

## **COLESTEROL E BETA-HIDROXIBUTIRATO SÉRICO EM VACAS COM HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA**

### **Serum cholesterol and beta-hydroxybutyrate in cows with hypocalcemia subclinical**

Lucas Fabio Huf<sup>1</sup>, Viviane Marques Guyoti, Jose Francisco Manta Bragança, Jose Francisco Xavier da Rocha, Paulo Eduardo Bennemann, Ricardo Xavier da Rocha

<sup>1</sup> Correspondência: Lucas F. Huf: lucasopiloto@hotmail.com

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de colesterol e beta-hidroxiacetato sérico em vacas leiteiras com hipocalcemia subclínica. Para isso foram utilizadas 14 vacas leiteiras da raça Holandesa no período de transição. O experimento foi dividido em duas etapas, onde na primeira os animais foram acompanhados quanto ao pH urinário no pré-parto e os níveis de cálcio sérico nos três primeiros dias pós-parto. Na segunda etapa, os animais foram divididos em dois grupos a partir dos níveis de cálcio sérico até as 24 horas pós-parto, sendo: G1: (n=6) animais com cálcio sérico acima de 8 mg/dL e G2 (n=8) animais com cálcio sérico inferior a 8 mg/dL. Foram avaliados os níveis de colesterol sérico no segundo e décimo dias pós-parto e os níveis de beta-hidroxiacetato sérico no décimo dia pós-parto. Observou-se uma redução nos valores de colesterol sérico tanto no segundo como no décimo dia pós-parto e um aumento nos níveis de beta-hidroxiacetato sérico no G2 quando comparado ao G1. Assim, pode-se concluir que a hipocalcemia subclínica afeta negativamente o metabolismo energético, isto demonstrado pela redução dos valores de colesterol sérico e elevação dos níveis séricos de beta-hidroxiacetato

**Palavras-chave:** balanço energético, cetose, período de transição; insulina

**ABSTRACT:** ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the levels of serum cholesterol and beta-hydroxybutyrate in dairy cows with subclinical hypocalcemia. For this, 14 dairy Holstein cows were used in the period of transition. The experiment was divided into two phases where the first animals were monitored as to urine pH during antepartum and serum calcium levels in the first three days postpartum. In the second stage, the animals were divided into two groups based on the levels of serum calcium until 24 hours postpartum, with: G1 (n = 6) animals with serum calcium above 8 mg/dL and G2 (n = 8) animals less than 8 mg/dL serum calcium. Levels of serum cholesterol in the second and tenth days postpartum and levels of serum beta-hydroxybutyrate were evaluated on the tenth day postpartum. We observed a reduction in serum cholesterol values of both the second and the tenth day after delivery and an increase in serum levels of beta-hydroxybutyrate in G2 in comparison with G1. Thus, it can be concluded that subclinical hypocalcemia adversely affects the energy metabolism, that demonstrated by decreased levels of serum cholesterol and elevated serum levels of beta-hydroxybutyrate.

**Key Words:** energy balance; ketosis; transition period; insulin

## INTRODUÇÃO

O período periparto na vaca leiteira, entre as três últimas semanas de gestação e as três primeiras de lactação, é conhecido como período de transição. Este é o momento mais crítico da produção leiteira devido à ocorrência de diversas doenças, principalmente, de origem metabólica (Von Keyserlingk et al., 2009). LeBlanc (2010) cita que aproximadamente 75% das doenças que acometem vacas leiteiras ocorrem no primeiro mês pós-parto. No período de transição, 50% das vacas de leite desenvolvem doenças metabólicas e/ou infecciosas. A hipocalcemia é uma das doenças que ocorrem neste período sendo esta caracterizada por uma queda nos níveis séricos do cálcio pela utilização deste mineral para a formação do colostro e também devido sua perda no momento do parto (Goff e Horst, 1997). Goff (2008) afirma que o momento onde ocorre a maior queda nos valores de cálcio sérico é em torno das 12-24 horas pós-parto. A hipocalcemia em vacas leiteiras pode ser classificada como clínica ou subclínica de acordo com os níveis de cálcio sérico. Na hipocalcemia clínica os valores de cálcio sérico ficam abaixo de 5,5 mg/dL, enquanto que na hipocalcemia subclínica estes valores se encontram entre 5,5 e 8 mg/dL (Horst et al., 2003).

No entanto, uma vaca leiteira não precisa necessariamente apresentar a doença clínica de hipocalcemia, ficando em decúbito, para ser afetada negativamente por esta enfermidade. O cálcio é essencial para função muscular e nervosa, motilidade gastrointestinal (Oetzel e Miller, 2012) e também no metabolismo energético (Wilde, 2006). Sendo assim, a hipocalcemia, tanto clínica como subclínica pode estar associada a outros problemas secundários em vacas no pós-parto imediato (Oetzel e Miller, 2012). A hipocalcemia subclínica pela dificuldade

de diagnóstico e consequente ausência de tratamento ocasiona maiores prejuízos a pecuária leiteira.

O cálcio participa como segundo mensageiro de vários hormônios, regulando suas funções. Entre os hormônios dependentes da ação do cálcio, a insulina é importante para regulação do metabolismo energético (Goof, 2008). Nesse sentido, a prevenção da hipocalcemia se faz necessária. Entre as alternativas para esta, a dieta aniônica consiste em uma dieta com maiores concentrações de ânions (enxofre e cloro) e com menores concentrações de cátions (sódio e potássio) e tem como objetivos, reduzir a incidência de doenças metabólicas no período do parto e pós-parto, como a hipocalcemia, além disso, auxilia no aumento da produção de leite e melhora o desempenho reprodutivo dos bovinos leiteiros (Leite et al., 2003).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do metabolismo do cálcio no metabolismo energético.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em uma granja leiteira no município de Condor, localizado na região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul utilizando 14 (quatorze) vacas da raça Holandesa no período de transição recebendo dieta aniônica no pré-parto. O trabalho dividiu-se em duas fases. Na primeira, os 14 animais foram avaliados no pré-parto quanto ao pH urinário e os níveis de cálcio sérico nos três primeiros dias pós-parto. A coleta da urina foi feita entre o quinto e décimo dia da data prevista do parto, no período final da tarde, através do método de estímulo sub-vulvar. A urina coletada foi submetida a análise do pH com o auxílio de um pHmetro digital marca Instrutherm PH-1800, de escala 0-14, com resolução e confiabilidade de 0,01 pH. Já na segunda fase, os animais

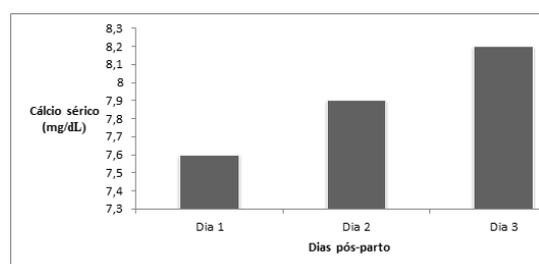
foram divididos em dois grupos de acordo com os valores de cálcio sérico até as 24 horas pós-parto: G1: (n=6) animais com cálcio sérico acima de 8 mg/dL e G2 (n=8) animais com cálcio sérico inferior a 8 mg/dL. Nos dois grupos foram mensurados os níveis de beta-hidroxibutirato no décimo dia pós-parto e também os níveis de colesterol sérico no segundo e décimo dia pós-parto. A coleta foi realizada por venopunção da veia jugular externa com prévia assepsia (álcool 70%). O sangue foi depositado em tubos de ensaio estéreis e logo após, realizada a centrifugação dos mesmos para separação do soro sanguíneo. Após a separação, as amostras foram enviadas ao Laboratório de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina Veterinária da UNOESC de Xanxerê – SC. A mensuração de colesterol sérico foi feita através da utilização de kits específicos para esta análise (Laboratório Analisa - Porto Velho RO), com analisador automático. Já a análise de beta-hidroxibutirato foi realizada através de provas enzimáticas colorimétricas, utilizando equipamento semi-automático (Metrolab 1600, Argentina) e reagentes comerciais (Randox, Natrim, Reino Unido). A análise estatística constou de teste “t” de student para comparação de médias entre os grupos com a utilização do pacote estatístico ‘GRAPH PAD INSTAT’.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH urinário médio das 14 vacas avaliadas no pré-parto neste experimento foi de 8,1, não estando dentro da faixa indicada para esta fase de produção. O valor do pH urinário para vacas no pré-parto recebendo dieta aniônica deve ficar entre 6.0 e 7.0 (Leite et al., 2003) já que a inclusão de ânions na dieta (cloro e enxofre) resultam em uma leve acidose metabólica que reflete em redução do pH urinário. Esta leve redução no pH sanguíneo aumenta a sensibilidade dos tecidos à ação do

hormônio paratireoideano (PTH) e desta forma possibilita que a vaca mantenha a calcemia no pós-parto imediato (Leite et al., 2003). Os valores de cálcio nos três primeiros dias pós-parto estão apresentados no gráfico 1.

Gráfico 1 – Média  $\pm$  desvio padrão de cálcio sérico nos três primeiros dias pós-parto.



Considerando que o limiar inferior de cálcio sérico para vacas leiteiras é de 8 mg/dL (Horst et al., 2003) pode-se observar que os níveis deste mineral neste rebanho está abaixo do fisiológico, ficando estas vacas na faixa classificada como hipocalcemia subclínica (entre 5,5 e 8 mg/dL de cálcio sérico). A incidência de hipocalcemia clínica neste rebanho é de 1,5%. A incidência de hipocalcemia clínica em rebanhos varia, normalmente, entre 3-15% enquanto que a hipocalcemia subclínica pode chegar à 50% (Oetzel, 2012). Houe et al. (2001) relataram taxas entre 34 e 50% de vacas com calcemia inferior a 8,4 mg/dL nos primeiros três dias pós parto. A hipocalcemia subclínica, pela falta de diagnóstico resulta em maiores prejuízos já que o cálcio está envolvido em vários processos biológicos como, por exemplo, a regulação do metabolismo energético (Wilde, 2006). Na segunda fase do trabalho, os animais foram separados em seus grupos de acordo com o nível de cálcio sérico sendo estes valores apresentados na tabela 1. Este período até as 24 horas após o parto é o momento onde ocorre a maior queda nos valores de cálcio sérico (Goff, 2008).

Tabela 1 – Média  $\pm$  desvio padrão de cálcio sérico (mg/dL) nas 12 e 24 horas pós-parto no G1 (cálcio sérico acima de 8 mg/dL) e G2 (cálcio sérico inferior a 8 mg/dL).

	G1	G2
12 horas pós-parto	8,23 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	6,57 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>
24 horas pós-parto	8,33 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	7,56 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Letras iguais nas linhas indica que não houve diferença estatística entre os grupos.

Após esta etapa foram mensurados os valores séricos de beta-hidroxi butirato e colesterol nos dois grupos. Estes dois parâmetros podem ser usados para avaliação do metabolismo energético, onde segundo Oetzel (2004), o beta-hidroxi butirato é o teste padrão para diagnóstico de cetose, tanto clínica como subclínica, e o colesterol pode ser utilizado para avaliar consumo de alimento (Engle e Spears, 2001). Os valores de beta-hidroxi butirato para cada grupo estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Média  $\pm$  desvio padrão de beta-hidroxi butirato sérico (mmol/L) no décimo dia pós-parto no G1 (cálcio sérico acima de 8 mg/dL) e G2 (cálcio sérico inferior a 8 mg/dL).

	G1	G2
Beta-hidroxi butirato (mmol/L)	0,49 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	0,75 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Letras diferentes na linha indica diferença estatística entre os grupos.

Houve diferença estatística no nível de beta-hidroxi butirato no décimo dia pós-parto, sendo mais elevado no grupo que apresentou valores de cálcio sérico inferior a 8 mg/dL. O beta-hidroxi butirato é o corpo cetônico mais estável no soro e plasma sanguíneo, por isso seu uso no diagnóstico de quadros de cetose (Ospina et al., 2010), sendo que alguns autores comentam que níveis

acima 0,25 mmol/L já impactam negativamente na reprodução. De acordo com Duske et al. (2009), a cetose em vacas leiteiras ocorre normalmente no início da lactação devido a um aumento na mobilização das reservas corporais, em especial, do tecido adiposo. Isto ocorre em decorrência do balanço energético negativo nesta fase de produção e que determina uma redução no consumo de alimentos.

A cetogênese (formação dos corpos cetônicos) ocorre durante a mobilização do tecido adiposo, sendo este processo afetado pelas ações opostas de insulina e glucagon. Vacas no início da lactação têm baixas concentrações de insulina em comparação a níveis normais de glucagon. Esta redução na relação insulina:glucagon é um fator determinante para a cetogênese (Herdt, 2000). Entre os fatores que podem resultar em redução dos níveis sanguíneos de insulina é a falha na sua liberação pelo pâncreas endócrino. Nesse sentido, Yu et al. (2004), afirmam que o cálcio participa na ativação da proteína calmodulina quinase, sendo esta participante na liberação de insulina pelas células beta do pâncreas e também na utilização da glicose intracelular. Outro ponto importante em relação ao papel do cálcio na regulação do metabolismo energético se refere à ativação da enzima adenosina trifosfatase. Esta é responsável por oxidar a molécula de ATP em ADP no aprisionamento da glicose intracelular (González et al., 2006).

Nos níveis de colesterol sérico houve diferença entre os grupos, sendo que os animais do G2 (animais com cálcio sérico inferior a 8 mg/dL) tiveram níveis deste lipídeo inferiores aos animais do G1 (animais com cálcio sérico acima de 8 mg/dL) tanto no dia dois como no dia 10 pós-parto.

Tabela 3 - Média  $\pm$  desvio padrão de colesterol sérico (mg/dL) no segundo e décimo dia pós-parto no G1 (cálcio sérico acima de 8 mg/dL) e G2 (cálcio sérico inferior a 8 mg/dL)

	G1	G2
Segundo dia pós-parto	91,23 $\pm$ 9,3 <sup>a</sup>	54,87 $\pm$ 11,5 <sup>a</sup>
Décimo dia pós-parto	128,63 $\pm$ 14,8 <sup>b</sup>	91,78 $\pm$ 8,6 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Letras diferentes na linha indica diferença estatística entre os grupos.

O colesterol é um lipídeo que participa de várias funções metabólicas como, por exemplo, ser constituinte de membranas celulares e precursor de hormônios esteróides. A sua síntese é regulada pela ação da insulina sendo que a redução no consumo de alimentos resulta em redução dos níveis deste lipídeo no sangue (Engle e Spears, 2001). A redução do colesterol sérico no G2 (animais com cálcio sérico inferior a 8 mg/dL) quando comparado ao G1 (animais com cálcio sérico acima de 8 mg/dL) pode estar associado ao nível sérico de cálcio. Wilde (2006) cita que entre os fatores predisponentes ao balanço energético negativo está a hipocalcemia, e esta afeta negativamente o consumo de matéria seca, o que resultaria em diminuição nos níveis séricos de colesterol.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados pode-se concluir que a hipocalcemia subclínica afeta negativamente o metabolismo energético, isto demonstrado pela redução dos valores de colesterol sérico e elevação dos níveis séricos de beta-hidroxitirato.

## REFERÊNCIAS

DUSKE, K.; HAMMON, H. M.; LANGHOF, A. K. et al. Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing rumen-protected

fat during the last twelve weeks of gestation. *Journal of Dairy Science*, v. 92, p. 1670–1684, 2009.

ENGLE, T. E.; SPEARS, J. W. Performance, carcass characteristics, and lipid metabolism in growing and finishing Simmental steers fed varying concentrations of copper. *Journal of Animal Science*, v.79, p. 2920–2925, 2001.

GOFF, J.P. The monitoring, prevention, and treatment of Milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, v.176, p.50-57, 2008.

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.

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.

HORST, R.L.; GOFF, J.P.; McCLUSKEY, B.J. Prevalence of subclinical hypocalcemia in US dairy operations. *Journal of Dairy Science*, v.86 (suppl. 1), p. 247, 2003.

LeBLANC, S. 2010. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of Reproduction and Development*, v.56, p.29–35, 2010.

LEITE, C. L.; ANDRIGUETO, J. L.; PAULA, M.B., et al. Diferentes balanços aniônicos-catiônicos na dieta de vacas da raça holandesa. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.5, p.1259-1265, 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C.; CERÓN, J. J.; CAMPOS, R. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2006. 358 p.

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

OETZEL, G.R.; e MILLER, B.E. Effect of oral calcium bolus supplementation on early lactation and milk yield in commercial herds. *Journal of Dairy Science*, v.95, p. 7051-7065, 2012.

OSPINA, P.A.; NYDAM, D.V.; STOKOL, T.; et al. Evaluation of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the Northeastern United States: critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of Dairy Science*, v. 93, n. 2, p. 546–554, 2010.

Von KEYSERLINGK, M.A.G.; RUSHEN, J.; de PASSILÉ, A.M.B. et al. INVITED REVIEW: The

Welfare of Dairy Cattle – Key Concepts and the Role of Science. *Journal Dairy Science*, v. 92, p.4101-4111, 2009.

WILDE, D. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* v.96, p 240–249, 2006.

YU, X.; MURAO, K.; SAYO, Y. et al. The Role of Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase Cascade in Glucose Upregulation of Insulin Gene Expression. *Diabetes*, v.53, p. 1475-1481, 2004.