)
MgE	Grupo Megalac-E
Mp	Grupo Mercepton

MS	Matéria seca
PG	Grupo propileno-glicol [®]
SPSS-PASW	Statistical Package for the Social Sciences
TG	Triglicerídeos
RTM	Ração totalmente misturada
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade (sigla em inglês).

INTRODUÇÃO

Segundo a *Food and Agriculture Organization* (FAO, 2008), a produção mundial de leite de vaca em 2007 atingiu 560,5 milhões de toneladas, das quais 25,3 milhões de toneladas foram produzidas no Brasil, sexto colocado no ranking internacional e detentor de 4,5% da produção mundial. Entretanto, em produtividade, ocupou a 21ª posição. O Brasil possui boas oportunidades de se tornar um grande exportador de lácteos devido à disponibilidade de terra, água, tecnologia e custo de produção competitivo, o que ilustra grande potencial de melhoria. Em 10 anos (1997-2007), a produção brasileira aumentou 40%, evoluiu de 18,7 bilhões para 26,1 bilhões de litros. O número de vacas ordenhadas, por sua vez, elevou-se em uma taxa inferior (23,9%), o que demonstra aumento de produtividade (FAO, 2008). Em 2007, o estado de Minas Gerais foi o maior produtor com 7,275 milhões de litros, correspondentes a 38,4 % de todo o leite produzido no Brasil. A produção leiteira do Rio Grande do Sul ocupou o segundo lugar da produção nacional, com 2,94 bilhões de litros anuais (IBGE, 2008).

A atividade pecuária gaucha ocupa um importante segmento da produção agropecuária nacional (ROSSATO et al., 1999). Nesse contexto, o desenvolvimento da pecuária leiteira nos últimos anos tem levado à intensificação nos sistemas de produção com o objetivo de obter maior rentabilidade com o mínimo custo (WITTEWER, 2000a). Para atingir este objetivo, nos últimos 40 anos, têm sido selecionados, através do melhoramento genético, animais de alta produção (SONSTEGARD et al., 2001; CHAGAS et al., 2009), os quais têm sido exigidos metabolicamente para cumprir com as necessidades produtivas atuais; porém, tal seleção tem provocado risco aumentado de doenças metabólicas (GOFF; HORST, 1997; BUCKLEY et al., 2000). Nesse sentido, um sistema produtivo eficiente requer que a vaca leiteira tenha um parto por ano, o que tem sido associado a uma maior incidência de transtornos metabólicos ou “doenças da produção”. A transição que impõe a transição de gestante não lactante a não gestante lactante é uma experiência devastadora no metabolismo desses animais, principalmente nas primeiras duas semanas de lactação (GOFF; HORST, 1997).

O pós-parto inicial na vaca leiteira é um período caracterizado por fortes adaptações metabólicas, mudanças que iniciam nas três últimas semanas da gestação e se estendem até a terceira semana de lactação (GRUMMER, 1995; DRACKLEY, 1999; PICKETT et al, 2003; TEDESCO, et al., 2004). Durante esse período, o requerimento

das demandas energéticas aumenta rapidamente devido ao crescimento fetal e lactogênese (WATHES et al., 2007). A biologia e o manejo da vaca leiteira durante o período de transição têm sido pontos centrais de várias pesquisas nas áreas de nutrição e fisiologia, nos últimos 15 anos, devido às severas adaptações que a vaca experimenta no metabolismo de carboidratos, lipídeos e minerais no início da lactação (OVERTON; WALDRON, 2004). Segundo Drackley (1999), esse período corresponde ao limite biológico dos processos metabólicos na vaca leiteira, caracterizado pelas dramáticas alterações metabólicas e fisiológicas pelas quais ela atravessa, onde se apresentam paralelamente a involução uterina e o reinício da atividade ovariana. Apesar disso, o período de transição continua sendo uma problemática dentro dos rebanhos leiteiros, resultando em importantes perdas econômicas consequentes dos desequilíbrios nutricionais que afetam diretamente o desempenho produtivo e reprodutivo desses animais (DRACKLEY, 1999; HAYIRLI et al, 2002).

O início da lactação é um período muito importante visto que nele a vaca expressa seu máximo potencial, ainda quando o consumo de alimento se encontra diminuído, ou seja, quando o consumo de matéria seca não acompanha o pico de produção, condição conhecida como balanço energético negativo (BEN) (CAMPOS et al., 2005). Como consequência da diminuição no consumo de alimento, a vaca inicia a mobilização de suas reservas corporais (lipídicas e protéicas) para compensar o déficit de energia (JORRITSMA et al, 2003) através dessas vias alternativas para fornecimento de nutrientes necessários para a produção de leite durante as primeiras semanas de lactação (INGVARTSEN; ANDERSEN, 2000; SAHINDURAN et al., 2010). A capacidade de um animal para se ajustar ao BEN depende do volume de reservas corporais disponíveis, porém, quando o metabolismo da vaca não consegue se adaptar a essas alterações, desenvolve transtornos ou doenças metabólicas (DUFFIELD et al., 2009). Essas doenças metabólicas ou “doenças da produção” são provocadas pelo desequilíbrio entre os nutrientes que ingressam no organismo (glicídeos, proteínas, minerais, água), seu metabolismo e os egressos através das fezes, urina, leite e feto. Quando esses desequilíbrios são de curta duração e não são demasiados severos, o metabolismo animal pode compensar utilizando suas reservas corporais. Entretanto, se o desequilíbrio é severo ou moderado e persistente, o animal esgota suas reservas corporais e ocorre a doença (WITTEWER, 2000a).

Lipidose hepática e cetose são transtornos metabólicos que se apresentam usualmente durante o pós-parto inicial (GRUMMER, 1993; BOBE et al., 2003). O

acúmulo de lipídeos nos hepatócitos é comum em vacas leiteiras poucos dias após o parto, quando a concentração sérica de ácidos graxos não esterificados (AGNE) está aumentada devido à lipólise do tecido adiposo e perda de condição corporal associadas com déficit energético e as alterações endócrinas que acompanham o parto e início da lactação (GRUMMER, 1993; GRUMMER, 1995; BERTICS; GRUMMER, 1999). A cetose se desenvolve principalmente como consequência da utilização dos ácidos graxos provenientes da lipólise e que apresentam uma oxidação incompleta devido à carência de oxalacetato, em decorrência da falta do principal precursor gliconeogênico, o propionato. Há excessiva transformação de triglicérides em ácidos graxos livres, através da beta-oxidação e produção excessiva de acetil-CoA que supera a utilização no ciclo dos ácidos tricarboxílicos. O resultado é o acúmulo de corpos cetônicos [acetoacetato (AcAc), β -hidroxibutirato (BHB) e acetona], fato que leva ao aumento da sua concentração e excreção nos fluidos corporais, evidenciando um quadro de cetonemia, cetonúria e cetolácia, com esgotamento do glicogênio hepático e hipoglicemia (SURIYASATHAPORN et al., 1999; ORTOLANI, 2003; GONZÁLEZ; SILVA, 2006; BRUSS, 2008).

Nesse contexto, a prevenção do desenvolvimento da lipidose hepática e cetose é necessária para garantir o bom funcionamento hepático no início da lactação (BERTICS; GRUMMER, 1999; BOBE et al., 2009). Estratégias para prevenir estes transtornos podem ser agrupadas em três categorias: redução da concentração de AGNE através da diminuição da lipólise do tecido adiposo; aumento da oxidação completa de AGNE por tecidos extra-hepáticos, ou através do aumento na taxa de exportação hepática de lipoproteínas de muito baixa densidade (LMBD) (GRUMMER, 2008). O uso profilático de compostos que aumentem a concentração de propionato ruminal tem dado bons resultados no melhoramento do *status* energético em vacas leiteiras. Com essa finalidade, podem ser utilizados, desde o dia do parto, precursores gluconeogênicos tais como propionato de sódio e propileno-glicol (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). O 1,2-propanodiol (propileno-glicol) é um precursor da glicose a partir da síntese de propionato, rapidamente absorvido desde o rúmen até o fígado para ser utilizado na gluconeogênese (NIELSEN; INGVARTSEN, 2004; MOALLEM et al., 2007). Para Christensen et al. (1997), o benefício no metabolismo energético resulta da administração do propileno-glicol via oral, na forma de bolos, fato que estimula a secreção de insulina ao aumentar a concentração sérica de glicose. Produtos que aumentem a densidade energética da dieta também têm sido estudados (GRUMMER;

CAROL 1991; BERTICS; GRUMMER, 1994; PICKETT et al., 2003) com o propósito de melhorar o BEN em vacas leiteiras. Esses produtos são conhecidos como gorduras protegidas ou gorduras “by-pass”, desenvolvidas como suplementos de alta energia, usualmente incorporados na dieta de ruminantes para melhorar o desempenho produtivo e reprodutivo (GRUMMER; CAROL, 1991). Tal suplementação poderia melhorar o *status* energético nos tecidos extra-hepáticos fornecendo alta energia no período em que a vaca possui uma queda no consumo de alimento (SANTOS et al., 2008). Dessa forma, a mobilização de gordura seria menos intensa, resultando em menor prejuízo ao metabolismo hepático (DRACKLEY, 1999; PICKET et al., 2003). Pesquisas com produtos que melhorem o metabolismo hepático também têm sido realizadas. Bertics e Grummer (1999) estudaram os efeitos da suplementação com gorduras e metionina sobre a concentração hepática de triglicérides em vacas com balanço energético positivo, submetidas a protocolo de indução de lipidose hepática. Entretanto, Tedesco et al. (2004) avaliaram o potencial uso da silimarina, protetor hepático antioxidante de uso humano, em vacas leiteiras durante o período de transição e início da lactação, sobre o desempenho produtivo, composição do leite e condição metabólica. A escolha do tratamento preventivo em rebanhos leiteiros de alta produção depende de um adequado controle nutricional, particularmente nos períodos de maior vulnerabilidade como o início da lactação. Contudo, a prevenção deve ser focalizada principalmente nas vacas que se encontram em alto risco de desenvolver transtornos por lipomobilização como as vacas com excessivo escore de condição corporal (ECC), depressão no consumo de alimento e rápida perda de peso, ou que apresentem problemas no parto, ou desenvolvam outros tipos de transtornos metabólicos ou infecciosos que acentuem a queda no consumo de alimento e induzam rápida perda do ECC (BOBE et al, 2004). É por isso que a aplicação dos perfis metabólicos sanguíneos, em associação com as características do rebanho, localização geográfica e estado fisiológico dos animais, oferece uma importante ferramenta para o diagnóstico e prevenção de distúrbios metabólicos, muitas vezes presentes em forma subclínica, que afetam a saúde, a fertilidade e a capacidade reprodutiva dos rebanhos (GONZÁLEZ, 2001). O trabalho é apresentado na forma de artigo científico onde foram avaliadas estratégias para minimizar o efeito do balanço energético negativo nos primeiros 30 dias após o parto, através de indicadores bioquímicos em sangue e urina durante as primeiras oito semanas de lactação.

OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar, sob o ponto de vista metabólico, o efeito das estratégias terapêuticas: (a) precursor da glicose 1,2 propanodiol¹, (b) fonte direta de energia (ácidos graxos poli-insaturados protegidos - sais de cálcio de ácido linolênico e ácido linoléico)² e (c) protetor hepático comercial³ administrados nos 30 dias iniciais do pós-parto em vacas leiteiras para minimizar os efeitos do balanço energético negativo. Os indicadores bioquímicos serão medidos no sangue e urina, sob condições de produção características do Estado do Rio Grande do Sul.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar quais os parâmetros laboratoriais mais adequados para a avaliação da condição metabólica em vacas leiteiras com produção ≥ 25 litros/dia, no início da lactação, especialmente quanto ao diagnóstico e prevenção de transtornos metabólicos por lipomobilização.
- Estabelecer através dos diferentes indicadores bioquímicos analisados, qual o tratamento profilático mais eficiente na minimização do balanço energético negativo.

¹ Propileno-glicol

² Megalac-E

³ Mercepton

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 TRANSTORNOS METABÓLICOS POR LIPOMOBILIZAÇÃO

Transtornos metabólicos ou “doenças da produção” são provocados pelo desequilíbrio entre o nível de produção e o consumo de alimento, doenças que, cada vez mais, ocupam importante papel na indústria leiteira devido às perdas econômicas que podem acarretar ao produtor (DRACKLEY, 1999). Uma definição mais recente proposta por Oetzel (2004) estabelece que as doenças da produção incluem além das doenças nutricionais e metabólicas, as infecciosas e genéticas. Apesar dos muitos avanços no conhecimento sobre transtornos metabólicos, a incidência dessas doenças mesmo em rebanhos com excelente manejo permanece similar aos dados publicados há décadas, isto sugere que o aumento na incidência dessas doenças mantém estreita relação com o aumento da produção de leite (MULLIGAN; DOHERTY, 2008). A apresentação de transtornos metabólicos por lipomobilização ocorre durante o pós-parto inicial (entre a 2ª e 4ª semana de lactação) (GOFF; HORST, 1997). Sugere-se que estas doenças podem ser provocadas pelo excessivo acúmulo de lipídeos no interior dos hepatócitos, processo inicialmente desenvolvido durante as últimas semanas da gestação (KATOH, 2002). O início da lactação em vacas leiteiras é caracterizado por deficiências de energia, proteína, cálcio e outros minerais (BUSATO et al., 2002), período no qual há mobilização das reservas lipídicas e protéicas para compensar o déficit energético e garantir a lactação (VAN KNEGSEL et al., 2007; WATHES et al., 2007). Vários pesquisadores têm denominado esse período como “período de transição”, definido como o intervalo entre as três últimas semanas de gestação e as três primeiras semanas de lactação (GRUMMER, 1995; DRACKLEY, 1999; PICKETT et al., 2003; TEDESCO, et al., 2004; SMITH; RISCO, 2005; SEIFI et al., 2007); considerado o período mais crítico do ciclo da lactação na vaca (DOEPEL et al., 2002; MELENDEZ; RISCO, 2005). Trata-se de curto espaço de tempo, caracterizado por alterações nutricionais, metabólicas, hormonais e imunológicas que têm marcado impacto sobre a incidência de doenças metabólicas e infecciosas (LOISELLE et al., 2009). Durante esse período, a vaca enfrenta um súbito e severo incremento nas demandas de energia impostas pela glândula mamária no início da lactação, exatamente quando o consumo de alimento se encontra fortemente diminuído, o que causa um balanço energético negativo (BEN), que, por sua vez, induz movimentação das reservas lipídicas e

protéicas (DOEPEL et al., 2002; NIELSEN; INGVARTSEN, 2004; JUCHEM et al., 2004; CAMPOS et al., 2005). O BEN se caracteriza pela contínua perda de peso e mobilização das reservas corporais nas primeiras 10 ou 12 semanas de lactação (RIZOS et al., 2008), acontecimento que provoca uma série de adaptações metabólicas nos diferentes tecidos e conseqüentemente glicogenólise, gliconeogênese e mobilização dos lipídeos de reserva (BARROS, 2001). A maior parte dessa mobilização ocorre durante a primeira (TAMMINGA et al., 1997) e a segunda semanas de lactação (BARROS, 2001) e, quando o BEN é excessivo, há desequilíbrio entre o metabolismo hepático dos carboidratos e lipídeos que pode predispor ao desenvolvimento do complexo lipídose hepática-cetose (GOFF; HORST, 1997; DRACKLEY, 1999; NIELSEN; INGVARTSEN, 2004). A lipólise produz aumento na concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e de corpos cetônicos, principalmente β -hidroxibutirato (BHB) (WHITAKER, et al., 1999; INGVARTSEN; ANDERSEN, 2000; LOISELLE et al., 2009). Porém, frequentemente são mobilizadas quantidades de AGNE maiores que as requeridas, particularmente em vacas com excessivo escore de condição corporal (BOBE et al., 2004).

3.1.1 Complexo lipídose hepática-cetose em vacas leiteiras de alta produção.

Lipídose hepática e cetose são transtornos metabólicos relacionados que usualmente se apresentam no início da lactação como conseqüência do balanço energético negativo (DRACKLEY et al., 1992; GRUMMER, 1993), devido ao desafio metabólico imposto pelos altos requerimentos de energia e proteína indispensáveis para suprir as necessidades de manutenção e lactação, as quais não podem ser compensadas através da alimentação (JUCHEM et al., 2004; VAN KNEGSEL et al., 2008). O consumo de alimento apresenta uma queda aproximadamente de 82% na última semana da gestação e permanece assim, no mínimo, durante as primeiras cinco semanas da lactação (GOFF; HORST, 1997). Como alternativa, nessa fase, a vaca mobiliza suas reservas de gordura e aminoácidos para serem utilizadas como fonte de energia através da lipólise e proteólise (GOFF; HORST, 1997; JUCHEM et al., 2004; RUKKWAMSU et al., 2005). Na lipólise, os triglicerídeos do tecido adiposo são hidrolisados pela ação da lipase hormônio sensível (LHS) a três ácidos graxos e glicerol. O glicerol que não pode ser utilizado pelo tecido adiposo, devido à carência deste em enzima glicerol

quinase, é direcionado ao fígado para formar glicose, via gliconeogênese (ciclo dos ácidos tricarboxílicos) ou para entrar na rota glicolítica. No fígado, o glicerol é convertido a glicerol-3-fosfato e depois transformado em diidroxiacetona fosfato, um intermediário da glicólise e gliconeogênese (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). O transporte até o fígado é feito através da albumina, quando são, então, chamados de ácidos graxos não esterificados (AGNE). Os ácidos graxos mais importantes são os de cadeia longa, especialmente o palmítico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). No fígado, os AGNE podem ser: (1) oxidados em CO₂ e água; (2) parcialmente oxidados para produzir corpos cetônicos para serem utilizados como fonte de energia por outros tecidos principalmente, muscular e nervoso; ou (3) re-esterificados em triglicerídeos (TG) ou fosfolipídeos (RUKKWAMSU et al, 2005; DRACKLEY et al., 2001; BRUSS, 2008; GRUMMER, 2008), os quais são ligados à apoproteína B, para logo depois formar lipoproteínas de muito baixa densidade (LMBD) (YUGUANG et al., 1996). No entanto, o fígado do ruminante possui uma capacidade reduzida para secretar TG através de LMBD (GRUMMER, 1995) e, quando ultrapassa sua capacidade, desenvolve infiltração de gordura no interior dos hepatócitos (GRUMMER, 1993). Uma das consequências dessa infiltração é a lipidose hepática, condição que diminui paralelamente a concentração hepática de glicogênio e predispõe o animal ao risco de desenvolver cetose (DRACKLEY, 1999).

3.1.1.1 Etiologia da lipidose hepática em vacas leiteiras

A lipidose hepática, também conhecida como síndrome do fígado gorduroso ou esteatose hepática, é uma síndrome decorrente de anormalidades no metabolismo dos carboidratos e lipídeos (OHTSUKA, et al., 2001). Tem sido relatada em humanos (GUZZALONI et al., 2000) e diferentes espécies animais como equinos (JEFFCOT; FIELD, 1985), bovinos (GRUMMER, 1993; BAUNCHART et al., 1996), ovinos (SNOOK, 1939), caninos (STROMBECK; GUILFORD, 1995; RICHTER, 2005), felinos (BIOURGE, 1993), aves (JAMES et al., 2000) e primatas (BRONSON et al., 1982); contudo, o seu desenvolvimento é mais grave em vacas leiteiras no início da lactação, em gatos obesos com anorexia e em equídeos de pequeno porte, como pôneis e asnos anoréxicos. Em vacas leiteiras, a lipidose hepática, também é conhecida como síndrome da vaca gorda (RUKKWAMSUK et al., 1999; BOBE et al, 2004), faz referência ao excessivo acúmulo de TG no interior dos hepatócitos (JORRITSMA et al.,

2001) como resultado da alta concentração sérica de AGNE (GRUMMER, 2008). Essa elevação pode ser uma resposta fisiológica ao BEN ou às mudanças hormonais relacionadas com o parto e início da lactação, as quais induzem o desequilíbrio entre sua taxa de oxidação e esterificação em TG e estão associadas com prejuízo no metabolismo hepático (GRUMMER, 1993; DRACKLEY, 1999; KATOH, 2002; MELENDEZ; RISCO, 2005; GRUMMER, 2008). A lipidose hepática é considerada o principal transtorno metabólico de vacas leiteiras de alta e média produção no início da lactação e tem sido associada com produção diminuída, deficiente desempenho reprodutivo e baixa imunidade (JORRITSMA et al., 2001; BOBE et al., 2004; MELENDEZ; RISCO, 2005; RUKKWAMSUK et al, 2005; GRUMMER, 2008). Neste sentido, tem sido associada com alterações da imunidade celular e humoral como uma das principais causas do aumento na suscetibilidade a infecções como mastite e metrite (GOFF; HORST, 1997), doenças cujo prejuízo tem sido estimado entre 200 e 400 dólares americanos, por episódio durante a lactação (SMITH; RISCO, 2005). Segundo Drackley et al. (1999), os problemas na saúde que se apresentam no período de transição são refletidos não somente no pico, mas também durante o ciclo completo da lactação. A lipidose hepática se manifesta principalmente durante as primeiras quatro semanas após o parto (GRUMMER, 1993). Fisiologicamente o fígado em vacas híidas possui $\leq 1\%$ de TG com base no seu peso total (JORRITSMA et al., 2001). Apesar disso, durante o pós-parto inicial, 5 a 10% das vacas podem apresentar lipidose hepática severa (acúmulo de TG $>10\%$), enquanto que, 30 a 40% podem apresentar lipidose hepática moderada (acúmulo de 5-10% de TG) (BOBE et al., 2004). Isto sugere que, pelo menos 50%, das vacas no início da lactação apresentam algum tipo de acúmulo de TG no interior dos hepatócitos (JORRITSMA et al., 2000). Segundo Bobe et al. (2004), existem fatores de risco associados com desenvolvimento da lipidose hepática que podem ser agrupados em três categorias: nutrição, manejo e genética. O principal fator de risco nutricional associado à lipidose hepática é a obesidade (GRUMMER, 1993; SMITH et al., 1997). A redução do consumo de alimentos, especialmente, na última semana antes do parto é relatada como um dos principais fatores predisponentes dessa doença (BERTICS; GRUMMER, 1999), evento mais pronunciado em vacas com excessivo escore de condição corporal (BOBE et al., 2004), visto que a nutrição, no fim da lactação, mais especificamente no período seco, pode conter mais energia que a necessária. Para autores como Bertics e Grummer, (1999), Bobe et al., (2004) e Seifi et

al. (2007), o fim da gestação e início da lactação são caracterizados por fortes alterações endócrinas e metabólicas que viabilizam a utilização de todos os nutrientes que a vaca consome para síntese de leite e nutrição do recém nascido. Esse é um período crítico, porque o consumo de alimento se encontra no ponto mais baixo do ciclo da lactação (GRUMMER, 2008). Segundo Bertics e Grummer (1999), Hayirly et al. (1999) e Ingvarlsen e Andersen, (2000), o consumo de matéria seca começa a diminuir, em aproximadamente 32%, três semanas antes do parto e atinge o nadir entre o 5° e 7° dia antes do parto e não se reinicia antes do segundo dia pós-parto (GOFF; HORST, 1997), condição que determina a mobilização de ácidos graxos armazenados no tecido adiposo (VAN KNEGSEL et al., 2007; MULLIGAN; DOHERTY, 2008) para serem utilizados como fonte direta de energia por tecidos periféricos (BRUSS, 2008). O aumento na concentração de AGNE inicia duas a três semanas antes do parto e continua durante o pós-parto inicial, associando-se com acúmulo hepático de triglicerídeos e aumento da produção de corpos cetônicos (CHRISTENSEN et al., 1997). O tipo de alimentação que causa excessiva condição corporal é composto por uma dieta pobre em fibra e rica em glúcídios e proteínas (SMITH et al., 1997).

Garnsworthy e Topps (1982) relataram que a quantidade de gordura corporal presente no momento do parto e início da lactação tem um efeito fisiológico negativo sobre o consumo de alimento durante os primeiros dois a três meses de lactação, ao observar que vacas obesas perdiam relativamente mais pontos de escore de condição corporal durante o início da lactação, quando comparadas com vacas de condição corporal menor, o que aumentava o risco de desenvolver cetose. Nesse contexto, vacas com excessivo escore de condição corporal (ECC >4,0) apresentam aumento da lipólise durante o pós-parto inicial, quando comparadas com vacas de condição corporal normal (ECC em torno de 3,0 a 3,5) devido ao baixo consumo de matéria seca que apresentam no início da lactação, o que provoca um BEN mais severo (JORRITSMA et al., 2001; JUCHEM, et al., 2004), em virtude do grande aporte de ácidos graxos livres que o fígado recebe (BOBE et al., 2004). Esta infiltração de gordura é particularmente importante devido ao papel que o fígado desempenha como órgão centralizador do metabolismo, o qual responde por 85% da síntese de glicose através da gliconeogênese (MULLIGAN; DOHERTY, 2008). Desse modo, a infiltração lipídica torna a vaca mais suscetível a desenvolver outros transtornos como cetose (SMITH et al., 1997; OIKAWA; OETZEL, 2006; BRUSS, 2008), deslocamento de abomaso (TEDESCO et al., 2004), retenção de placenta e mastite (DRACKLEY et al., 1999), doenças que

alteram o sistema imune diretamente ou através do BEN (INGVARTSEN; ANDERSEN, 2000) e comprometem seriamente a saúde e os desempenhos produtivo e reprodutivo desses animais (RUKKWAMSUK et al., 1999; MELENDEZ; RISCO, 2005; ADEWUYI et al., 2006). Para Melendes e Risco (2005) e Mulligan e Doherty (2008) têm associado outros fatores de manejo da vaca leiteira que não a nutrição como mais importantes no desenvolvimento da lipidose hepática. Entre esses, os autores referem o local onde permanecem as vacas (alterações na hierarquia do grupo, na composição da dieta e nos tratadores), falta de exercício durante as últimas semanas da gestação, inadequada condição sanitária, meio ambiente com alta temperatura e umidade e ventilação inadequada. Outro fator importante a considerar está associado com a qualidade dos alimentos. Alimentos de baixa qualidade como silagem de milho com alta concentração de ácido butírico seria responsável por fornecer uma alta concentração de BHB e deprimir o consumo de matéria seca (BOBE et al., 2004).

A hereditariedade da lipidose hepática não tem sido comprovada, mas para autores como Bobe et al. (2004), fatores genéticos que aumentam a probabilidade de desenvolver lipidose hepática podem incluir mutações que afetam diretamente o consumo de alimento, ou o metabolismo lipídico no tecido adiposo e hepático, ou que afetem a secreção hepática desses lipídeos. Mais especificamente, mutações que aumentem a lipogênese hepática e a lipólise do tecido adiposo e diminuam a beta-oxidação e a síntese e excreção hepática de ácidos graxos. Porém, em gado leiteiro não têm sido encontrados genes que promovam o aumento da incidência da lipidose hepática. No entanto, Geishauser et al. (1996), Van Dorp et al. (1998) e Dutfiel (2000) encontraram associação de hereditariedade entre cetose e deslocamento de abomaso, doenças estreitamente relacionadas com lipidose hepática, estimadas em 32% e 24%, respectivamente. Fisiologicamente, o aumento da concentração plasmática de ácidos graxos causa secreção de insulina, o que inibe a liberação de ácidos graxos pela sua ação sobre a lipase hormônio-sensível (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Em vacas leiteiras com excessivo escore de condição corporal no momento do parto, há desequilíbrio entre a liberação de ácidos graxos e o acúmulo de triglicérides no fígado. Segundo Oikawa e Oetzel (2006), na lipólise, os TG armazenados nos adipócitos são hidrolisados por ação da lipase hormônio-sensível e o descontrole da lipólise periférica poderia estar associada com a menor resposta ou menor sensibilidade à insulina, ou à combinação destas, ou ainda, poderia ser induzida pela alta liberação de ácidos graxos durante períodos de inanição, assim como também pelo aumento na liberação de glucagon e

hormônio do crescimento (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Estados de resistência à insulina têm sido relatados em vacas leiteiras com severa lipidose hepática e associados com alta atividade do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (OHTSUKA et al., 2001), citocina pro-inflamatória que afeta a homeostase da glicose e metabolismo dos lipídeos (OIKAWA; OETZEL, 2006). Quando existe secreção insuficiente de insulina, como no caso do consumo insuficiente de alimento no pós-parto inicial, a lipase lipoprotéica é incapaz de realizar a hidrólise dos triglicerídeos, fazendo com que esses retornem e sejam acumulados no fígado. Existe evidência recente que afirma que a excessiva mobilização de ácidos graxos que resulta no aumento de AGNE e corpos cetônicos pode exacerbar a resistência à insulina em vacas leiteiras em lactação (BOSSAERT et al., 2008). Contudo, a etiologia da lipidose hepática envolve uma série de fatores associados com consumo insuficiente de alimento, alimentos de baixa qualidade e alterações hormonais ligadas ao final da gestação, parto e início da lactação.

3.1.1.2 Etiologia da cetose das vacas leiteiras

A cetose é um transtorno metabólico economicamente importante em vacas leiteiras de alta produção (AL-RAWASHDEH, 1999; ENJALBERT et al., 2001) e é ocasionado pelo desequilíbrio no metabolismo de carboidratos e lipídeos, como consequência do BEN que ocorre principalmente entre a 2^a e 7^a semana após o parto (GOFF; HORST, 1997; HERDT, 2000a; NIELSEN; INGVARTSEN, 2004). Tal importância econômica pode ser vinculada tanto à diminuição da produção de leite, quanto à deficiente eficiência reprodutiva que decorre do retardo na reativação ovárica, e subsequentes aumentos nos intervalos parto-primeiro serviço, primeiro serviço-concepção e parto-concepção (DUFFIELD et al., 1997; GEISHAUSER et al., 2001; NIELSEN; INGVARTSEN 2004; GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Além disso, é responsável por incrementar o risco de desenvolvimento de transtornos como deslocamento de abomaso (GEISHAUSER et al., 1997; GEISHAUER, 2001) e diminuição da resposta imune (ENJALBERT et al., 2001). A cetose é classificada conforme o grau da severidade, em subclínica ou clínica e de acordo com a origem em primária ou secundária (GEISHAUSER et al., 1998; MANDEBVU et al., 2003). Tanto a cetose clínica, quanto a subclínica se relacionam com infiltração lipídica nos hepatócitos, possivelmente por irregularidades na β -oxidação dos ácidos graxos, ou pela

limitada capacidade que o fígado dos bovinos possui para exportar triglicerídeos na forma de LMBD (GRUMMER, 1995). Essa doença se caracteriza pelo aumento na concentração de corpos cetônicos (BHB, AcAc e acetona) no sangue (cetonemia), urina (cetonúria), leite (cetolactia) e outros fluidos corporais e está associada com aumento da concentração de AGNE e diminuição dos níveis de glicose no sangue (GOFF; HORST, 1997; GEISHAUSER et al., 1998; MANDEBVU et al., 2003; NIELSEN; INGVARTSEN, 2004). O quadro clínico é composto por hipofagia, queda na produção leiteira, rápida perda de peso e condição corporal, letargia e hiperexcitabilidade, acompanhadas de alterações metabólicas, como hipercetonemia, hipoglicemia, hipoinsulinemia, altos níveis circulantes de AGNE, aumento na concentração hepática de TG, e baixo teor de glicogênio no interior dos hepatócitos (FONSECA et al., 2003; BRUSS, 2008). A cetose subclínica se caracteriza pelo aumento na concentração de corpos cetônicos no sangue, leite e urina, mas ausência de sinais clínicos (IWERSEN et al., 2009) exceto por queda na produção de leite, além de baixos níveis de glicose (FONSECA et al., 2003). É difícil estimar o prejuízo econômico da cetose subclínica devido à grande variação dos valores empregados para defini-la, no entanto, para Dohoo e Martin (1984) e Duffield (1997), um caso de cetose subclínica pode resultar na perda de U\$ 78, enquanto que a cetose clínica pode alcançar U\$ 150, por animal (GEISHAUSER et al., 2001). Existe evidência que a lipidose hepática se desenvolve antes do início da cetose clínica (HAYIRLI, 2006), portanto, essas são consideradas há muito tempo alterações metabólicas relacionadas (GRUMMER, 1993).

3.1.3 Patogênese do complexo lipidose hepática–cetose nas vacas leiteiras

Existem várias revisões sobre o desenvolvimento da lipidose hepática e cetose em vacas leiteiras (GRUMMER, 1993; DRACKLEY, 1999; BOBE et al., 2004), além de muitas discussões sobre a patogênese dessas doenças (OHTSUKA et al., 2001). Contudo, o ponto principal tem sido a elevação dos níveis sanguíneos de AGNE associados com alterações hormonais relacionadas ao parto e início da lactação em decorrência do BEN (GRUMMER, 2008). A excessiva mobilização de ácidos graxos é mais severa em vacas obesas (SMITH et al., 1997; RUKKWAMSUK et al., 1999; BOBE et al., 2004; ADEWUYI et al., 2005; GRUMMER, 2008), porém o acúmulo de lipídeos no fígado e seus efeitos sobre o metabolismo são muito variáveis entre as vacas, de forma que animais com excessiva condição corporal e alto teor de infiltração

hepática de gordura podem não apresentar alterações no metabolismo hepático (HAMMON et al., 2009). Segundo Bobe et al. (2004), o fígado possui $\leq 1\%$ de gordura do seu peso total, na forma de triglicerídeos, colesterol, ésteres de colesterol, fosfolipídeos e ácidos graxos, o que indica que o depósito de triglicerídeos por si só, não é a causa do distúrbio. As taxas de síntese de TG são similares entre monogástricos e ruminantes (PULLEN et al., 1990), mas segundo Grummer, (1995) o fígado do bovino é deficiente em lipase lipoproteica e lipase hepática, condição que não somente diminui capacidade de oxidar ácidos graxos através do ciclo dos ácidos tricarbóxicos, mas também limita sua remoção através de LMBD (ADEWUYI et al., 2005; GRUMMER, 2008). O aumento na concentração de AGNE em vacas leiteiras resulta em acúmulo de triglicerídeos no interior dos hepatócitos e alteração da função hepática (MULLIGAN; DOHERTY, 2008). Quando esse limite é atingido, os TG começam a ser acumulados no interior dos hepatócitos e o acetil-CoA (resultante da oxidação dos ácidos graxos) que não é utilizado no ciclo dos ácidos tricarbóxicos (CAT) é convertido em corpos cetônicos (AcAc, BHB e acetona) (GOFF; HORST, 1997; GEISHAUSER et al., 1998; BRUSS, 2008). Dos três, o BHB é o corpo cetônico predominante no sangue e sua concentração é um índice de oxidação de ácidos graxos (WATHES et al., 2007). Quando a produção de corpos cetônicos ultrapassa sua utilização, esses começam a se acumular, o que se refere ao diagnóstico de cetose (GOFF; HORST, 1997). O acúmulo de TG no interior dos hepatócitos está acompanhado com diminuição da concentração de lipídeos estruturais (colesterol livre, ésteres de colesterol e fosfolipídeos), precursores de energia (citrato) e moléculas armazenadoras de energia (glicogênio) (BOBE et al., 2004). A lipidose hepática afeta o metabolismo da glicose ao diminuir a concentração de glicogênio, o que aumenta o risco de apresentar o complexo lipidose hepática-cetose (DRAKLEY et al., 1992; RUKKWANSUK et al., 1999).

3.2 Uso do perfil metabólico como ferramenta diagnóstica de transtornos metabólicos por lipomobilização em bovinos leiteiros.

A maioria dos transtornos metabólicos pode ser detectada mediante o uso de perfis bioquímicos no sangue (ROSSATO et al., 1999), leite ou urina, nos períodos em que os animais estão mais susceptíveis, como por exemplo, durante o início da lactação (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). O uso dos perfis metabólicos em bovinos leiteiros começou nos anos 60 na Grã Bretanha (WHITAKER et al., 1999). Durante várias

décadas, a análise dos componentes sanguíneos tem sido a forma mais frequente de conhecer e interpretar o estado de saúde da vaca leiteira, basicamente no que se refere a seu estado metabólico (DUFFIELD et al., 2009). O perfil metabólico é utilizado principalmente no diagnóstico de transtornos metabólicos e deficiências nutricionais, convertendo-se numa ferramenta indispensável no monitoramento preventivo dos transtornos subclínicos ao brindar informações sobre o estado de saúde e desempenho dos animais (DUFFIELD et al., 2009). Esse exame permite estabelecer, por meio de análises sanguíneas de grupos representativos de animais pertencentes ao mesmo rebanho, seu grau de adaptação às principais vias metabólicas relacionadas com energia, proteínas e minerais, o que permite comparações de resultados com valores referenciais populacionais (WITTWER, 2000b). Segundo Whitaker et al. (1999), o sucesso na utilização dos perfis metabólicos consiste em abordar um grupo representativo de animais dentro de um rebanho, durante um período específico, avaliando alterações nutricionais e metabólicas, em conjunto com informações sobre idade, produção de leite, condição corporal e consumo de alimento. O perfil metabólico em ruminantes pode ser usado não somente para monitorar a adaptação metabólica e diagnosticar desequilíbrios da homeostase de nutrientes, mas também para revelar as causas que estão por trás da manifestação de uma doença nutricional ou metabólica (GONZALEZ, 2000). Quando utilizados em conjunto com a história clínica, exame físico e outros testes laboratoriais (hemograma e exame químico da urina), o perfil bioquímico se torna ferramenta útil para estabelecer ou confirmar o diagnóstico, determinar o prognóstico e monitorar o tratamento (GONZÁLEZ, 2001). O número de metabólitos a serem analisados pode ser ilimitado, porém deve-se utilizar aqueles que melhor representem as principais vias metabólicas. Considera-se, em ruminantes, no metabolismo energético (glicose, colesterol, AGNE e BHB), no metabolismo protéico (roteínas totais, albumina, globulinas e uréia) e no metabolismo mineral (cálcio, fósforo inorgânico, magnésio, potássio, ferro, cobre, zinco, selênio e cobalto). Adicionalmente, podem ser analisadas enzimas indicadoras do funcionamento hepático como AST, GGT e GDH (glutamato desidrogenase) (GONZALEZ; SILVA, 2006).

3.2.1 Diagnóstico da lipidose hepática e da cetose em vacas leiteiras

As vacas leiteiras de alta produção no início da lactação experimentam BEN, devido ao desequilíbrio energético a que são expostas, durante este período.

Fisiologicamente, o organismo tenta compensar essa queda de energia através da mobilização das reservas lipídicas, provocando o aumento circulante de AGNE que resulta no aumento da produção hepática de corpos cetônicos (BHB, AcAc e aceona) (BRUSS, 2008; ZHIGANG et al., 2009). O diagnóstico à campo de lipidose hepática e cetose é baseado frequentemente no histórico do animal, achados clínicos e resposta inadequada aos tratamentos tradicionais (SEVINÇ et al., 1998). Porém, existem métodos laboratoriais que oferecem diretrizes diagnóstica e prognostica dessas doenças (GONZALEZ; SILVA, 2006). O teste mais comum na determinação semiquantitativa de corpos cetônicos é o teste de Rothera que se fundamenta na reação do nitroprussiato de sódio em meio alcalino com a acetona ou acetoacetato, produzindo um cromógeno cor púrpura, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de corpos cetônicos; comercialmente disponível em fitas, tabletes e pó. Esse teste possui maior sensibilidade para o acetoacetato e detecta concentrações de até 0,5 mmol/L; entretanto, é completamente insensível para o BHB (BRUSS, 2008). A cetose subclínica pode ser monitorada à campo através dessas fitas reagentes na urina (CAMPOS et al., 2005) e no leite (GEISHAUSER et al., 2001; OETZEL, 2004). Para determinar a presença de AcAc e em menor grau de acetona na urina, também pode-se empregar tabletes comerciais (Acetest, Bayer) (NIELEN et al., 1994). No entanto, para Oetzel (2004) e Campos et al. (2005), o melhor teste para avaliar a presença de corpos cetônicos na urina é o que emprega fitas reagentes Ketostix (Bayer). No leite, também podem ser utilizadas fitas sensíveis para BHB, tanto para diagnóstico de cetose clínica, quanto de subclínica (JORRITSMA et al., 1998). A determinação semiquantitativa de BHB no leite pode ser feita com fitas comerciais (Ketolac BHB, Keto Test e Sanketopaper) fabricadas por Sanwa Kanaku Kenkysho (Nagoya, Japan) (OETZEL, 2004). Esse teste se baseia no método enzimático preconizado por Williamson et al. (1962) e empregado na determinação quantitativa de BHB, porém se diferencia na produção de cor visível ao olho humano (BRUSS, 2008). Em medicina humana, estão disponíveis vários sistemas eletrônicos de monitoramento da glicemia e cetonemia em pacientes diabéticos (GUERCI et al., 2005). Baseados nessa tecnologia, Jappesen et al. (2006) realizaram um estudo utilizando aparelhos (MediSense Precision, Abbott) e encontraram alta correlação ($r^2=0,99$, entre esses valores e os obtidos através de espectrofotometria tradicional, considerando o uso desses aparelhos adequado na detecção de cetose subclínica também em vacas leiteiras. Com base nesses resultados, Iwarsen et al. (2009) avaliaram um aparelho eletrônico que determina a concentração de BHB no sangue total

(Precision Xtra, Abbott Diabetes Care) mediante dois experimentos. Um que envolveu 196 amostras sanguíneas de vacas Holandesas e identificou alta correlação ($r^2=0,95$) entre os resultados obtidos no aparelho eletrônico e as concentrações de BHB por espectrofotometria. O segundo experimento envolveu 35 médicos veterinários e 926 amostras de sangue, em que o monitor eletrônico apresentou sensibilidade de 88 e 96% para amostras com concentrações de 1,2 e 1,4 mmol/L, com uma especificidade de 96 e 97%, respectivamente. Houve consideráveis diferenças entre os investigadores, contudo, os resultados indicaram que o sistema eletrônico de monitoramento para BHB utilizando sangue total em pacientes diabéticos humanos é uma ferramenta útil no diagnóstico à campo da cetose subclínica nos primeiros 40 dias após o parto em vacas leiteiras. No diagnóstico laboratorial da cetose, utiliza-se a dosagem de BHB em soro ou plasma (DUFFIELD, 2000), por ser este mais estável que AcAc e acetona (OETZEL, 2004). Concentrações de BHB acima de 1,4 mmol/L, entre o 5° e 50° dias após o parto, são utilizadas para diferenciar cetose clínica de subclínica (DUFFIELD, 2000; GEISHAUER, 2001; OETZEL, 2004; STOKOL; NYDAM, 2006). Assim vacas com concentrações acima desse valor são consideradas em alto risco de desenvolver cetose clínica e deslocamento de abomaso (SMITH; RISCO, 2005; IWERSEN et al., 2009). Cetose clínica esta relacionada a níveis de 2,6 mmol/L ou superiores (OETZEL, 2004). A importância da determinação de AGNE e BHB no soro se encontra na capacidade que esses metabólitos possuem como indicadores de lipomobilização durante o BEN no pós-parto (BELL, 1995; HERDT, 1997; ADEWUYI et al., 2005). (DUFFIELD, 2000; OETZEL, 2004). Segundo Oetzel (2004) e Adewuyi et al. (2005), a concentração de AGNE no sangue aumenta como resposta fisiológica à lipólise, estimulada pelo BEN e reflete a magnitude da mobilização de lipídios armazenados no tecido adiposo (BEN), enquanto que o BHB indica a completa oxidação desses ácidos graxos captados pelo fígado, devido aos corpos cetônicos serem metabólitos intermediários da oxidação desses ácidos graxos (LOISELLE et al., 2009). Concentrações de AGNE superiores a 0,7 mmol/L em vacas leiteiras, entre o 2° e 14° dias antes da data esperada do parto e entre o 2° e 17° dia de lactação, são indicativo de excessivo BEN.

3.3 Estratégias preventivas da lipidose hepática e cetose em vacas leiteiras

As doenças metabólicas que acometem vacas leiteiras por desequilíbrios nutricionais, principalmente, entre carboidratos, proteínas e lipídeos, durante o período

de transição têm sido foco de muitas pesquisas. Extensas revisões sobre etiologia, diagnóstico, tratamento e prevenção da lipidose hepática e cetose têm sido publicadas (COTE et al., 1969; KRONFELD, 1982; DOHOO; MARTIN, 1984; GRUMMER, 1993; STUDER et al., 1993; BERTICS; GRUMMER, 1999; JORRITSMA et al., 2000; BOBE et al., 2004). Grummer (1993), baseado na suposição que a lipidose hepática precede a cetose e que a relação entre triglicerídeos e glicogênio hepático são fatores críticos no desenvolvimento da cetose clínica, sugeriu que a minimização do acúmulo de triglicerídeos no interior dos hepatócitos e a maximização dos depósitos de glicogênio hepático são imperativos na prevenção e tratamento destes transtornos metabólicos. O objetivo principal de prevenir o acúmulo hepático de TG é diminuir, ou até mesmo eliminar, muitos dos potenciais fatores de risco para o desenvolvimento da lipidose hepática e cetose (BOBE et al., 2004). Estratégias para prevenir a excessiva lipomobilização podem ser agrupadas em três categorias: redução da concentração de AGNE através da diminuição da lipólise; aumento da oxidação completa dos AGNE em tecidos extra-hepáticos, ou incremento na taxa de exportação hepática através das LMBD (GRUMMER, 2008). Segundo Bertics et al. (1992), existe uma relação inversa entre o consumo de matéria seca e as concentrações séricas de AGNE e BHB, como também na concentração hepática de triglicerídeos. De acordo com esses autores, Petit et al. (2007) relataram que vacas multíparas com baixo consumo de alimento apresentaram altas concentrações de AGNE e BHB no soro, acompanhadas de altas concentrações de triglicerídeos e lipídeos totais no fígado; assim o baixo consumo de alimento contribui para aumentar o risco de desenvolver lipidose hepática durante o pós-parto (VAZQUEZ ANON et al., 1994; VAN DEN TOP et al., 1996). O início da lactação é considerado um período crítico devido ao BEN, mas para alguns autores, não é nesse período que a concentração de AGNE se encontra elevada e sim nas últimas semanas antes do parto com pico no dia do parto (GRUMMER, 2008). Isto sugere que o balanço energético das vacas leiteiras no início da lactação está condicionado pelas mudanças endócrinas que as acontecem nas últimas semanas da gestação e que promovem a lipólise. Portanto, a primeira estratégia poderia ser atingida através do consumo de alimento, em virtude desse fator ser determinante na quantidade de ácidos graxos mobilizados até o fígado durante o BEN. É por isto que a formulação da dieta deve ter objetivo de aumentar a densidade energética da ração, com o propósito de minimizar a magnitude do BEN e reduzir a mobilização de lipídeos do tecido adiposo no período imediato antes do parto (GRUMMER, 1993; DRACKLEY et al., 1999). O

fornecimento adicional de grãos antes do parto tem sido relatado como medida nutricional que reduz o desenvolvimento de transtornos metabólicos relacionados ao metabolismo lipídico como a lipidose hepática, ao aumentar a densidade energética da dieta (GRUMMER, 1993). Dessa forma, a alimentação adicional com grãos promove a produção de propionato no rúmen e induz secreção de insulina, hormônio antilipolítico. Outro benefício adicional da suplementação adicional com grãos poderia ser o aumento da digestibilidade e, portanto se estimularia o consumo de matéria seca (GRUMMER, 2008). No entanto, Holtenius et al. (2003) sugeriram que o fornecimento de uma dieta com alto conteúdo de grãos no pré-parto, induziria um prolongado aumento da concentração de insulina, podendo induzir um estado de resistência à insulina que levaria ao aumento da lipólise com o risco de desenvolver lipidose hepática. Porém, o efeito da dieta sobre o desenvolvimento de estados de resistência à insulina durante o pré-parto em vacas leiteiras não tem sido amplamente estudado (GRUMMER, 2008). O uso de gordura e óleo na dieta de vacas leiteiras tem se tornado uma prática habitual para aumentar a densidade energética da dieta (DRACKLEY, 1999). Recentemente, têm sido utilizados sais de cálcio de ácidos linolênico e linolêico como suplementos energéticos que melhoram o balanço energético em vacas leiteiras no período de transição (VETH et al., 2006). Essa estratégia nutricional supõe que, ao fornecer ácidos graxos na dieta, esses serão incorporados através da síntese intestinal em lipoproteínas e metabolizados principalmente por tecidos extra-hepáticos e glândula mamária, de forma que os ácidos graxos mobilizados do tecido adiposo serão utilizados pelo fígado (OVERTON; WALDRON, 2004; GRUMMER, 2008). Contudo, segundo Grummer e Carroll (1991) e Bertics e Grummer (1999), a concentração sérica de AGNE e o acúmulo hepático de TG aumentam em vacas suplementadas com gordura, provavelmente porque a taxa de esterificação de ácidos graxos diminui (GRUMMER, 1993). Esse fato, ao aumentar a disponibilidade de gordura na dieta também aumenta a possibilidade de desenvolver lipidose hepática, ou mesmo diminuir a funcionalidade hepática. A primeira e terceira estratégias poderiam ser acompanhadas através da administração de substâncias farmacológicas, ou aditivos dietéticos, como por exemplo, niacina, colina, metionina, ou propileno-glicol (BOBE et al., 2004). Os aditivos dietéticos podem ser classificados em diferentes categorias, dependendo do modo de ação: diminuição da lipólise, melhoramento da secreção hepática de LMBD, ou aumento da oxidação hepática de ácidos graxos (GRUMMER, 2008). Compostos que podem diminuir a lipólise no tecido adiposo incluem 1,2 propanodiol (propileno-glicol),

monensina, cromo, niacina e ácido linoléico conjugado, enquanto que metionina e colina ajudam a melhorar a exportação hepática de LMBD (GRUMMER, 2008). As vitaminas são micronutrientes essenciais para o funcionamento normal do organismo e desenvolvem inúmeras funções metabólicas, principalmente como coenzimas, isto é, desempenham uma importante influência sobre o metabolismo animal (GIULIODORI, 2002). O 1,2 propanodiol (propileno-glicol) é uma reconhecida substância empregada no tratamento da cetose em ruminantes, desde a década de 50 (KRISTENSEN et al., 2002). A substância foi utilizada para combater o balanço energético negativo após o parto e prevenir a ocorrência de cetose e lipidose hepática, devido às propriedades gliconeogênicas que modificam o metabolismo em vacas leiteiras (NIELSEN; INGVARTSEN, 2004; MIKUŁA et al., 2008). A administração oral de 1 litro de PG durante os 10 últimos dias da gestação tem demonstrado efetividade na prevenção da lipidose hepática e cetose, ao incrementar as concentrações plasmáticas de glicose e insulina enquanto que diminui as concentrações de AGNE e BHB (STUDER et al., 1993; DUFFIELD, 2000; NIELSEN; INGVARTSEN, 2004). Tal efeito foi informado por Christensen et al. (1997), ao relatar baixas concentrações plasmáticas de AGNE em vacas suplementadas com 300 mL de PG, via oral, uma vez por dia, através de beberagem. Porém esse efeito não foi observado por Pickett et al. (2003), ao utilizar uma dose de 500 mL de PG durante os três primeiros dias pós-parto. Rukkwamsuk et al. (2005) observaram uma redução na concentração hepática de TG, ao administrar uma vez ao dia 400 mL de PG via oral, durante sete dias, antes da data esperada do parto até sete dias após o parto. Essas diferenças são associadas, em parte, com a transformação ruminal do produto em ácidos graxos voláteis em favor do propionato (CHRISTENSEN et al., 1997). Segundo Nielsen e Ingvarsten (2004), as vias mais importantes em que o PG desaparece do rúmen são a absorção e a fermentação. O metabolismo ruminal do PG produz ácido propiônico que é transformado em glicose pelos hepatócitos; porém, quando o PG escapa da fermentação ruminal, é absorvido pelas paredes do rúmen, captado pelo fígado transformado em ácido láctico e metabolizado em glicose, via carboxilação do piruvato em oxalacetato (COZZI et al., 1996; NIELSEN; INGVARTSEN, 2004; KRISTENSEN; RAUN, 2007). Colina e metionina têm sido estudadas como aditivos que melhoram a exportação hepática de LMBD. Porém, existe relativamente pouca informação sobre a efetividade de substâncias lipotróficas em ruminantes (GRUMMER, 1993). Em ratos, a deficiência de colina induz o acúmulo hepático de TG, isto porque a colina serve como substrato para síntese de

fosfatidilcolina, constituinte das LMBD. No entanto, durante o pós-parto inicial a absorção intestinal da colina é afetada pelo baixo consumo de alimento e resulta na síntese limitada de LMBD que, por conseguinte, pode terminar lipidose hepática. A administração intravenosa de cloreto de colina e vitamina B12 para vacas em lactação diminuiu o conteúdo de gordura hepática (GRUMMER, 1993). Metionina não apenas é um aminoácido necessário na síntese de proteína (constituente das LMBD), como também participa como doador de grupos metila na síntese de fosfatidilcolina. (BERTICS; BRUMMER, 1999; GRUMMER, 2008). A administração intravenosa de um análogo da metionina (hidoxi-metionina) adicionado de lisina para vacas em lactação aumentou o conteúdo total de LMBD hepático (GRUMMER, 1993). A importância da prevenção dessas doenças se encontra nas altas perdas econômicas que podem gerar ao produtor. O custo do tratamento da cetose subclínica e clínica foi estimado entre U\$ 78 e 145, respectivamente (DOHOO; MARTIN, 1984; DUFFIELD et al., 2001; SMITH; RISCO, 2005; BOBE et al., 2004). Também foi relatado que vacas positivas para corpos cetônicos no leite produzem até 1,4 litros de leite a menos, por dia (DOHOO; MARTIN, 1984). Quanto à lipidose hepática, o custo exato do tratamento por animal é difícil de ser estimado, devido às dificuldades associadas com o diagnóstico, o qual é somente feito mediante biopsia hepática. Entretanto, devido a estar associada com menor produção de leite, longo intervalo parto-concepção e diminuição da vida produtiva das vacas acometidas, pode ser vantajosa e oscila em torno de U\$ 150 por caso (BOBE et al., 2004).

4. RESULTADOS

Os resultados deste trabalho serão apresentados na forma de artigo científico.

4.1 METABOLIC EVALUATION OF PERIPARTURIENT DAIRY COWS SUBMITTED TO THREE STRATEGIES TO DIMINISH THE EFFECTS OF NEGATIVE ENERGY BALANCE.

Metabolic evaluation of periparturient dairy cows submitted to three strategies to diminish the effects of negative energy balance

Alejandra Barrera García⁽¹⁾, Felipe Cardoso de Cardoso⁽²⁾, Rómulo Campos⁽³⁾, Diego Xaxier Thedy⁽⁴⁾ and Félix Hilario Diaz González⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 95320-000, Brasil. E-mail: aleba25@yahoo.es, felixgonzalez.ufrgs@gmail.com, ⁽²⁾ Department of Animal Sciences, 266 ASL, 1207 W. Gregory Dr., University of Illinois, Urbana, IL 61801 USA. E-mail: cardoso2@illinois.edu, ⁽³⁾ Departamento de Ciencia Animal, Universidad Nacional de Colombia, Campus Palmira, Colombia. E-mail: romulo.campos@ufrgs.br, ⁽⁴⁾ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Veterinária, Departamento de Medicina Animal, E-mail: dxthedy@yahoo.com.br.

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the metabolic condition of high yielding dairy cows subjected to three treatments for preventing severe lipomobilization and ketosis in early lactation through blood determination of non-esterified fatty acids (NEFA), albumin, AST, β -hydroxybutyrate (BHBA), cholesterol, glucose, protein, urea and triglycerides. Fifty four multiparous Holstein cows yielding >30 L/day were divided into four groups: control (no treatment), glucose precursor (propylene-glycol), hepatic protector (Mercepton), and energy supplement with salts of linolenic and linoleic fatty acids (Megalac E). Treatments were applied randomly at moment of calving until 8 weeks postpartum in the same period blood samples were collected. Cut-off points for subclinical ketosis were defined when BHBA ≥ 1.4 mmol/L and NEFA ≥ 0.7 mmol/L. General occurrence of subclinical ketosis was 24% during the period. An ascendant

curve of cholesterol and glucose was observed from the 1st to the 8th week of lactation, while any tendency was observed with BHBA and NEFA, although differences among treatments were detected. These results suggest that treatment with Megalac E improves milk production but induces a higher negative energy balance leading to moderated lipomobilization and ketone bodies production, increasing the risk of fatty liver.

Index terms: fatty liver, ketosis, biochemical indicators, early lactation, dairy cattle.

Avaliação metabólica de vacas leiteiras no pós-parto inicial submetidas a três estratégias para diminuir os efeitos do balanço energético negativo.

RESUMO.– O objetivo deste estudo foi avaliar o status metabólico de vacas leiteiras de alta produção submetidas a três tratamentos para prevenir severa lipomobilização e cetose no início da lactação através da determinação sanguínea de: ácidos graxos não esterificados (AGNE), albumina, AST, β -hidroxibutirato (BHB), colesterol, glicose, proteína, uréia e triglicerídeos. Cinquenta e quatro vacas de raça Holandesa múltiparas produzindo >30 L/dia foram divididas em quatro grupos: controle, precursor de glicose (propileno-glicol), protetor hepático (Mercepton) e suplementação com sais de ácidos graxos linolênico e linoléico (Megalac E). Amostras de sangue foram coletadas desde o dia do parto até a oitava semana de lactação. Pontos de corte para diagnosticar cetose subclínica foram definidos quando BHB $\geq 1,4$ mmol/L e AGNE $\geq 0,7$ mmol/L. A ocorrência geral de cetose subclínica foi de 24% durante o período. Uma curva ascendente de colesterol e de glicose foi observada desde a 1^a até a 8^a semana, enquanto que nenhuma tendência foi observada com BHB e AGNE, embora diferenças entre os tratamentos fossem detectadas. Os resultados sugerem que o tratamento com Megalac E melhora a produção de leite, mas induz um balance energético negativo maior levando a moderada lipomobilização e produção de corpos cetônicos, aumentando o risco de fígado gorduroso.

Termos de indexação: lipidose hepática, cetose, indicadores bioquímicos, pós-parto inicial, vaca leiteira.

Introduction

During early lactation dairy cows experience a negative energy balance (NEB), which causes lipid mobilization from adipose tissue (Campos et al., 2005). When the lipid mobilization is intense, and persevere for a long time, the glycogen reserves in the liver can be depleted, compromising the gluconeogenesis that lead the animal to a high risk in developing ketosis (Drackley, 1999). Fatty liver and ketosis are metabolic disorders that usually develop between the second and seventh week after calving (Herdt, 2000a). The prevention of metabolic disorders in dairy cattle is necessary for a sound liver function (Bertics & Grummer, 1999).

Excessive lipid mobilization can be prevented with different strategies such as the reduction of blood levels of non-esterified fatty acids (NEFA), increase in the complete oxidation of NEFA in extra-hepatic tissues, and increment of the liver exportation rate through very low density lipoproteins (VLDL) (Grummer, 2008). The prophylactic use of additives that can increase ruminal propionate concentration, such as propylene glycol, have been associated with insulin stimulation, decrease in lipolysis resulting in a better energetic status in dairy cows (Studer et al., 1993; Grummer et al., 1994; Christensen et al., 1997; Duffield, 2000).

Feed additives have been studied in order to ameliorate the NEB experienced by dairy cattle by increasing the energetic density of the diet. Some of these additives are known as protected fat or “by-pass” fat (Grummer & Carol, 1991; Bertics & Grummer, 1999; Pickett et al., 2003). This nutritional strategy consists in the utilization of fatty acids, originated from the diet that could positively influence the energetic status in the early

post-partum by offering high energy in a period where depression of dry matter intake (DMI) is eminent. The fatty acids originated from the diet are utilized by extra-hepatic tissues, differently than NEFA that are metabolized in the liver (Bertics & Grummer, 1999, Pickett et al., 2003). Therefore, the lipid mobilization would be less intense and would have less negative effect on liver metabolism. (Drackley, 1999, Pickett et al., 2003).

Another strategy used to prevent the lipid mobilization effects is the administration of precursors necessary for the synthesis of very low density lipoproteins (VLDL), what represents a challenge in ruminants because of the low exportation rate of these lipoproteins (Grummer, 1995). There is no clear evidence about the lipotropics agents that can increase the secretion of VLDL in ruminants (Bertics & Grummer, 1999). The utilization of hepatic protectors with components such as methionine and choline are an alternative to increase the efficiency of VLDL secretion in ruminants. In southern Brazil, Rio Grande do Sul, the utilization of liver protectors during the early postpartum in dairy cows is a common practice. However, the information regarding the advantages and disadvantages of such practice on the metabolic status of dairy cows is limited. Nevertheless, there are few studies evaluating liver protectors to prevent metabolic disorders in dairy cows. The present study had the aim of evaluating three different strategies applied during the first thirty days postpartum to prevent the possible deleterious effects of NEB in dairy cows. Metabolic indicators were used from plasma and urine in the first eight weeks postpartum, under commercial dairy production characteristics in Rio Grande do Sul, Brazil.

Materials and Methods

In the present work, fifty four multiparous Holstein cows yielding more than 30L/cow/day were used. All animals were part of the same herd in a commercial dairy

farm in the Taquari region, Teutonia county, Rio Grande do Sul (Southern Brazil). The herd consisted of 75 milking Holstein cows managed in a semi-confinement system. One week before the expected calving date, a clinical exam was performed in each cow to check for health problems. In addition, it was recorded each cows health history, register, age, previous lactation milk production, parity and body condition score (BCS). The BCS determination followed the methodology proposed by Edmonson et al. (1989) where a scale of 5 points varying from 1-caquexi to 5-obese. BCS evaluations were recorded through all the experiment by a single evaluator. The treatments were randomly assigned to each cow at calving in one of the following groups:

Control group (CN, n=15), received the basic farm diet (Table 1);

Propylene glycol group (PG, n=14), besides the basic farm diet, received 300 mL propylene glycol (Nuclear Laboratory), orally, every 48 hours during the first 30 days postpartum. A total of 15 applications were performed always at 19:00 (Grummer et al., 1994; Christensen et al., 1997).

Mercepton group (Mp, n=15), besides the basic farm diet, received 20 mL of the product Mercepton⁴ (Bravet), intramuscular injection (IM), every 48 hours during the first 30 days postpartum. A total of 10 applications were performed always at 19:00. Dose was adjusted following fabricant recommendations.

Megalac-E group (Mg-E, n=10), besides the basic farm diet, received 250 g/cow/day of the product Megalac-E⁵ (Arm & Hammer) mixed in the ration and administered daily at 19:00, during the first 30 days postpartum. Dose was administered following fabricant recommendations.

⁴ Mercepton: each 100 mL contains: acetyl DL-methionine, 15.00 g, Choline chloride: 10.00 g; Inositol: 1.00 g, Vitamin B1: 1.00 g, Vitamin B2: 50.00 mg, Vitamin B6: 0.25 g, Vitamin B12: 5.00 mg; Nicotinamina: 1.00 g, calcium pantothenate: 0.50 g

⁵ Megalac E: calcium salts of unsaturated fatty acids linolenic 3-4% and linoleic 42-49%.

Besides the treatments, cows received 180 g of a mixture with 100 g minerals and 80 g of sodium bicarbonate (buffer). The nutritional values of the diet followed the NRC (National Research Council, 2001). The diet was formulated using the software CPM Dairy Cornell-Penn-Miner Version 3.0.10.

In the beginning of the study the cow's average age and previous lactation milking production (L/day) were: 5.53 ± 1.96 years and 33.8 ± 3.84 L; 5.86 ± 1.75 years and 33.43 ± 3.08 L; 5.40 ± 1.30 years and 32.53 ± 4.14 L; 4.50 ± 0.97 years and 33.49 ± 3.13 L for the groups CN, PG, Mp and Mg-E respectively.

Samples of animals

Eight collection periods of blood and urine from each animal was performed. Samples were collected on days 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 and 49 postpartum, always before the evening milking (16:30), before feeding and treatment administration. Blood samples were collected in two aliquots through puncture of the coccygeal vein or artery in sterile vacuum tubes (Vacutainer, Becton Dickinson) 10 mL without coagulant and 4 mL with EDTA K₂ (7.2 mg). Plasma was separated immediately after collection (3 mL), never after the period of ten minutes. The samples without coagulant were maintained at room temperature for 2 hours and then centrifuged (2500 rpm for 15 minutes). The serum was extracted and fractioned in several aliquots of 600 μ L in 1.5 mL *ependorf* tubs identified and kept under refrigeration until its transport to the laboratory where they were stored at -20°C until the moment of the biochemical analysis.

Body condition score (BCS) was evaluated at the same periods and milk yield was recorded at 2nd, 4th, 5th, 6th, 7th, and 8th weeks of lactation.

Urine samples were collected through induction by perineal massage. The first jets of urine were despised. A minimum of 200 mL was collected in sterilized recipients. The samples were put under refrigeration and were analyzed before 24 hours after the

collection. The urine analysis made in the field were: pH determination using digital pHmeter (pHTEK model pH100), and presence of ketone bodies through reagent strips (Multistix 10SG [MTX], Bayer Corp., USA) sensitive to acetoacetate and ketone.

Laboratorial analysis

The following metabolites were determined by spectrophotometric methods: non-esterified fatty acids (NEFA), albumin, aspartate-aminotransferase (AST), beta-hydroxybutyrate (BHBA), cholesterol, glucose, total protein, urea and triacylglycerol. All the analysis were performed through automatic equipment (Metrolab D-1600), using diagnostic commercial kits (Randox, for NEFA and BHBA and Labtest for the others). Globulin values were obtained by the difference between total protein concentration and albumin. All the samples were determined in duplicates. Samples with coefficient of variation (CV) greater than 10% were re-analyzed and discrepant values were discarded.

Statistical analysis

The experiment was developed as a complete random design (CRD) with four treatments and repeated measures in time (collection periods). For each one of the variables to be analyzed (metabolites or clinical status of the metabolic disease) the ANOVA method was used with a multivariate model using the option (GLM, general linear model), for different sample size between treatments. When a minimal significant difference between the means was identified, Duncan test was utilized to describe the differences. Previously, descriptive analysis was done by treatment, period and variable. Using the Pearson correlation, possible mathematical correlations were tested among the analyzed metabolites. A probability of 95% ($p < 0.05$) was considered significant in the statistical analysis. The software SPSS-PASW 18 for Windows (Chicago) was used for the statistical analysis.

Results and Discussion

The results presented in this study are the reflection of expected physiologic adaptations of the energy metabolism of dairy cows in the early postpartum. In this period, there is an energy deficit that propitiates lipid mobilization from body adipose tissue and, consequently increases in blood concentration of NEFA and ketone bodies (Ingvarsten & Andersen, 2000). High concentration of NEFA and ketone bodies can result in subclinical ketosis or ketosis (Duffield, 2000; Duffield et al., 2009).

In the present multivariate model, statistical significance was not identified in the principal effects group (treatment), week of collection, and the interaction (treatment by week). The results regarding the determinations of cholesterol, triglycerides, glucose, BHBA, NEFA, total protein, albumin, globulins and urea as well as body condition score (BCS) are presented in table 2 by week, and table 3 by treatment.

The BCS at calving was similar in all studied population (3.83 ± 0.25), but during the following seven weeks there was a significant loss ending in the 8th week with a BCS difference of 1.3. Treatments did not influence BCS, which decreased through the lactation, as expected (Wang et al., 2009). Control group had the least decrease in BCS, which can be associated with the stress level that each group experienced. There are controversial information about the relationship between BCS and ketosis susceptibility. Busato et al. (2002) state that higher BCS can decrease the risk to ketosis, but on the other hand, Edmonson et al. (1989) state that higher BCS can increase the risk to ketosis.

During the experimental period data relative to milk production was recorded during the 2nd, 4th, 5th, 6th, 7th, and 8th weeks. The average for milk production (L/day) was 32 ± 6.8 , 30.3 ± 6.9 , 31.2 ± 8.4 e 38.5 ± 4.9 for the Control group, Propylene glycol,

Mercepton and Megalac-E respectively. The Megalac-E group showed significant ($p < 0.05$) higher milk production when compared to the other groups. The least mean value for glucose in the population studied was at calving (2.82 ± 0.61 mmol/L), with continuous increment in the next 7 weeks. Glucose values reported in this study are in agreement with the findings of other Brazilian researchers (González et al., 1997; González et al., 2000; Campos et al., 2007; Cardoso et al., 2008; González et al., 2009; Souza & Junior, 2009). The lowest concentration of serum glucose was at calving. The glucose serum concentration increased in the following seven weeks after calving. The Megalac-E group presented the lowest glucose serum concentration. This result can be explained by the probable severe NEB experienced by the cows in this group that produced more milk during the studied period. The propylene glycol supplementation seems not to have an effect on glycemia when compared to the Control group. These data are in disagreement with the data presented by Studer et al. (1993), Grummer et al. (1994) and Christensen et al. (1997), where the administration of propylene glycol induced higher glycemic levels. The liver protector (Mercepton) resulted in glycemic levels similar to the Control group.

The mean concentration of cholesterol showed a gradual increase with increasing days in milk ranging from 2.28 ± 0.91 mmol/L in the first week to 4.43 ± 1.26 mmol/L in the eighth week. The mean cholesterol concentration had a gradual increase as the lactation developed, with some variation within groups. The present study agrees with the results found by Souza & Junior (2009) that stated the continuous increase as days from calving increases. The increase of the concentration of serum cholesterol levels can be physiologic during the lactation (Cavestany et al., 2005) as a result of mobilization of fatty acids in consequence of glucagon secretion and increase concentration of plasma lipoproteins. Higher serum cholesterol concentration values in the Megalac-E group can

be a result from the supplementation of essential fatty acids from the diet. Cholesterol concentration is in between of the reference values for Holstein cows in Rio Grande do Sul (González et al., 2000). Lower serum cholesterol concentrations in the first weeks postpartum have been related with fatty liver (Van den Top et al., 2005).

There was no significant difference in the serum TG concentrations between groups. The values were in the same range reported for this region (González et al., 2000; González et al., 2009). Data reported by Van den Top et al. (2005), suggests a continuous plasma TG concentration decrease ($p < 0.05$) postpartum, being lower concentration values related to cows with fatty liver. In the present study it was not observed this tendency. González et al. (2009) reported a lower serum TG concentration in cows with high concentrations of BHBA and NEFA. This founding can be related with the fatty acids excess that is mobilized to the liver to be used as energy source. As a result of the limited liver capacity to export TG as VLDL, the liver storage of TG in the interior of the hepatocytes ends up decreasing the serum concentrations of TG.

BHBA values greater than 1.2 mmol/L were used as a risk factor to develop ketosis (Duffield et al., 2009), it was established as a diagnostic parameter of subclinical ketosis values greater than 1.4 mmol/L (Oetzel, 2004) together with NEFA concentrations greater than 0.7 mmol/L (Whitaker, 2004). A 24% prevalence of subclinical ketosis was found in the present study. As a cut off point for subclinical ketosis BHBA serum concentrations ≥ 1.4 mmol/L was considered (Duffield, 2000; Oetzel, 2004; Duffield et al., 2009). BHBA concentrations between 1.2-1.39 mmol/L were considered by Duffield et al. (2009) as indicators of high ketone levels associated with the risk to develop ketosis. According to Oetzel (2004), BHBA concentrations ≥ 2.6 mmol/L and NEFA ≥ 0.7 mmol/L, can be used to define subclinical ketosis. In the present study only two animals were found in this condition, however, since they did not have clinical

signs they were classified with subclinical ketosis. The highest BHBA value and lowest glycemic value were observed in the Megalac-E. This result is in agreement with the suggestion that this group experienced the most severe NEB and also was more prone to develop ketosis, when compared to the other groups.

NEFA serum concentration is an indicator of the lipid mobilization degree from reserve adipose tissue and, in conclusion, of the NEB in ruminants. Canfield & Butler (1991) showed the importance of NEFA as a lipid mobilization indicator when evaluating the serum concentration of the metabolite in cows experiencing NEB in the beginning of the lactation. NEFA values ≥ 0.7 mmol/L are considered to be an indicative of severe NEB (Whitaker, 2004). In the present study 52 samples (12.1%) were greater than that value. NEFA serum concentration had a tendency to diminish as the lactation progressed, in agreement with Adewuyi et al. (2006). The Megalac-E group was an exception to this observation, having an increase in serum NEFA concentration throughout the lactation. This result was expected since this group experience a severe NEB.

The 2nd week was the period with the greater number of samples with BHBA and NEFA concentrations compatibles with subclinical ketosis (17.9%; n=19). From a total of 428 samples, 196 had high concentration of NEFA (52) and BHBA (54), leading to a 24.76% prevalence of subclinical ketosis. These results are related with the appearance of ketone bodies in urine, since 102 samples were positive, resulting in 23.87% prevalence of subclinical ketosis. It was observed 52 samples (12.1%) with NEFA concentration ≥ 0.7 mmol/L, from which 39 (75%) had triglycerides concentration (TG) between 0.04 and 0.1 mmol/L, being 25 (64.10%) with high AST concentration (ranging from 100 to 322 U/L). NEFA concentration ranged from 0.7 to 2.67 mmol/L in

the first four weeks of lactation, reducing through the end of the experiment demonstrating the severity of NEB in the beginning of the lactation.

Megalac-E and Propylene glycol groups had the lowest concentration values for glucose during all the experiment. Megalac-E group had the greatest concentration of BHBA and NEFA ($P < 0.05$) in comparison with the other groups. There was no significant difference for TG between treatments or weeks. Cholesterol values were higher for the Megalac-E group, having a high variation.

In this study it was utilized the AST serum concentration in order to establish a degree of liver lesion. It was not observed statistic difference among groups, however, AST was present in high concentrations in all groups except for the Propylene glycol. All groups had increased concentration of AST in the fifth week, being the Megalac-E group the one with the highest value ($P < 0.05$). The sensibility of the fatty liver diagnose by the AST index is 94% (Kaneko, 2008). Grummer et al. (1994) and Stojević et al. (2005) found that higher concentrations of AST in dairy cattle are associated with fatty liver syndrome, lower dry matter intake and ketosis signs. In the present study, the Megalac-E group presented higher serum concentration of AST when compared to the other groups. A tendency for increasing concentration of AST through the lactation was observed for all groups. This result is in agreement with the ones reported by Stojević et al. (2005) and González et al. (2009). The highest serum AST concentration values can be an indicative of liver lesions mainly found in the Megalac_E and Mercepton groups. The result also suggests that the supplementation with propylene glycol can have a liver protection action against lipid mobilization.

There was no significant difference for urine pH values. Values were 8.04 ± 0.24 , 7.90 ± 0.33 , 7.93 ± 0.24 , e 8.01 ± 0.19 for the Control group, Propylene glycol, Mercepton and Megalac-E respectively. A high significant correlation was found with the Pearson

correlation test for serum BHBA and ketone bodies in the urine ($r= 0.63$); but not between BHBA and urine pH. Urine pH values were in between the reference values for the bovine specie (Kaneko et al. 2008). The Pearson correlation test was highly significant between BHBA and ketone bodies, however did not have any correlation with urine pH. Therefore, these data confirm the specificity of the urine reagent strips test and can suggest that for the accompaniment of the metabolic diseases the measurement of urine pH is not necessary.

Conclusions

1. The results from this study suggest that the supplementation with protected fatty acids lead to a higher milk production, therefore increasing the NEB negative effect in dairy cows.
2. The supplementation with protected fatty acids can result in liver dysfunction and predisposition to metabolic disorders such as ketosis.
3. Propylene glycol supplementation may have a liver protection effect.

Acknowledgements.-

The authors thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), because of the scholarship grant to the first author.

References

- ADEWUYI, A.A.; ROELOFS, J.B.; GRUYS, E.; TOUSSAINT, M.J.M.; VAN EERDENBURG, F.J.C.M. Relationship of plasma non-esterified fatty acids and walking activity in postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 2977-2979, 2006.
- BERTICS, J.; GRUMMER, R.R.. Effects of fat methionine hidroxy analog on prevention or alleviation of fatty liver induced by feed restriction. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2731-2736, 1999.
- BUSATO, A.; FAISSLER, D.; KÜPFER, U.; BLUM, J.W. Body Condition Scores in Dairy Cows: Associations with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows. **Journal of Veterinary Medical**, v. 49, p. 455–460, 2002.
- CANFIELD, R.W.; BUTLER, W.R. Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 740–746, 1991.
- CAMPOS, G.R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Determinação de corpos cetônicos na urina como ferramenta para o diagnóstico rápido de cetose subclínica bovina e relação com a composição do leite. *Archives Vet Sci.* 10: 49-54, 2005.
- CARDOSO, F.C.; ESTEVES, V.S.; OLIVEIRA, S.T.; LASTA, C.S.; VALLE, S.F.; CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.H.D. Hematological, biochemical and ruminant parameters for diagnosis of left displacement of the abomasum in dairy cows from Southern Brazil. **Pesq. Agropec. Bras**, v. 43, p. 141-147, 2008.
- CAVESTANY, D.; BLANC, J. E.; KULCSAR, M.; URIARTE, G.; CHILIBROSTE, P.; MEIKLE, A.; FEBEL, H.; FERRARIS, A.; KRALL, E. Studies of the Transition

Cow Under a Pasture-based Milk Production System: Metabolic Profiles. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 52, n. 1, p. 1-7, 2005.

CHRITENSEN, J.O.; GRUMMER, R.R.; RASMUSSEN, F.E.; BERTICS, S.J. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 563-568, 1997.

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

DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary Clinics of North American Food Animal Practice**, v. 16, p. 231-253, 2000.

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

EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 68-78, 1989.

GONZÁLEZ, F.H.D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção de vacas leiteiras. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v. 25, p. 13-33, 1997.

GONZÁLEZ, F.H.D. Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO L. A. O. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000, p. 89-106.

GONZÁLEZ, F.; MUIÑO, R.; PEREIRA, V.; CAMPOS, R.; CASTELLOTE, J.L.B. Indicadores sanguíneos de lipomobilização e função hepática no início da lactação em

vacas leiteiras de alta produção. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 64 (Resumo), 2009.

GRUMMER, R.; CARROL, D. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 3838-3852, 1991.

GRUMMER, R.R.; WINKLER, J.C.; BERTICS, S.J.; VAUGHN, A.; STUDER, V.A. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 3618-3623, 1994.

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

GRUMMER, R.R. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. **The Veterinary Journal**, v. 176, p.10-20, 2008.

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

INGVARTSEN, K.L.; ANDERSEN, J.B. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1573–1597, 2000.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Blood analyte reference values in large animals. In: **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. Academic Press. San Diego, California, 2008, p. 928, ISBN: 9780123704917.

OETZEL, G. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 20, p. 651-674, 2004.

PICKETT, M.M.; PIPENBRINK, M.S.; OVERTON, T.R. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 113-121, 2003.

SOUZA, R.M.; JUNIOR, E.H.B. Influência do puerperio e da fase pós-puerperal no lipidograma de vacas da raça holandesa criadas no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, p. 5-10, 2009.

STOJEVIĆ, Z.; PIRŠLJIN, J.; MILINKOVIĆ-TUR, S.; ZDELAR-TUK, M.; LJUBIĆ, B.B. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. **Veterinarski Arhiv**, v. 75, p. 67-73, 2005.

STUDER, V.A.; GRUMMER, R.R.; BERTICS, J.S.; REYNOLDS, C.K. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2931-2939, 1993.

VAN DEN TOP, A. M.; VAN TOL, A.; JANSEN, H.; GEELLEN, M. J. H.; BEYNEN, A. C. Fatty liver in dairy cows post partum is associated with decreased concentration of plasma triacylglycerols and decreased activity of lipoprotein lipase in adipocytes. **Journal of Dairy Research**, v. 72, p. 129-137, 2005.

WANG, C.; LIU, Q.; YANG, W.Z.; DONG, Q.; YANG, X.M.; HE, D.C.; DONG, K.H.; HUANG, Y.X. Effects of malic acid on feed intake, milk yield, milk components and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. **Livestock Science**, v. 124, p. 182-188, 2009.

WHITAKER, D.A. Metabolic profiles. In: **Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of cattle** 2nd edition. Andrews, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, H.; EDDY, R.G. Oxford: Blackwell Science. 2004, p. 804-817. ISBN: 9780632055968.

Table 1. Ingredients and nutrient composition of the basal early lactating cow total mixed ration (TMR).

Ingredients ¹	Quantity	Dry matter (%)
Corn silage	36 kg	30
Tifton hay (<i>Cynodon nlemfuensis</i>)	1.5 kg	85
Grain Mix 2.15 Mcal/kg	10 kg	90
	Nutrient composition ² (%)	
Crude protein	22	
Ether extract	4	
Neutral detergent fiber	37	
Acid detergent fiber	17	
Rumen undegraded (intake) protein	40	
Non-structural carbohydrate	37	
Starch	27	
Total digestible nutrients (TDN)	82.2	
Ca	0.87	
P	0.45	
Mg	0.25	
K	1.15	
Se	0.51 ppm	

¹ The diet was formulated based on National Research Council (NRC) 2001, recommendation.

² The calculation of TMR was through CPM Dairy Cornell-Penn-Miner, version 3.0.10.

Table 2. Average, standard deviation, probability values (*p*) for blood metabolites analyzed in each treatment group (average for eight weeks).

Parameter	Treatments				p
	CN (n=15)	PG (n=14)	Mp (n=15)	MgE (n=10)	
Cholesterol (mmol/L)	3.37 ^a ± 1.3	3.14 ^a ± 1.06	3.37 ^a ± 1.09	4.41 ^b ± 1.62	0.001
Triglycerides (mmol/L)	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.259
Glucose (mmol/L)	3.34 ^b ± 0.48	3.13 ^a ± 0.57	3.34 ^b ± 0.43	2.90 ^a ± 0.48	0.000
BHBA (mmol/L)	0.82 ^a ± 0.33	0.83 ^a ± 0.34	0.90 ^{ab} ± 0.28	1.00 ^b ± 0.63	0.017
NEFA (mmol/L)	0.30 ^a ± 0.28	0.41 ^b ± 0.28	0.25 ^a ± 0.17	0.50 ^c ± 0.49	0.001
Total protein (g/L)	80.72 ^a ± 8.85	84.07 ^b ± 10.17	83.37 ^b ± 8.92	81.87 ^a ± 7.81	0.012
Albumin (g/L)	28.66 ^a ± 3.72	29.10 ^{ab} ± 3.37	30.04 ^b ± 6.31	31.50 ^b ± 2.19	0.001
Globulins (g/L)	52.06 ^b ± 9.99	54.96 ^b ± 11.46	53.76 ^b ± 9.98	50.36 ^a ± 8.05	0.063
Urea (mmol/L)	7.03 ^b ± 1.82	6.01 ^a ± 1.34	7.53 ^{bc} ± 1.75	7.61 ^c ± 1.19	0.001
AST (U/L)	126.5 ^b ± 43.2	103.8 ^a ± 30.5	133.9 ^b ± 62.5	144.8 ^c ± 57.3	0.000
BCS	3.2 ^b ± 0.48	3.06 ^a ± 0.55	3.03 ^a ± 0.59	3.11 ^b ± 0.60	0.001

Different values between groups are indicated by different letters ($P \leq 0.05$).

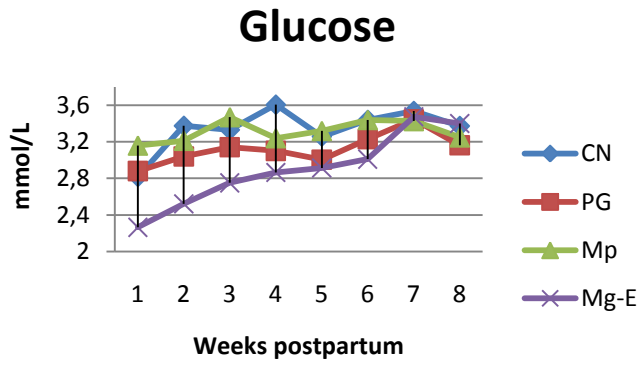
CN: control, PG: propylene glycol, Mp: Mercepton, Mg-E: Megalac E, BCS: Body condition score (1-5)

Table 3. Average, standard deviation, probability values (*p*) analysis of variance of blood metabolites in dairy cows analyzed in each treatment group during the first eight weeks of lactation.

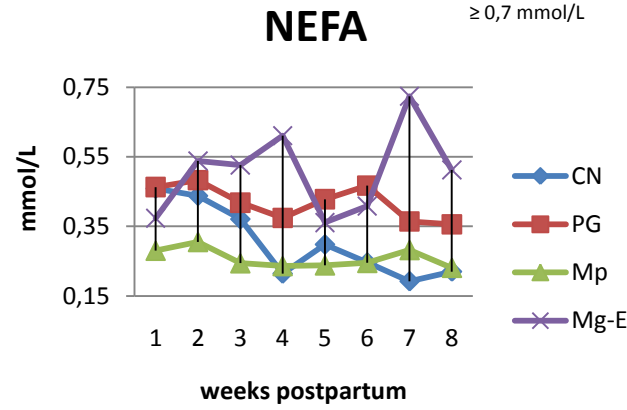
Parameter	Weeks postpartum								<i>p</i>
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Triglycerides (mmol/L)	0.13 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.03	0.14 ± 0.07	0.13 ± 0.03	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.03	0.300
Cholesterol (mmol/L)	2.29 ^a ± 0.90	2.71 ^b ± 0.88	3.20 ^c ± 1.08	3.54 ^{cd} ± 1.12	3.78 ^{de} ± 1.20	3.95 ^{de} ± 1.15	4.19 ^{ef} ± 1.03	4.43 ^f ± 1.26	0.001
Glucose (mmol/L)	2.83 ^a ± 0.61	3.09 ^b ± 0.53	3.21 ^b ± 0.55	3.24 ^b ± 0.54	3.15 ^b ± 0.48	3.30 ^{bc} ± 0.40	3.47 ^c ± 0.34	3.29 ^{bc} ± 0.62	0.000
BHBA (mmol/L)	0.82 ± 0.26	0.96 ± 0.54	0.95 ± 0.74	0.89 ± 0.30	0.85 ± 0.28	0.87 ± 0.29	0.83 ± 0.25	0.90 ± 0.29	0.533
NEFA (mmol/L)	0.39 ± 0.29	0.43 ± 0.44	0.38 ± 0.36	0.34 ± 0.41	0.33 ± 0.24	0.34 ± 0.25	0.36 ± 0.36	0.31 ± 0.29	0.597
AST U/L	116.45 ± 54.2	124.70 ± 53.09	121.02 ± 46.45	118.49 ± 47.64	140.77 ± 77.42	131.16 ± 41.23	128.72 ± 35.75	120.17 ± 42.74	0.234
Total protein (g/L)	75.22 ^a ± 6.94	78.28 ^a ± 6.60	81.79 ^b ± 6.94	83.85 ^{bc} ± 8.37	85.27 ^d ± 9.46	84.79 ^{bc} ± 8.62	85.57 ^d ± 10.6	85.51 ^d ± 9.21	0.001
Albumin (g/L)	30.72 ± 8.08	28.85 ± 3.36	28.94 ± 3.23	29.58 ± 3.55	30.24 ± 3.52	29.51 ± 3.87	20.73 ± 3.77	29.8 ± 3.76	0.5361
Globulins (g/L)	45.34 ^a ± 8.26	49.43 ^b ± 6.87	52.85 ^{bc} ± 8.13	54.27 ^c ± 9.85	55.03 ^c ± 10.52	55.27 ^c ± 10.05	55.84 ^c ± 11.71	55.64 ^c ± 10.83	0.001
Urea (mmol/L)	0.82 ± 0.26	0.96 ± 0.54	0.95 ± 0.74	0.89 ± 0.30	0.85 ± 0.28	0.87 ± 0.29	0.83 ± 0.25	0.90 ± 0.29	0.187
BCS	3.85 ^f ± 0.25	3.65 ^e ± 0.28	3.33 ^{cd} ± 0.27	3.13 ^c ± 0.30	2.96 ^c ± 0.39	2.7 ^{ab} ± 0.34	2.60 ^{ab} ± 0.39	2.53 ^a ± 0.37	0.001

Different values between means are indicated by different letters in the Duncan test ($p \leq 0.001$).

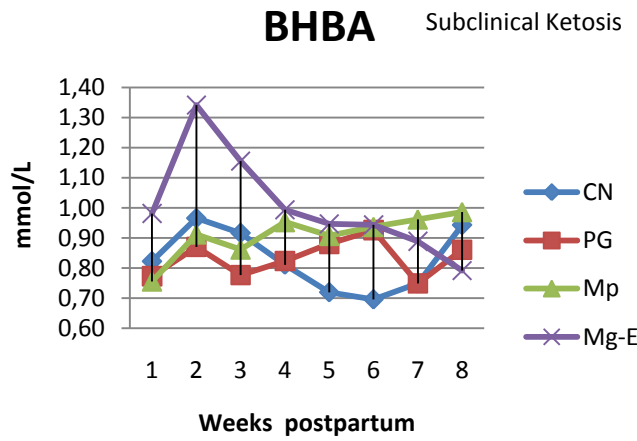
BCS: Body condition score (1-5).



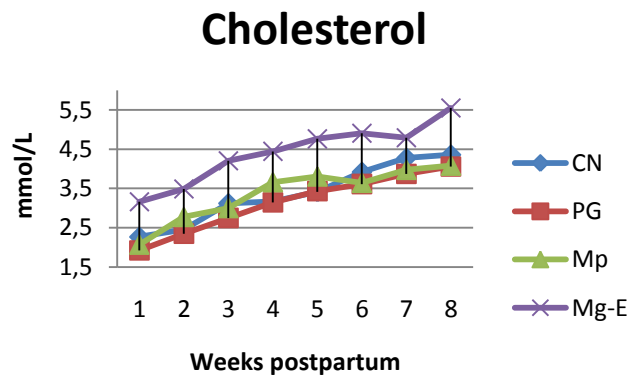
(a)



(b)



(c)



(d)

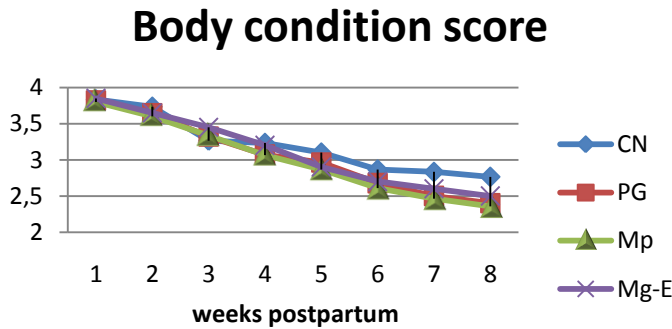


Fig.1. Average concentration of (a) glucose (mmol/L), (b) non-esterified fatty acids (mmol/L), (c) β -hydroxybutyrate (mmol/L), (d) cholesterol (mmol/L), (e) average of body condition score in dairy cows of control group (CN), propylene glycol (PG), Mercepton (Mp) and Megalac E (Mg-E).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo deste trabalho foi avaliar a condição metabólica em vacas leiteiras de alta produção (> 25 L/d), sobre condições de manejo tradicionais da região sul do sul do Brasil, submetidas ao efeito de três tratamentos preventivos de lipidose hepática e cetose: precursor da glicose (PG), protetor hepático (Mp) e suplemento energético (MgE) administrados durante os primeiros 30 dias pós-parto, observando seu efeito nas primeiras oito semanas de lactação, através da análise de diferentes metabólitos no soro e urina. O trabalho também visava determinar quais destes parâmetros bioquímicos poderiam ser mais úteis no direcionamento do diagnóstico e prevenção destes transtornos, como também estabelecer qual o tratamento profilático mais eficiente.

As estratégias de prevenção e tratamento da lipidose hepática através de aditivos dietéticos podem ser classificadas de acordo ao mecanismo de ação, isto é: diminuição da lipólise, aumento da oxidação completa dos NEFA por tecidos extra-hepáticos e secreção hepática de VLDL.

Nesse sentido, o fornecimento de propileno-glicol representa uma alternativa à diminuição da lipólise, uma vez que este produto estimula a secreção de insulina, reduz a mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo (NIELSEN; INGVARTENSEN et al., 2004). O efeito sobre a concentração de insulina não foi avaliado no presente estudo, porém através da concentração de NEFA, constatou-se que o valor da média dos grupos permaneceu dentro dos valores reportados como fisiológicos por Kaneko et al. (2008).

A suplementação com gorduras é uma estratégia que visa aumentar a densidade energética da ração em vacas leiteiras no início da lactação. Esta estratégia assume que os ácidos graxos provenientes da dieta serão utilizados por tecidos extra-hepáticos, enquanto que os produzidos através da lipólise serão metabolizados no fígado. Porém as concentrações séricas de NEFA quase sempre aumentam com esta suplementação (GRUMMER; CAROL, 1991), situação que acompanha os resultados obtidos neste experimento, o que poderia indicar que esta suplementação promove a lipólise em vez de preveni-la (GRUMMER, 2008).

O aumento da secreção de VLDL pode ser alcançado através de substâncias como a colina e metionina, substâncias estudadas pela sua capacidade de melhorar a exportação hepática de VLDL em camundongos. A composição do segundo tratamento possui na formulação acetil D-L metionina e cloreto de colina. A metionina atua como

doador de grupos metilo na síntese de fosfolipídeos, além de ser precursoras da síntese hepática de apolipoproteínas, importantes na síntese e secreção de VLDL (BERTICS; GRUMMER, 1999). A colina atua como substrato na síntese de fosfatidilcolina, constituinte das VLDL. Além disso, a colina também age como doador de grupos metilo, portanto, poupa a metionina, disponibilizando-a para síntese de VLDL (GRUMMER, 2008). No presente experimento o grupo tratado com protetor hepático, apresentou os valores mais baixos de NEFA durante as oito semanas do estudo, porém isto não foi suficiente para prevenir o desenvolvimento de cetose subclínica. Uma possível explicação para este fato pode ser que numerosos componentes lipotrópicos podem ser efetivos quando se trata de animais monogástricos, não entanto devido a inerente baixa capacidade do fígado dos ruminantes de exportar VLDL é incorreto assumir que estes produtos exerçam o mesmo efeito no metabolismo destes animais (GRUMMER, 1995).

Através dos resultados deste estudo não foi possível demonstrar os efeitos benéficos dos tratamentos administrados preventivamente durante as primeiras quatro semanas de lactação, no sentido de diminuir os efeitos do BEN.

CONCLUSÕES

O estudo demonstra que nenhum dos tratamentos administrados em forma preventiva durante os primeiros trinta dias de lactação atingiu o objetivo de melhorar a condição metabólica no pós-parto inicial.

O resultado da correlação entre a concentração sérica de BHB e o nível de corpos cetônicos nas fitas, sugere que o uso da fitas é suficiente para o diagnóstico de transtornos por lipomobilização durante o início da lactação.

A correlação entre a concentração sérica de BHB e NEFA foi significativa, o que é importante, porque dispensa o uso de um dos testes, sendo que a escolha dependeria de fatores econômicos relacionados aos custos dos reagentes.

Valores séricos de AST, colesterol total e BHB, assim como a determinação de corpos cetônicos na urina são bons parâmetros bioquímicos no diagnóstico e prognóstico de lipomobilização no pós-parto inicial.

REFERÊNCIAS

- ADEWUYI, A. A.; GRUYS, E.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M. Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. **Veterinary Quarterly**, v. 27, n. 3, p. 117-126, 2005.
- ADEWUYI, A. A.; ROELOFS, J. B.; GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M. Relationship of plasma nonesterified fatty acids and walking activity in postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 2977-2979, 2006.
- AL-RAWASHDEH, O.F. Prevalence of ketonemia and associations with herd size, lactation stage, parity, and postparturient diseases in Jordanian dairy cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 40, p. 117-125, 1999.
- AMETAJ, B.N. A new understanding of the causes of fatty liver in dairy cows. **Advances in Dairy Technology**, v. 17, p. 97-112, 2005.
- ANDERSON, L. Sub-clinical ketosis in dairy cows. Metabolic diseases of ruminant livestock. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 4, p. 233-251, 1988.
- BARROS, L. (2001) Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: González, F. H. D., Dürr, J. W., Fontanelli, R. S. (Eds) *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 44-55.
- BAUCHART, D.. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3864-3881, 1993.
- BAUCHART, D.; GRUFFAT, D.; DURAND, D. Lipid absorption and hepatic metabolism in ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 55, n. 1b, p. 39-47, 1996.
- BELL, A. W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2804-2819, 1995.
- BERTICS, J.; GRUMMER, R.R. Effects of fat methionine hydruxy analog on prevention or alleviation of fatty liver induced by feed restriction. **Journal Dairy Science**, v. 82, p. 2731-2736, 1999.
- BIOURGE, V. C.; PION, P.; LEWIS, J.; MORRIS, J. G.; ROGERS, Q. R. Spontaneous occurrence of hepatic lipidosis in a group of laboratory cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 7, n. 3, p. 194-197, 1993.

- BOBE, G.; AMETAJ, B. N.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D. C. Potential treatment of fatty liver with 14-day Subcutaneous injections of glucagon. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3138–3147, 2003.
- BOBE, G.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D.C. *Invited Review*: Pathology, Etiology, Prevention, and Treatment of Fatty Liver in Dairy Cows, **Dairy Science**, v. 87, p. 3105-3124, 2004.
- BOSSAERT, P.; LEROY, J. L.; DeVLIEGHER, S.; OPSOMER, G. Interrelation between glucose-induced insulin response, metabolic indicators, and the time of first ovulation in high-yielding dairy cows, **Journal Dairy Science**, v. 91, p. 3363–3371, 2008.
- BRONSON, R. T.; KILGORE, K. N.; CHALIFOUX, L. V.; SEHGAL, P. Fatal fasting syndrome of obese macaques. **Laboratory Animal Science**, v. 32, n. 2, p. 187-192, 1982.
- BRUSS, L.M. Lipids and ketones. In: _____ KANEKO, J.J.; HARVEY, W.J.; BRUSS, L.M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. San Diego, California, Academic Press, 2008, cap. 4, p. 81-115, ISBN: 9780123704917.
- BUCKLEY, F.; DILLON, P.; RATH, M.; VEERKAMP, R. F. The relationship between genetic merit for yield and live weight, condition score, and energy balance of spring calving Holstein-Friesian dairy cows on grass based systems of milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1878–1886, 2000.
- BUSATO, A.; FAISSLER, D.; KÜPFER, U.; BLUM, J. W. Body Condition Scores in Dairy Cows: Associations with Metabolic and Endocrine Changes in Healthy Dairy Cows. **Journal of Veterinary Medicine**, v, 49, p. 455–460, 2002.
- CANFIELD, R. W.; BUTLER, W. R. Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 740–746, 1991.
- CAMPOS, G. R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Determinação de corpos cetônicos na urina como ferramenta para o diagnóstico rápido de cetose subclínica bovina e relação com a composição do leite. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 49-54, 2005.
- CAMPOS, G. R.; CUBILLOS, C.; RODAS, Á. G. Indicadores metabólicos en razas lecheras especializadas en condiciones tropicales en Colombia. **Acta Agron.**, v. 56, n. 2, p. 85-92, 2007.
- CARDOSO, F. C.; ESTEVES, V. S.; OLIVEIRA, S. T.; LASTA, C. S. VALLE, S. F.; CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F. H. D. Hematological, biochemical and ruminant parameters for diagnosis of left displacement of the abomasum in dairy cows from Southern Brazil. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.43, n.1, p.141-147, jan. 2008.

CAVESTANY, D.; BLANC, J. E.; KULCSAR, M.; URIARTE, G.; CHILIBROSTE, P.; MEIKLE, A.; FEBEL, H.; FERRARIS, A.; KRALL, E. Studies of the Transition Cow Under a Pasture-based Milk Production System: Metabolic Profiles. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 52, n. 1, p. 1-7, 2005.

CHAGAS, L. M.; LUCY, M. C.; BACK, P. J.; BLACHE, D.; LEE, J. M.; GORE, P. J. S.; SHEAHAN, A. J.; ROCHE, J. R. Insulin resistance in divergent strains of Holstein-Friesian dairy cows offered fresh pasture and increasing amounts of concentrate in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p.216–222, 2009.

CHRITENSEN, J.O.; GRUMMER, R.R.; RASMUSSEN, F.E.; BERTICS, S.J. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 563-568, 1997.

CHUNG, Y. H.; GIRARD, I.D.; VARGA, G. A. Effects of feeding dry propylene glycol to early dairy cows on production and blood parameters. **The animal consortium**, v. 3, n.10, p. 1368-1377, 2009. Disponível em <<http://dx.doi.org/doi:10.1017/S1751731109990292>> Acesso em: 29 de Dez. 2009.

CONTRERAS, P.A. (2000) Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 23-30.

COZZI, G.; BERZAGHI, P.; GOTTARDO, F.; GABAI, G.; ANDRGHETTO, I. Effects of feeding propylene glycol to mid-lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 64, p. 43-51, 1996.

DANN, H. M.; MORIN, D. E.; BOLLERO, G. A.; MUPHY, M. R.; DRACKLEY, J. K. Parturient intake, postpartum induction of ketosis and parturient disorders affect the metabolic status of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p. 3249-3264, 2005.

DOEPEL, L.; LAPIERRE, H.; KENNELLY, J. J. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to parturient energy and protein intake. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p.2315-2334, 2002.

DOHOO, J. R.; MARTIN, S.W. Subclinical ketosis: prevalence and association with production of disease. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 48, n. 1, p. 1–5, 1984.

DOLL, K.; SICKINGER, M.; SEEGER, T. New aspects in the pathogenesis of abomasal displacement, **The Veterinary Journal**, v. 181, p. 90-96, 2009.

DRACKLEY, J. K.; RICHARD, J. M.; BER, D.C.; YOUNG, J. W. Metabolic Changes in Dairy Cows with Ketonemia in Response to Feed Restriction and Dietary 1,3-Butanediol. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1622-1634, 1992.

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

DRACKLEY, J. K.; OVERTON, T. R.; DOUGLAS, G.N. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 100-112, 2001.

DUFFIELD, T. F.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E. Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. **Canadian Veterinary Journal**, v. 38, p. 713-718. 1997.

DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, p. 231-253, 2000.

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

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A. Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p.68-78, 1989.

ENJALBERT, F.; NICOT, M. C.; BAYOURTHE, C.; MONCOULONT, R. Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 583-589, 2001.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. The statistic division: dairy cattle in the world. Disponível em <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 3 Nov. 2009.

FONSECA, L. F. L.; RODRIGUES, P. H. M.; LIMA, A. P.; LUCCI, C. S.; SANTOS, M. V. Suplementação de propileno-glicol para vacas no peri-parto: efeitos sobre incidência de cetose, produção leiteira, escore de condição corporal e primeiro estro pós-parto. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 25, n. 1, p. 177-183, 2003.

FORMIGONI, A.; CORNIL, M.C.; PRANDI, A, MORDENTI A, ROSSI A, PORTETELLE D, RENAVILLE R.. Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows. **The Journal of Dairy Research**, v. 63, n.1, p. 11-24, 1996.

GARNSWORTHY, P. C.; TOOPS, J. H. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. **Animal Production**, v. 35, p. 113-119, 1982.

GEISHAUSER, T.; DIEDERICHS, M.; BEUING, R. Estimation of the heritability of displacement of abomasum in Hessian Black pied cattle, **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 43, p. 87-92, 1996 (Abstract).

GEISHAUSER, T.; LESLIE, K.; DUFFIELD, T. An evaluation of aspartate-aminotransferase activity and β -hydroxybutyrate concentration in blood for prediction of left displaced abomasum in dairy cow. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, p. 1216-1220, 1997.

GEISHAUSER, T.; LESLIE, K.; KELTON, D.; DUFFIELD, T. Evaluation of five cow-side tests for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 438-443, 1998.

GEISHAUSER, T.; LESLIE, K.; KELTON, D.; DUFFIELD, T. Monitoring for subclinical ketosis in dairy herds. **Compendium Food Animal**, v. 23, n. 8, p. s65-s71, 2001.

GIULIODORI, M. J. Aspectos farmacológicos da nutrição. In:___ BOTANA, L. M.; LANDONI, F.; MARÍN-JIMENÉZ, T. **Farmacología y terapéutica veterinaria**, McGraw-Hill Interamericana de España, S.A.U., 2002. p. 664-677.

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

GONZÁLEZ, F. H. D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção de vacas leiteiras. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v. 25, n. 2, p. 13-33, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D. (2000) Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p: 89-106.

GONZÁLEZ, F. H. D. Perfil metabólico en bovinos: alcance y utilidad. **Revista MVZ**, v. 3, n. 3, p. 45-52, 2001a.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CONCEIÇÃO, T. R.; SIQUEIRA, A. J. S.; La ROSA, V. L. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **Hora Veterinária**, v. 117, p. 59-62, 2001b.

GONZÁLEZ, F. D., SILVA, S. C. Bioquímica clínica de lípidos. In:___ **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Editora Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. cap. 4, p. 121 -151.

GONZÁLEZ, F.; MUIÑO, R.; PEREIRA, V.; CAMPOS, R.; CASTELLOTE, J.L.B. Indicadores sanguíneos de lipomobilização e função hepática no início da lactação em vacas leiteiras de alta produção. **Ciência Animal Brasileira**, Supl.1, p. 64, 2009.

GRUMMER, R.; CARROL, D. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 3838–3852, 1991.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3882–3896, 1993.

GRUMMER, R. R.; WINKLER, J. C.; BERTICS, S. J.; STUDER, V. A. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of parturient holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.12, p. 3618-3623, 1994.

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

GRUMMER, R.R., Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 10-20, 2008.

GUERCI, B.; TUBIANA-RUFFI, N.; BAUNDUCEAU, B.; BRESSON, R.; CUPERLIER, A.; DELCOTRIX, C.; DURIAN, D.; FERMON, C.; Le FLOCH, J. P.; Le DEVEHAT, C.; MELKI, V.; MONNIER, L.; MOSNIER-PUDAR, H.; TABOULET, P.; HANAIRE-BROUTIN, H. Advances to using capillary blood beta-hydroxybutyrate determination for the detection and treatment of diabetic ketosis. **Diabete Metab.**, v. 31, p. 401-440, 2005.

GUSTAFSON, H.; EMANUELSON, H. Milk acetone concentration as an indicator of hyperketonemia in dairy cows. The critical value revised. **Animal Science**, v. 63, p. 183-188, 1996.

GUZZALONI, G et al. Liver steatosis in juvenile obesity: correlations with lipid profile, hepatic biochemical parameters and glycemic and insulinemic responses to an oral glucose tolerance test. **International Journal of Obesity**, v.24, p. 772-886, 2000.
Disponível em: <<http://www.nature.com/ijo/journal/v24/n6/abs/0801224a.html>> Acesso em: 8 mar. de 2009.

HAMMON, H.M.; STÜRMER, G.; SCHNEIDER, F.; TUCHSCHERER, A.; BLUM, H.; ENGELHARD, T.; GENZEL, A.; STAUFENBIEL, R.; KANITZ, W. Performance and metabolic and endocrine changes with emphasis on glucose metabolism in high-yielding dairy cows with high and low fat content in liver after calving. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n.4, p. 1554-1566, 2009.

HAYIRLI, A.; GRUMMER, R. R.; NORDHEIM, E. V.; CRUMP, P.M.. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prepartum transition period in Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 12, p. 3430-3443, 2002.

HAYIRLI, A. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. **Veterinary Research Communications**, v. 30, p. 749-774, 2006.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North American Food Animal Practice**, v. 16, p. 215-230, 2000a.

HERDT, T. H. Variability characteristics and test selection in high-level nutritional and metabolic profile testing. **Veterinary Clinics of North American Food Animal Practice**, v. 16, p. 387-403, 2000b.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 3 Nov. 2009.

INGVARTSEN, K. L.; ANDERSEN, J. B. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1573-1597, 2000.

IWERSEN, M.; FALKENBERG, U.; VOIGTSBERGER, R.; FORDERUNG, D.; HEUWIESER, W. Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2618-2624, 2009.

JAMES, S. B.; RAPHAEL, B. L.; CLIPPINGER, T. Diagnosis and treatment of hepatic lipidosis in a Barred Owl (*Strix varia*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 14, n. 4, p. 268-272, 2000.

JEFFCOT, L. B.; FIELD, J. R. Current concepts of hyperlipidemia in horses and ponies. **Veterinary Record**, v. 116, n. 17, p. 461-466, 1985.

JORRITSMA, R.; BALDÉE, S. J. C.; SCHUKKEN, Y. H.; WENSING, T. H.; WENTINK, G. H. Evaluation of a milk test for detection of subclinical ketosis. **Vet. Quart.**, v. 20, p. 108-110, 1998.

JORRITSMA, R.; JORRITSMA, H.; SCHUKKEN, Y. H.; WENTINK, G. H. Relations between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds. **Theriogenology**, v. 54, p. 1065-1074, 2000.

JORRITSMA, R.; JORRITSMA, H.; SCHUKKEN, Y. H.; BARTLETT, P. C.; WENING, T. H.; WENTINK, G. H. Prevalence and indicators of post partum fatty infiltration of the liver in nine commercial dairy herds in the Netherlands. **Livestock Production Science**. v. 68, p. 53-60, 2001.

JORRITSMA, R.; WENSING, T.; KRUIP, T. A. M.; VOS, P. L. A. M.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. **Veterinary Research**, v. 34, p. 11-26, 2003.

JUCHEM, S. O.; SANTOS, F. A. P.; IMAZUMI, H.; PIRES, A. V., BARNABÉ, E. C. Production and blood parameter of holstein cows treated prepartum with sodium monensin or propylene glycol. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 680-689, 2004.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2008, 916p.

KATOH, N. *Review Biochemistry*: Relevance of apoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v. 64, n. 4, p. 293-307, 2002.

KESSEL, S.; STROEHL, M.; MEYER, H. H. D.; HISS, S.; SAUERWEIN, H.; SCHWARZ, F. J.; BRUCKMAIER, R. M. Individual variability in physiological adaptation to metabolic stress during early lactation in dairy cows kept under equal conditions. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 2903-2912, 2008.

KRISTENSEN, N. B.; DANFAER, A.; ROJEN, B. A.; RAUN, B. M. L.; WEISBJERG, M. R.; HVELPLUND, T. Metabolism of propionate and 1,2-propanediol absorbed from washed reticulo rumen of lactating cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 2168-2175, 2002.

KRISTENSEN, N. B. Splanchnic metabolism of volatile fatty acids in the dairy cow. **Animal Science**, v.80, p.3-10, 2005.

KRISTENSEN, N. B.; RAUN, B. M. L. Ruminal and intermediary metabolism of propylene glycol in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4707-4717, 2007.

KERESTES, M.; FAIGL, V.; KULCSÁR, M.; BALOGH, O.; FÖLDI, J.; FÉBEL, H.; CHILLIARD, Y.; HUSZENICZA, G. Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 37, p. 250–261, 2009.

KRUIP, T. A. M.; MEIJER, G. A. L.; RUKKWAMSUK, T.; WENSING, T. Effects of feed in the dry period on fertility of dairy cows post partum. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 33, p. 164–168, 1998.

LARSEN, T.; MOLLER, G.; BELLIO, R. Evaluation of clinical and clinical chemical parameters in periparturient cows. **Journal Dairy Science**, v. 84, p. 1749-1758, 2001.

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

LIU, Q.; WANG, C.; YANG, Z. W.; ZHANG, W. W.; YANG, X. M.; HE, D. C.; DONG, K.H.; HUANG, Y. X. Effects of feeding propylene glycol on dry matter intake, lactation performance, energy balance and blood metabolites in early lactation dairy cows. **The animal consortium**, v. 3, n. 10, p. 1420-1427, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/doi:10.1017/S175173110999036X>> Acesso em: 29 de Dez. 2009

LOISELLE, M. C.; STER, C.; TALBOT, B. G.; ZHAO, X. WAGNER, G. F.; BOISCLAIR, Y. R.; LACASSET, P. Impact of postpartum milking frequency on the immune system and the blood metabolite concentration of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1900-1912, 2009.

MANDEBUVU, P.; BALLARD, C. S.; SNIFFEN, C. J.; TSANG, D. S.; VALDEZ, F.; MIYISHI, S.; SCHLATTER, L. Effect of feeding an energy supplement prepartum and postpartum on milk yield and composition, and incidence of ketosis in dairy cows. **Animal Feed Science and technology**, v. 105, p. 81-93, 2003.

MELLENDEZ, P.; RISCO, C. A. Management of Transition Cows to Optimize Reproductive Efficiency in Dairy Herds. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 1, p. 485–501, 2005.

MIKUŁA, R.; NOWAK, W.; JAŚKOWSKI, J. M.; MAĆKOWIAK, P.; PRUSZYŃSKA, E.; WŁODAREK, J. Effects of propylene glycol supplementation on

blood biochemical parameters in dairy cows. **Bull. Vet. Inst. Pulawy**, v. 52, p. 461-466, 2008.

MOALLEM, U.; KATZ, M.; ARIELI, A.; LEHRER, H. Effects of peripartum propylene glycol or fats differing in fatty acids profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 3846-3856, 2007.

MULLIGAN, F. J.; DOHERTY, M. L. Production diseases of the transition cow. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 3-9, 2008.

NIELEN, M.; AARTS, M. G. A.; JONKERS, A. G. M.; WENSING, T.; SCHUKKEN, Y. H. Evaluation of two cow-side tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. **Can. Vet. J.**, v. 35, p. 229-232, 1994.

NIELSEN, N. I.; INGVARTSEN, K. L.; LARSEN, T. Diurnal variation and the effect of feed restriction on plasma and milk metabolites in TMR-fed Dairy Cows. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 50, p. 88-97, 2003.

NIELSEN, N. I.; INGVARTSEN, K. L. Propylene glycol for dairy cows: A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, p. 191-213, 2004.

OETZEL, G. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 20, p. 651-674, 2004.

OIKAWA, S.; OETZEL, G. R. Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipidosis. **Journal Dairy Science**, v. 89, p. 2999-3005, 2006.

ORTOLANI, E. L. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p. 91-102

OHTSUKA, H.; KOIWA, M.; HATSUGAYA, A.; KUDO, K.; HOSHI, F.; ITOH, N.; YOKOTA, H.; OKADA, H.; KAMURA, S. *Note Internal Medicine*: Relationship between serum TNF activity and insulin resistance in dairy cows affected with naturally occurring fatty liver. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 63, n. 9, p. 1021-1025, 2001.

OVERTON, T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, E. Suppl, E105-E119, 2004.

PETIT, H. V.; PALIN, M. F.; DOEPEL, L. Hepatic metabolism in transition dairy cows fed flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4780-4792, 2007.

- PICKETT, M.M.; PIPENBRINK, M.S.; OVERTON, T.R. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2113-2121, 2003.
- PUSHPAKUMARA, P. G. A.; GARDNER, N. H.; REYNOLDS, C. K.; BEEVER, D. E.; WATHES D. C. Relationships between transition period diet, metabolic parameters and fertility in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 60, p. 1165-1185, 2003.
- PULLEN, D. L.; J. S. LIESMAN, J.S.; EMERY, R S. A species comparison of liver slice synthesis and secretion of triacylglycerol from nonesterified fatty acids in media. **J. Anim. Sci.** v. 68, p. 1395-1399, 1990.
- REIST, M.; ERDIN, D. K.; VON EUW, D.; TSCHÜMPERLIN, K. M.; LEUEMBERGER, H.; HAMMON, H. M.; MOREL, C.; PHILIPONA, C.; ZBINDEN, Y. Postpartum reproductive function: Association with energy, metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows. **Theriogenology**, v. 59, p. 1707-1723, 2003.
- RICHTER, K. P. Doenças do fígado e do sistema hepatobiliar. In: TAMS, T.R. **Gastroenterologia de pequenos animais**. 2. Ed. São Paulo: Roca, 2005.
- ROSSATO, W.L.; GONZÁLEZ, F.D.; DIAS, M. M.; FARIA, S.V.; RICCÓ, D. Condicao metabólica e desempenho reprodutivo no pós-parto em vacas leiteiras no sul do Brasil (*Metabolic condition and reproductive performance in post-partum dairy cows in southern -brazil*). **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 23, n.3, 1999.
- RIZOS, D.; KENNY, D.A.; GRIFFIN, W.; QUINN, K. M.; DUFFY, P.; MULLIGAN, F. J.; ROCHE, J. F.; BOLAND, M. P.; LONERGAN, P. The effect of feeding Propylene glycol to dairy cows during the early postpartum period on follicular dynamics and on metabolic parameters related to fertility. **Theriogenology**, v. 69, p. 688-699, 2008.
- RUKKWAMSUK, T.; KRUIP, T. A. M.; MEIJER, G. A. L., WENSING, T. Hepatic Fatty Acid Composition in Periparturient Dairy Cows with Fatty Liver Induced by Intake of a High Energy Diet in the Dry Period. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 280-287, 1999.
- RUKKWAMSUK, T.; RUNGRUANG, S.; CHOOTHESA, A.; WENSING, T. Effect of propylene glycol on fatty liver development and hepatic fructose 1,6 biphosphatase activity in periparturient dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 95, p. 95-102, 2005.
- SAHINDURAN, S.; SEZER, K.; BUYUKOLU, T.; ALBAY, M.; K.; KARAKURUM, M. C. Evaluation of some haematological and biochemical parameters before and after treatments in cows with ketosis and coparasion of different treatment methods. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, n. 2, p. 266-271, 2010.
- SANTOS, J. E. P.; BILBY, T. R.; THATCHER, W.W.; STAPLES, C. R.; SILVESTRE, F. T. Long Chain Fatty Acids of Diet as Factors Influencing Reproduction in Cattle. **Reprod Dom Anim**, v. 43, n. 2, p. 23-30, 2008.

- SEIFI, H. A.; GORJI-DOOZ, M.; MOHRI, M.; DALIR-NAGHADEH.; FARZANEH, N. Variations of energy-related biochemical metabolites during transition period in dairy cows. **Comparative Clinical Pathology**, v. 16, p. 253-258, 2007.
- SEVINÇ, A. B.; ÖZTOC, I.; SANDIKÇI, M.; BIRDANE, F. The clinical-chemical parameters, serum lipoproteins and fatty infiltration of the liver in ketotic cows. **Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences**, v. 22, p. 443-447, 1998.
- SMITH, BILLY I.; RISCO, C. A. Management of Periparturient Disorders in Dairy Cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 21, p. 503–521, 2005.
- SMITH, T. R.; HIPPEN, A. R.; BEITZ, D. C.; YOUNG, J.W. Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1569-1581, 1997.
- SNOOCK, L. C. Fatty infiltration of the liver in pregnant ewes. **The Journal of Physiology**, v. 97, n. 2, p. 238–249, 1939.
- SONSTEGARD, T. S.; VAN TASSELL, C. P.; ASHWELL, M. S. Dairy cattle genomics: Tools to accelerate genetic improvement? **J. Anim. Sci.**, v. 79, p. E307–E315, 2001.
- SOUZA, R. M.; JUNIOR, E. H. B. Influência do puerperio e da fase pós-puerperal no lipidograma de vacas da raça holandesa criadas no Estado de São Paulo. **Braz. J. Vet Res. Anim. Sci, São Paulo**, v. 46, n. 1, p. 5-10, 2009.
- STEEN, A. Field study of dairy cows with reduced appetite in early lactation: clinical examinations, blood and rumen fluid analyses. **Act Vet Scand**, v. 42, p. 219-228, 2001.
- STOJEVIĆ, Z.; PIRŠLJIN, J.; MILINKOVIĆ-TUR, S.; ZDELAR-TUK, M.; LJUBIĆ, B. B. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. **Veterinarski Arhiv, Zagreb**, v. 75, p. 67-73, 2005.
- STROMBECK; D. R.; GUILFORD, W. G. Enfermedades digestivas de los animals pequeños. Buenos Aires, Argentina: Editora Inter-Médica, 1995. cap. 34, p. 671-690.
- STUDER, V. A.; GRUMMER, R. R.; BERTICS, J. S.; REYNOLDS, C. K. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 76, p. 2931-2939, 1993.
- SURIYASATHAPORN, W.; HEUER, C.; NOODHUIZEN-STASSEN, E. N.; SHUKKEN, Y. H. Hiperconetemia and the impairment of udder defense: A review. **Veterinary Research**, v.31, p. 397-412, 2000.
- TAMMINGA, S.; LUTEIJN, P. A.; MEIJER, R. G. M. Changes in composition and energy content of live weight loss in dairy cows with time after parturition. **Livestock Production Science**, v. 52, p. 31–38, 1997.

TEDESCO, D.; TAVA, A.; GALLETI, S.; TAMENI, M.; VARISCO, G.; COSTA, A.; STEIDLER, S. Effects of silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 2239-2247, 2004.

VAN DEN TOP, A. M.; VAN TOL, A.; JANSEN, H.; GEELLEN, M. J. H.; BEYNEN, A. C. Fatty liver in dairy cows post partum is associated with decreased concentration of plasma triacylglycerols and decreased activity of lipoprotein lipase in adipocytes. **Journal of Dairy Research**, v. 72, p. 129-137, 2005.

VAN DORP, T. E.; DEKKERS, J. C. M.; MARTIN, S. W.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. et al. Genetic parameters of health disorders, and relationships with 305-day milk yield and conformation traits of registered Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2264–2270, 1998.

VAN KNEGSEL, A. T. M.; VAN DEN BRAND, H.; DIJKSTRA, J.; VAN STRAALLEN, W. M.; JORRITSMA, R.; TAMMINGA, S.; KEMP, B. Effect on glucogenic vs. Lipogenic diets on energy balance, blood metabolites, and reproduction in primiparus and multiparous dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 3397-3409, 2007.

VAZQUEZ-AÑÓN, M.; S. BERTICS, M. S.; LUCK, M.; GRUMMER, R. R. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1521–10528, 1994.

VETH, M. J.; CASTAÑEDA GUTIÉRREZ, E.; DWYER, D. A.; PFEIFFER, A. M.; PUTNAM, D. E.; BAUMAN, D. E. Response to conjugated linoleic acid in dairy cows differing in energy and protein status. **Journal of Dairy Science**, v.89, n. 12, p. 4620-4631, 2006.

WANG, C.; LIU, Q.; YANG, W. Z.; DONG, Q.; YANG, X. M.; HE, D. C.; DONG, K. H., HUANG, Y. X. Effects of malic acid on feed intake, milk yield, milk components and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. **Livestock Science**, v. 124,n. 1, p. 182-188, 2009.

WHATHES, D. C.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; TAYLOR, V. J.; COFFEY, M. P.; BROTHERSTONE, S. Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 33, p. 203-225, 2007.

WILLIAMSON, D. H.; MELLANBY, J.; KREBS, H. A. Enzymic determination of d (-)- β -hydroxybutyric acid and acetoacetic acid in blood. **Biochemical Journal** , v. 82, n. 1, p. 90–96, 1962.

WHITAKER, D.A.; GOODGER, W. J.; GARCIA, M.; PERERA, B. M. A. O.; WITTWER, F. Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 38, p. 119-131, 1999.G

WITTWER, F. (2000a) Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O.

(Eds) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 9-22.

WITTWER, F. (2000b) Marcadores Bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 53-62.

YUGUANG, L et al. Bile acids suppress the secretion of very-low-density lipoprotein by human hepatocytes in primary culture. **Hepatology**, v. 23, n. 2, p. 218-228, 1996.

ZHIGANG, Z.; LIU, G.; XIAOBING, L.; ZHE, W.; TAO, K.; NAISHENG, Z.; CHANGMING, G. β -hydroxybutirte , glucose, calcium, phosphorus and vitamin C concentrations in blood of dairy cows with subclinical ketosis during the early lactation. **Bull Vet Inst Pulawy**, v. 53, p. 71-74, 2009.

ANEXOS

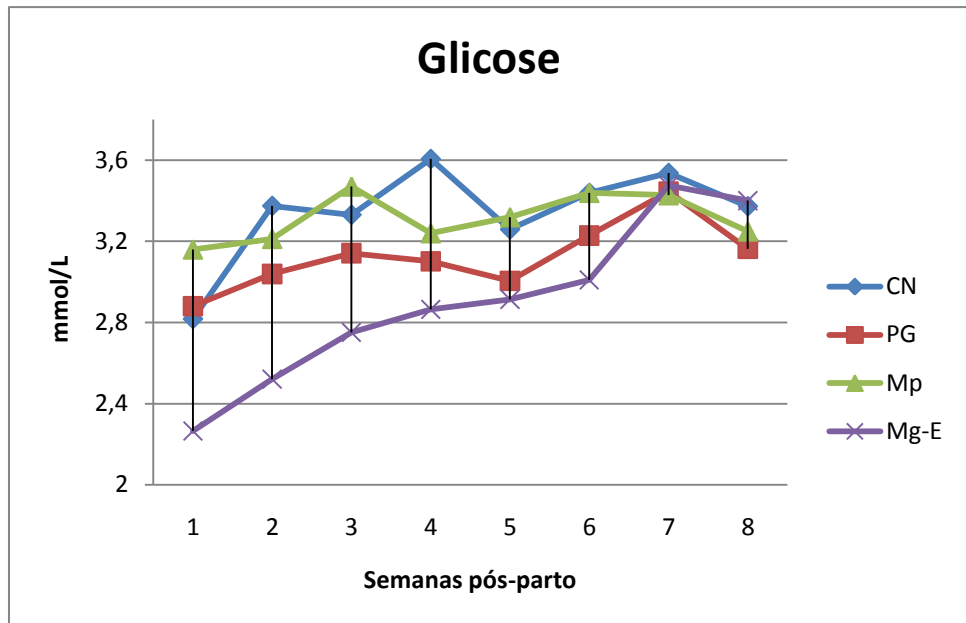


Figura 1. Concentração média de glicose (mmol/L).

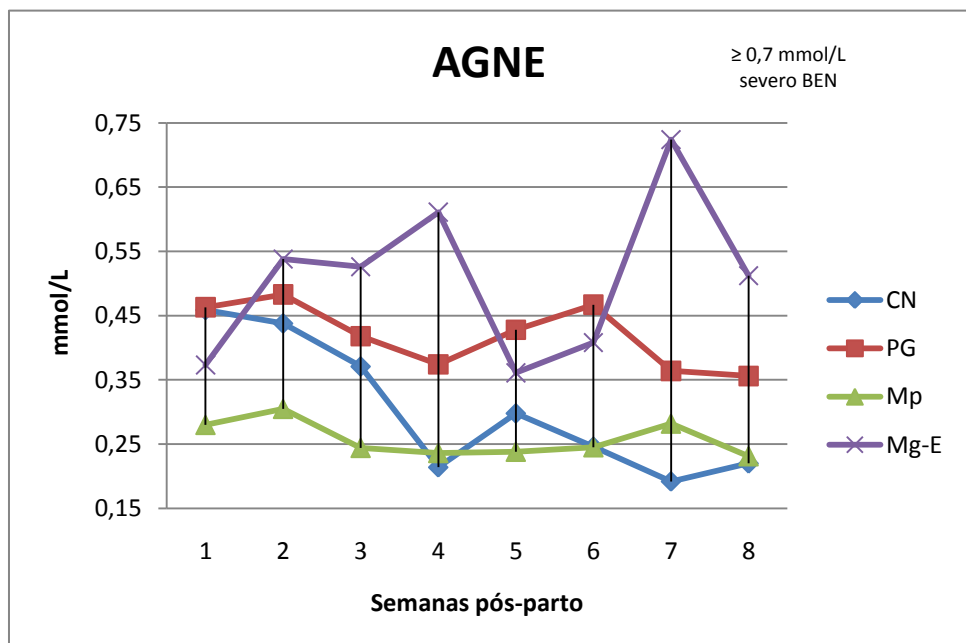


Figura 2. Concentração média de ácido graxos livres - AGNE (mmol/L)

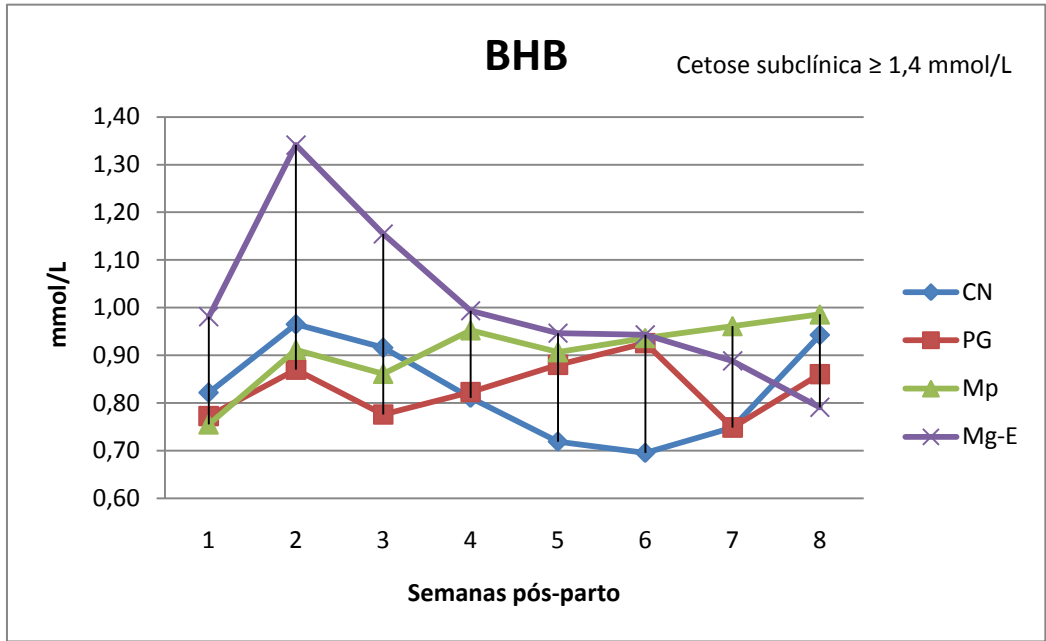
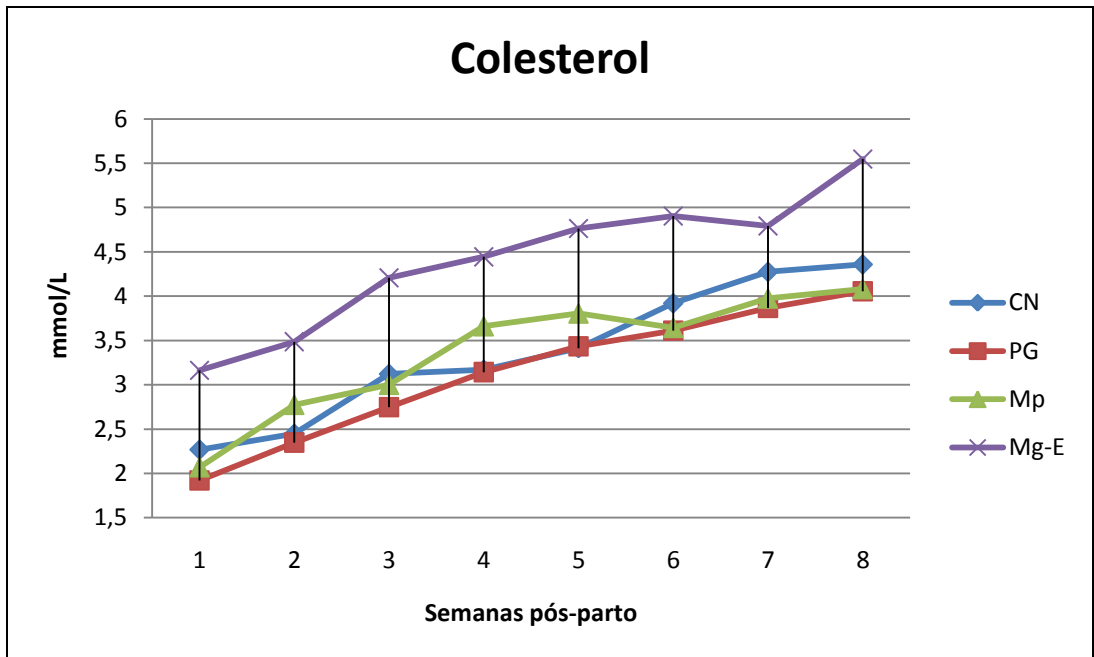


Figura 3. Concentração média de β -hidroxibutirato - BHB (mmol/L)



Fígura 4. Concentração média de colesterol (mmol/L)

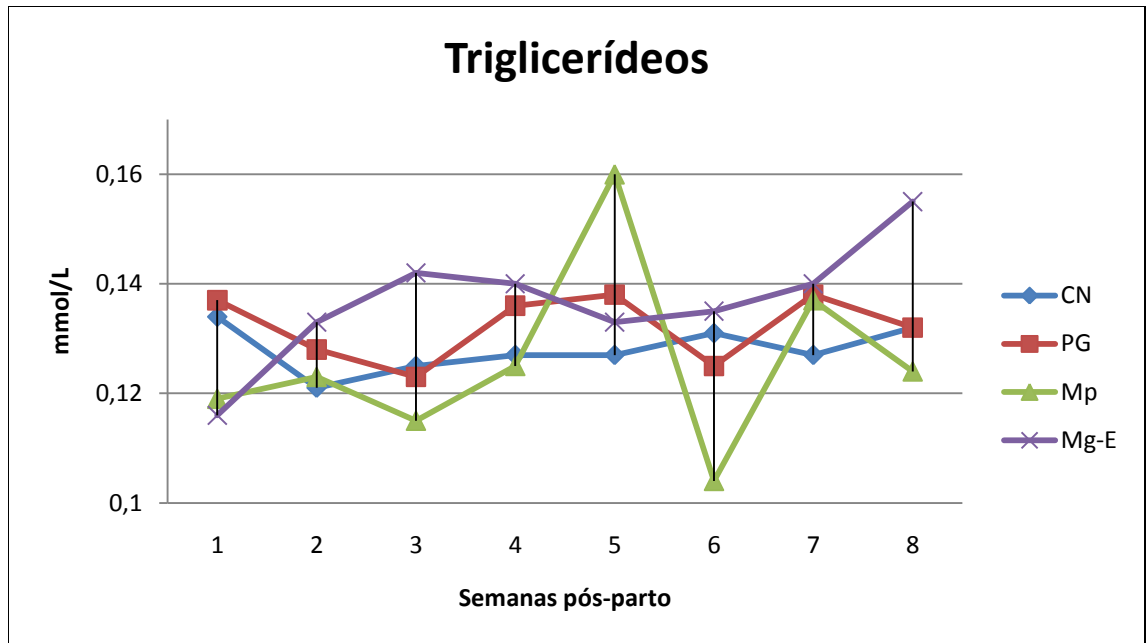


Figura 5. Concentração média de triglicerídeos (mmol/L)

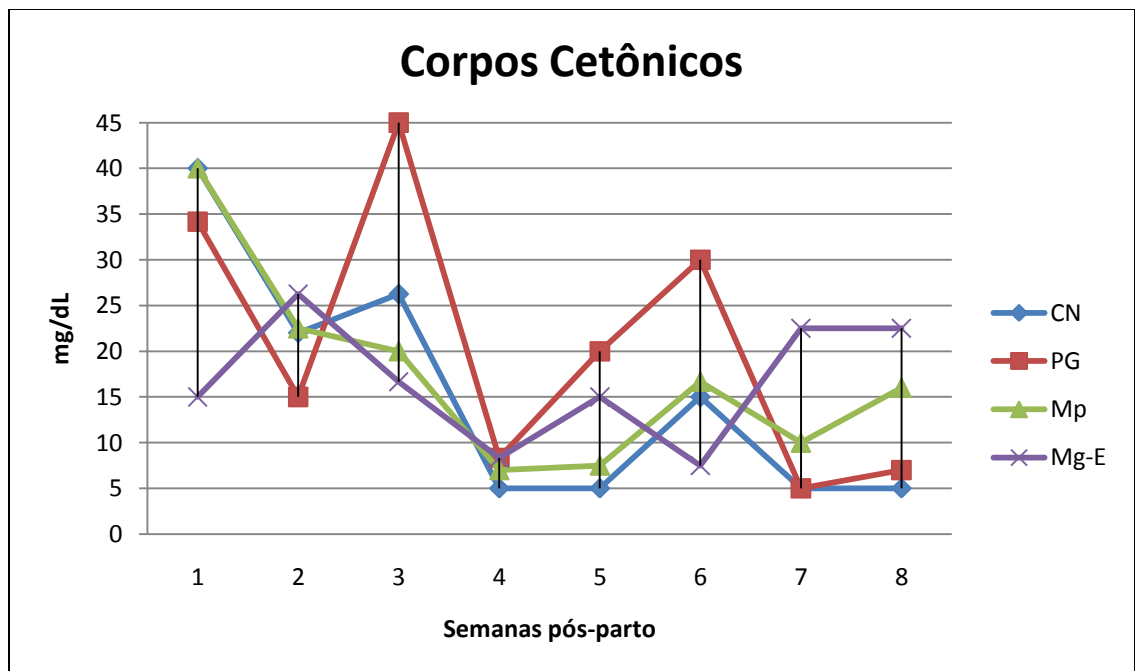


Figura 6. Concentração média de corpos cetônicos na urina (mg/dL)

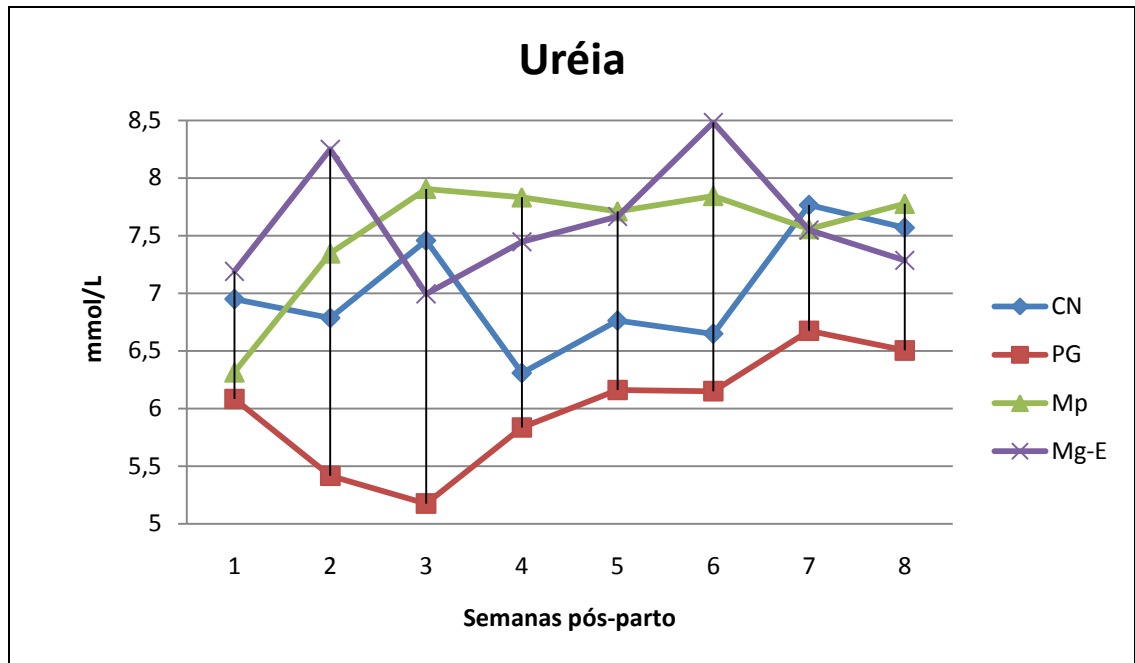


Figura 7. Concentração média de uréia (mmol/L)

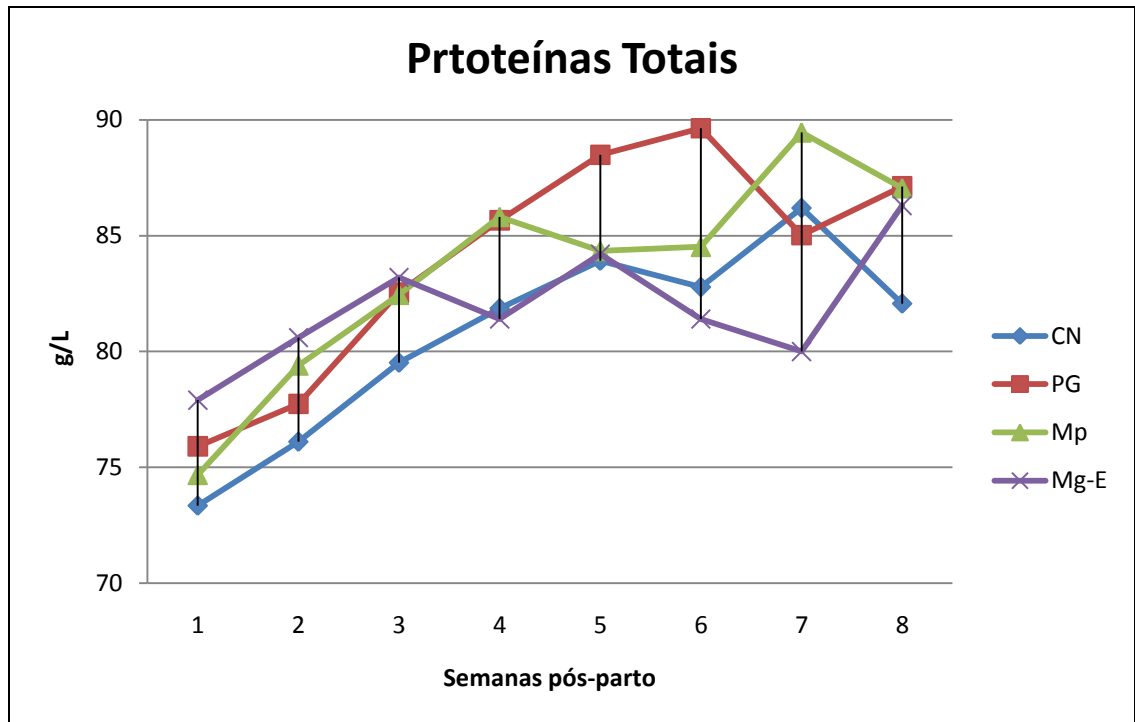


Figura 8. Concentração média de proteína total (g/L)

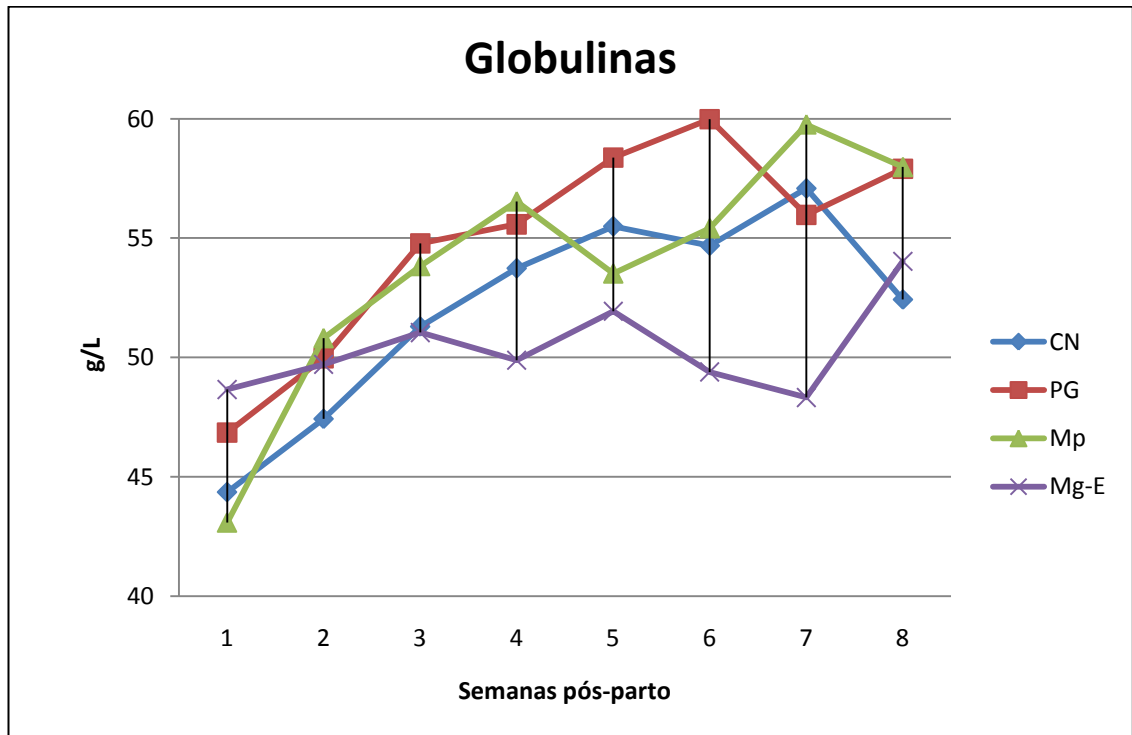


Figura 9. Concentração média de globulinas (g/L)

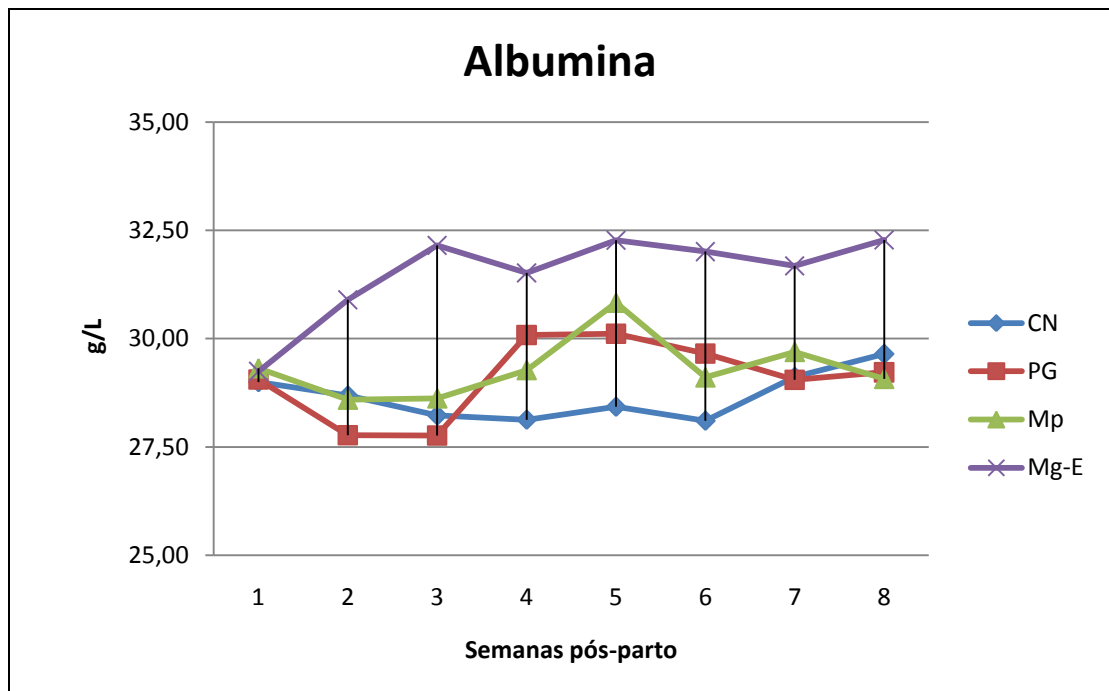


Figura 10. Concentração média de albumina (g/L)

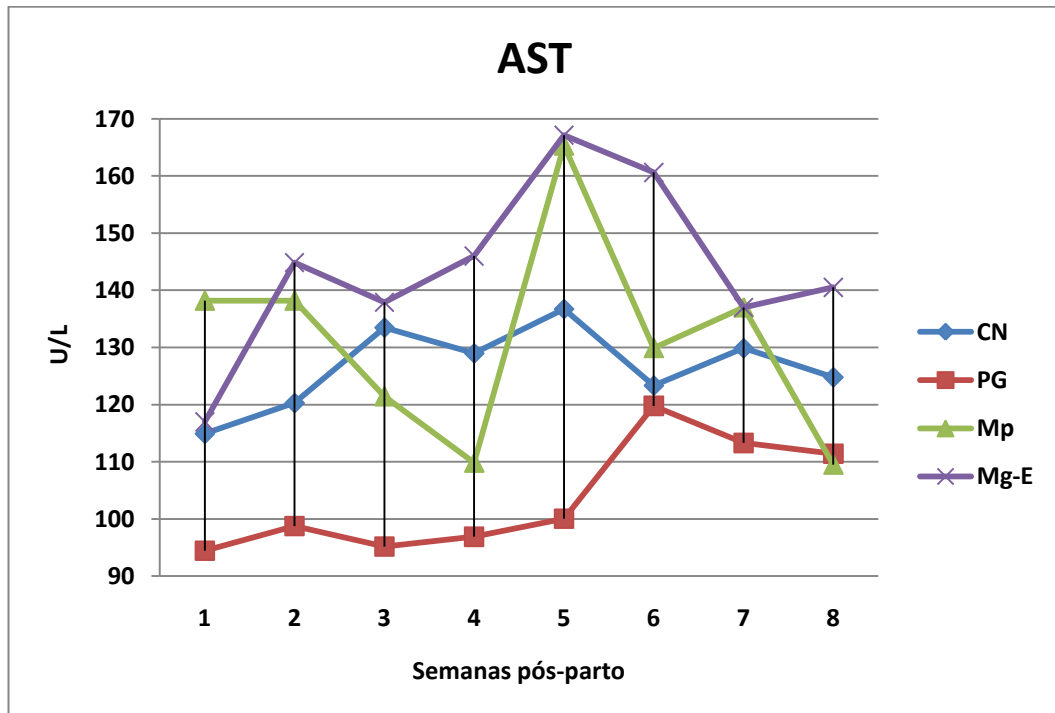


Figura 11. Concentração média de aspartato-aminotransferase (U/L)

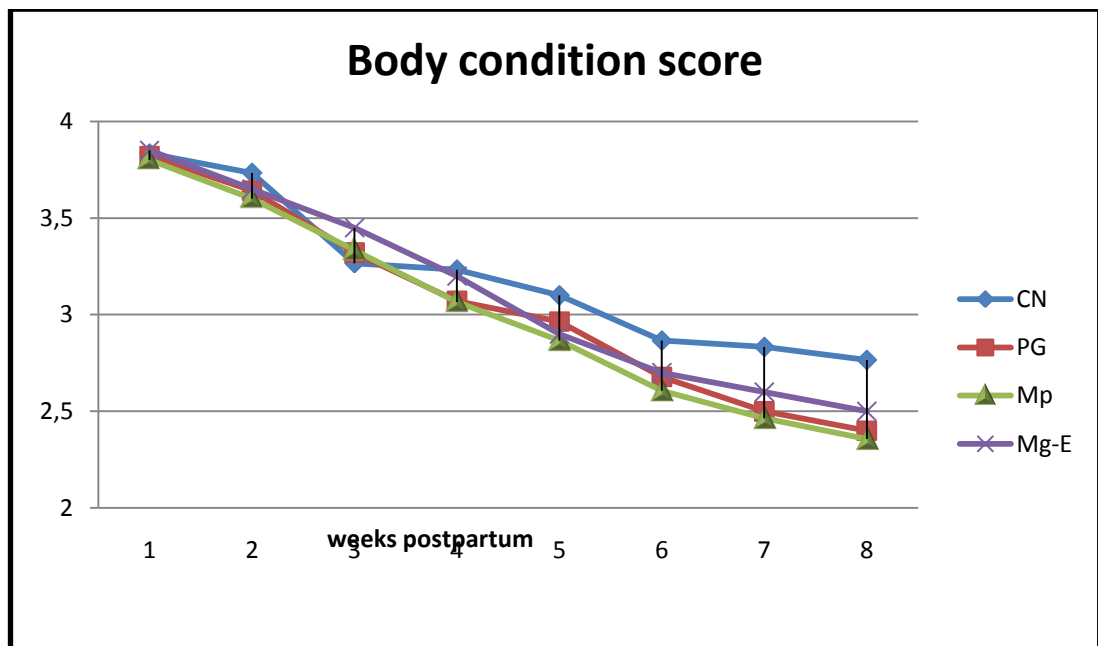


Figura 12. Escore de condição corporal nas primeiras oito semanas de lactação.

Tabela 4. Coeficientes de correlação de Pearson entre BHB e NEFA.

		BHB	NEFA
		mmol/L	mmol/L
BHB	correlação de Pearson	1	0,447**
mmol/L	Sig. Bilateral		0,000
	N	428	428
NEFA	correlação de Pearson	0,447**	1
mmol/L	Sig. Bilateral	0,000	
	N	428	428

** A correlação é significativa ao nível 0,01 (bilateral).

Tabela 5. Percentagem de amostras por grupo que apresentaram aumento na concentração sanguínea de BHB e NEFA.

Concentração de BHB e NEFA (mmol/L)	CN (120)	PG (111)	Mp (117)	Mg-E (80)	TOTAL 428
BHB >1,2					
NEFA <0,7	8	3	7	5	23
BHB > 1,2					
NEFA > 0,7	1	4	0	1	6
BHB >1,4					
NEFA <0,7	1	2	8	2	13
BHB >1,4					
NEFA >0,7	1	5	0	2	8
BHB > 2,6					
NEFA >0,7	2	0	0	2	4
Total BHB	13	14	15	12	54
NEFA > 0,7	11	19	4	17	51
TOTAL					
BHB+NEFA	24	33	19	29	105
428					
AMOSTRAS	5,6%	7,7%	4,4%	6,7%	24,6%