

## **CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MAGNÉSIO E CREATININA DE VACAS LEITEIRAS COM HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA SUPLEMENTADAS COM DIETA ANIÔNICA POR DIFERENTES PERÍODOS**

**KAUANI BORGES CARDOSO<sup>1</sup>; CAMILA PIZONI<sup>2</sup>, JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ<sup>2</sup>,  
URIEL SECCO LONDERO<sup>2</sup>, JORDANI BORGES CARDOSO<sup>2</sup>; FRANCISCO  
AUGUSTO BURKERT DEL PINO<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [kauaniborgescardoso@gmail.com](mailto:kauaniborgescardoso@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [nupeec@gmail.com](mailto:nupeec@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [fabdelpino@gmail.com](mailto:fabdelpino@gmail.com)

### **1. INTRODUÇÃO**

A hipocalcemia é uma doença caracterizada por um súbito desequilíbrio na concentração de cálcio (Ca) no sangue, devido à demora na mobilização do mineral pelo organismo diante de um aumento abrupto na sua demanda no final da gestação e início da lactação (BROZOS, et al., 2011; MARTINEZ, et al., 2012). O Ca é regulado principalmente por hormônios calciotrópicos, no qual o responsável por elevar os seus níveis plasmáticos é o paratormônio (PTH), esse, é ativado pela redução do mineral no sangue e também pela acidificação sanguínea (BROZOS et al., 2011). Esse processo de homeostase apesar de altamente eficiente, é lento e leva cerca de 72 horas para se tornar completamente ativo, sendo esse período decisivo para a saúde e produção da vaca (GOFF, 2014).

Durante a hipocalcemia pode ocorrer alterações de diversos metabólitos, entre eles o magnésio e a creatinina. O Magnésio é liberado para a corrente sanguínea através da ação do PTH e suas concentrações vão influenciar os mecanismos de homeostase do Ca, uma vez que modula a secreção do PTH endógeno e altera a sensibilidade dos tecidos a sua ação, principalmente a responsividade óssea e renal (RUDE E GRUBER, 2004). Já a creatinina é oriunda do catabolismo da creatina, molécula presente no tecido muscular e usada como uma forma de armazenar energia no músculo, a sua degradação para creatinina acontece de forma constante, onde a creatina é fosforilada a fosfocreatina que mais tarde por ação não enzimática é convertida em creatinina, esse processo é resultante do metabolismo muscular no qual o Ca é fundamental (SMITH, 2006). Animais hipocalcêmicos diminuem as concentrações plasmáticas de Ca o que pode ser refletido nas concentrações séricas de creatinina (HENDRIX, 2002).

Na tentativa de reduzir a ocorrência da hipocalcemia, algumas estratégias vêm sendo adotadas durante o pré-parto, como a utilização de sais aniônicos (GOFF et al., 1991). O mecanismo de ação das dietas aniônicas ainda não está totalmente esclarecido, mas já está comprovado a eficiência da dieta em provocar uma acidose metabólica moderada causada pela necessidade que o organismo tem de manter a neutralidade elétrica. (FIGUEIREDO et al., 2014). A leve acidificação sanguínea aumenta a resposta dos tecidos alvos a ação do hormônio PTH e ativa os mecanismos de homeostase do Ca, fazendo com que a vaca mantenha os níveis normais de Ca durante a parição (GOFF, 2014; SEIFI et al., 2010).

A dieta aniônica é recomendada a partir de 30 dias antes da data prevista ao parto, porém estudos estão sendo conduzidos para diminuir esse tempo de fornecimento (PIZONI, 2017), visto que, a dieta apresenta baixa palatabilidade, podendo diminuir a ingestão de matéria seca nesse período (SANTOS, 2011;). Com isso o objetivo deste estudo foi avaliar as concentrações de magnésio e creatinina de

vacas leiteiras induzidas a hipocalcemia subclínica suplementadas com dieta aniônica por diferentes períodos.

## 2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira no município de Rio Grande, ao sul do Rio Grande do Sul, nas coordenadas geográficas 32 ° 16 'S, 52 ° 32' L. Foram utilizadas 9 vacas da raça Holandês multiparas com média de 3 lactações e manejadas em sistema semiextensivo. Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos de acordo com o fornecimento da dieta aniônica e todos os grupos foram induzidos à hipocalcemia subclínica. O G0 (n=3) não havia recebido a dieta aniônica até o momento da indução de hipocalcemia subclínica (DCAD = +10,03 mEq/100g). O grupo G9 (n=3) a indução de hipocalcemia subclínica foi realizada após o fornecimento da dieta aniônica por um período de 9 dias (DCAD = -37,49 mEq/100g). O grupo G15 (n=3) foi composto por animais que receberam a dieta aniônica (DCAD = -37,49 mEq/100g) por 15 dias antes da indução de hipocalcemia subclínica. A indução de hipocalcemia subclínica foi realizada em todos os animais através da cateterização da veia marginal da orelha. O protocolo de indução de hipocalcemia subclínica foi realizado pela infusão endovenosa de uma substância quelante de cálcio (JORGENSEN al., 1999) por um período de 6 horas com manutenção dos níveis de cálcio ionizado (Ca<sub>i</sub>) abaixo de 4mg/dL.

As coletas de sangue foram realizadas por punção da veia coccígea, utilizando o sistema Vacutainer (BD Diagnostics, São Paulo, Brasil), sendo coletadas amostras de sangue em um tubo sem anticoagulante (10mL) para análises bioquímicas, dentre elas determinação dos parâmetros de magnésio (Mg) e creatinina. No dia da indução foram coletadas amostras de sangue uma hora após o início da indução, seguindo a cada hora até 6h. 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. As concentrações séricas de Mg e creatinina foram analisados por colorimetria utilizando kits enzimáticos (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). Para a leitura, foi usado o espectrofotômetro de luz visível (FEMTO 700*Plus*, FEMTO Indústria e Comércio de Instrumentos, São Paulo, Brasil).

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada através do programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc. Cary, NC, EUA). Para tal, 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 ( $P < 0,05$ ).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A creatinina apresentou diferença estatística entre os grupos, sendo o G0 e G9 (Tabela 1) menores que o G15 ( $P < 0,05$ ). O magnésio também se mostrou diferente (Tabela 1), sendo o G0 menor que os demais grupos ( $P < 0,01$ ).

**Tabela 1:** Parâmetros bioquímicos (média  $\pm$  erro padrão da média) de vacas leiteiras com hipocalcemia subclínica que receberam dieta aniônica em diferentes períodos no pré-parto.

Parâmetros	G0 <sup>1</sup>	G9 <sup>2</sup>	G15 <sup>3</sup>	Valor de P		
				Grupo	Hora	Grupo X Hora
Creatinina (mg/dL)	1,27 <sup>b</sup> $\pm$ 0,05	1,20 <sup>b</sup> $\pm$ 0,07	1,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	<0,01	0,78	0,97
Magnésio (mg/dL)	0,97 <sup>b</sup> $\pm$ 0,04	1,57 <sup>a</sup> $\pm$ 0,06	1,62 <sup>a</sup> $\pm$ 0,16	<0,01	0,23	0,58

<sup>1</sup>G0: sem o fornecimento da dieta aniônica. <sup>2</sup>G9: fornecimento da dieta aniônica por 9 dias antes do parto. <sup>3</sup>G15: fornecimento da dieta aniônica por 15 dias antes do parto. P<0,05 é considerado diferença estatística. <sup>ab</sup> Letras minúsculas diferem entre si na mesma linha.

A creatinina é um metabólito regulado pela atividade do tecido muscular e pode sofrer alteração pela variação dos níveis plasmáticos de Ca (RADOSTITS et al., 2007; HENDRIX, 2002). Vacas que não receberam a dieta aniônica (G0) ou que receberam a dieta por um menor período de tempo (G9) apresentaram menores concentrações de creatinina plasmática, quando comparadas aos animais que receberam a dieta por um maior período (G15), isso pode ser um reflexo da menor concentração de Ca no sangue, devido ao G0 não ter recebido a dieta e o G9 não ter sido suficiente para evitar danos musculares, o que resultou em uma menor contração do tecido muscular e menor síntese de creatinina (WILKENS et al., 2012).

Vacas com hipocalcemia subclínica no G0 apresentaram menor concentração de Mg no sangue quando comparadas aos outros dois grupos, entrando em um quadro de hipomagnesemia. A hipomagnesemia é um dos principais fatores envolvidos na ocorrência de hipocalcemia, pois pode contribuir para a falha dos mecanismos de homeostase do Ca, uma vez que o Mg é um cofator modula a secreção do PTH endógeno e altera a sensibilidade dos tecidos a sua ação, como mencionado anteriormente. Em contrapartida, nos grupos G9 e G15 a dieta aniônica em animais com hipocalcemia subclínica, possibilitou a ativação dos mecanismos de homeostase do Ca, que por sua vez aumentam o limiar renal da excreção de Mg elevando os seus níveis séricos.

#### 4. CONCLUSÕES

A utilização da dieta aniônica por 15 dias em vacas induzidas à hipocalcemia subclínica pode diminuir o risco à hipomagnesemia e ainda melhorar a contração muscular, suportado pelo aumento nas concentrações séricas de magnésio e creatinina.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROZOS, C.; MAVROGIANNI, V. S.; FTHENAKIS, G. C. Treatment and control of peri-parturient metabolic diseases: pregnancy toxemia, hypocalcemia, hypomagnesemia. The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice, v.27, a.1, p.105-113, 2011.
- FIGUEIREDO, C. B.; JÚNIOR, H. A. de S.; SANTANA, E. O. C.; FERREIRA, A. H. C.; MACIEL, M. dos S.; OLIVEIRA, Z. F. de.; CARDOSO, E. S.; SILVA, A.L.; Balanço

- cátion aniônico e febre do leite: implicações na bovinocultura leiteira. *Revista Eletrônica nutritime*, v.11, p.3566-3578, 2014.
- GOFF, J. P.; HORST, R. L.; MUELLER, F. J., MILLER, J. K. et al. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *Journal Dairy Science*, v. 74, n.11, p.3863-3871, 1991.
- GOFF, J. P. Calcium and Magnesium Disorders. *Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, v. 30, p.359–381, 2014.
- HENDRIX, C. M. *Laboratory procedures for veterinary technicians*. Philadelphia: Mosby, ed.4, p.559, 2002.
- JORGENSEN, R. J.; NYENGAARD, N. R.; DANIEL, R. C. W.; MELLAU, L. S. B.; ENEMARK, J. M. D. Induced hypocalcaemia by Na<sub>2</sub> EDTA infusion: a review. *Journal of Veterinary Medicine*, n.46, p.389–497, 1999.
- MARTINEZ N.; SINEDINO, L. D. P.; BISINOTTO R. S.; RIBEIRO, E. S.; GOMES, G. C.; LIMA, F. S.; GRECO, L. F.; RISCO, C. A.; KGALVAO, K. N.; RODRIGUEZ, T. D.; DRIVER, J. P.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.97, p.874–887, 2014.
- PIZONI, C. Effect of anionic diet by different periods on the metabolism of dairy cows during peripartum. *Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.*
- SANTOS, J. E. P. Distúrbios metabólicos. In: BERCHIELLI T.T., PIRES, A. V. & OLIVEIRA, S. G. (Eds), *Nutrição de Ruminantes*. 2ª ed. Funep, Jaboticabal, p.459-472, 2011.
- SEIFI, H. A.; MOHRI, M.; FARZANEH, N.; NEMATI, H.; NEJHAD, S. V. Effects of anionic salts supplementation on blood pH and mineral status, energy metabolism, reproduction and production in transition dairy cows. *Research Veterinary Science*, v.89, p.72-77, 2010.
- SMITH, B. P. *Medicina Interna de Grandes Animais*. 3. ed. Barueri-SP: Manole, p.1728, 2006.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; et al. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Philadelphia: Elsevier, p.2156, 2007,
- RUDE, R. K.; GRUBER H. E. Magnesium deficiency and osteoporosis: Animal and human observations, *Journal of Nutritional Biochemistry*, p.710-716, 2004.
- WILKENS, M. R., I.; OBERHEIDE, B.; SCHRODER, E.; AZEM, W.; STEINBERG, and G. Breves. Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. *Journal of dairy science*, p.151-164, 2012.