

FORNECIMENTO DE DIFERENTES DIETAS SOBRE A AVALIAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM VACAS LEITEIRAS NO PÓS-PARTO

KAUANI BORGES CARDOSO¹; MARJANA COLOMBI MARTINS¹; CAMILA PIZONI¹; JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ¹; MARCIO NUNES CORRÊA²

¹ Universidade Federal de Pelotas – kauaniborgescardoso@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – marcio.nunescorrea@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Uma das principais doenças que acometem a vaca leiteira no pós-parto é a hipocalcemia, tanto clínica como subclínica, esta ocorre devido ao aumento da demanda de cálcio (Ca) para o desenvolvimento fetal, parto, síntese de colostro e leite, podendo aumentar a incidência de outras desordens metabólicas como a retenção de placenta, cetose, mastite e metrite (CAVALIERI & SANTOS, 2001; REINHARDT *et al.*, 2011).

A diminuição nos níveis de Ca, além de prejudicarem as células do sistema imune, (MARTINEZ *et al.*, 2014) aumentam também as concentrações de citocinas pró-inflamatórias provocando uma resposta de fase aguda nos animais (GOFF, 2014). A partir dessa resposta haverá alteração de diversos metabólitos, entre eles proteínas de fase aguda (PFA) que podem ser classificadas como positivas, que elevam suas concentrações durante um período inflamatório, como a haptoglobina (HAP); e negativas, que diminuem suas concentrações nesse período, como por exemplo a paraoxanase (PON-1) (GUIBARRA & YAMIR, 2011).

Uma estratégia alimentar utilizada para prevenir a hipocalcemia, é o fornecimento de dieta aniônica como um método de antecipar o mecanismo de homeostase do Ca, visto que fisiologicamente demora cerca de 72 horas para ser completamente ativado (FACCO, 2014). Para CAVALIERI & SANTOS (2001) uma dieta é considerada aniônica quando sua diferença cátion-ânionica (DCAD) fica entre -10 e -20 mEq/100g/MS.

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar diferentes dietas sobre a ocorrência de hipocalcemia e a concentração de proteínas de fase aguda em vacas leiteiras no pós-parto.

2. METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado em uma propriedade leiteira do sul do Brasil, no estado do Rio Grande do Sul, no município de Rio Grande. Foram utilizadas 14 vacas multíparas da raça Holandês, com até 5 lactações, em sistema de criação semi-extensivo. Os animais foram divididos em dois grupos, conforme a dieta oferecida. O grupo GA recebeu dieta aniônica durante o pré- parto (21 dias), onde a DCAD = -27,13 mEq/100g MS. O GN recebeu uma dieta neutra nesse mesmo período, com a DCAD = -3,25 mEq/100g MS.

Amostras de urina foram coletadas semanalmente no pré-parto, totalizando 3 coletas, para verificação da eficácia das dietas (Spanguero, 2004) através da análise do pH realizado com o pHmetro de bancada (MPA 210, MS Tecnopon, Brasil). Também foram realizadas coletas de sangue imediatamente após o parto definido como hora 0 e posteriormente nas horas 6, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 pós-

parto, por punção da veia coccígea, utilizando o sistema Vacutainer (BD Diagnostics, São Paulo, Brasil). As amostras foram coletadas em um tubo sem anticoagulante (10 ml) para determinação dos parâmetros de cálcio total (CaT), de haptoglobina (HAP) e paraoxonase (PON-1). E outro em um tubo (4 mL) contendo heparina sódica para realização de cálcio ionizado (iCa). Após a coleta, o sangue foi submetido à centrifugação a 1800xg para obtenção de amostras de soro, as quais foram identificadas e congeladas a -70 °C.

A concentração sérica de CaT, foi analisada por colorimetria utilizando kit enzimático (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). Para a leitura, foi usado o espectrofotômetro automático (Lab Max Plenno, Labtest, São Paulo, Brasil). Para a análise do iCa foi utilizado o aparelho i-stat (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL USA). A atividade de PON-1 foi analisada pelo método cinético através de um protocolo previamente descrito (Browne et al., 2007) e a leitura realizada no espectrofotômetro de luz ultravioleta (FEMTO Cirrus 80MB, FEMTO Indústria e Comércio de Instrumentos, São Paulo, Brasil). A concentração de HAP foi analisada por uma técnica colorimétrica descrita por (Jones e Mold 1984) adaptada por (Schneider et al., 2013) usando um leitor de microplacas (Thermo Plate® TP-Reader, São Paulo, Brasil).

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada através do programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Foi utilizada análise de variância com Mixed Model para comparação dos grupos, coletas e sua interação (grupo x coleta) através do teste de Tukey HSD. Também foi realizado Qui-quadrado para avaliação de frequência de hipocalcemia subclínica. Foi considerado diferença estatística $P \leq 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se que o pH urinário no GA ficou em média 5,9 ($\pm 0,13$) enquanto o GN apresentou 7,4 ($\pm 0,24$). Demonstrando a eficiência da dieta aniônica em manter o pH abaixo de 6,0. Isso é justificado por Marques et al. (2011) que relata que o pH urinário se altera na tentativa de estabilizar o organismo, eliminando mais hidrogênio (H^+), que irá acidificar a urina.

Os valores de cálcio demonstraram que não houve diferença no CaT e iCa entre os grupos durante o período avaliado ($P=0,27$ e $P=0,77$ respectivamente) (Tabela 1). Já quando se observa a ocorrência de hipocalcemia subclínica pode-se notar que 33,3% dos animais do GA apresentaram hipocalcemia subclínica em algum momento das coletas ($iCa \leq 4\text{mg/dL}$), quando comparados com 66,7% de casos no grupo GN ($P<0,05$) (Tabela 1). Apesar do GA ter um menor número de casos de hipocalcemia, esse resultado corrobora com o encontrado por Reinhardt et al. (2011), em que mesmo com a administração de dieta aniônica a prevalência da doença na forma subclínica ainda é alta variando de 24-54%, de acordo com o número de lactações do animal.

Tabela 1: Parâmetros bioquímicos e proteínas de fase aguda (média \pm erro padrão da média) de vacas leiteiras no pós-parto que receberam dieta aniônica ou neutra durante o pré-parto.

Parâmetros	GA ¹	GN ²	Valores de P		
			Grupo	Dia	Grupo X Dia
Cálcio total (mg/dl)	8,71 \pm 0,16	8,97 \pm 0,16	0,27	0,56	0,63
Cálcio ionizado (mg/dl)	4,27 \pm 0,06	4,25 \pm 0,06	0,77	0,98	0,86

Haptoglobina (g/L)	0,32±0,04	0,43±0,04	0,07	<0,01	0,06
Paraoxonase (U/ml)	83,13 ^a ±3,60	69,01 ^b ±3,34	<0,01	0,89	0,66

¹GA: recebeu dieta aniónica durante o pré-parto. ²GN: recebeu dieta neutra durante o pré-parto. P<0,05 é considerado diferença estatística. ^{abc} Letras minúsculas diferem entre si na mesma linha.

Em relação as PFA, observa-se que a PON-1 apresentou uma redução em seus níveis séricos para o GN (P<0,01) quando comparada com o GA (Figura 1). Visto que esta proteína é uma PFA negativa, sua menor concentração no GN pode estar relacionada aos maiores índices de hipocalcemia subclínica nesse grupo. Como visto por Feijó et al. (2017) que também observaram menor concentração de PON-1 em animais com hipocalcemia. A redução da PON-1 também já foi relacionada com a ocorrência de metrite em outros estudos (Schneider et al., 2013; Krause et al., 2014), o que sugere que o GN possa ser mais suscetível a desenvolver doenças no pós-parto.

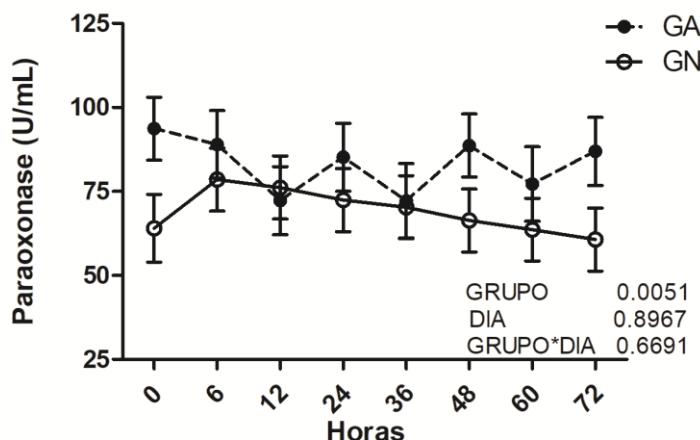


Figura 2: Concentrações séricas de PON-1 (U/mL) de vacas leiteiras no pós-parto submetidas a dieta aniónica (GA) e dieta neutra (GN), em diferentes momentos (0h – momento do parto). P<0,05 é considerado diferença estatística.

4. CONCLUSÕES

A utilização de dieta aniónica ainda não é uma ferramenta utilizada por grande parte dos produtores de leite, porém a partir dos resultados ficou claro que sua utilização frente a uma dieta neutra reduz os casos de hipocalcemia subclínica aumentando os níveis de PON-1, podendo diminuir as chances dos animais desenvolverem outras doenças no pós-parto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROWNE, R. W.; KOURY, S. T.; MARION, S.; WILDING, G.; MUTI, P.; TREVISAN, M. Accuracy and biological variation of human serum paraoxonase 1 activity and polymorphism (Q192R) by kinetic enzyme assay. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 310-317, 2007.

CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T. [2001]. **Balanço catiônico-aniônico em vacas leiteiras no pré-parto.** Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/balanco.pdf>> Acesso em: 08 de outubro de 2017.

FACCO, Fabiola Secretti. MÉTODOS PREVENTIVOS DE DESEQUILÍBRIOS METABÓLICOS - HIPOCALCEMIA E CETOSE: REVISÃO DE LITERATURA. Nucleus Animalium, Ituverava, v. 6, n. 1, may 2014. ISSN 2175-1463. Disponível em:
<http://www.nucleus.feituverava.com.br/index.php/animalium/article/view/936>. Acesso em: 08 de outubro de 2017.

FEIJÓ, J.; PEREIRA, R. A.; MONTAGNER, P.; DEL PINO, F. A. B.; SCHMITT, E.; CORRÊA, M. N.; Dynamics of acute phase proteins in dairy cows with subclinical hypocalcemia. **Canadian Journal of Animal Science**, n. ja, 2017.

GOFF, J.P., 2014. Calcium and magnesium disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, 30(2), p.359-381.

GUIBARRA, E. V. H; YAMIR, L. M.; Proteínas de fase aguda. **Rev. Act. Clin. Med [online]**. 2011, vol.13, pp. 667-670. ISSN 2304-3768.

KRAUSE, A.R.T.; PFEIFER, L.F.M.; MONTAGNER, P.; WEHSCENFELDER, M.M.; SHCWEGLER, E.; LIMA, M.E.; XAVIER, E.G.; BRAUNER, C.C.; SHCMMIT, E.; DEL PINO, F.A.B.; MARTINS, C. F.; CORRÊA, M. N.; SCHNEIDER, A. Associations between resumption of postpartum ovarian activity, uterine health and concentrations of metabolites and acute phase proteins during the transition period in Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v.145, p. 8–14, 2014.

MARQUES L.T., Fischer V., Zabela M.B., Ribeiro M.E.R, Junior W.S., Rodrigues C.M. Produção leiteira, composição do leite e perfil bioquímico sanguíneo de vacas lactantes sob suplementação com sal aniónico. **Revista brasileira de zootecnia= Brazilian journal of animal science [recurso eletrônico]**. Viçosa, MG. Vol. 40, n. 5 (maio 2011), p. 1088-1094, 2011.

MARTINEZ N.; SINEDINO, L. D. P.; BISINOTTO R. S., et al. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97 p.874–887, 2014.

SCHNEIDER A., CORRÊA, M. N. and BUTLER, W. R. 2013. Short communication: Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. **Research in Veterinary Science** 95: 269-271.

SPANGHERO, M. Prediction of urinary and blood pH in non-lactating dairy cows fed 34 anionic diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 116, p. 83-92, 2004.

REINHARDT, T A; LIPPOLIS, J. D.; MCCLUSKEY, B. J.; GOFF, J P; HORST, R L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, v. 188, n. 1, p. 122-124, 2011.