

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA (PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

TESE

**METABOLISMO ENERGÉTICO E PROTEICO E PERFIL
BIOQUÍMICO HEPÁTICO EM VACAS MESTIÇAS LEITEIRAS
SUBMETIDAS AO USO DIÁRIO DE OCITOCINA DURANTE A
LACTAÇÃO**

Janne Paula Neres de Barros

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA (PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**METABOLISMO ENERGÉTICO E PROTEICO E PERFIL
BIOQUÍMICO HEPÁTICO EM VACAS MISTIÇAS LEITEIRAS
SUBMETIDAS AO USO DIÁRIO DE OCITOCINA DURANTE A
LACTAÇÃO**

JANNE PAULA NERES DE BARROS

Sob a Orientação da Professora
Rita de Cássia Campbell Machado Botteon

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ
Setembro de 2016

636.2142

B277m

T

Barros, Janne Paula Neres de, 1983-

Metabolismo energético e proteico e perfil bioquímico hepático em vacas mestiças leiteiras submetidas ao uso diário de ocitocina durante a lactação / Janne Paula Neres de Barros. - 2016.

59 f.: il.

Orientador: Rita de Cássia Campbell Machado Botteon.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, 2016.

Bibliografia: f. 41-59.

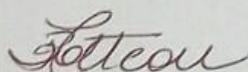
1. Bovino de leite - Metabolismo - Teses. 2. Ocitocina - Teses. 3. Ordenha - Teses. 4. Leite - Produção - Teses. 5. Medicina veterinária - Teses. I. Botteon, Rita de Cássia Campbell Machado, 1964- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

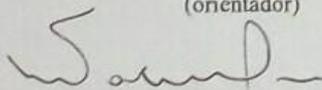
JANNE PAULA NERES DE BARROS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

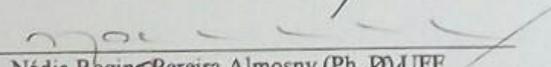
TESE APROVADA EM 20/09/2016



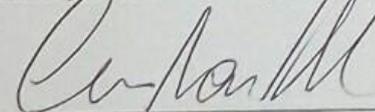
Rita de Cássia Campbell Machado Botteon (Ph. D) UFRRJ
(orientador)



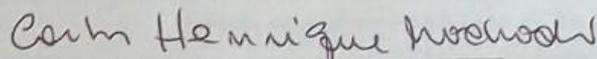
Wilmar Sachetini Marçal (Ph. D) UEL



Nádia Regina Pereira Almosny (Ph. D) UFF



Cícero Araújo Pitombo (Ph. D) UFF



Carlos Henrique Machado (Ph. D) UFRRJ

*“Disse a flor para o pequeno príncipe: é preciso que eu suporte duas ou três
larvas se quiser conhecer as borboletas.”*
Antoine de Saint-Exupéry

Dedico,

Aos meus amores

Seu Barros e dona Ivete, que são os meus alicerces!

Francisco, meu raio de sol, o seu sorriso me faz caminhar sempre em frente!

AGRADECIMENTOS

Ao *Criador* pelo amor!

A minha orientadora *Prof. Rita Botteon* por essa longa jornada me ensinando a trabalhar em prol da ciência.

A *minha família* pelo amor e preocupação.

Ao *professor Paulo Botteon* pelos seus ensinamentos estatísticos.

Ao *Edilton* por ceder e aceitar uma mudança na rotina do manejo de sua propriedade.

Ao *Carlinhos* por ser amigo e participar na execução direta do trabalho. Você foi essencial!

Ao *Riquinho, Batista e meninos* que estavam sempre na ordenha nos ajudando.

A *dona Marília* pelo chá antes de dormir e abraços afetuosos; a *Vanda* pelo cuidado do café todas as manhãs e palavras de ânimo.

A minha amiga *Ana Paula Marques*, pelo carinho, cuidado, conversas e pelo auxílio na execução do trabalho.

A *Isabella Manes*, irmã que a Rural me deu, *é noixxx!*

As amigas e colegas de laboratório *Bianca Medeiros* e *Jéssica D'Ávilla*, pelo carinho e palavras de conforto.

Ao *prof. Fábio Scott* pela realização das análises laboratoriais.

Aos amigos *Andréa Lima, Lidiane Picoli* e *Thiago Costa* cheguei aqui com a ajuda de vocês.

A todos os meus amigos que participaram com palavras de apoio, muito obrigada!

A *UFRuralRJ*, por toda essa beleza que me encanta e renova.

RESUMO

BARROS, Janne Paula Neres. **Metabolismo energético e proteico e perfil bioquímico hepático em vacas mestiças leiteiras submetidas ao uso diário de ocitocina durante a lactação.** 2016. 74p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

A ocitocina vem sendo utilizada com a finalidade de facilitar a ordenha e aumentar a produção leiteira. O compartilhamento da agulha pode veicular patógenos e levar a flebite além do desconforto na aplicação. Nas vacas leiteiras, ainda não foram descritas implicações metabólicas relacionadas ao uso contínuo de ocitocina. Dessa forma, buscou-se avaliar os efeitos da ocitocina em todo o período lactacional de vacas Holandes x Gir, com ênfase no metabolismo energético, proteico e perfil bioquímico hepático. O estudo foi realizado em uma propriedade no município de Resende, sul do Rio de Janeiro. Foram selecionadas 12 vacas mestiças (Gir x Holandês) com idade entre quatro e sete anos, com sete a 15 dias de paridas, sem sinais de enfermidades, estado geral bom (ECC 3,0 a 3,5), divididas aleatoriamente em dois grupos de tratamento instituído de acordo a forma de aplicação da OT na propriedade: grupo OT (GOT) - 0,3 ml (3 UI), por via intravenosa no início e no meio de cada ordenha; grupo controle (GCT) - sem OT. Amostras de sangue foram colhidas em intervalos de 15 dias, dos 15 aos 150 dias pós-parto e a última coleta com intervalo de trinta dias (180 dias pós-parto, DPP). Do soro determinou-se os valores de proteína total, albumina, ureia, bilirrubinas total e direta, glicose, colesterol e HDL, triglicerídeos, ácidos graxos não esterificados e beta-hidroxibutirato, utilizando-se kits comerciais segundo a especificação do fabricante. As concentrações de proteína total em ambos os grupos, GOT e GCT, foram elevadas dos 15 ao 105 DPP e aos 150 DPP no GCT. A albumina as concentrações foram normais em ambos os grupos no início da lactação, baixos aos 30 e de 105 a 135 DPP no GOT. A ureia ficou abaixo do valor de referência (23 mg/dL) no GOT aos 15 DPP e no GCT aos 15, 30 e 105 DPP. Houve concentrações menores no GCT em relação ao GOT em todos os momentos, exceto aos 90 DPP e com diferença estatística aos 30, 75 e 105 DPP. Na atividade sérica das enzimas AST e ALT não houve diferença significativa entre os tratamentos e para a AST, no GOT foi normal quando comparada a referência e alta no GCT aos 15 DPP e 135 DPP. As concentrações séricas das bilirrubinas total, direta e indireta permaneceram dentro dos limites de normalidade em todo o período. A glicemia apresentou-se com queda progressiva e constante de 15 a 120 DPP em ambos os grupos. Não se observou efeito da OT sobre a glicemia visto que o comportamento foi semelhante e sem diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,5$). Os ácidos graxos não esterificados apresentaram-se com concentrações acima de 0,40 mmol/L (Kaneko et al., 2008), aos 45 e dos 135 aos 180 DPP no GOT e dos 135 aos 180 dias no GCT. As concentrações de beta hidroxibutirato foram elevadas tanto no GOT quanto no GCT em todos os momentos (Kaneko et al., 2008). Os valores de colesterol foram altos e crescentes no GCT (126 ± 63 a 190 ± 34 mg/dL) e no GOT (205 ± 45 a 243 ± 61 mg/dL) com diferença estatística entre os grupos de 15 aos 90 e 120, 150 e 180 DPP. No GOT, em nenhum momento os triglicerídeos estiveram abaixo dos valores de referência e o menor nível foi observado no GCT aos 30 DPP. A ocitocina exógena diariamente durante a ordenha de vacas mestiças leiteiras influenciou positivamente a produção leiteira e alterou os indicadores do perfil energético e proteico, confirmando a ação catabólica da ocitocina sem, no entanto, alterar o funcionamento hepático e sem acarretar alterações clínicas nos animais.

Palavras-chave: hormônio, bovino de leite, manejo de ordenha

ABSTRACT

BARROS, Janne Paula Neres. **Energy and protein metabolism and liver biochemical profile in crossbred cows subjected to daily use of oxytocin during lactation**. 2016. 74p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Oxytocin has been used for the purpose of facilitating milking and increase milk production. Sharing the needle can serve pathogens and lead to phlebitis beyond the discomfort in the application. In dairy cows have not been described metabolic implications related to the continued use of oxytocin. Thus, we sought to evaluate the effects of oxytocin throughout the lactation period of Holstein x Gir cows, with an emphasis on energy, protein and liver biochemical profile metabolism. The study was conducted on a property in the municipality of Resende, south of Rio de Janeiro. We selected 12 crossbred cows (Gir x Holstein) aged four to seven, with seven to 15 days calved with no signs of disease, good condition (ECC 3.0 to 3.5), randomly divided into two groups treatment set according to the application form of OT on the property: OT group (GOT) - 0.3 ml (3 IU) intravenously at the beginning and middle of each milking; control group (GCT) - no OT. Blood samples were collected at intervals of 15 days, from 15 to 150 days postpartum and the last collection of thirty days interval (180 days postpartum, DPP). Serum was determined values of the total protein, albumin, urea, total and direct bilirubin, glucose, cholesterol, and HDL cholesterol, triglyceride, non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate, using commercial kits according to the manufacturer's specification. The concentrations of total protein in both groups, GOT and GCT were lifted from 15-105 DPP and DPD 150 the GCT. Albumin concentrations were normal in both groups in early lactation, lower 30 and 105-135 DPP the GOT. Urea was below the reference value (23 mg/dL) in GOT to 15 DPP and GCT at 15, 30 and 105 DPP. There were smaller concentrations GCT compared to GOT at all times, except at 90 DPP and statistical difference at 30, 75 and 105 DPP. Serum activity of AST and ALT enzymes there was no significant difference between treatments and AST, the GOT was normal when compared to reference and high in GCT to 15 DPP and 135 DPP. Serum concentrations of total direct and indirect bilirubin levels remained within normal limits throughout the period. Glycemia presented with progressive and steady decrease DPP between 15 to 120 in both groups. There was no effect of OT on blood glucose as the behavior was similar and no significant difference between treatments ($p < 0.5$). The non-esterified fatty acids presented above with 0.40 mmol / L concentrations (Kaneko et al., 2008), at 45 and 135 to 180 of the DPD 135 of GOT and 180 days in GCT. The beta-hydroxybutyrate concentrations were elevated in both GOT and in GCT at all times (Kaneko et al., 2008). Cholesterol values were high and rising in GCT (126 ± 63 to 190 ± 34 mg / dL) and GOT (205 ± 45 to 243 ± 61 mg / dL) with statistical difference between the groups 15 to 90 and 120, 150 and 180 PPD. In the GOT in no time triglycerides were below the reference values and the lowest level was observed in GCT to 30 DPP. Exogenous oxytocin daily during milking crossbred cows milk production positively influenced and changed the indicators of energy and protein profile, confirming the catabolic action of oxytocin without, however, alter liver function and without causing clinical changes in animals.

Key words: hormone, dairy cattle, milking management

LISTA DE ABREVIATURAS

AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AGL	Ácidos graxos livres
AGV	Ácidos graxos voláteis
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
BEN	Balanco energético negativo
β-HOB	Beta hidroxibutirato
CC	Corpos cetônicos
CCK	Colecistoquinina
CCS	Contagem de células somáticas
CH	Carboidratos
CMT	California Mastitis Test
CSC	Cetose subclínica
CT	Controle
dL	Decilitro
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPP	Dias pós-parto
ECC	Escore de condição corporal
FIL	Feedback Inhibitor of Lactation
g	Grama
GCT	Grupo Controle
GGT	Gama glutamil transpeptidase
GOT	Grupo Ocitocina
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IV	Instituto de Veterinária
Kg	Quilograma
L	Litro
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LHS	Lípase hormônio sensível
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mmol	Milimol
NPV	Núcleo Paraventricular
NTS	Núcleo Trato Solitário
OT	Ocitocina
PB	Proteína bruta
Pg	Picogramas
pH	Potencial hidrogeniônico
PT	Proteína total
RbST	Somatotropina bovina recombinante
RPM	Rotações por minuto
ST	Somatotropina
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transferase glutâmico pirúvica
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UI	Unidade Internacional

VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
%	Porcentagem
°C	Graus centígrados

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Médias e desvio padrão dos valores séricos de proteínas totais, albumina e globulina de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 27
- Tabela 2:** Médias e desvio padrão dos valores séricos de ureia de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 32
- Tabela 3:** Médias e desvio padrão dos valores séricos das enzimas AST e ALT, de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 34
- Tabela 4:** Médias e desvio padrão dos valores séricos da bilirrubina total, direta e indireta de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 37
- Tabela 5:** Médias e desvio padrão dos valores séricos de glicose de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 39
- Tabela 6:** Médias e desvio padrão dos valores séricos de ácidos graxos não esterificados (AGNE), beta-hidroxiacetato (β -HOB) e Relação AGNE/Colesterol de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 42
- Tabela 7:** Médias e desvio padrão dos valores séricos colesterol e HDL de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 47
- Tabela 8:** Médias e desvio padrão dos valores séricos triglicérides, VLDL e LDL de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 51

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Produção de leite (em kg) de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 25
- Figura 2:** Valores séricos de proteínas totais de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 28
- Figura 3:** Valores séricos de albumina de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 29
- Figura 4:** Valores séricos de ureia de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina exógena (3UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 33
- Figura 5:** Valores séricos da atividade das enzimas aspartato e alanino aminotransferase de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 36
- Figura 6:** Valores séricos de bilirrubinas total e direta de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 38
- Figura 7:** Valores séricos de glicose de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina exógena (3UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 40
- Figura 8:** Valores séricos de AGNE de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina exógena (3UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 44
- Figura 9:** Valores séricos de β -HOB de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina exógena (3UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 45
- Figura 10:** Valores séricos de colesterol de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina exógena (3UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 48
- Figura 11:** Valores séricos de HDL de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina exógena (3UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP). 50

Figura 12: Valores séricos de triglicerídeos de vacas mestiças submetidas ao 52
tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina exógena (3UI) no início e no meio das duas
ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1.	Ocitocina (OT).....	2
2.2.	Metabolismo Proteico.....	5
2.2.1.	Proteína Total (PT), Albumina e Globulinas.....	5
2.2.2.	Ureia	7
2.3.	Indicadores do Metabolismo Hepático	7
2.3.1.	Aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT).....	7
2.3.2.	Bilirrubinas	8
2.4.	Metabolismo de Carboidratos ou Glicídios	8
2.5.	Cetose ou Acetonemia	10
2.6.	Metabolismo dos Ácidos Graxos.....	12
2.6.1.	Níveis séricos de colesterol e triglicerídeos	13
2.6.2.	Ácidos graxos livres séricos	14
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1.	Local, período e caracterização da propriedade	15
3.2.	Critérios de Seleção	15
3.3.	Delineamento experimental.....	15
3.4.	Produção de leite	16
3.5.	Bioquímica sérica	16
3.6.	Análise Estatística	16
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1.	Curva de Lactação	18
4.2.	Metabolismo Proteico e Hepático.....	19
4.2.1.	Proteínas totais (PT), albumina e globulina	19
4.2.2.	Ureia	22
4.2.3.	Aspartato aminotransferase e Alanino aminotransferase	24
4.2.4.	Bilirrubinas	26
4.3.	Metabolismo Energético.....	27
4.3.1.	Glicose.....	27
4.3.2.	Ácidos graxos não esterificados (AGNE)	29
4.3.3.	Betahidroxibutirato (β -HBO).....	32
4.3.4.	Colesterol total e HDL.....	33
4.3.5.	Triglicerídeos, VLDL e LDL.....	37
5	CONCLUSÃO.....	40

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
------------------------------------	----

1 INTRODUÇÃO

A vaca, base de uma propriedade leiteira, é selecionada de acordo com a produção e na região dos trópicos, deve-se levar em consideração sua resistência a doenças, sua adaptação ao clima e fatores ambientais que interferem na produção. As vacas leiteiras, com maior grau de sangue para a produção leiteira, são pouco resistentes aos fatores citados e demandam por melhores instalações e manejo para manutenção da sanidade. Dessa forma, o uso de vacas com menor grau de sangue leiteiro é comum em grande parte do Brasil. Estas vacas demandam ações, como a presença do bezerro durante a ordenha. Este processo dificulta o manejo da ordenha e requer instalações adequadas. Neste contexto, o uso de ocitocina (OT) durante a ordenha é utilizada para facilitar o manejo e a ordenha de vacas mestiças sem a presença do bezerro ao pé.

A OT, hormônio envolvido na contratilidade das células mioepiteliais mamárias, foi inicialmente utilizada para facilitar a ordenha de vacas mestiças sem a presença do bezerro. Atualmente, a OT é utilizada com a finalidade de facilitar a ordenha e aumentar a produção leiteira em rebanhos de diferentes graus de sangue, em praticamente todas as vacas e durante toda a lactação. Observa-se que aplicação de OT durante a ordenha causa desconforto diminuindo o bem-estar dos animais. E ainda, o compartilhamento da agulha por vários animais pode veicular patógenos e levar a flebite.

Há evidências de que o uso diário de OT de forma indiscriminada pode levar a perdas reprodutivas (RODRÍGUEZ, 2001; LEEMASTER et al, 1999), e um falso aumento na produção de leite justificado pela retirada completa do leite residual (GOREWIT; SAGI, 1984). Em roedores, a OT atua no estabelecimento de relações sociais (LIM, YOUNG, 2006) e possui efeito ansiolítico (NEUMANN et al, 2000). Ainda em roedores observou-se que a OT está envolvida no metabolismo da glicose (BJÖRKSTRAND, 1995) e dependendo da via e/ou período de tratamento, ocorre ação catabólica, anorética ou ambas (MORTON et al., 2011).

Nos ruminantes, em especial nas vacas leiteiras, ainda não foram descritas implicações metabólicas relacionadas ao uso contínuo de OT. Questiona-se os efeitos e a necessidade da aplicação de OT durante a ordenha e estudos devem ser realizados para fundamentar seu uso com segurança.

Pela possibilidade da OT atuar negativamente sobre o metabolismo energético, o metabolismo proteico e perfil bioquímico hepático de vacas em lactação estudou-se seu efeito a partir da aplicação de 3UI (OT) em duas doses (6 UI), durante as duas ordenhas diárias em todo o período lactacional de vacas mestiças, com ênfase no metabolismo energético, proteico e perfil bioquímico hepático.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ocitocina (OT)

Em 1910, os pesquisadores Ott e Scott, descobriram que a partir de um extrato de hipófise posterior aumentava-se o fluxo de leite em uma teta de vaca canulada e em 1915, Gaines, observou que esse extrato aumentava a pressão intramamária. Posteriormente (1941), Ely e Peterson, concluíram que a ejeção do leite é um reflexo neuroendócrino. Peterson e Ludwick (1942) observaram que uma substância encontrada no sangue, a qual denominaram ocitocina, promovia a contração das células mioepiteliais alveolares. A partir de então muitos estudos foram conduzidos visando identificar os mecanismos envolvidos nos processos de estimulação e ejeção do leite.

A ocitocina, um hormônio nonapeptídeo, com o principal sítio de produção no hipotálamo, mais precisamente no núcleo paraventricular (NPV), é transportada para a hipófise posterior através de uma proteína, a neurofisina I, via axônios das células nervosas pela haste hipofisária (CROWLEY; ARMSTRONG, 1992). Em bovinos que apresentam funções parácrinas com produção e expressão de receptores de OT, outros sítios de produção de OT são o corpo lúteo e as células da granulosa do folículo pré-ovulatório (BURBACH et al., 2006). Os mesmos neurônios que produzem OT no hipotálamo recebem sinais excitatórios de neurônios colinérgicos, transmitindo o sinal para a hipófise posterior com consequente liberação de OT para circulação sanguínea. Um arranjo anatômico formado pela projeção dos corpos celulares dos neurônios do NPV no centro vagal e em neurônios sensoriais permite que a OT leve a efeitos hormonais e neurogênicos quando liberada na circulação (UVNAS-MOBERG et al., 2001).

O reflexo de ejeção do leite, que não está sob o controle consciente, ocorre em resposta a estímulos sensoriais nas terminações nervosas presentes na pele do teto. Também a presença do bezerro e outros estímulos associados à ordenha, tais como movimentações de baldes, alimentação ou a presença do ordenhador geram condicionamentos que promovem a ejeção do leite. Os estímulos táteis geram impulsos nervosos conduzidos via nervos inguinais e lombares até o cordão espinhal hipotalâmico (núcleo supraótico e paraventricular) e finalmente hipófise posterior liberando OT na corrente sanguínea (CROWLEY; ARMSTRONG, 1992). A OT liga-se aos receptores localizados nas células mioepiteliais alveolares (DANG et al., 2002) que se contraem, aumentando a pressão extravascular e expulsando o leite para a cisterna da glândula sem que haja, no entanto, aumento na produção ou modificação de sua composição (BOSSEMEYER et al., 2010).

Em vacas leiteiras, cerca de 80% do leite está estocado nos alvéolos, onde a maior parte da gordura produzida permanece, e somente 20% estão presentes na cisterna da glândula mamária (BRUCKMAIER; WELLNITZ, 2008). Sabe-se que a maior parte da gordura permanece na fração alveolar, sendo removida somente durante o processo de ejeção, mediado pela ação da OT endógena. Dessa forma, é necessária a presença da OT para ejeção do leite alveolar (LOLLIVIER et al., 2002), porque somente o leite presente na cisterna está disponível de forma imediata para ser ordenhado na ausência de estímulos para ejeção. Deve-se salientar que a remoção do leite alveolar é primordial na continuidade da síntese do leite (COSTA, 2008).

A meia-vida da OT é curta, entre dois a três minutos, sendo rapidamente degradada pela enzima ocitocinase (DANG et al., 2002), e a concentração necessária para desencadear a ejeção do leite é baixa. Dois minutos após o início da ordenha a concentração plasmática de OT atinge o pico, declinando gradativamente até atingir concentrações basais dentro de 10 a 15 minutos (LOLLIVIER et al., 2002). O estímulo para ejeção do leite deve ser contínuo

durante a ordenha para que a remoção deste ocorra satisfatoriamente, dessa forma, as células mioepiteliais são impedidas de relaxarem, porque o contrário provoca o retorno do leite aos alvéolos e pequenos ductos (BRUCKMAIER; BLUM, 1998). O atraso no início da ordenha após a pré-estimulação causa redução da concentração de OT durante dois a quatro minutos depois de iniciada a ordenha (BRUCKMAIER et al., 2001).

Para a liberação e fluxo constante do leite ocorre a estimulação dos receptores beta-adrenérgicos na glândula mamária, no entanto, quando os receptores alfa adrenérgicos são estimulados por catecolaminas ocorre a diminuição do fluxo sanguíneo, acarretando uma menor quantidade de OT nos receptores da glândula mamária, que associado a uma menor taxa de leite cisternal diminui o fluxo de leite (BRUCKMAIER et al., 1997).

A presença do bezerro na sala de ordenha requer mais mão-de-obra e nem sempre as instalações da ordenha mecanizada são adequadas para tal. A prática da aplicação de OT para estimular a ejeção do leite, sem a necessidade da presença do bezerro durante a ordenha, tem sido adotada na tentativa de minimizar estes problemas (OLIVEIRA, 2010).

A aplicação suplementar de OT exógena pode ser utilizada como ferramenta para uma maior eficiência na ejeção do leite, visto que promove a remoção do leite residual. Porém, a adoção desta prática requer a avaliação dos riscos de transmissão de doenças veiculadas por meio de agulhas contaminadas, devendo estar associada ao manejo adequado e ao monitoramento periódico da condição sanitária do rebanho (OLIVEIRA, 2010). Corbett (1968) comentou que, em alguns casos, a dose de 3 UI de OT via intravenosa não era suficiente para a extração de leite, havendo a necessidade de uma segunda dose, enquanto que, em muitos casos, apenas 1 UI seria suficiente para a completa ejeção do leite.

É questionável o incremento na produção leiteira que o uso de OT durante a ordenha promove. Nostrand et al. (1991) demonstraram que a OT leva a um incremento de 12% na produção de leite após o pico de lactação em vacas que receberam 20 UI de OT antes de cada ordenha, durante toda a lactação, por retardar a involução das células epiteliais produtoras de leite. Não houve ação da proteína denominada *Feedback Inhibitor of Lactation* (FIL), produzida nas células epiteliais mamárias, em consequência do aumento da estase do leite na glândula, o que é capaz de exercer influência negativa no número e na atividade de células secretoras, bem como no feedback negativo da síntese de proteína e lactose do leite (WILDE; PEAKER, 1990); e o uso crônico de OT não alterou o teor de proteína e gordura do leite e nem a contagem de células somáticas (CCS). No estudo de Nostrand et al. (1991) o uso da OT com o intuito de aumentar a produção era proibido.

Ballou et al. (1993) descreveram duas hipóteses para o incremento da produção de leite com o uso de OT exógena. A OT após a ordenha “esvaziaria” as células acinares a partir das células mioepiteliais, promovendo a migração de todo o leite dos alvéolos para a cisterna, e dessa forma aumentaria a produção de leite ou a OT retardaria o processo de involução das células mioepiteliais mantendo a lactação por mais tempo.

Levando em consideração o intervalo de ordenhas e a não estimulação das tetas entre curtos intervalos de ordenha, Bruckmaier et al. (2001) afirmaram que o preenchimento do úbere é importante para ejeção do leite porque a fração de leite cisternal é pequena ou inexistente.

Normalmente o número de células secretoras, em ruminantes, diminui lentamente ao longo do curso de uma lactação por meio de mecanismos apoptóticos (QUARRIE et al., 1995), sem que haja diminuição na atividade secretória das células restantes (KNIGHT, 1993). Esse mecanismo não é pré-determinado, pode ser modificado pela frequência de ordenha (LI et al., 1999) o que resulta na hipertrofia celular e é seguido pela proliferação de novas células secretoras, permitindo um aumento na persistência da lactação, com pouco, ou nenhum, efeito na composição do leite (HILLERTON et al., 1990). Outras práticas de

manejo como o aumento do fotoperíodo e a aplicação da somatotropina bovina podem promover a persistência da lactação (LOLLIVIER et al., 2002).

Lollivier et al. (2001) observaram que além do efeito clássico de contração das células mioepiteliais a OT tem um papel direto na secreção do epitélio mamário. Foi demonstrado que a OT provoca uma rápida liberação de caseína para o lúmen dos alvéolos, a qual é acompanhada pelo deslocamento de dois marcadores, GP58 e anexina II. GP58 é uma proteína de membrana do complexo de Golgi que permite monitorização dos eventos precoces na via secretora (transferência intracelular de vesículas secretoras) e a anexina II faz parte da família de proteínas que permite o processo de exocitose, ou seja, fase final de secreção (DONNELLY; MOSS, 1997). A localização de GP58 e anexina II na extremidade apical da célula levaram os autores a acreditar na influência da OT durante todo processo de secreção da proteína. Ao mesmo tempo, detectaram a transferência de glóbulos de gordura na parte apical da célula epitelial como resultado do efeito da OT. Além disso, foram observados sítios de ligação específicos entre OT e células epiteliais mamárias de coelho, o que confirmaria uma ação celular direta desse hormônio.

A OT é capaz de estimular o fluxo sanguíneo na glândula mamária com aumento de até 30% durante a ordenha (FLEET et al., 1993), efeito similar à vasopressina, que resulta em maior aporte de nutrientes e hormônios lactogênicos para a glândula mamária.

Alguns fatores produzidos na glândula mamária são importantes para a síntese do leite e sofrem influência da ejeção e esgotamento do úbere (SVENNERSTEN-SJAUNJA; OLSSON, 2005).

Qualquer fator que contribua para o esgotamento da glândula mamária reduz a quantidade da FIL no interior dos alvéolos, contribuindo para a manutenção da síntese do leite (BAR-PELLED et al. 1995). A remoção do leite poderia não somente reduzir a quantidade de FIL nos alvéolos, como também evitar os efeitos deletérios do aumento da pressão intra-alveolar na síntese do leite (LOLLIVIER; MARNET, 2005). Assim, a OT teria ação sobre a produção de leite através do maior esgotamento do úbere com redução da pressão intramamária e das quantidades de FIL no lúmen alveolar, bem como o aumento do fluxo sanguíneo local (LOLLIVIER; MARNET, 2005; CARUOLO, 1971; THACHER; TUCKER, 1970).

Macuhová et al. (2004) relataram que a administração de dosagens supra-fisiológicas (50 UI) resultaram em aumento das concentrações plasmáticas de OT, para cerca de 140 pg/ml por até 25 minutos após injeção. Além da prolongada contração mioepitelial e alveolar, a aplicação crônica de OT não afetou a liberação de OT endógena. No entanto, houve redução da remoção espontânea de leite, atribuída à redução da contratilidade das células mioepiteliais em resposta a concentrações fisiológicas de OT. Os resultados indicaram que o tratamento prolongado com altas doses do hormônio, reduz a sensibilidade da glândula mamária à OT (MACUHOVÁ et al., 2004; BRUCKMAIER, 2003). Entretanto, o efeito negativo da administração de OT, por longo período, pode ser minimizado com a utilização de dosagens fisiológicas (BELO; BRUCKMAIER, 2010).

O leite residual concentra-se principalmente na parte superior da cisterna. Em função da distribuição irregular da gordura na glândula mamária, ocorre aumento significativo nos seus teores nas frações finais do leite ordenhado (BRUCKMAIER; WELLNITZ, 2008; TANCIN et al., 2001). Desta forma, vacas submetidas à aplicação de OT apresentariam maiores teores de gordura no leite ordenhado pela maior remoção do leite residual (OLIVEIRA, 2010) e de acordo com Gorewit e Sagi (1984) a administração de 2 ou 3 UI de OT seria eficiente para promover este mecanismo.

Araújo et al. (2012) em estudo com vacas múltiparas (Holandês X Zebu) com 45 dias pós-parto, com uma ordenha diária, observaram maior produção de leite (por menor retenção

láctea), após tratamento tanto com 20 UI de OT exógena, via veia abdominal externa, em vacas com o bezerro ao pé, em relação aos animais controle que foram ordenhados sem os bezerros ou administração de OT. Os dados sugerem que se pode optar por utilizar, tanto a ocitocina exógena, quanto a presença do bezerro durante a ordenha de vacas mestiças como estímulo para a remoção do leite residual.

Em estudo, onde as fêmeas foram submetidas a diferentes dosagens de OT exógena durante a ordenha, não houve efeito no aumento da produção de leite durante os sete dias de avaliação em cada tratamento, e nem foi detectada diferença significativa na produção de leite entre os mesmos (SPÉZIA, 2015).

A injeção intravenosa de OT em quantidades suprafisiológicas (10 a 20 UI) acarreta ejeção de leite adicional (BRUCKMAIER et al., 1994, Apud BRUCKMAIER; BLUM, 1998). O vazamento de leite em vacas pouco antes da ordenha não é consequência de concentrações aumentadas de OT (BRUCKMAIER, 1988), mas sim da redução do tônus do músculo liso do teto (BRUCKMAIER; BLUM, 1998).

Em vitelos, a OT ou infusão de um antagonista do receptor de OT (atosiban) não teve nenhum efeito sobre os metabólitos (glicose, ácidos graxos não esterificados, lactato, triglicérides e ureia) ou hormônios (insulina, glucagon, somatotropina, prolactina e cortisol) (BRUCKMAIER; BLUM, 1996).

Em animais monogástricos observou-se que a alimentação induz a liberação de OT (UVNÄS- MOBERG et al., 1985) e a OT influencia a secreção do hormônio do crescimento (BJÖRKSTRAND et al., 1997).

Em vacas leiteiras a alimentação durante a ordenha potencializa a liberação de OT (SVENNERSTEN et al., 1995). Dois mecanismos podem estar envolvidos na secreção de OT induzida por alimentação. Em primeiro lugar, poderia ser devido a um aumento da ativação de nervos sensoriais na mucosa oral. Uma vez que estas fibras projetam diretamente para o núcleo do trato solitário (NTS) que está ligado ao NPV. Em segundo lugar, uma ligação neuro-vagal aferente entre o estômago, o NTS e NPV foi demonstrada em ratos (RENAUD et al., 1987; VERBALIS et al., 1986). A influência vagal sobre a secreção de OT foi validada em experimentos onde a estimulação elétrica nervosa vagal aferente aumentou os níveis de OT no plasma (STOCK; UVNÄS-MOBERG, 1988). A importância prática destes achados, é que a alimentação, durante a ordenha em sistemas de ordenha convencionais ou mecanizados, tem uma influência positiva sobre os parâmetros de ordenha tais como o tempo de ordenha, o fluxo de leite e a quantidade de leite residual (JOHANSSON et al., 1998; SAMUELSSON et al., 1993).

2.2. Metabolismo Proteico

O metabolismo proteico está intimamente ligado à atividade de síntese e metabolização de nutrientes no fígado.

2.2.1. Proteína Total (PT), Albumina e Globulinas

As proteínas totais são constituídas pela albumina, globulinas e fibrinogênio. A maior parte, albumina e a maioria das α e β globulinas, é sintetizada no fígado já as γ globulinas são produzidas pelos órgãos linfóides (THOMAS, 2000). A concentração plasmática está relacionada diretamente com a nutrição e funcionalidade hepática (GONZÁLEZ, SILVA, 2006). Os valores para proteínas totais no soro de bovinos de acordo Kaneko et al. (2008) estão entre 67,4 a 74,6 g/L.

Alguns fatores afetam a concentração de proteína plasmática, tais como: a idade do animal (GONÇALVES et al., 2001; CANAVESSI et al., 2000), nutrição (JAIN, 1993), sazonalidade (HYVARINEN et al., 1975), efeito hormonal, balanço de fluidos e em enfermidades (KLIMIENE et al., 2005; ECKERSALL, 1995; JAIN, 1993; HARVEY; WEST, 1987). Segundo MEYER; HARVEY (2004) a hiperproteïnemia pode ocorrer devido a desidratações ou pelo aumento da síntese de globulinas. Já a hipoproteïnemia pode ocorrer pela diminuição da produção de albumina ou imunoglobulinas, perda de proteína associada com hemorragia, em nefropatias ou enteropatias.

Dentre as proteínas presentes no sangue, a albumina é a mais abundante. Sintetizada no fígado, a albumina representa de 50 a 65% do total de proteínas séricas e constitui uma importante reserva proteica (GONZALEZ et al., 2000), bem como é um importante transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, cálcio, hormônios e bilirrubina (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2003).

Kaneko et al. (2008) definem valores normais para bovinos entre 30,3 a 35,5 g/L. A concentração de albumina pode ser afetada pelo funcionamento hepático, disponibilidade de aminoácidos e perdas durante doenças, como por exemplo parasitismos. Contreras (2000) afirmou que a redução da albumina ocorre por insuficiência do fígado, devido ao acúmulo de gordura decorrente de lipomobilização.

Valores persistentemente baixos de albumina sugerem inadequado consumo de proteínas. Em casos de subnutrição severa, a albuminemia decresce a concentrações menores de 20 g/L (SAUBERLICH et al., 1981) e permanecem baixos por dois a três meses segundo Contreras et al. (2000).

A concentração sanguínea de albumina diminuiu com a lactação e é restabelecido se o aporte de proteínas na dieta for adequado (CONTRERAS, 2000).

Albumina e ureia séricas diminuídas indicam deficiência de proteína na dieta. Concentrações de albumina diminuídas com ureia normal ou elevada e atividade sérica elevada das enzimas hepáticas sugere falha hepática (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2003).

Devido à baixa velocidade de síntese e de degradação da albumina em ruminantes, mudanças significativas nos níveis dessa proteína somente são detectadas em períodos de pelo menos um mês (PAYNE; PAYNE, 1987).

A albuminemia pode variar ao longo do ano em função das variações climáticas e seus efeitos sobre as pastagens. No verão, podem ser encontrados altos níveis de albumina sérica, possivelmente devido a pastagens de melhor qualidade (WITTWER et al., 1987).

González et al. (2000) ao avaliarem o metabolismo energético-proteico em bovinos de corte, no Rio Grande do Sul em campo nativo, ao longo do ano, demonstraram que a albumina e a ureia plasmáticas tiveram queda pronunciada no inverno (junho), cujo valor encontrado para albumina foi de 21,8 g/L, sugerindo como proposto por Payne e Payne (1987) uma severa deficiência de proteína na dieta. Os autores destacaram a sensibilidade da albuminemia na avaliação do estado nutricional referente ao aporte de proteína, uma vez que as proteínas totais também podem apresentar redução no plasma nas alterações hepáticas, renais ou intestinais, e nos processos hemorrágicos.

Observa-se hipoproteïnemia nos casos de deficiência de proteína na dieta, insuficiência hepática, aproveitamento inadequado da proteína ingerida, hemorragias, perdas intestinais, doenças crônicas (FAO, 1993), hiperhidratação, decréscimo na produção de albumina ou imunoglobulinas (MEYER; HARVEY, 2004). Por outro lado, concentrações acima dos limites fisiológicos (hiperproteïnemia), ocorrem na desidratação ou pelo aumento da síntese de globulinas.

As globulinas são proteínas identificadas por eletroforese, divididas em grupos e classificadas como alfa, beta e gama globulinas (CONTRERAS, 2000). São responsáveis

pelo transporte de glicoproteínas, lipoproteínas, mucoproteínas e cobre (MATOS & MATOS, 1988). A concentração de globulina total é obtida, por meio da subtração da concentração de albumina, da concentração de proteína sérica total, conseqüentemente, um erro na avaliação da concentração de proteína ou albumina, pode resultar numa concentração equivocada de globulina (GRÜN WALDT et al., 2005; MEYER; HARVEY, 2004).

A hipoalbuminemia é melhor avaliada em associação com a razão albumina: globulina (A/G). Um quadro de hipoalbuminemia, combinada com globulinemia normal a aumentada (razão A/G diminuída), ocorre secundariamente à nefropatia, sequestro extravascular ou diminuição da produção. Já a hipoalbuminemia aliada a hipoglobulinemia (razão A/G normal), sugere hiperhidratação, perda sanguínea aguda, lesões exudativas ou perda de proteínas em enteropatias (KANEKO et al, 2008; DUNCAN et al., 1994).

A relação A/G é a divisão da concentração de albumina pela concentração de globulina sérica (RAMÍREZ et al., 2001). O índice A/G considerado de modo isolado tem pouco valor. Essa relação adquire importância nas infecções, quando ela se altera, invertendo-se os valores pelo incremento que ocorre na concentração das imunoglobulinas, especialmente as γ -globulinas (BACILA, 2003).

2.2.2. Ureia

A ureia é sintetizada no fígado a partir da amônia produzida no rúmen e a concentração sérica está diretamente relacionada com os níveis de proteína e relação energia/proteína da dieta (WITTEWER et al., 1993). Payne e Payne (1987) destacaram a relevância da ureia sanguínea como indicativo a curto prazo da ingesta de componentes nitrogenados proteicos ou não.

A concentração sanguínea média de ureia referido como normal é de 23 a 58 mg/dL (KANEKO et al., 2008) e a sua concentração no sangue é influenciada pelo aporte de proteína e de energia na dieta, pela excreção urinária, e no caso de vacas em lactação pela eliminação no leite (MORRISON; MACKIE, 1996).

O catabolismo proteico pode estar relacionado à elevação da ureia sérica e na insuficiência hepática severa a azotemia pode estar reduzida (DORETTO et al., 1996). Já a diminuição do fluxo de urina e aumento sérico de ureia são conseqüências da desidratação (KANEKO et al., 2008).

Arruda et al. (2008), observaram alta concentração de ureia no sangue de vacas em lactação, alimentadas com diferentes volumosos (média 47,5 mg/dL) e concluíram que a alta concentração de ureia sérica ocorreu devido ao elevado teor de proteína bruta da dieta, com valor médio de 19% de PB.

2.3. Indicadores do Metabolismo Hepático

2.3.1. Aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)

Ambas as aminotransferases estão presentes no sangue em concentrações baixas. Nas lesões hepatocelulares estão elevadas. A AST está presente no fígado, músculo-cardíaco, musculoesquelético, rins, cérebro, pâncreas, pulmões, leucócitos e eritrócitos.

Para Ferreira-Neto (1978) a dosagem sérica das enzimas ALT e AST são ferramentas essenciais para o diagnóstico de lesões hepáticas.

De acordo com Tennant (1997) o aumento muito acentuado da aminotransferase, AST, no sangue sugere hepatite aguda e elevação mais moderada ocorre em diversas

afecções hepáticas sendo, portanto, o aumento da atividade sérica dessa enzima um indicador de lesão hepática.

Em vacas em lactação é comum se observar lesão hepática como consequência da grande mobilização lipídica e acúmulo de gordura no fígado (JONES; HUNT; KING, 2000).

2.3.2. Bilirrubinas

As bilirrubinas são derivadas da degradação do grupamento heme da hemoglobina liberada dos eritrócitos removidos da circulação pelo baço. Após sua formação, a bilirrubina é lançada no plasma, rapidamente se liga a albumina (composto denominado bilirrubina não conjugada – indireta). Através da circulação a bilirrubina não conjugada é transportada até o fígado, onde é conjugada com o ácido glicurônico. A bilirrubina conjugada sai dos hepatócitos para os canalículos biliares por transporte ativo primário, entra no ducto biliar, é armazenada na vesícula biliar, e posteriormente é excretada pela bile sob a forma de bilirrubina conjugada (direta). Parte dessa bilirrubina excretada é reabsorvida e cai na circulação. Dessa forma, em situações fisiológicas é possível encontrar no sangue pequena quantidade de ambas as formas, conjugada e não conjugada ou direta e indireta (GUYTON; HALL, 2011).

Sob condições normais a taxa de produção sistêmica de bilirrubina é equivalente a taxa de captação hepática, conjugação e excreção biliar. A hiperbilirrubinemia ocorre quando a taxa de produção é maior do que a de excreção. Aumenta no sangue devido ao maior grau de hemólise; ao prejuízo ao fluxo biliar com obstrução intra ou extra-hepática, que podem causar obstrução completa e as concentrações elevarem-se intensamente; quadros de insuficiência hepática, podendo ser transitório nos casos de hepatite aguda grave ou como último evento da insuficiência hepática progressiva generalizada (KANEKO et al., 2008; KERR, 2003).

De acordo com Lassen (2007) a concentração de bilirrubina não aumenta de modo consistente em ruminantes com doença hepática. As concentrações séricas de bilirrubina estão apenas ligeiramente aumentadas em bovinos com episódios de hepatopatia severa (EMBERT; COLES, 1984). Animais doentes com anorexia e estase ruminal podem ter hiperbilirrubinemia pelo aumento de bilirrubina não conjugada, não associada à doença hemolítica ou hepática. Pode ocorrer uma discreta hiperbilirrubinemia durante o jejum em bovinos sadios (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

A concentração plasmática normal de bilirrubina total em ruminantes varia entre 0,01 a 0,5 mg/dL (KANEKO et al., 2008).

2.4. Metabolismo de Carboidratos ou Glicídios

Em ruminantes pouca glicose proveniente do trato alimentar entra na corrente sanguínea como glicose, sendo o fígado o órgão responsável pela sua síntese por meio de moléculas precursoras da gliconeogênese. Desta forma o ácido propiônico produz 50% dos requerimentos de glicose, os aminoácidos glicogênicos 25% e o ácido láctico 15%. Outro importante precursor da glicose em ruminantes é o glicerol (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Ácidos graxos voláteis (AGV) produzidos pela fermentação microbiana de carboidratos e, em alguns casos, da proteína, predominantemente acético, propiônico e butírico são absorvidos nos pré-estômagos e processados no fígado para produção de energia e glicose (BERCHIELLI et al., 2006), e podem prover até 80% da exigência diária de energia dos ruminantes por meio da gliconeogênese (BERGMAN, 1990). Tanto a proporção molar

quanto a produção total de AGV são os maiores determinantes da utilização de alimentos em ruminantes (FRANCE; SIDDON; DHANOA, 1991).

As proporções de acetato:propionato:butirato são variáveis segundo a dieta, sendo encontrados valores de até 75:15:10, em dietas fibrosas e até 40:40:20, em dietas ricas em carboidratos não fibrosos, com o total de AGV entre 60 e 150 mM/mL de líquido ruminal (GOULART et al., 2011).

De acordo com Teixeira e Teixeira (2001), em geral, a população microbiana do rúmen converte os carboidratos fermentados em 60 a 70% de ácido acético, 18 a 22% de ácido propiônico e 13 a 16% de ácido butírico.

A remoção-absorção dos AGV pelo epitélio da parede do rúmen-retículo e omaso (TAMMINGA; VAN VUUREN, 1988) ocorre por diferença de concentração com o sangue (absorção passiva) (PETERS et al., 1990; CHURCH, 1979).

O destino dos AGV absorvidos é variável. Parte do acetato é convertida a acetil-coenzima A (acetil-CoA), entra no ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs), é oxidado à CO₂ e H₂O e pode ser utilizado também para a síntese de gordura do tecido adiposo e do leite. O butirato é condensado em acetil-CoA e reduzido a CO₂ e H₂O ou convertido em corpos cetônicos (KOZLOSKI, 2002; VAN SOEST, 1994; CHURCH, 1979).

O mais importante precursor da glicose no ruminante é o ácido propiônico (propionato) integralmente removido do sangue portal pelo fígado e ingressa diretamente no ciclo de Krebs ao nível de succinil-CoA (equivalente a 30 a 50% da produção de glicose do ruminante), e pode ser convertido em oxalacetato e glicose via gliconeogênese com os intermediários propionil-CoA e metilmalonil-CoA (KOZLOSKI, 2002; VAN SOEST, 1994; CHURCH, 1979).

O succinato é o intermediário do ciclo de Krebs com capacidade de promover a formação completa de oxalacetato é, portanto, o metabólito de entrada na gliconeogênese e é glicogênico. Ácidos graxos de cadeia longa entram no ciclo de Krebs via beta-oxidação como acetil-CoA, e não podem determinar a formação de oxalacetato. A oxidação dos ácidos graxos (beta-oxidação) ocorre na matriz mitocôndrial e permite a utilização da energia da gordura armazenada nos tecidos. Esta via funciona degradando a cadeia carbonada dos ácidos graxos resultando na formação de acetil-CoA que será utilizada no ciclo de Krebs, da mesma forma (juntamente) que o acetil-CoA gerado pela glicólise e oxidação do piruvato, e em alguns casos pode ter destinos alternativos (KLEIN, BRADLEY 2014).

A oxidação da acetil-CoA depende de suprimento adequado de oxaloacetato gerado de precursores gliconeogênicos principalmente, propionato produzido no rúmen. O fígado tem uma capacidade limitada de oxidar ácidos graxos porque a acetil-CoA, não pode ser incorporada no ciclo de Krebs, quando os níveis de oxalacetato são baixos (KERESTES et al., 2009; KANEKO et al., 2008; RADOSTITS et al., 2007; SMITH, 2006). A velocidade com que a acetil-CoA é oxidada depende da velocidade de hidrólise do ATP. O consumo de ATP no fígado é menor do que o necessário para permitir a oxidação de toda a acetil-CoA. O excesso de acetil-CoA é convertido em acetoacetato, β-hidroxiacetato (β-HOAc) e acetona, os corpos cetônicos (FUKAO; LOPASCHUK; MITCHELL, 2004; HEGARDT, 1999;), exportados para outros tecidos, quando a glicose não está disponível (KANEKO et al., 2008; SEJRSEN et al. 2006; SMITH, 2006).

Os corpos cetônicos podem ser usados pelos tecidos extra-hepáticos, especialmente coração e rins como fonte de energia. Se a produção excede a taxa de utilização pelos tecidos, os corpos cetônicos acumulam-se e o resultado é a cetose. Os corpos cetônicos são principalmente excretados na urina e no leite, mas também são eliminados em outras secreções (KANEKO et al., 2008; SMITH, 2006; ANDREWS et al., 2004; BAIRD, 1982).

A acetona, produzida em menores quantidades é exalada; o acetoacetato é quimicamente instável e pode ser transformado em acetona e dióxido de carbono; e o β -HOB por ser bastante estável no sangue é o mais utilizado para avaliações pertinentes ao perfil metabólico (ORTOLANI, 2002) e no diagnóstico de cetose (OSPINA et al., 2010a).

Parte do controle e equilíbrio do processo responsável pela regulação da adaptação ao balanço energético negativo (BEN) ocorre por interações específicas entre a fonte de energia e a utilização pelos órgãos e tecidos. Estas interações são principalmente baseadas na disponibilidade e oferta de glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNE) e corpos cetônicos (HERDT, 2000).

Além da gliconeogênese constante, os ruminantes garantem as necessidades de glicose pela sua conservação eficiente. O tecido adiposo e o hepático são locais críticos de adaptação metabólica, mas o sistema musculoesquelético e a glândula mamária são também importantes (HERDT, 2000). Em vacas lactentes os ácidos graxos produzidos no úbere para formar a gordura do leite são sintetizados a partir de acetato ou corpos cetônicos, mas não glicose. Por outro lado, a síntese de lactose, requer glicose e nas vacas em lactação, especialmente de alta produção quase toda a glicose produzida é direcionada para a síntese da lactose pela glândula mamária (LEROY et al., 2008; HAYIRLI, 2006).

Metabolicamente, após a primeira ordenha, as concentrações de glicose decrescem abruptamente, devido à mobilização de nutrientes para o colostro. A utilização de glicose periférica excede a produção de glicose hepática, resultando em hipoglicemia (DHIMAN; KLEINMANS; TESSMANN, 1991).

No BEN as reservas de oxaloacetato reduzidas limitam o uso de acetil-CoA e a acetil-CoA acumulada é desviada para a formação de corpos cetônicos (KERESTES et al., 2009; KANEKO et al. 2008; RADOSTITS et al., 2007; SMITH, 2006).

Com a hipoglicemia, ocorre menor secreção de insulina e maior secreção de glucagon, hormônio que ativa a enzima lipase hormônio sensível (LHS). A estimulação da LHS resulta na hidrólise dos triglicerídeos e liberação de ácidos graxos livres (AGL) e glicerol do tecido adiposo para o sangue. O glicerol sofre reações e flui na via glicolítica até piruvato e os AGL são transformados em acetil-CoA por beta oxidação (SANTOS, 2011). No sangue os ácidos graxos ligam-se de forma reversível a albumina sendo referidos como ácidos graxos não esterificados (AGNE). Como resultado da lipomobilização elevam-se os níveis de AGNE no sangue (CORRÊA et al., 2010). Uma vez no sangue podem ser usados por muitos tecidos como fonte de energia, no entanto, grande parte é captada pelo fígado para síntese de VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) ou corpos cetônicos (KLEIN; BRADLEY, 2014).

2.5. Cetose ou Acetonemia

No período de transição que compreende as três semanas anteriores e as três semanas seguintes ao parto as demandas energéticas aumentam rapidamente devido ao crescimento fetal e início da lactogênese (WATHES et al., 2007). Fisiologicamente o consumo em matéria seca está diminuído em virtude de um maior desenvolvimento fetal, e mudanças hormonais (SCARAMUZZI et al., 2006). Neste período, ocorrem diversas mudanças hormonais e metabólicas, que influenciam no metabolismo energético, proteico e mineral e a utilização de nutrientes (GRUMMER, 1995).

A alta demanda metabólica, decorrente do início da lactação, somada a redução da capacidade de ingestão de alimentos (NIELEN et al., 1994) resulta em uma situação de extremo desafio à vaca leiteira, predispondo a diversos distúrbios metabólicos (SAHINDURAN et al., 2010; JORRITSMA et al., 2003; AMETAJ et al., 2002). A

hipoglicemia é a alteração metabólica mais frequente no periparto. Como consequência a vaca inicia a mobilização de suas reservas corporais (lipídicas e proteicas) e perde condição corporal (WITTEWER, 2000).

Após o parto a ingestão de matéria seca aumenta progressivamente até atingir o máximo de sua capacidade entre 10 e 12 semanas, enquanto o pico de produção de leite ocorre de 4 a 6 semanas após o parto (NRC, 1989). Esta diferença entre a curva de produção e a capacidade de ingestão de matéria seca provoca um desequilíbrio energético por aproximadamente 60 dias (BAUMAN; CURRIE, 1980).

A cetose também chamada de acetonemia é uma desordem metabólica que acomete os ruminantes em consequência do BEN, ocorre antes e durante o pico de lactação e mais frequentemente entre a 2^a e a 7^a semanas de lactação (DUFFIELD, 2006), período durante o qual o consumo de alimento e produção de energia é inferior às exigências energéticas para a produção leiteira.

A cetose é classificada em clínica ou subclínica com base na concentração de corpos cetônicos no sangue e na presença ou ausência de sinais clínicos. A cetose clínica caracterizada pelas concentrações elevadas de corpos cetônicos circulantes, especialmente o β -HOB, quando se encontra acima de 3,0 mmol no sangue (McART et al., 2011). Caracteriza-se clinicamente por hálito cetótico, perda de apetite, especialmente por concentrados, diminuição da produção leiteira e rápida perda de condição corporal. Alguns animais tornam-se excitados, embora a maioria permaneça apática (SOUZA, 2003). Sinais nervosos como cambaleios e cegueira eventualmente podem aparecer. Outros sinais observados são relacionados ao sistema digestório e incluem depravação do apetite, hipomotilidade reticulo-ruminal e fezes endurecidas com muco (RADOSTITIS et al., 2007). A cetose sub-clínica (CSC) pode ser considerada um estágio pré-clínico da cetose e caracteriza-se por concentração sanguínea de β -HOB acima de 1,2 mmol e ausência de sinais clínicos (SOUZA, 2003).

A maioria das vacas se ajusta ao BEN através de um complexo mecanismo de adaptação. Dessa forma, a cetose ocorre pela falha da adaptação ao BEN e caracteriza-se por hipoglicemia, elevação no plasma sanguíneo de AGNE (CORRÊA et al., 2010) e aumento anormal dos corpos cetônicos no sangue, nos tecidos e diversos fluidos corporais (BENEDITO, 1998). A incidência de CSC é entre 15% a 60% de vacas leiteiras (McART et al., 2011; DUFFIELD, 2000), enquanto a cetose clínica ocorre em 2% a 15% das vacas (DUFFIELD, 2000).

Foi descrito (CAMPOS et al., 2007) que a glicose não é um indicador adequado para monitorar o perfil energético, devido ao controle homeostático e sensibilidade ao estresse. Adicionalmente, Wittwer (2000) comentou sobre a dificuldade prática para controlar a glicólise *in vitro* nas amostras de sangue o que resulta em muitas hipoglicemias diagnosticadas erroneamente. Contudo, Gonzalez (2000) e Mundim et al. (2007) destacaram que a determinação da glicemia pode ser de útil em condições de déficit energético severo e em vacas secas e que não estejam gestantes.

Para Gonzalez (2000) os indicadores metabólicos séricos (plasmáticos) mais indicados para avaliar o *status* energético são a glicose, o β -HOB e os AGNE ou livres. Os níveis plasmáticos de β -HOB são bastante úteis quando a demanda de glicose é crítica, como no início e no final da gestação. Por isso, o β -HOB tem sido mensurado no plasma para monitorar o balanço energético e identificar vacas que apresentem quadro de cetose. Ainda segundo González (2000) o β -HOB e demais corpos cetônicos mostram um aumento relativamente pequeno quando o animal se encontra em balanço negativo moderado, mas aumentam consideravelmente quando o balanço negativo é severo.

2.6. Metabolismo dos Ácidos Graxos

Os lipídeos que são liberados no rúmen a partir dos alimentos são hidrolisados por lípases, sobretudo bacterianas. O glicerol e os açúcares liberados são rapidamente fermentados com formação de ácidos graxos tais como os ácidos oléico, linoléico e linolênico que sofrerão hidrogenação, tendo como principal produto o ácido esteárico que passará ao abomaso e ao intestino onde será absorvido. Os lipídeos que deixam o rúmen, predominantemente ácidos graxos livres (80-90%), após serem absorvidos, são novamente esterificados a triglicerídeos e fosfolipídeos no interior dos enterócitos. Como se tornam insolúveis necessitam de um transportador (lipoproteínas ou albumina). As lipoproteínas que participam no transporte de lipídeos são quilomicrons, VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade), LDL (lipoproteína de baixa densidade) e HDL (lipoproteína de alta densidade) (BAUMAN; LOCK, 2006; DOREAU; FERLAY, 1994; JENKINS, 1993).

Os ácidos graxos liberados difundem-se para o sangue, onde se ligam à albumina e ligados a esta proteína solúvel, os ácidos graxos são transportados para os tecidos onde dissociam-se da albumina, difundem-se para o citosol das células e são metabolizados em acetil-CoA por beta-oxidação (KLEIN; BRADLEY, 2014). A síntese destes ocorre no citoplasma das células adiposas e consiste na união sequencial de unidades de dois carbonos provenientes de acetil-CoA e de malonil-CoA, formada pela carboxilação de acetil-CoA. O primeiro passo é a condensação dos grupos acetil e malonil para formar um grupo acetoacetil-ACP. Os ácidos graxos devem combinar-se (esterificação) com o glicerol a fim de produzir os triacilgliceróis ou triglicerídeos que são armazenados. Desta forma, a concentração do malonil-CoA aumenta sempre que o animal está em balanço positivo (KLEIN; BRADLEY, 2014).

Na hipoglicemia, os triglicerídeos armazenados são mobilizados e transportados para os tecidos (músculo esquelético, coração e córtex renal) nos quais os ácidos graxos podem ser oxidados para a produção de energia (NELSON; COX, 2002).

Nos hepatócitos os ácidos graxos podem sofrer oxidação para produção de energia, ser esterificados a triglicerídeos ou destinados para a produção de corpos cetônicos (MURRAY et al., 1994). Na ausência de quantidade suficiente de oxalacetato, a acetil-CoA é parcialmente oxidada à acetoacetil-CoA e desviada para a formação de corpos cetônicos (KLEIN; BRADLEY, 2014).

O colesterol é um lipídeo encontrado somente em animais e pode ser obtido através da dieta ou sintetizado no fígado, gônadas, intestino, glândula adrenal e pele (KANEKO et al., 2008; GONZÁLEZ; SILVA, 2006). É o lipídeo de maior composição nas membranas celulares (RIBEIRO et al., 2008), armazenado em ésteres de colesterol. É precursor de corticóides, hormônios esteroides (progesterona e estrógeno), além dos ácidos biliares e da vitamina D (KANEKO et al., 2008; BRUSS, 2008).

O colesterol endógeno é sintetizado especialmente no fígado a partir da acetil-CoA, que provém da beta-oxidação dos ácidos graxos, especialmente o acetato produzido no rumem pela fermentação microbiana da fibra dietética ou derivado de carboidratos, aminoácidos ou outros ácidos graxos (KANEKO et al., 2008).

A parte do colesterol proveniente da dieta é absorvida pela mucosa intestinal, hidrolisada pela esterase esterol (enzima secretada pelo pâncreas), reesterificada e transportada pela linfa à circulação geral. A circulação pelo organismo ocorre por meio da ligação com lipoproteínas, sendo a HDL a principal em ruminantes (HOCQUETTE; BAUCHART, 1999), sendo que 2/3 está esterificado com ácidos graxos (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Somente a forma não esterificada é absorvida pelos tecidos independentemente de sua origem (KANEKO et al., 2008).

A taxa de síntese no fígado é inversamente proporcional ao colesterol sanguíneo e aos ésteres de colesterol provenientes da absorção intestinal, ou seja, existe uma relação direta nas duas formas de obtenção. A síntese hepática diminui com o aumento no nível sanguíneo, o que não ocorre nos outros tecidos (intestinos, gônadas, adrenal) que também não são inibidos pelo colesterol da dieta (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Paradoxalmente a disfunção hepática grave está associada, às vezes, a concentrações plasmáticas de colesterol anormalmente baixas (KERR, 2003).

Os AGNE também denominados ácidos graxos livres (AGL) ou de cadeia longa são sintetizados na maioria dos tecidos, porém o fígado, o tecido adiposo e a glândula mamária são capazes de produzi-los em larga escala (KANEKO et al., 2008). Esse metabólito é derivado do excesso de carboidratos e proteínas provindos da dieta (CHAMPE; HARVEY, 1996) ou da ingestão de óleos vegetais, da absorção de gordura ou da lipólise dos triglicerídeos armazenados no tecido adiposo (GONZÁLEZ; SILVA, 2006) e a principal função é ser fonte de energia alternativa para os tecidos (PALMQUIST; MATTOS, 2011).

A mobilização de lipídeos é uma adaptação fisiológica para momentos em que há uma redução na disponibilidade de proteínas e de energia definida pelo desequilíbrio entre a lipogênese e a lipólise dentro do tecido adiposo (CONTRERAS; SORDILLO, 2011). Ou no início da lactação quando é mobilizado para a síntese de gordura do leite na glândula mamária com diminuição dos seus valores sanguíneos (ZAMBRANO; MARQUES JUNIOR, 2009; HERDT, 2000; BLUM et al., 1983).

Na lipólise, os triglicerídeos são hidrolisados resultando na produção de AGNE e glicerol. Não havendo a produção de glicose a partir do glicerol, este se liga novamente aos AGNE reesterificando em triglicerídeos que são armazenados no fígado (KANEKO et al., 2008; GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

2.6.1. Concentrações séricas de colesterol e triglicerídeos

Comparativamente aos monogástricos, em ruminantes as concentrações séricas de triglicerídeos são baixas, de 0 a 14 mg/dL (KANEKO et al., 2008), refletindo a baixa capacidade de síntese hepática de triglicerídeos nos ruminantes. Em animais com ingestão de dieta rica em amido (alta densidade energética) há um aumento na síntese hepática de ácidos graxos a partir das elevadas quantidades de acetato e propionato que chegam ao fígado (BRUSS, 2008), resultando em aumento da exportação de triglicerídeos na forma de VLDL.

Calixto Jr et al. (2010) avaliaram os constituintes sanguíneos de vacas da raça holandesa alimentadas com silagens de milho ou de capim-elefante e relataram que a glicemia e os níveis de ureia foram normais, independente do volumoso utilizado. Os níveis de triglicerídeos ficaram abaixo do normal para os diferentes volumosos. Não houve diferença significativa entre os volumosos em relação aos níveis sanguíneos de ureia, glicose e triglicerídeos. Esses dados são similares aos verificados por Arruda et al. (2008), que também encontraram baixa concentração de triglicerídeos no sangue de vacas alimentadas com feno de alfafa, tifton-85 e silagem milho.

Ao avaliar o perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras com baixo escore de condição corporal no periparto, Oliveira et al. (2014) observaram no pré-parto hipocolesterolemia e aumento da enzima Aspartato aminotransferase (AST). Os valores de colesterol até o parto foram inferiores aos de referência propostos por Kaneko et al. (2008) (80-120mg/dL), e de vacas holandesas até a primeira semana pós-parto (94,63-146,93mg/dL) propostos por Pogliani (2006).

Souza e Birgel Junior (2009) descreveram valores de normalidade, para o colesterol, em vacas no puerpério recente (31,0-109,9mg/ dL) e tardio (82,8-220,6mg/dL) confirmando

observações de Souza (2005), Gueorguieva e Gueorguiev (1997), Costa (1991) e Kappel et al. (1984).

2.6.2. Ácidos graxos livres séricos

AGNE e β -HOB são dois parâmetros metabólicos séricos importantes para avaliação do *status* nutricional e da adaptação ao BEN de vacas leiteiras durante o período periparto (CHUNG et al., 2008).

Os níveis séricos de AGNE apresentam alta sensibilidade e responsividade ao estresse e a condição nutricional. Assim, recomenda-se a avaliação do ECC aliada aos níveis séricos de AGNE, β -HOB e colesterol, pois os dois últimos metabólitos apresentam menor sensibilidade ao estresse e maior responsividade a ingestão de energia. Valores acima de 0,5 mmol/L indicam risco aumentado de desordens metabólicas relacionados com o grave BEN (DUFFIELD, 2006). Dessa forma, a relação AGNE:colesterol sérico permite a interpretação mais acurada do balanço energético em resposta a ingestão de energia da dieta (NDLOVU et al., 2007) porque indica a intensidade de lipogênese ou de lipólise em relação a demanda energética do animal.

Segundo Roberts et al. (2012), Chapinal et al. (2011), Ospina et al. (2010a, 2010b) e Cameron et al. (1998), concentrações de AGNE acima de 0,4 mmol/L no pré-parto ou acima de 0,7 mmol/L no pós-parto estão relacionados com maior ocorrência de enfermidades no período de transição, sendo um fator de risco para a saúde das vacas no período pós-parto.

Em vacas leiteiras os níveis de AGL são elevados no parto e no início da lactação, especialmente durante as primeiras semanas, diminuindo durante o período seco (INGRAHAM; KAPPEL, 1988).

Foi descrito por Salfer et al. (1995), Erickson et al. (1992) e Schneider et al. (1988) que os AGNE apresentam um pico próximo ao parto, combinando com queda da glicemia (CORRÊA et al., 2010) e aumento da mobilização de reservas corporais (JENKINS; JENNY, 1989). O nível de AGNE no sangue diminui do primeiro para o segundo mês de lactação e com o progresso da lactação (PULLEN et al., 1989).

Os valores séricos de β -HOB indicam a magnitude do BEN, e a eficiência da utilização dos ácidos graxos mobilizados no processo de lipólise (CALDEIRA, 2005). Assim, para avaliar a intensidade do BEN, recomenda-se a mensuração dos níveis séricos de β -HOB associado aos níveis séricos de glicose e a avaliação do escore corporal dos animais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e aprovada sob o número 077/2012.

3.1. Local, período e caracterização da propriedade e manejo

O estudo foi conduzido em uma propriedade de produção de leite no distrito de Fumaça, município de Resende, na região Sul Fluminense com início em outubro de 2013 e término em março de 2014, compreendendo avaliações seriadas de vacas paridas dos 15 aos 180 dias pós-parto (DPP).

As vacas selecionadas possuíam características uniformes de padrão racial (Holandesa x Gir), idade, condição corporal e produção de leite, sendo ordenhadas sem a presença do bezerro, duas vezes ao dia (05:30 a 08:00 horas e 14:30 a 17:00 horas), submetidas ao sistema de pastejo (*Urochloa decumbens* - *Brachiaria decumbens*) com suplementação de volumoso e concentrado durante as ordenhas (polpa cítrica, 2 kg/animal; farelo de trigo, 1 kg/animal) e nos intervalos das ordenhas (cevada – a vontade), além de mistura mineral completa. O manejo alimentar foi o mesmo durante todo o período para ambos os grupos experimentais, mesmo sendo a ordenha mecanizada as vacas do experimento foram ordenhadas manualmente nos dias da coleta, por não ter precisão analítica.

3.2. Critérios de Seleção

Para a escolha dos animais, o padrão racial e a não ocorrência de enfermidades foram levados em consideração. Todas as vacas selecionadas estavam com escore de condição corporal (ECC) ao parto entre 3 e 3,5 em escala de 1,0 a 5,0 (MACIEL, 2006).

As vacas foram avaliadas quanto à ocorrência de mastite clínica (exame físico da glândula mamária e teste da caneca de fundo escuro) e subclínica por meio do *California Mastitis Test* (CMT), na ordenha da manhã, após preparação higiênica do úbere e eliminação dos primeiros jatos de leite segundo Schalm e Noorlander (1957). A seguir foram submetidas a um exame clínico conforme Feitosa (2008) e não foram incluídas vacas com afecções podais ou digestivas evidentes. Dessa forma, foram selecionadas doze vacas mestiças (Gir x Holandês), com idade entre quatro e sete anos, de sete a 15 dias de lactação; sem sinais de enfermidades, estado geral bom (ECC - 3,0 a 3,5) e negativas ou com reação fraca ao CMT (traços ou +) em todos os quartos mamários.

3.3. Delineamento experimental

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos de tratamento: GOT - uso de OT (0,3 ml [3 UI], por via intravenosa no início e no meio de cada ordenha) durante as duas ordenhas diárias; e GCT - controle, não submetidas ao uso de OT.

A inserção dos animais nos grupos foi feita por meio de sorteio realizado no dia do parto e o tratamento iniciado imediatamente.

Para identificação dos animais inseridos em cada grupo foi utilizado nome estabelecido pelos ordenhadores da propriedade, resenha dos animais e registro fotográfico.

3.4. Produção de leite

A produção de leite foi estimada pela soma das ordenhas (manhã e tarde) a cada quinze dias, mediante ordenha manual, utilizando-se baldes e balança suspensa mensurando a quantidade de leite em quilos.

3.5. Bioquímica sérica

Amostras de sangue foram colhidas, por punção da veia coccígea, em intervalos de 15 dias, dos 15 aos 60 e dos 75 aos 150 dias após o parto e a última coleta com intervalo de trinta dias (180 pós-parto), perfazendo um total de dez amostras. Utilizaram-se frascos de plástico siliconizados e sem anticoagulante que foram mantidos inclinados em temperatura de 4 °C por duas horas ou até a completa coagulação e retração do coágulo. As amostras foram centrifugadas durante 15 minutos a 176 g e o soro obtido foi acondicionado em microtubos tipo *ependorf* em alíquotas de 1,0 mL e mantidos em temperatura de -20°C para posteriores análises.

Foram determinados os valores de albumina¹, a atividade sérica das enzimas ALT² e AST³, os teores de bilirrubina total⁴ e direta⁵, o colesterol total⁶, o colesterol HDL⁷, a glicose⁸, as proteínas totais⁹, os triglicérides¹⁰ e a ureia¹¹ utilizando-se kits comerciais em espectrofotômetro digital automático¹², segundo especificação do fabricante. Os AGNE¹³ e o β HB¹⁴ foram determinados em espectrofotômetro semi-manual MultiScan GO utilizando kits Randox.

A determinação dos teores de globulinas foi obtida por meio da subtração dos valores albumina da PT (PT-albumina) segundo Coles (1984), e os valores são expressos em g/L. Com a obtenção dos valores de globulinas, a albumina foi dividida pelas globulinas para obtenção da relação entre as variáveis.

Quanto a determinação da concentração de bilirrubina indireta utilizou-se o seguinte cálculo: bilirrubina total – bilirrubina direta = bilirrubina indireta.

As concentrações de LDL e VLDL foram determinadas indiretamente utilizando-se as fórmulas: VLDL = triglicérides/5; e LDL = colesterol total – (HDL + VLDL) segundo Friedewald et al. (1972) e os valores expressos em mg/dL.

3.6. Análise Estatística

Para todas as variáveis foram determinadas as médias e o desvio padrão (média \pm DP). A avaliação entre os grupos e nos diferentes tempos foi realizada por análise de variância multivariada para medidas repetidas (MANOVA, Action 3.1) e para determinar

¹ Biosystems n° 12547 (método colorimétrico)

² Biosystems n° 12533 (método cinético)

³ Biosystems n° 12531 (método cinético)

⁴ Biosystems n° 12510 (método colorimétrico)

⁵ Biosystems n° 12798 (método colorimétrico)

⁶ Biosystems n° 12505 (método colorimétrico)

⁷ Biosystems n° 12557 (método cinético)

⁸ Biosystems n° 12503 (método colorimétrico)

⁹ Biosystems n° 12500 (método colorimétrico)

¹⁰ Biosystems n° 12528 (método colorimétrico)

¹¹ Biosystems n° 12516 (método colorimétrico)

¹² Biosystems A15

¹³ Randox FA115 (método colorimétrico)

¹⁴ Randox RB1007 (método enzimático)

onde as diferenças ocorreram utilizou-se o Teste de Tukey. Para todas as variáveis foi considerada a significância a 95% ($p \leq 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Curva de Lactação

A produção de leite (curva de lactação – Figura 1) comportou-se de acordo os parâmetros descritos por Rennó et al. (2006) e Glória et al. (2010), sendo a produção crescente até o pico de lactação que ocorreu aos 75 dias de lactação no GOT e aos 90 no GCT. Observou-se entre os tratamentos, uma diferença linear de produção, com volume mais elevado de leite ordenhado no GOT em todos os momentos.

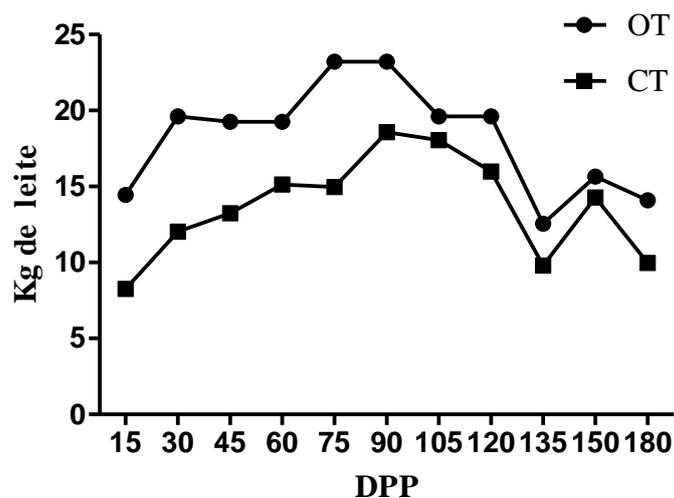


Figura 1: Produção de leite (em kg) de vacas mestiças submetidas ao tratamento GOT ou não GCT com ocitocina (3UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Após o pico de lactação houve um decréscimo da produção maior no GOT (-3,6 Kg/dia) em relação ao GCT (-0,5 Kg/dia). Na sequência, houve uma queda expressiva da produção aos 135 DPP (-7,0 e -6,2 Kg/dia, nos GOT e GCT, respectivamente) com ligeiro incremento da produção aos 150 DPP tanto no GOT (+3,1 Kg/dia) quanto no GCT (+4,5 Kg/dia).

Observa-se que houve influência do tempo ($p=0,0014$) e dos tratamentos ($p<0,0001$) sobre a produção de leite, mas não houve interação, mantendo-se sempre a produção maior no GOT. O início da avaliação aos 15 DPP não permite concluir quanto ao efeito da OT sobre a produção, que foi maior no GOT em relação ao GCT desde a primeira análise. Destaca-se que os tratamentos foram instituídos logo após a parição tendo-se realizado a primeira avaliação 15 dias após. É provável que a maior produção de leite no grupo OT esteja relacionada à remoção do leite residual, fato que em geral tem sido considerado pelos pecuaristas para o uso de OT durante a ordenha.

A produção aos 135 DPP apresentou uma queda em ambos os grupos, coincidindo com as concentrações séricas decrescidas de glicose. Como mecanismo compensatório houve decréscimo da concentração dos triglicerídeos, e elevação dos AGNE, não havendo aparente explicação para esse fato, que não foi acompanhado de perda significativa da condição corporal e não há registro nem observação de doenças intercorrentes no rebanho no respectivo período.

4.2. Metabolismo Proteico e Hepático

4.2.1. Proteínas totais (PT), albumina e globulina

De acordo os valores de referência descritos por Kaneko et al. (2008), as concentrações de PT em ambos os grupos, GOT e GCT, foram elevadas dos 15 ao 105 DPP e no GCT novamente aos 150 DPP. No entanto, entre 120 e 180 DPP no GOT e em 120, 135 e 180 DPP no GCT as concentrações de PT mantiveram-se dentro dos limites de referência descritos por KANEKO et al. (2008).

Tabela 1: Médias e desvio padrão dos valores séricos de proteínas totais, albumina e globulina de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Coletas (DPP)	Proteína Total		Albumina		Globulina	
	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle
15	83,4±10,1	76,2±9,5	30,8±1,3	30,7±6,1	52,7±10,7	45,5±7,4
30	81,3±11,1	76,8±6	28,8±3,5	27,2±5	52,5±10,6	49,6±5,2
45	81,1±6,8	78,7±7,3	28,6±1,6	26,3±4,1	52,4±7,3	52,4±3,7
75	84,6±9	78,1±6,1	30,1±0,9	27,2±3	54,5±8,5	51,0±4,2
90	89,7±11,5	84,6±3,9	31,4±4,6	30,3±3	58,3±8,6	54,3±5,0
105	84±8,5	81,2±4,9	29,2±3,2	29,9±3,7	54,8±6,7	51,4±4,5
120	70±0,9	66±1	25,5±6,8	27,5±15,6	44,7±3,6	38,1±24
135	69±1	73±0,4	28,7±3,1	29,2±5,1	40,7±9,3	43,3±2,9
150	73±0,6	78±1,8	30,8±2,6	30,7±1,8	42,3±6,5	47,2±17
180	74±0,5	68±0,4	35,7±17,5 ^a	26,2±4,3 ^b	38,5±18,4	42,2±4,4
Referência	66,4 a 74,6 g/L*		30,0 a 35,5 g/L*		30,8 a 34,8 g/L*	

* Kaneko et al. (2008)

PT: sem diferença significativa nos tempos e entre os tratamentos (p=0,924).

Albumina: diferença significativa entre os tratamentos aos 180 DPP (p=0,0317).

A PT no GOT manifestou-se de forma similar à albumina, exceto aos 180 DPP, enquanto que no GCT não houve similaridade, tendo aumentado dos 15 aos 45 dias, diminuído ligeiramente aos 75, se elevando até o valor máximo aos 90 dias (Figura 2). Na sequência a PT decresceu de forma semelhante ao GOT até o mínimo aos 120 DPP com elevação até 150 dias e novo decréscimo aos 180 dias. Não se observou diferença significativa entre os grupos em nenhum dos momentos de avaliação (Figura 2).

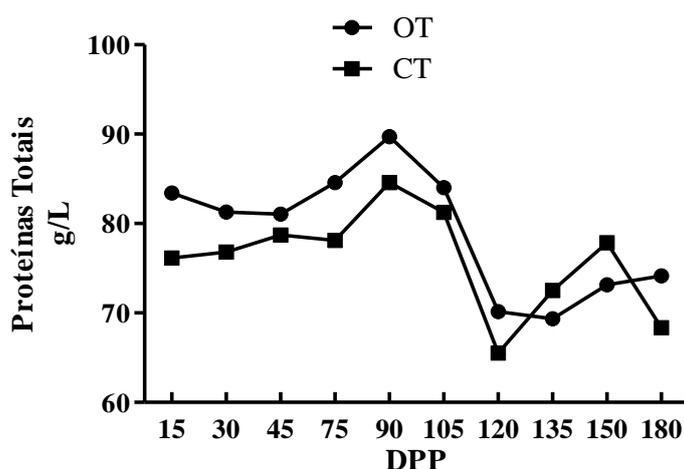


Figura 2: Valores séricos de proteínas totais de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

A hiperproteinemia segundo Meyer e Harvey (2004) pode ocorrer por desidratação ou aumento da síntese de globulinas. Valores de PT elevados foram relatados em vacas da raça holandesa no sul do Brasil, por Gonzalez et al. (1996) ($84,5 \pm 18$ g/L) e Maturama Filho (2009) ($77,6 \pm 12,96$ g/L). Em semelhança ao presente estudo, Ceballos et al. (2002) encontraram valores altos de PT ($80,0 \pm 1,0$ g/L), e globulinas ($49,0 \pm 13,0$ g/L) em vacas sadias, porém no final da lactação.

González e Rocha (1998) atribuíram a processos inflamatórios, como mastites ou endometrites, o aumento (23,3%) nos níveis de globulinas de vacas lactantes. Consistente com essas observações Costa et al. (2004) descreveram níveis de PT e globulinas mais elevados em vacas com mastite clínica (80,6 g/L; 51,9 g/L) situações que não ocorreram neste estudo.

A albumina em bovinos segundo Kaneko et al. (2008) varia fisiologicamente de 30,3 a 35,5 g/L. Dessa forma, os valores de albumina foram normais em ambos os grupos no início da lactação (15 dias), 90 e 150 dias pós-parto (DPP), e diminuídos no fim do primeiro mês e aos 45 DPP. A seguir, os teores de albumina foram diminuídos dos 105, 120 e 135 dias de lactação em ambos os grupos e aos 75 e 180 DPP no controle, estando aumentada no GOT na última avaliação (180 DPP) com diferença significativa em relação ao controle ($p=0,0317$).

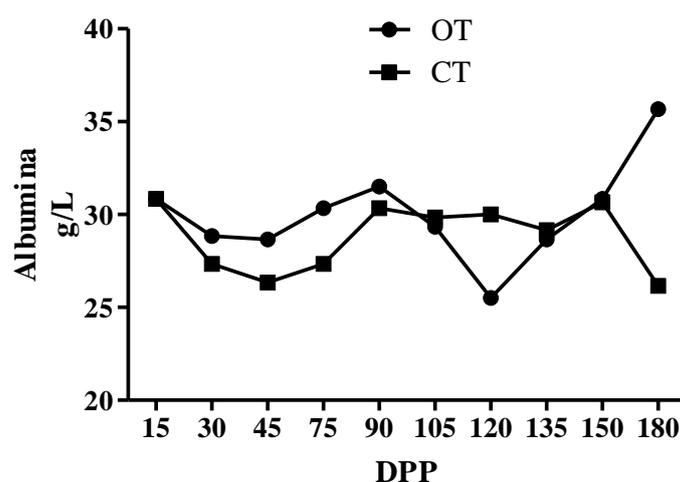


Figura 3: Valores séricos de albumina de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Em estudo recente (OLIVEIRA et al., 2014) vacas mestiças leiteiras com baixo escore corporal no periparto apresentam hipoproteïnemia com hipoalbuminemia com restabelecimento aos 30 DPP, mas não recuperaram sua condição corporal até o final do puerpério. Os valores encontrados ao parto foram inferiores aos do presente estudo, contudo neste estudo, os animais apresentavam boa condição corporal ao parto.

Além da disponibilidade de proteína na dieta, os níveis séricos de albumina podem sofrer interferência de alterações hepáticas, renais ou intestinais, bem como de hemorragias (KANEKO et al., 2008). Neste contexto, a redução da albumina a concentrações menores que 30,0 g/L no pós-parto, não esteve relacionada ao grave déficit nutricional de proteínas, visto que os valores de PT estavam elevados e a concentração de albumina variou apenas ligeiramente abaixo da normalidade e por períodos não prolongados, com recuperação subsequente.

Destaca-se que os teores de albumina foram menores no GOT aos 120 enquanto que no GCT uma redução similar ocorreu bem mais tarde (180 dias), mantendo-se dietas semelhantes para ambos os grupos. Os valores normais aos 15 dias da lactação sugerem disponibilidade adequada de proteína no período seco e alta demanda na lactação com reflexo no nível sérico de albumina ao final do primeiro mês.

A albuminemia segundo Wittwer et al. (1987) pode variar ao longo do ano em função das variações climáticas e seu efeito sobre as pastagens. No verão, podem ser encontrados altos níveis de albumina sérica, possivelmente devido a pastagens de melhor qualidade coincidindo com o início do período experimental (outubro) em que os valores de albumina foram normais em ambos os grupos.

Zambrano e Marques Júnior (2009) verificaram em vacas girolando, com ECC adequado na parição, uma queda na albumina durante o puerpério, com valores de $31,12 \pm 2,06$ g/L, $27,4 \pm 3,61$ g/L e $29,29 \pm 2,49$ g/L, respectivamente, no pré-parto, entre 17 e 78 e 110 e 153 DPP. Os valores citados foram equivalentes aos obtidos no presente estudo. Os autores sugeriram que a queda entre 17 e 78 DPP estaria relacionada conforme Wittwer (2000) com a quantidade de proteína na dieta, aumento na demanda de aminoácidos para a síntese de proteínas lácteas ou conforme Contreras (2000) com uma redução da capacidade de síntese no fígado devido ao acúmulo de gordura.

D'Angelino et al. (1975), Feitosa e Birgel (2000), Birgel Junior et al. (2003) e Souza et al. (2008) obtiveram em seus estudos, concentrações séricas médios de proteína total e albumina menores no puerpério recente. Diferentemente do observado por esses autores, os valores de albumina obtidos no presente estudo foram mais elevados no início da lactação e aos 150 dias. Birgel Junior et al. (2003) descreveram no pós-parto de vacas holandesas um quadro de hipoalbuminemia e relação albumina-globulina próxima do limite de quadros caracterizados por insuficiência hepática. Outros autores destacaram as variações que podem se apresentar com um manejo nutricional diferente (ANDRADE et al., 1998; OYARZUN, 1986), em função do nível de produção de leite (CALAMARI et al., 1989), do status de produção e da variação climática, entre outros fatores (WEBSTER, 1993).

De acordo com González (1997), nos estados infecciosos o aumento das globulinas inibe a síntese de albumina no fígado para manter constante o nível sérico proteico total, e a pressão osmótica sanguínea, e a albumina cai e enquanto as globulinas aumentam. Sendo os valores de albumina normais ou baixos e os de globulinas elevados, é provável a ocorrência de doenças infecciosas no rebanho em estudo.

Observou-se que as concentrações de globulinas neste estudo estiveram acima do limite de 34,8 g/L sugerido por Kaneko et al. (2008), em todos os momentos, e em ambos os grupos sem diferença significativa entre os tratamentos, não sendo possível atribuir ao efeito da aplicação de OT o aumento das PT e globulinas nos animais em estudo.

A hiperglobulinemia ocorre nas desidratações e em resposta a injúrias teciduais e/ou corpos estranhos (MEYER; HARVEY, 2000; THOMAS, 2000). Segundo Ramírez et al. (2001) a concentração de globulina nos animais em condições tropicais pode ser proporcionalmente maior que a concentração de albumina, como observado nesse estudo.

Os valores referenciados por D'Angelino et al. (1975), Feitosa e Birgel (2000), Birgel Júnior et al. (2003) e Souza et al. (2008) para PT no puerpério recente, respectivamente 58,7g/L, 76,3g/L, 73,5g/L e 75,6 g/L foram bem inferiores aos obtidos para o GOT (83,4 g/L) aos 15 DPP. No GCT a PT (76,2g/L), 15 DPP, foi semelhante aos valores obtidos por Feitosa e Birgel (2000) e próximos dos obtidos por Birgel Júnior et al. (2003) e Souza et al. (2008) neste mesmo período lactacional.

4.2.2. Ureia

Segundo Payne e Payne (1987) em ruminantes, a ureia é um dos principais indicadores do metabolismo proteico em curto prazo. Neste contexto, a ureia sanguínea na média ficou abaixo do limite de referência (23 mg/dL) no GOT somente aos 15 DPP (16,8 mg/dL) enquanto que no GCT os níveis de ureia foram baixos aos 15, 30 e 105 DPP (11,8, 17,7 e 18,3 mg/dL, respectivamente). Valores mais baixos em ambos os grupos aos 15 DPP são coerentes com relatos de González (1997) sobre a ureia sanguínea diminuir um pouco antes e logo após o parto, mesmo em vacas com adequado teor de proteína na dieta.

A ureia é sintetizada no fígado e de acordo com Wittwer et al. (1993) sua concentração sanguínea está diretamente relacionada com as concentrações de proteína e da relação energia/proteína da dieta. Assim, a redução da ingestão de energia eleva a concentração de ureia sanguínea por aumentar a concentração de amônia ruminal (WITTEWER, 2000). Como evidenciado na tabela 2 e figura 2, a ureia baixa no início da lactação não foi acompanhada por concentrações decrescidas de PT e albumina, o que pode ser justificado por suporte adequado de energia na dieta quando se observa as concentrações sanguíneas de colesterol.

Tabela 2: Médias e desvio padrão dos valores séricos de ureia de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Coletas (DPP)	Ureia	
	Ocitocina	Controle
15	16,8±6,2	11,8±6,6
30	30,3±9,8 ^a	15,7±10 ^b
45	43±17,3	26,2±10,3
75	41,7±14,1 ^a	27,5±5,6 ^b
90	30,8±10,1	33,5±22
105	27,3±7,5 ^a	18,3±5,4 ^b
120	31,7±7,6	24±9,1
135	36,5±7,9	32,7±8,6
150	38±6,4	35±10,1
180	43,5±18,9	31,7±16,8
Referência	23 a 58 mg/dL*	

* Kaneko et al. (2008)

Ureia: diferença entre os tratamentos aos 30 DPP (p=0,0267), 75 DPP (p=0,0452) e 105 DPP (p=0,0378).

Souza et al. (2008) sugeriram que as modificações no proteinograma ao puerpério deveriam ser consideradas como um reflexo da influência da gestação e da parição, de modo que, com o evoluir do puerpério, os valores retornariam aos patamares observados na metade inicial da gestação. Observou-se neste estudo (Figura 4), valores de ureia mais baixos no início da lactação e elevação especialmente no GOT em relação ao GCT aos 30 DPP (p=0,0267), 75 DPP (p=0,0452) e 105 DPP (p=0,0378) com valores mais elevados no GOT nestes momentos, sugerindo efeito do tratamento sobre o metabolismo proteico.

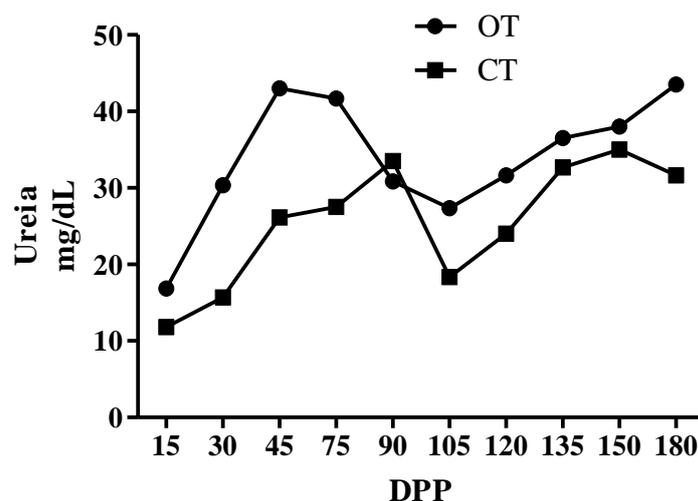


Figura 4: Valores séricos de ureia de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

4.2.3. Aspartato aminotransferase e Alanino aminotransferase

A atividade sérica da enzima AST no GOT quando comparada aos limites descritos por Kaneko et al. (2008) foi normal (valores entre $93,3 \pm 10,1$ e $100,8 \pm 40,5$ U/L), e alta no GCT aos 15 DPP (139 ± 49 U/L) e aos 135 DPP ($145,3 \pm 70,5$), mas sem diferença significativa entre os tratamentos ($p=0,1802$), o que também ocorreu em relação a atividade sérica da ALT em todo o período ($p=0,286$) (Tabela 3).

Tabela 3: Médias e desvio padrão dos valores séricos das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Coletas (DPP)	AST		ALT	
	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle
15	$99 \pm 27,6$	$138,5 \pm 48,6$	$13,5 \pm 2,9$	$15,7 \pm 3,2$
30	$96,8 \pm 43,6$	$93,5 \pm 12,8$	$15,3 \pm 4,3$	$15,0 \pm 4,4$
45	$100,8 \pm 40,5$	$91,5 \pm 14,1$	$12,5 \pm 4,1$	$13,2 \pm 2,1$
75	$95,8 \pm 22,2$	$109,2 \pm 18,5$	$13,7 \pm 3,7$	$17,2 \pm 5,7$
90	97 ± 11	$121,2 \pm 54$	$12,7 \pm 2,2$	$12,5 \pm 3,6$
105	$93,3 \pm 10,1$	$98,7 \pm 13,1$	$14,3 \pm 2,9$	$17,5 \pm 5,8$
120	$97,5 \pm 19,5$	$122,3 \pm 36,5$	$23,7 \pm 4,8$	$27,5 \pm 3,3$
135	$103,5 \pm 21,4$	$145,3 \pm 70,5$	$27,5 \pm 8,1$	$27,5 \pm 3,5$
150	$95,8 \pm 12,7$	$131 \pm 59,3$	$24,5 \pm 5,4$	$25,8 \pm 3,7$
180	$89,2 \pm 15$	$101,5 \pm 30$	$28,8 \pm 15,1$	$20,5 \pm 4,6$
Referência	78 a 132 U/L*		11 a 40 U/L*	

* Kaneko et al. (2008)

AST: sem diferença significatova entre os tempos e tratamentos ($p=0,1802$)

ALT: sem diferença significativa entre os tempos e tratamentos ($p=0,2863$)

Ao avaliar a atividade sérica das aminotransferases AST e ALT observa-se que não houve alteração relevante do funcionamento hepático, sendo a redução da albumina no primeiro mês, a única alteração importante, relacionada provavelmente à demanda da lactação. Concentração de albumina diminuída com valores de ureia normais ou elevados juntamente com a atividade das enzimas hepáticas elevada, são indicadores de falha hepática o que não se confirmou, visto que a ureia permaneceu normal na maioria do tempo e a atividade sérica das enzimas AST e ALT foi normal em todo o período, exceto no GCT aos 15 e 135 DPP. Em conjunto, os valores de PT, albumina e ureia não apontam para déficit de proteína na dieta.

Confrontando os dados com os registrados na literatura para animais da raça holandesa com até 10 dias do parto ($47,85 \pm 11,8$ U/L) e entre 30 e 45 dias de lactação ($38,94 \pm 8,2$ U/L) encontrados por Souza et al. (2008), os valores séricos de AST foram elevados em ambos os grupos em todos os momentos.

Souza et al. (2008) sugeriram que o aumento no pós-parto pode estar relacionado ao esforço muscular durante a parição, o que provocaria a lise de fibras musculares e aumentaria as concentrações séricas na fase inicial do puerpério, porém, em virtude da meia-vida desta enzima ser curta (AST - 2,5 horas) os valores deveriam estar diminuídos aos 15 DPP, não sendo esta a causa provável para os valores iniciais obtidos no presente estudo.

Mundim et al. (2007) observaram uma maior atividade da AST em animais no estágio inicial e redução com o avançar da lactação sugerindo que a maior atividade da AST estaria relacionada ao comprometimento da função hepática. A atividade da AST tem sido utilizada como indicador do aumento da gliconeogênese que em ruminantes está diretamente relacionada à função hepática.

De acordo com Reid et al. (1986), as concentrações séricas de AST em conjunto com AGNE e a glicemia podem ser utilizados para estimar a extensão da infiltração de gordura no tecido hepático. Entretanto, Moore (1997) relatou que o diagnóstico definitivo da síndrome do fígado gordo em vacas leiteiras só pode ser feito por histopatologia hepática, podendo apenas ser sugerido pela análise das enzimas hepáticas.

Neste estudo, os valores de AST foram sempre próximos de 100 U/L (Figura 3), ficando acima desse valor em diversos momentos, sugerindo conforme González et al. (2009) a ocorrência de lesão hepática devido à esteatose. No entanto, segundo Wittwer (2000) a concentração para considerar a possibilidade de lesão hepato-celular secundária e/ou excessiva mobilização lipídica é superior a 120 U/L. Portanto, a lesão hepática é possível no GOT aos 45 e 135 DPP segundo González et al. (2009) e provável no GCT aos 15, 75, 90, 120 a 180 DPP considerando os limites sugeridos por Wittwer (2000) e González et al. (2009).

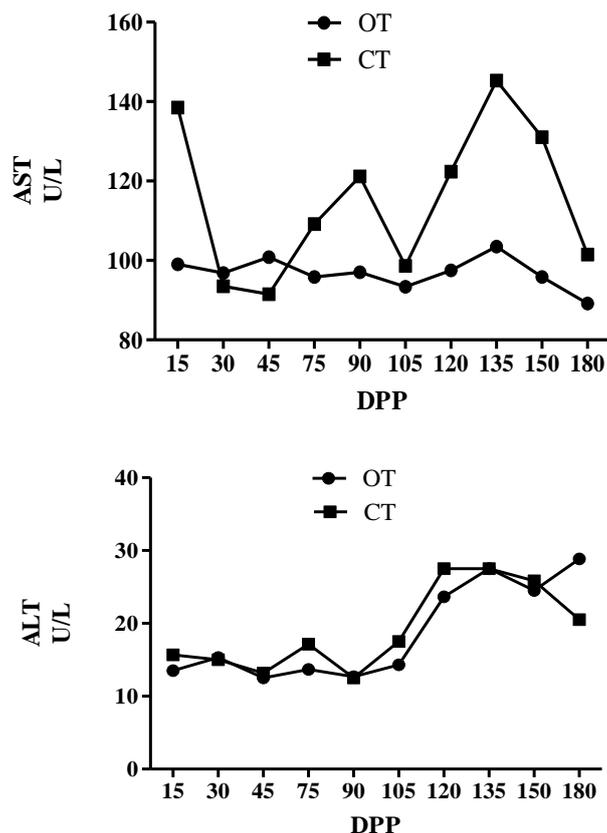


Figura 5: Valores séricos da atividade das enzimas aspartato e alanino aminotransferase de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Estudando o efeito do período de lactação sobre a concentração plasmática de AST em vacas da raça holandesa, Santos (1998) encontrou os seguintes valores em seus respectivos períodos de lactação: 27,8 UI/L (1-28 dias pós-parto), 28,9 U/l (29-56 dias pós-parto), 30,5 UI/L (57-140 dias pós-parto), 30,1 UI/L (141-280 dias pós-parto) e 26,8 U/L (período seco), valores estes bem inferiores aos do presente estudo.

Souza (1997) encontrou valores de AST para animais da raça gir (35,3 ± 0,99 UI/L) e holandesa (36,3 ± 1,26 UI/L) relativamente semelhantes. Posteriormente Souza et al. (2001) obtiveram concentrações ligeiramente inferiores para a raça holandesa (34,76 ± 10,61UI/L) e com discreta elevação para as raças jersey (49,27 ± 17,87UI/L) e girolando (38,0 ± 0,90 UI/L) mas, sempre decrescidas em relação ao presente estudo nos diferentes momentos de avaliação.

Os valores de AST neste estudo foram também maiores que os encontrados por Ceballos et al. (2002) nos períodos pré-parto (78 ± 27 UI/L), início da lactação (78 ± 26 UI/L) e final da lactação (81 ± 33 UI/L).

4.2.4. Bilirrubinas

A possibilidade de alteração da função hepática não foi corroborada pela variação das concentrações séricas das bilirrubinas total, direta e indireta (Tabela 4), as quais permaneceram dentro dos limites de normalidade em todo o período. Contudo em relação à bilirrubina direta houve diferença entre tratamentos aos 30 (p=0,0495) e 105 DPP (p=0,0460).

Tabela 4: Médias e desvio padrão dos valores séricos da bilirrubina total, direta e indireta de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não com (CT) ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Coletas (DPP)	Bilirrubina Total		Bilirrubina Direta		Bilirrubina Indireta	
	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle
15	0,37 ± 0,19	0,33 ± 0,23	0,25 ± 0,03	0,28 ± 0,12	0,12±0,2	0,05±0,13
30	0,38 ± 0,12	0,25 ± 0,08	0,36 ± 0,04 ^a	0,26 ± 0,05 ^b	0,02±0,08	-0,01±0,07
45	0,25 ± 0,12	0,12 ± 0,08	0,12 ± 0,05	0,14 ± 0,03	0,14±0,15	-0,03±0,05
75	0,38 ± 0,19	0,37 ± 0,14	0,24 ± 0,09	0,21 ± 0,08	0,15±0,12	0,16±0,07
90	0,48 ± 0,15	0,45 ± 0,1	0,26 ± 0,07	0,23 ± 0,05	0,23±0,1	0,22±0,06
105	0,22 ± 0,04	0,18 ± 0,04	0,14 ± 0,02 ^a	0,1 ± 0,03 ^b	0,08±0,03	0,08±0,04
120	0,28 ± 0,08	0,27 ± 0,05	0,15 ± 0,04	0,14 ± 0,02	0,12±0,05	0,13±0,05
135	0,28 ± 0,08	0,25 ± 0,05	0,16 ± 0,04	0,12 ± 0,03	0,13±0,04	0,11±0,06
150	0,52 ± 0,04	0,67 ± 0,46	0,14 ± 0,03	0,15 ± 0,03	0,38±0,03	0,52±0,42
180	0,45 ± 0,08	0,43 ± 0,08	0,2 ± 0,04	0,19 ± 0,02	0,25±0,05	0,25±0,06
Referência	0,01 a 0,50 mg/dL*		0,04 a 0,44 mg/dL*		0,03 mg/dL*	

*Kaneko et al. (2008)

Bilirrubina direta: diferença significativa entre os tratamentos aos 30 (p=0,0495) e 105 DPP (p=0,0460)

Bilirrubina total: sem diferença significativa entre os tempos e os tratamentos (p=0,792)

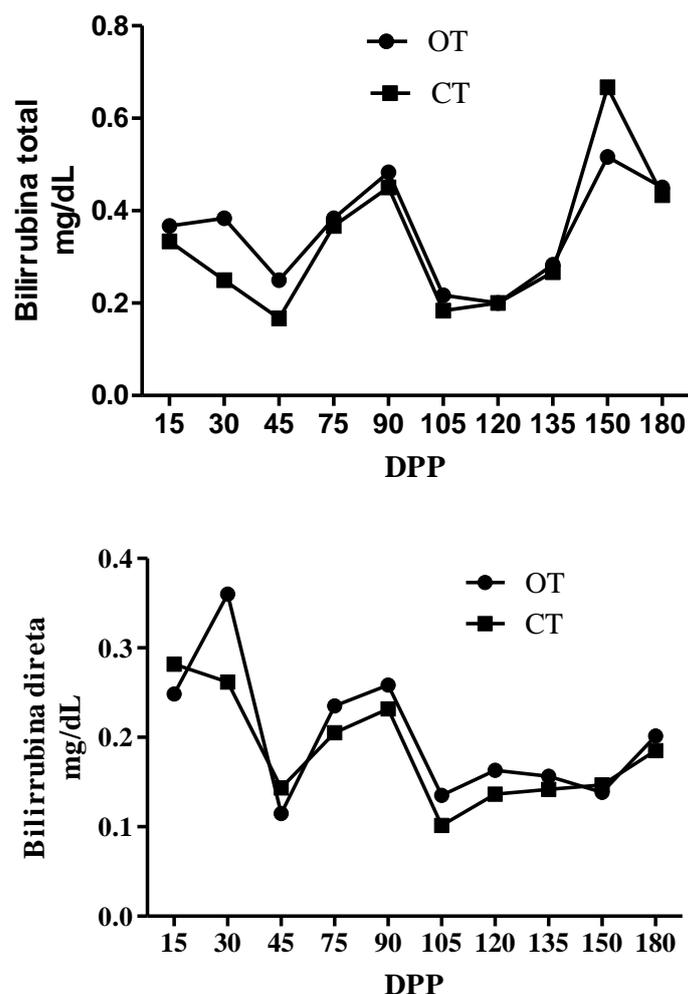


Figura 6: Valores de bilirrubinas total e direta de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) de ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

4.3. Metabolismo Energético

4.3.1. Glicose

O início da lactação está associado a um BEN durante o qual o consumo de energia é inferior às exigências energéticas demandadas para a produção de leite. Praticamente todas as vacas leiteiras, especialmente as de alta produção estão em BEN do início do parto ao pico de lactação (SMITH, 2006). Dessa forma esperava-se que a glicemia estivesse menor nos animais de ambos os grupos, especialmente até os 60 DPP. Contudo, a glicemia apresentou-se normal em ambos os grupos no início da lactação e em queda progressiva e constante de 15 a 120 DPP em ambos os grupos (Tabela 5) exceto aos 75 dias no GOT. Os valores foram inferiores ao limite de 42 mg/dL estabelecidos por Fraser (1991) dos 90 aos 180 DPP e segundo Kaneko (2008) ocorreu hipoglicemia dos 45 DPP aos 180 dias em ambos os grupos.

Tabela 5: Médias e desvio padrão dos valores séricos de glicose, de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Glicose		
Coletas (DPP)	Ocitocina	Controle
15	54 ± 15,9	47,8 ± 9,9
30	61 ± 9,8	52,8 ± 14
45	42,3 ± 8,6	44,2 ± 11,2
75	44,2 ± 14,5	40,5 ± 5,2
90	37,5 ± 14,7	25,0 ± 28,4
105	29,8 ± 12,7	25,3 ± 21,8
120	36,0 ± 18,8	26,3 ± 13,4
135	28,8 ± 10,3	20,8 ± 12,4
150	21,5 ± 17,4	20,5 ± 19,5
180	24,5 ± 20,9	38,8 ± 19,6
Referência	45 a 75 mg/dL *	50 mg/dL**

*Kaneko et al. (2008); González e Silva (2006), ** Radostits et al. (2007)

Sem diferença significativa entre os tratamentos (p=0,0638)

Não se observou efeito relevante da aplicação de OT sobre a glicemia visto que o comportamento da glicose foi semelhante em ambos os grupos e sem diferença significativa entre os tratamentos (p=0,638).

Contrariando observações de Dhiman; Kleinmans e Tessmann (1991) sobre hipoglicemia mais acentuada no início lactação, no presente estudo, a glicemia foi mais baixa após o pico de lactação (150 DPP) em ambos os grupos. A influência do puerpério e/ou início da lactação em decorrência da alta demanda de glicose para a síntese de lactose sobre a glicemia destacada por diferentes autores (VAZQUEZ-AÑON et al., 1994; KAPPEL et al., 1984; BLUM et al., 1983; SCHWALM; SCHULTZ, 1976) não foi evidenciada nos resultados da presente pesquisa quando se considera os valores abaixo da normalidade após os 45 dias do parto.

Souza (2005) verificou que o puerpério e a fase pós-puerperal não influenciaram os teores plasmáticos da glicose, que em semelhança ao presente estudo, foram decrescentes até o final da lactação. Os teores plasmáticos de glicose encontrados por Souza (2005) em vacas com menos de 30 dias de evolução do puerpério (66,73 ± 5,95 mg/dl) foram superiores aos do presente estudo, os quais estiveram dentro da faixa de normalidade sugerida por Kaneko et al. (2008).

O efeito do puerpério sobre a glicemia foi evidenciado por Souza; Birgel Júnior (2009), que obtiveram os menores teores plasmáticos de glicose em vacas de 0 a 10 DPP (53,20 ± 9,44 mg/dL), valores estes normais e próximos dos encontrados no presente estudo em vacas com 15 dias de lactação no GOT (54±15,9 mg/dL).

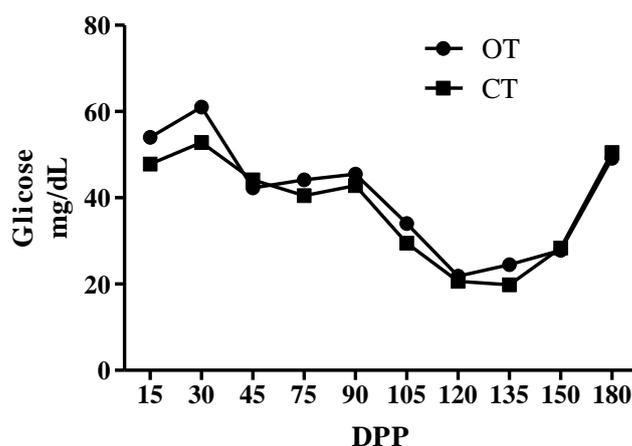


Figura 7: Valores séricos de glicose de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

4.3.2. Ácidos graxos não esterificados (AGNE)

Além da glicose, os principais metabólitos indicados para avaliar o balanço energético são os AGNE, o β -HOB, o colesterol e os triglicerídeos (AEBERHARD et al., 2001; KIDA, 2003; LAGO et al., 2004; CAMPOS et al., 2007; POGLIANI et al., 2010; GARCÍA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2014). Segundo González, (2000) os níveis de AGNE e β -HOB estão relacionados com a taxa de mobilização de reservas de gordura e são os indicadores mais usados para aferir o BEN.

No início da lactação há uma redução fisiológica da ingestão de matéria seca e aumento da demanda de glicose para a produção de leite. Nesta situação desencadeia-se o BEN e ocorre estímulo para a mobilização de reservas corporais, com a ativação da lipólise. São esperados valores elevados de AGNE e corpos cetônicos, especialmente o β -HOB no sangue (CORRÊA et al., 2010).

No presente estudo, os níveis de AGNE foram normais em ambos os grupos no início da lactação (Tabela 6).

Dos 15 aos 30 DPP observou-se uma ligeira queda dos AGNE no GOT e nos controles concordando com um ligeiro aumento da glicemia nesses momentos em ambos os grupos. Também o β -HOB diminuiu em ambos os grupos aos 30 dias mantendo-se relativamente estável até os 105 DPP no GCT.

Os valores de β -HOB foram normais, ligeiramente elevados ou altos segundo o valor de referência utilizado. De acordo com González e Silva (2006) que citaram valores de até 0,97mmol/L para o β -HOB, no GOT este metabólito esteve elevado no sangue aos 15, 30, 75 e 105 DPP.

Os AGNE apresentaram-se com níveis acima de 0,40 mmol/L, sugerido como o limite da normalidade por Kaneko et al. (2008), aos 45 e dos 135 aos 180 DPP no grupo que recebeu OT e dos 135 aos 180 dias no GCT, tendo ocorrido o mesmo nas concentrações de β -HOB nos mesmos períodos, além da hipoglicemia, caracterizando o BEN típico do puerpério e as alterações metabólicas da cetose. Em nenhum desses momentos os animais apresentaram sinais clínicos da cetose. Contudo aos 135 houve uma queda da produção de leite que pode estar relacionada ao BEN acentuado (Tabela 6).

Tabela 6: Médias e desvio padrão dos valores séricos de ácidos graxos não esterificados (AGNE), beta-hidroxibutirato (β -HOB) e relação AGNE/Colesterol, de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Coletas (DPP)	AGNE		β -HOB		Relação AGNE/Colesterol	
	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle
15	0,26±0,27	0,38±0,579	1,08±0,21	0,91±0,06	0,05	0,12
30	0,16±0,06	0,13±0,031	0,98±0,03	0,89±0,04	0,03	0,04
45	0,48±0,63	0,14±0,054	0,88±0,07	0,86±0,14	0,08	0,04
75	0,34±0,54	0,11±0,011	1,26±0,79	0,89±0,03	0,06	0,03
90	0,35±0,46	0,30±0,430	0,88±0,12	0,86±0,12	0,06	0,07
105	0,14±0,04	0,29±0,410	1,27±0,87	0,85±0,05	0,02	0,06
120	0,40±0,51	0,12±0,023	0,90±0,09	0,91±0,06	0,12	0,18
135	0,54±0,10	0,61±0,067	0,67±0,05	0,67±0,04	0,09	0,13
150	0,54±0,08	0,57±0,124	0,70±0,08	0,72±0,045	0,09	0,15
180	0,58±0,07	0,60±0,138	0,75±0,12	0,66±0,033	0,12	0,15
Referência	0,25 a 0,4 mmol/L*		0,41 mmol/L*			
	Até 0,7mmol/L**		0,8 mmol/L***			
			<0,97mmol/L****			

* Kaneko et al. (2008)

** Cameron et al. (1998), Ospina et al. (2010a, b), Chapinal et al. (2011), Roberts et al. (2012)

***Favreto (2001)

****González e Silva (2006)

AGNE: sem diferença significativa entre os tratamentos (p=0,4816)

β -HOB: sem diferença significativa entre os tratamentos (p=0,0750)

Níveis de AGNE no sangue acima de 0,5 mmol/L, como observado dos 135 aos 180 dias em ambos os grupos, sugere de acordo com Duffield et al. (2004) o risco para o desenvolvimento de doenças relacionadas ao BEN concordando com os menores valores da glicose. Contudo, os níveis de β -HBO foram normais nesse período. A manutenção do BEN após o pico de lactação é incomum, divergindo do conceito de balanço energético positivo com o progresso da lactação e retorno ao processo anabólico após o pico de lactação quando fisiologicamente aumenta a capacidade de ingestão de matéria seca e diminui a demanda de glicose. É possível que a mobilização de reservas corporais tenha sido mais intensa e antecipada no grupo OT em relação ao CT.

Em nenhum momento as concentrações de AGNE ficaram acima do limite de 0,7 mmol/L indicado por Cameron et al. (1998), Ospina et al. (2010a, 2010b), Chapinal et al. (2011) e Roberts et al. (2012) nos dois grupos e não se observou diferença significativa entre os tratamentos em nenhum momento (p=0,4816).

Dos 30 para os 45 DPP ocorreu o aumento do AGNE em ambos os grupos. Nesse período ocorreu diminuição glicose sérica, provavelmente pelo aumento da produção de leite e provável incremento da mobilização de reservas corporais.

A maior mobilização lipídica, evidenciada pela relação AGNE:colesterol descrita por Ndvolu et al. (2007), ocorreu de 120 a 180 DPP em ambos os grupos. Este dado coincide as concentrações decrescidas de glicose e triglicerídeos e elevadas de AGNE.

A produção de corpos cetônicos pelo fígado tem como principal objetivo fornecer um nutriente alternativo à glicose, para os tecidos extra-hepáticos e síntese de gorduras do leite, mantendo-se assim a glicose disponível para a síntese de lactose e atividade de tecidos dependentes do fornecimento constante e adequado de glicose. Dos 60 aos 90 dias que corresponde ao pico de lactação (75 a 90 DPP, neste estudo), a glicemia no GOT diminuiu para níveis abaixo da normalidade, os AGNE mantiveram-se estáveis ao mesmo tempo em que o β -HBO diminuiu. No grupo CT, a glicose e o β -HBO decresceram e os AGNE elevaram-se. Segundo Alves et al. (2009) existem quatro caminhos possíveis para o AGNE no fígado: oxidação completa, oxidação incompleta (formação de corpos cetônicos), síntese de triglicerídeos e síntese de VLDL. Dessa forma, no GOT as rotas seguidas pelos AGNE foram a oxidação completa (fornecimento de energia), síntese de triglicerídeos (de 25,3 para 32,2 mg/dL) e consequente VLDL (5,1 para 6,4mg/dL).

Segundo Grande e Santos (2005) os AGNE e o β -HBO apresentam elevada variação diária em função do tempo de ingestão e estresse o que pode em parte justificar as divergências observadas no presente estudo.

Foi descrito (CORRÊA et al., 2010) que os AGNE apresentam um pico próximo ao parto, combinando com a queda da glicemia e o aumento da mobilização de reservas corporais (JENKINS; JENNY, 1989). Os dados aqui obtidos diferem das observações desses autores sobre o momento de maior demanda de glicose e hipoglicemia.

Os valores de AGNE, nas vacas mestiças leiteiras com baixo escore corporal avaliadas por Oliveira et al. (2014) foram semelhantes aos encontrados por González et al. (2009), em vacas holandesas de alta produção (0,536 mmol/L), com média de 40 litros no primeiro mês de lactação, bem acima da produção média das vacas mestiças avaliadas neste estudo. Os valores de AGNE no presente estudo ficaram abaixo dos obtidos por estes autores até os 120 DPP em ambos os grupos.

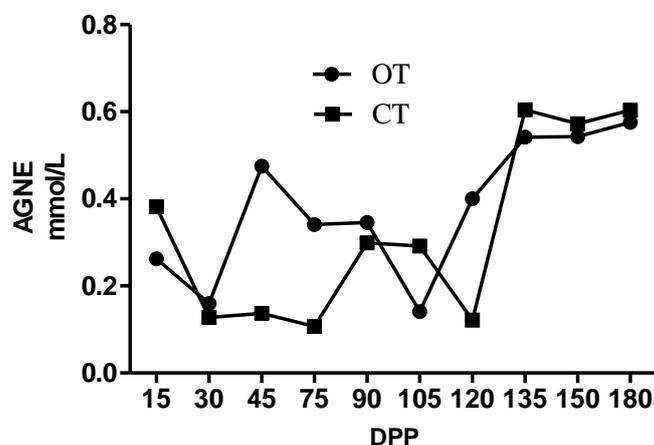


Figura 8: Valores séricos de AGNE de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

4.3.3. Betahidroxibutirato (β -HBO)

Segundo Kaneko et al. (2008) as concentrações de β -HBO foram elevadas tanto no GOT quanto no GCT em todos os momentos demonstrando que os animais estiveram em constante mobilização lipídica.

Geishauser et al. (1998) consideraram as concentrações de β -HBO normais quando inferior a 1,0 mmol/L. Dessa forma, segundo esse autor o β -HBO foi normal nos animais do GCT em todos os momentos e elevado no grupo OT aos 15, 75 e 105 dias de lactação, quando esteve também maior que limite descrito por Pogliani e Birgel Júnior (2007) (0,579 a 1,066mmol/L) e acima do limite descrito por Favreto (2001) de 15 a 120 DPP (0,8 mmol/L). Contudo, em função da grande variação individual, não ocorreu diferença estatisticamente relevante entre os tratamentos ($p=0,0750$).

Observou-se no presente estudo que os teores de AGNE, β -HBO e triglicerídeos não apresentam comportamento concordante com a glicemia.

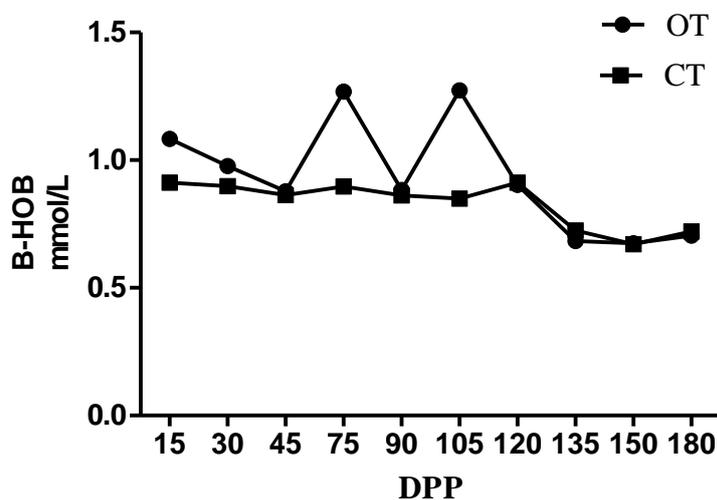


Figura 9: Valores séricos de β -HOB de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Alvarenga et al. (2015) ao avaliarem o perfil metabólico de vacas da raça holandesa durante o período de transição encontraram valores mais elevados de AGNE (5 dias) e β -HBO (21 dias) no pós-parto e não houve diferença entre os valores no pré-parto e no pós-parto. Os resultados corroboram com observações de Contreras et al. (2010), sobre as máximas concentrações de AGNE e β -HBO na primeira semana após o parto. O aumento do β -HBO é esperado como parte da resposta metabólica ao aumento na exigência energética para produção leiteira e no BEN (VÁSQUEZ-AÑÓN et al. 1994, CONTRERAS, 2000; WITTWER, 2000) e os valores mais altos até os 105 DPP no GOT se justificam pela máxima demanda de energia no pico de lactação dos animais em estudo.

O aumento de β -HBO se deve à mobilização de triglicerídeos do tecido adiposo, e deve ser acompanhado de alta concentração sérica de AGNE que é substrato para a cetogênese. O BEN não foi acompanhado do aumento dos AGNE e β -HBO e variação significativa do escore corporal nos períodos de maior concentração destes metabólitos no

sangue, e não houve correlação com a glicemia que foi progressivamente diminuindo do parto aos 150. Observa-se que não houve relação do escore corporal com os indicadores do metabolismo energético, como é descrito na literatura.

A primeira coleta no presente estudo foi realizada aos 15 dias de lactação, não permitindo identificar se o valor máximo de AGNE ocorreu na primeira semana como indicado por outros autores. Contudo, os dados do presente estudo se assemelham aos de Alvarenga et al. (2015) pela divergência entre os picos de concentração de AGNE e β -HBO. Há uma aparente incoerência visto que os corpos cetônicos são sintetizados a partir da AcetilCoA formada por beta oxidação dos ácidos graxos. Esperava-se, portanto que os picos fossem coincidentes. Sugere-se que os corpos cetônicos produzidos em baixa quantidade estariam sendo utilizados como fonte de energia e síntese de gordura do leite e por esse motivo não se elevaram no mesmo momento em que os AGNE, e posteriormente a produção de β -HBO superou a capacidade de utilização, para produção de energia, resultando em valores séricos elevados como descrito por Kaneko et al., (2008), Sejrnsen et al. (2006), Smith (2006), dentre outros.

Há ainda que se considerar as variações individuais, raciais, produtivas e de manejo sobre a variação dos metabólitos séricos. Nesse sentido, Campos et al. (2005) relataram que os maiores valores de β -HBO ocorreram na oitava semana, concordando com o pico da lactação dos animais estudados. Em condições tropicais na Colômbia com diversos grupos raciais (CAMPOS et al., 2007) o valor médio de β -HBO foi significativamente maior em animais da raça girolando, como no presente estudo.

Trabalhando com vacas da raça holandesa, Santos (1998) encontrou entre as fazendas estudadas variação significativa na concentração plasmática de β -HBO, concluindo que a alimentação de vacas leiteiras no final do período seco e início do período de lactação, afeta profundamente a magnitude do balanço energético, e conseqüentemente da concentração plasmática de β -HBO. Em trabalho realizado por Campos et al. (2007), animais que apresentaram condição corporal mais elevada no período seco, mostraram valores mais altos de β -HBO, contudo, os valores de β -HBO se encontraram dentro dos valores de referência.

4.3.4. Colesterol total e HDL

Segundo Kaneko et al. (2008) os valores séricos normais de colesterol total no soro de bovinos variam entre 80 e 120 mg/dL. O limite máximo de normalidade segundo o manual Merk de Veterinária (1997) é superior (192,5 mg/dL) e os valores obtidos para o GCT neste trabalho se enquadram nesse campo de variação. O colesterol ultrapassou o limite de 120mg/dL em todo o período no GOT e ficou acima de 192,5 mg/dL (MANUAL MERK, 1997) dos 15 aos 150 DPP (Tabela 7).

Tabela 7: Médias e desvio padrão dos valores séricos colesterol e HDL, de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Coletas	Colesterol		HDL	
	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle
15	205±44,7 ^a	126,2±63 ^b	81,2±10	69±23,7
30	209,7±32,8 ^a	113,8±33 ^b	84,7±6,6 ^a	73,7±10,1 ^b
45	224,8±22,4 ^a	133,8±46,5 ^b	60,9±28,9	46,5±26,8
75	230±29,8 ^a	146,9±51,1 ^b	74,6±19,4	48,3±23,2
90	230,5±21,5 ^a	156,5±46,7 ^b	69,9±19,9	63,9±45,4
105	221,5±32,3	189,8±34,2	75,7±17 ^a	48,5±17,5 ^b
120	242,5±60,8 ^a	181,2±68 ^b	159,7±39	121,3±41,4
135	246,2±18,7	181,5±59,1	170,1±34,9	140,3±39,5
150	222,8±22,2 ^a	146,3±54 ^b	164±21,2	129,2±32,7
180	182,7±26,8 ^a	152,3±39,8 ^b	117,8±36	97,2±43,3
Referência	80 a 120 mg/dL*		47 a 90mg/dL**	

*Kaneko et al. (2008); González e Silva (2006)

**Cerri et al (2009) e Maturana Filho (2009)

Colesterol: diferença significativa entre os tratamentos aos 15 (p=0,0315), 30 (p=0,0005), 45 (p=0,0001), 75 (p=0,0063), 90 (p=0,0054), 120 (p=0,0326), 150 (p=0,0285) e 180 DPP (p=0,0093).

HDL: diferença significativa entre os tratamentos aos 30 (p=0,0495) e 105 DPP (p=0,0210).

As concentrações de colesterol total obtidas para o GCT foram próximas das encontradas por Maia (2013) e Silano (2014) em experimento com vacas lactantes. Resultados superiores foram encontrados por López et al. (2004); Freitas Júnior et al. (2010); Barletta et al. (2012) e Naves et al. (2013), que relataram concentrações de colesterol total entre 187,56 e 310,36 mg/ dL.

A alta concentração de AGNE no soro é o resultado da mobilização da gordura corporal em resposta ao BEN. Os AGNE são convertidos via beta-oxidação em Acetil-CoA que pode entrar no ciclo de Krebs para produção de energia, sofrer esterificação com produção de triglicerídeos ou ser desviada para a formação de corpos cetônicos (KANEKO et al. 2008; SEJRSEN et al. 2006; SMITH 2006). Dessa forma, com a mobilização das reservas corporais há aumento não só de AGNE e β -HBO, mas também de triglicerídeos e colesterol.

Os valores de colesterol obtidos foram altos e crescentes no GCT até os 105 DPP (126 a 189 mg/dL) e no GOT até os 90 DPP (205 a 230,5 mg/dL) e novamente aos 120 DPP condizentes com a curva decrescente da glicemia. Embora sem diferença significativa entre os grupos quanto à glicemia, observou-se diferença significativa nos valores de colesterol entre tratamentos aos 15 (p=0,0315), 30 (p=0,0005), 45 (p=0,0001), 75 (p=0,0063), 90 (p=0,0054), 120 (p=0,0326), 150 (p=0,0285) e 180 DPP (p=0,0093), sendo estes sempre mais elevados no GOT.

No GCT houve um aumento marcante do colesterol entre 90 e 105 dias de lactação indicando mobilização de reservas lipídicas em maior intensidade que no GOT, coincidindo com a queda da glicemia e níveis estáveis de AGNE e β -HBO (Figura 10).

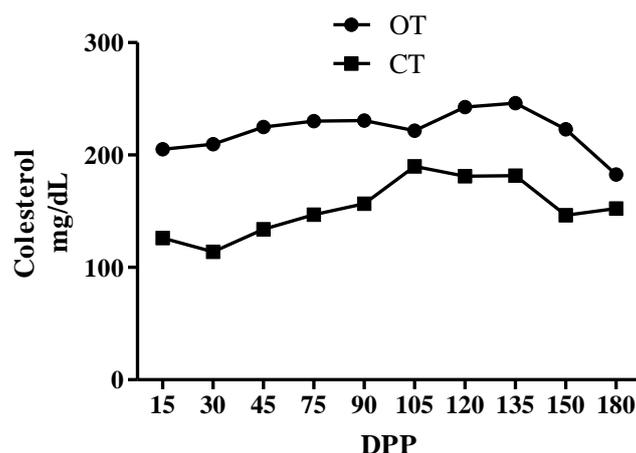


Figura 10: Valores séricos de colesterol de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

O colesterol em vacas sadias no início da lactação segundo Gonzalez et al. (1996) e Maturana Filho (2009) são superiores aos de referência (KANEXO et al., 2008) e variam entre 106 e 152 mg/dL. Segundo Wittwer (2000), na lactação o nível de colesterol sanguíneo esperado é de 104 a 204 mg/dL. Observa-se que os valores de colesterol obtidos quando comparados com os limites sugeridos por Wittwer (2000) para vacas em lactação foram elevados no GOT e normais no GCT em todos os momentos.

Em semelhança aos resultados obtidos Kappel et al. (1984), Costa (1991), Gueorguieva e Gueorguiev (1997) e Souza (2005) os teores séricos de colesterol aumentaram gradativamente, com a evolução da lactação. Também Alvarenga et al. (2015) observaram aumento progressivo nas concentrações séricas médias de colesterol após o parto (79,86 mg/dL) até a concentração mais elevada (150,34mg/dL) aos 21 dias pós-parto. Margolles (1983) destacou que o colesterol aumenta progressivamente até a décima semana pós-parto e volta a cair o que não ocorreu neste estudo.

Costa (1991) estudou a influência do puerpério nos teores séricos de colesterol de bovinos da raça holandesa e encontrou valores mais baixos aos 10 dias ($91,1 \pm 21,0$) e mais elevados ($133,0 \pm 25,8$) entre 20 e 30 dias após o parto, valores estes mais baixos que os obtidos no GOT e próximos dos encontrados no GCT.

Campos et al. (2007) que avaliaram o metabolismo energético de vacas holandesas, nas semanas 2, 5, 8 e 11 do pós-parto, encontraram ampla variação dos níveis de colesterol de forma crescente a medida que avançou a lactação. Neste contexto, os valores aqui obtidos se assemelham aos resultados de Margolles (1983) e Campos et al. (2007) crescentes com a progressão da lactação. Os valores do grupo OT foram mais elevados que os do GCT e maiores que os registrados por Pogliani (2006) em vacas da raça holandesa até a primeira semana pós-parto (94,63-146,93 mg/dL), que os encontrados por Pogliani et al. (2010) em vacas com até 30 dias de lactação (104,43 mg/dL) e os relacionados por Cerri et al. (2009), Maturana Filho (2009), Grummer e Carrol (1988) e Arave et al. (1975). Pogliani et al. (2010) observaram que os teores séricos de colesterol oscilaram entre $92,42 \pm 19,73$ mg/dl e $129,97 \pm 63,12$ mg/dl, abaixo dos valores encontrados no grupo tratado com OT no presente estudo.

Os valores altos e relativamente constantes de colesterol no GOT desde os 15 DPP indicam conforme Ingraham e Kappel (1988) e González e Rocha (1998) maior capacidade da vaca em produzir leite, uma vez que reflete a capacidade de mobilização de gordura corporal para a lactogênese.

Apesar de menos preciso que os AGNE e o β -HBO, o colesterol é um indicador confiável do metabolismo lipídico no fígado, particularmente da exportação de lipídios na forma de HDL (HOCQUETTE; BAUCHART, 1999). Dessa forma, reforçam-se as indicações de outros metabólitos da maior mobilização de reservas corporais nos animais do GOT.

Corroborando observações de Cerri et al. (2009) e Maturana Filho (2009) que em vacas sadias no início da lactação o HDL deve estar entre 47 e 90 mg/dL, os animais dos grupos OT e controle apresentaram valores nessa faixa de variação entre 15 e 105 DPP, sendo mais altos a seguir em ambos os grupos.

Da mesma forma que o colesterol total, o HDL apresentou níveis séricos mais altos no GOT em todos os momentos e mais elevado dos 120 aos 150 DPP em ambos os grupos.

A lipoproteína HDL não apresentou a mesma dinâmica do colesterol. Sendo esta a principal carreadora do colesterol no sangue (BAUCHART, 1993; GONZÁLEZ; SILVA, 2006, KANEKO et al., 2008), deveria ter acompanhado o colesterol com aumento progressivo ao longo da lactação. A concentração sérica da HDL que tem como objetivo minimizar os efeitos deletérios do colesterol (GONZÁLEZ; SILVA, 2006) apresentou relação com o colesterol total nos momentos 15, 30, 75 e 120 a 180 DPP no grupo tratado com OT. No GCT a concordância entre colesterol e HDL ocorreu somente nos momentos 75, 90, 135 e 150 DPP. Houve diferença significativa entre os grupos aos 30 ($p=0,0495$) e 105 DPP ($p=0,0210$), com valores mais elevados no GOT em ambos os momentos (Figura 11).

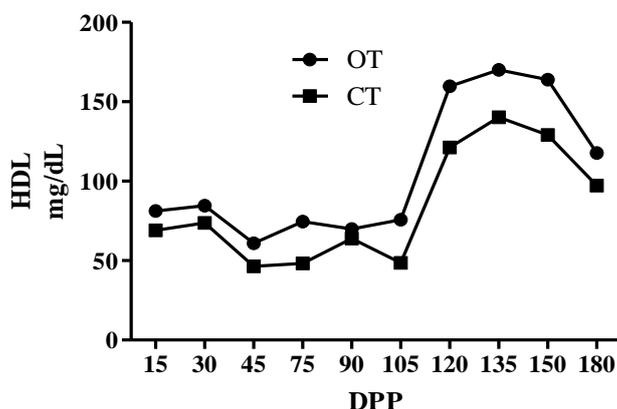


Figura 11: Valores séricos de HDL de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Oliveira et al. (2014) observaram desde 7 dias antes do parto até 43 DPP valores de HDL entre $24,03 \pm 9,70$ (14 DPP) e $29,72 \pm 11,9$ (43 DPP), valores estes bem menores que os obtidos nesse estudo onde os menores valores foram observados aos 45 DPP (60,9 mg/dL GOT e 46,5mg/dL GCT), com variação entre 46,5 (CT – 45 dias) e 170,1 (GOT – 135 dias).

4.3.5. Triglicerídeos, VLDL e LDL

A concentração de triglicerídeos foi elevada no GOT em relação ao GCT em todos os momentos exceto aos 120 DPP ($32 \pm 9,4$ GCT), com diferença significativa em relação aos controles aos 15, 30 e dos 75 aos 105 DPP ($p < 0,05$) (Tabela 8). Essa concentração elevada pode ser decorrente de um aporte de Acetil-CoA, precursor tanto do colesterol quanto dos triglicerídeos (KLEIN; BRADLEY, 2014).

Tabela 8: Médias e desvio padrão dos valores séricos triglicerídeos, VLDL e LDL de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3 UI) no início e no meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

Coletas (DPP)	Triglicerídeos		VLDL		LDL	
	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle	Ocitocina	Controle
15	19,5 ± 2,1 ^a	13,3 ± 2,7 ^b	3,9±0,4	2,7±0,5	119,9 ± 43,9	54,5 ± 42,7
30	22,8 ± 3,9 ^a	13 ± 2,5 ^b	4,6±0,8	2,6±0,5	120,4 ± 38,3	37,5 ± 52,3
45	25 ± 6,7	18,3 ± 7,7	5,0±1,3 ^a	3,7±1,4 ^b	158,9 ± 40,6	83,7 ± 59,2
75	25,3 ± 2,9 ^a	16,2 ± 4,1 ^b	5,1±0,6 ^a	3,2±0,7 ^b	150,3 ± 39,6	95,4 ± 53,6
90	32,2 ± 9,4 ^a	19 ± 3,6 ^b	6,4±1,9	3,8±0,7	154,2 ± 28,2 ^a	88,8 ± 86,3 ^b
105	26,5 ± 7,4 ^a	17 ± 4,2 ^b	5,3±1,5	3,4±0,8	140,5 ± 34,9	137,9 ± 32,3
120	22,7 ± 15,4	32 ± 24,3	4,5±3,1	6,4±4,4	78,3 ± 85,2	53,5 ± 84,7
135	21,8 ± 13,9	19,1 ± 13,2	4,4±2,8	9,8±13,6	71,7±45,5	31,4 ± 50,7
150	23,8 ± 7,2	18,5 ± 5,5	4,8±1,4	3,7±1,0	54,1 ± 29,9	13,5 ± 36,2
180	20,2 ± 2,9	14,5 ± 2,3	4,0±0,6	2,9±0,4	60,9±45	52,2±45,7
Referência	0 a 14mg/dL *					

*Kaneko et al. (2008); González e Silva (2006)

Triglicerídeos: diferença significativa em 15 DPP ($p=0,0011$), 30 DPP ($p=0,0004$), 75 DPP ($p=0,0011$), 90 DPP ($p=0,009$), 105 DPP ($p=0,0214$)

VLDL: diferença significativa entre tratamentos nos tempos aos 45 e 75 DPP ($p < 0,001$).

LDL: diferença significativa entre os tratamentos aos 90 DPP ($p < 0,001$)

González et al. (2000) estudaram o perfil metabólico de vacas da raça holandesa no início e na fase intermediária da lactação e concluíram que baixas concentrações de triglicerídeos foram observados em todas as vacas com cetose subclínica e em 61% daquelas com alta lipomobilização. Fato não corroborado pelos resultados deste estudo.

As menores concentrações de triglicerídeos foram observadas aos 15 DPP com níveis entre 13,3 (GCT) e 19,5 mg/dL (GOT) ($p=0,0011$) (Figura 12). Os menores valores no início da lactação contrariam observações de diversos autores (CHRISTIE, 1981; COSTA, 1991; POGLIANI; BIRGEL JUNIOR, 2007) sobre menor concentração de triglicerídeos durante a lactação, devido à maior demanda para a síntese de gordura láctea.

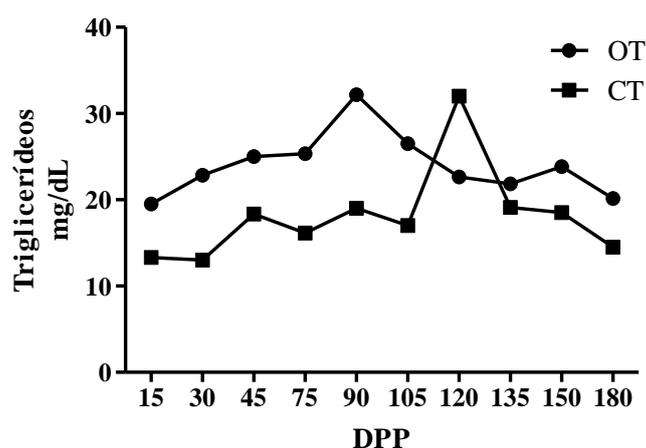


Figura 12: Valores séricos de triglicerídeos de vacas mestiças submetidas ao tratamento (OT) ou não (CT) com ocitocina (3UI) no início e meio das duas ordenhas diárias, de quinze a 180 dias pós-parto (DPP).

No GOT, em nenhum momento os triglicerídeos estiveram abaixo dos 14 mg/dL indicados como referência por Kaneko et al. (2008), ficando acima de 15,18 mg/dL relatado em vacas girolando entre 17 e 78 dias de lactação (ZAMBRANO; MARQUES JÚNIOR 2009). No GCT aos 15 e 30 DPP as concentrações de triglicerídeos estiveram dentro dos valores referenciais de Kaneko et al. (2008).

Os triglicerídeos plasmáticos são precursores de ácidos graxos de cadeia longa do leite e juntos aos valores de VLDL são tomados como indicativo de mobilização de reservas corporais em ruminantes submetidos a um alto gasto energético. Sua concentração varia de acordo com a fase da lactação e sua utilização pela glândula mamária (ALVAREZ, 2001). Neste sentido, é possível que o aumento dos triglicerídeos no GOT em relação ao GCT esteja relacionado à produção de leite, que foi maior no GOT em todos os momentos. Contudo, é sabido que a concentração de VLDL diminui após o parto, provavelmente devido ao aumento do catabolismo na glândula mamária (MOORE; CRISTIE, 1979). No presente estudo, o VLDL foi mais alto no GOT até os 105 DPP e seus valores se elevaram progressivamente dos 15 aos 90 DPP quando seria esperada a redução segundo Moore e Cristie (1979).

Foi relatado que o aumento da síntese de VLDL no fígado é acompanhada de uma diminuição da infiltração gordurosa no fígado. Imhasly (2015) afirma haver um perfil lipídico diferente em vacas com diferentes níveis de lipidose hepática. Este autor observou que vacas com maior nível de lipidose hepática no pós-parto apresentavam principalmente uma redução do VLDL devido ao alto catabolismo mamário dessa lipoproteína (MOORE; CRISTIE, 1979).

No fígado de bovinos a VLDL existe em quantidades limitadas, fazendo com que os TGC sejam mais facilmente depositados no fígado destes animais quando há intensa mobilização lipídica (DRACKLEY, 1999). Segundo Gruffat (1996) e Drackley et al. (2001) a baixa síntese e secreção hepática de VLDL parece estar relacionada à pequena habilidade dos bovinos em metabolizar gorduras e predisposição em desenvolver fígado gorduroso ou lipidose hepática.

Apesar da HDL representar mais de 80% do total de lipoproteínas circulantes no plasma dos bovinos, o transporte dos triglicerídeos é realizado por lipoproteínas de baixa densidade, principalmente, as VLDL e quilomicrons (HOCQUETTE; BAUCHART, 1999).

Dessa forma, a maior concentração de VLDL no GOT é consistente com os valores aumentados de triglicéridos nos animais desse grupo.

5 CONCLUSÃO

A ocitocina exógena diariamente, durante a ordenha de vacas mestiças leiteiras, influenciou positivamente a produção leiteira e alterou os indicadores do perfil energético e proteico. Isso confirma a ação catabólica da ocitocina sem, no entanto, alterar o funcionamento hepático e sem acarretar alterações clínicas nos animais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBERHARD, K.; BRUCKMAIER R. M.; BLUM, J. Metabolic, enzymatic and endocrine status in high-yielding dairy cows. Part 2. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 48, p. 11-127, 2001. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1439-0442.2001.00294.x/abstract>

ALVARENGA, E.A.; MOREIRA, G.H.F.A.; FACURY FILHO, E.J.; LEME, F.O.P.; COELHO, S.G.; MOLINA, L.R.; LIMA, J.A.M.; CARVALHO, A.U. Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.3, p.281-290, 2015. <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v35n3/0100-736X-pvb-35-03-00281.pdf>

ÁLVAREZ, J. L. **Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico**. Ed. Universidad de Antioquia, p.201, Medellín, 2001

AMETAJ, B. N.; BRADFORD, B. J., BOBE, G.; BEITZ, D. C. Acute phase response indicates inflammatory conditions may play a role in the pathogenesis of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, suppl. 1, p.189, 2002.

ANDRADE, N.; RIVERA, M.G.; TORRES, G. Estudio de um perfil metabólico patrón em ganado de leche de clima cálido, um mês antes del parto y en três etapas de lactancia. **Conciencia**, v.2, p.2-12, 1998.

ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, H.R. EDDY, G. **Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle**, 2 ed., WileyBlackwell, 2004.

ARAÚJO, W.A.G.; CARVALHO, C.G.V.; MARCONDES, M.I.; SACRAMENTO, A.J.; PAULINO, P.V.R. Ocitocina exógena e a presença do bezerro sobre a produção e qualidade do leite de vacas mestiças. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.49, n.6, p.465-470, 2012.

ARAVE, C. W.; MILLER, R. H.; LAMB., R. C. Genetic and enviroment effects on serum cholesterol of dairy cattle of various ages. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p. 423-427, 1975. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030275845826>

ARRUDA, D.S.R.; CALIXTO JUNIOR, M.; JOBIM, C. C.; SANTOS, G.T. Efeito de diferentes volumosos sobre os constituintes sanguíneos de vacas da raça holandesa. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.9, n.1, p.35-44, 2008.

BACILA, M. **Bioquímica Veterinária**. São Paulo:Robe, 2 ed., p.583, 2003.

BAIRD, D. G. Primary ketosis in the high producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. **Journal of Dairy Science**, Champaign. 65, p. 1-10, 1982.

BALLOU, L. U., J. L. BLECK, G. T. BLECK, AND R. D. BREMEL. The effects of daily oxytocin injections before and after milking on milk production, milk plasmin, and milk composition. **Journal of Dairy Science**, vol. 76, No.6, 1544–1549, 1993.

BARLETTA, R. V.; RENNÓ, F. P.; GANDRA, J. R.; FREITAS JÚNIOR, J. É.; VERDURICO, L. C.; MINGOTI, R. D.; VILELA, F. G. Desempenho e parâmetros

sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja. **Archivos de Zootecnia**, v.61, n.236, p.483-492, 2012.

BAR-PELED, U., MALTZ, E., BRACKENTAL, I., FOLMAN, Y., KALI, Y., GACITUA, H., LEHRER, A. R., KNIGHT, C.H., ROBINZON, B., VOET, H, TAGARI, H. Relationship between frequent milking or suckling in early lactation and milk production of high producing dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 78, p.2726-2736, 1995.

BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal Dairy Science**, v. 76, p.3864-3881. 1993.

BAUMAN, D. E., LOCK, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. **Tri-State Dairy Nutrition Conference**, p.1-14, 2006. Disponível em: Acesso em: https://www.researchgate.net/publication/239930686_Concepts_in_Lipid_Digestion_and_Metabolism_in_Dairy_Cows

BAUMAN, D.E.; CURRIE, W.B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal Dairy Science**, v.63, n.9, p.1514-1529, 1980. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7000867>

BELO, C.; BRUCKMAIER, R.M. Suitability of low-dosage oxytocin treatment to induce milk ejection in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.63-69, 2010.

BENEDITO, J. L. Patología de la producción láctea en Galicia. **Conferencia pronunciada en la Real Academia de Ciencias Veterinarias**, 1998.

BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. v.2, 583p.

BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiology Review**, v.10, p.567-589, 1990.

BIRGEL JÚNIOR, E.H.; NEVES, F.S.; SALVATORE, L.C.A.; MIRANDOLA, R. M. S.; TÁVORA, J.P.F.; BIRGEL, E.H. Avaliação da influência da gestação e do puerpério sobre a função hepática de bovinos da raça holandesa. **ARS Veterinaria**, Jaboticabal, SP, Vol. 19, nº 2, 172-178, 2003.

BJÖRKSTRAND, E. Role of oxytocin in glucose homeostasis and weight gain. **Thesis**, Carolinska Institute, Stockholm, Sweden. 1995. Disponível em: <https://openarchive.ki.se/xmlui/handle/10616/43505>. Acesso em: 14 de junho de 2016.

BJÖRKSTRAND, E., HULTING, A. L. AND UVNÄS-MOBERG, K. Evidence for a dual function of oxytocin in the control of growth hormone secretion in rats. **Regulatory Peptides**, v.69, p. 1-5. 1997.

BLUM, J.W.; KUNZ, P.; LEUENBERGER, H. Thyroid hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in relationship to milk yield in dairy cows. **Animal Production**, v.36, p.93-104, 1983.

BOSSEMEYER, R.; CHAGAS, A.M.; CHAGAS, C.A. Drogas que estimulam e deprimem a musculatura uterina. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 8 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, Cap.85, p.865-871, 2010.

BRUCKMAIER R. M.; BLUM J. W. Oxytocin release and milk removal in ruminants. **Journal of Dairy Science**. 81, 939-949, 1996.

BRUCKMAIER, R. M. Untersuchungen u"ber Ocytocinfreisetzung, Intramamma"rdruck und Milchabgabe beim Rindm unter besonderer Beru"cksichtigung des Laktationsstadiums sowie von Einflu"ssen des adrenergen Systems. **Agricultural Thesis Technical**, Univ. Munich, Germany, 1988.

BRUCKMAIER, R. M., WELLNITZ, O. Induction of milk ejection and milk removal in different production systems. **Journal of Animal Science**, v.86, p.15-20, 2008.

BRUCKMAIER, R. M.; BLUM, J. W. Oxytocin Release and Milk Removal in Ruminants. **Journal Dairy Science**, v.81, p.939-949, 1998.

BRUCKMAIER, R. M.; D. SCHAMS; BLUM, J. W. Continuously elevated concentrations of oxytocin during milking are necessary for complete milk removal in dairy cows. **Journal Dairy Research**, V.61, p.323-334, 1994.

BRUCKMAIER, R. M.; G. PAUL; H. MAYER; D. SCHAMS. Machine milking of Ostfriesian and Lacaune dairy sheep: udder anatomy, milk ejection and milking characteristics. **Journal Dairy Research**, v.64, p.163-172, 1997.

BRUCKMAIER, R.M. Chronic oxytocin treatment causes reduced milk ejection in dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v.70, p.123-126, 2003.

BRUCKMAIER, R.M., MACUHOVA, J. AND MEYER, H.H.D. Specific aspects of milk ejection in robotic milking: a review. **Livestock Produce Science**, v.72, p.169-176, 2001.

BRUSS, M.L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6^a ed. San Diego: Academic Press, p.81-115, 2008.

BURBACH, J.P., YOUNG, L.J., RUSSEL, J.A. Oxytocin synthesis, secretion and reproductive functions, in Jimmy D. Neill (ed), **Knobil and Neill's physiology of reproduction**, Elsevier, p.3055-3127, 2006.

CALAMARI, L.; BERTONI, G.; MAIANT, M.G.; CAPPÀ, V. Sull'utilità di nuovi parametri ematochimici nella valutazione del profilo metabolico delle lattifere. **Istituto di Zootecnia e Scienze della Nutrizione**, v.15, p.191-210, 1989. http://www.buiatria.it/volume18_file/Pages%20from%20volume18-68.pdf

CALDEIRA, R.M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.100, p.125-139, 2005.

CALIXTO JUNIOR, M.; JOBIM, C. C.; SANTOS, G.T.; JÚNIOR, V.H. B. Constituintes sanguíneos de vacas da raça holandesa alimentadas com silagens de milho ou de capim-elefante. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 429-438, abr./jun. 2010

CAMERON, R.E.; DYK, P.B.; HERDT, T.H.; KANEENE, J.B.; MILLER, R.; BUCHOLTZ, H.F.; LIESMAN, J.S.; VANDEHAAR, M.J.; EMERY, R.S. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. **Journal Dairy Science**, v.81, p.132–139, 1998.

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 241-249, 2007. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012046915>

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; LACERDA, L.; COLDEBELLA, A. Perfil metabólico obtenido de *pool* de sueros o de muestras individuales. **Archive Zootecnia**. v. 54, p. 113-116, 2005.

CANAVESSI, A.M.O.; CHIACCHIO, S.B.; SARTORY, R.; CURY, P.R. Valores do perfil eletroforético das proteínas séricas de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*) criados na região de Botucatu, São Paulo: influência dos fatores etários e sexuais. **O Biológico**, São Paulo, v.67, p.9-17, 2000.

CARUOLO, E.V. Exogenous oxytocin and lactation in the mouse. **Journal of Dairy Science**, v. 54, p.1207, 1971.

CEBALLOS, A.; VILLA, N.A.; BOHÓRQUEZ, A.; QUICENO, J.; JARAMILLO, M.; GIRALDO, G. Análises de los resultados de perfiles metabólicos em lecherías del tropico alto del eje cafetero colombiano. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**. v.15, n.1, 2002.

CERRI, R.L.A.; JUCHEM, S.O.; CHEBEL, R.C.; RUTIGLIANO, HM; BRUNO, R.G; GALVÃO, K.N; THATCHER, W.W, SANTOS, J.E. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1520-1531, 2009. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19307633>

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. **Bioquímica ilustrada**. 2.ed. Porto Alegre: Artes Medicas, 1996. 446p.

CHAPINAL, N.; CARSON, M.; DUFFIELD, T.F.; CAPEL, M.; GODDEN, S.; OVERTON, M.; SANTOS, J.E.; LEBLANC, S.J. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal Dairy Science**, v.94, p.4897-4903, 2011.

CHRISTIE, W. W. Effects of diet on lipid composition In: CHRISTIE, W.W. (Ed). **Lipid metabolism in ruminants animals**. Oxford: Pergamon, 452p, 1981.

CHUNG, Y. M.; PICKETT, M. M.; CASSIDY, T. W.; VARGA, G. A. Effects of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 2744-2758, 2008.

CHURCH, D. C. Digestive physiology and nutrition of ruminants. **Digestive Physiology**. 2nd ed., Corvallis, OR. 1979.

CONTRERAS, G. A.; SORDILLO, L.M. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 2011.

CONTRERAS, G.A.; O'BOYLE, N.J; HERDT, T.H.; SORDILLO, L.M. Lipomobilization in periparturient dairy cows influences the composition of plasma nonesterified fatty acids and leukocyte phospholipid fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v..93, número 6, pag. 2508-2516, 2010.

CONTRERAS, P. A. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.; PATIÑO, H.O.; RIBEIRO, L.A. **Perfil nutricional em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, p.23-30, 2000.

CORBETT, J.L. Variation in the yield and composition of milk of grazing merino ewes. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.19, p.283-294, 1968.

CORRÊA, M.N; GONZALEZ, F.H; SILVA, S.C; **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. Pelotas: Ed. Universitária PREC/UFPEL, 2010.

COSTA S.E. Perfil lipídico de vacas Holandesas, variedades HPB, em diferentes fases de gestação. **Dissertação de Mestrado em Clínica Veterinária**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 57p. 1991

COSTA, A.P.D.; BORGES, J.R.J.; CARVALHO, C.B.; ALBERNAZ, A.P.; VIANA, A.P.Determinação de leucometria global, proteínas totais, albumina e globulinas no sangue das veias jugular e mamária de vacas leiteiras com mastite. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v. 11, n. 1/2, p. 88-91, jan./ago. 2004.

COSTA, L. L. Produção, tempo de ordenha e composição do leite de vacas holandesas em diferentes procedimentos de ordenha. **Dissertação**, UFLA, 53p. 2008.

CROWLEY, W. R.; ARMSTRONG, W. E. Neurochemical regulation of oxytocin secretion in lactation. **Endocrinology Revista**, v.13, p.33–65, 1992.

D'ANGELINO, J. L.; ARAUJO, L. M.; BIRGEL, E. H.; ARAUJO, W. P. Influência da gestação e do puerpério sobre o proteinograma sanguíneo de bovinos da raça Holandesa branca e preta. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 12, p. 197-204, 1975.

DANG, A.K.; SINGH, M.; AGGARWAL, A. Role of oxytocin in milk production and health of dairy animals- A review. **Indian Journal of Dairy Science**, v. 55, n. 4, p.191-198, 2002.

DHIMAN, T. R.; KLEINMANS, J.; TESSMANN, N. J. Effect of dietary forage : grain ratio on blood constituents in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n.8, p.2691-2695, 1991. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030291784476>

DONNELLY S.R., MOSS S.E. Annexins in the secretory pathway, Cell Mol. **Life Science**, v.53, p. 533–538, 1997.

DOREAU, M., FERLAY, A. Digestion and utilization of fatty-acids by ruminants. **Animal Feed Science Technology**, v.45, p.379-396, 1994. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0377840194900396>. Acesso em:

DORETTO, J.S. Influência do tempo e da temperatura de estocagem sobre a estabilidade de alguns constituintes do soro sanguíneo de bovinos. (**Dissertação, Mestrado**) Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias Veterinárias da UNESP, 61p. 1996.

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

DRACKLEY, J.K.; OVERTON, T.R.; NEIL DOUGLAS, G. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal Dairy Sciences**, v.84, supplement E, p.100-110, 2001.

DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary Clinic N. Am. Food Animal Practic**, v.16, p-231–253. 2000.

DUFFIELD, T.; PLAIZIER, J.C.; FAIRFIELD, A.; BAGG, R.; VESSIE, G.; DICK, P.; WILSON, J.; ARAMINI, J.; MCBRIDE, B. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.59-66, 2004.

DUFFIELD, T.F. Minimizing Subclinical Metabolic Diseases in Dairy Cows. **WCDS Advances in Dairy Technology**, v.18, p.43-55, 2006. <http://www.wcds.ca/proc/2006/Manuscripts/Duffield.pdf>

DUNCAN, J.R. et al. **Veterinary laboratory medicine**. 3.ed. Ames IA: Iowa State University, 1994. 118p.

DUNLAP, T.F.; KOHN, R.A.; DAHL, G.E. VARNER, M.; ERDMAN, R.A. The impact of somatotropin, milking frequency, and photoperiod on dairy farm nutrient flows. **Journal Dairy Science**, v.83, p.968-976, 2000.

ELY, F.; PETERSEN W. E. Factors involved in the ejection of milk. **Journal Dairy Science**, v.24, p.211-223, 1941.

EMBERT, H.; COLES, M.A. Função Hepática. In: **Patologia Clínica Veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, cap. 7, p. 187-190, 1984.

ERICKSON, P.S.; MURPHY, M.R.; CLARK, J.H. Supplementation of dairy cow diets with calcium salts of long-chain fatty acids and nicotinic acid in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.4, p.1078-1089, 1992.

FAO, Food and Agriculture Organization. **FAO statistics series**. v.47, n. 117, 1993.

FAVRETO, M. Amostragem de leite cru para programas de qualidade do leite. **Monografia de especialização**. Passo Fundo, Univesidade de Passo Fundo, 2001.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de proteína total e suas frações eletroforéticas e da atividade da gamaglutamiltransferase no

soro sangüíneo de vacas holandesas, antes e após o parto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 2, Belo Horizonte, 2000.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária – A arte do diagnóstico**, 627 p., 3ª Edição, Roca, 2016.

FERREIRA-NETO, J.M.; VIANA, E.S. **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo Brasil, 279p. 1978.

FLEET, I.R.; DAVIS A.J.; RICHARDSON, M.; HEAP, R.B. The stimulation of mammary blood flow by oxytocin and the potential role of locally release nitric oxide in the goat. **Journal of Reproduction & Fertility**, v.11, p.104, 1993.

FRANCE, J.; SIDONS, R.C.; DHANOA, M.S.J. Adaptation of compartmental schemes for interpreting isotope dilution data on volatile fatty acid metabolism in the rumen to the non-steady state and for single-dose injection. **Theory Biology** Nov 21;153 (2):247-54, 1991. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022519305804254>

FRASER, C. M. **Manual merck de veterinária**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2169 p. 1991.

FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P.; SILVA, L. F. P.; GANDRA, J. R.; MATURANA FILHO, M.; DITSCH, C.; VENTURELLI, B. C. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.4, p.950-956, 2010.

FUKAO, T., LOPASCHUK, G.D.; MITCHELL, G.A. Pathways and control of ketone body metabolism: on the fringe of lipid biochemistry, **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**. v.70, p-243-51, 2004.

GAINES. W. L. A contribution to the physiology of lactation. **American Journal Physiology**, v. 38, p.285-312, 1915.

GARCÍA, A.M.B.; CARDOSO, F.C.; CAMPOS, R.; THEDY, D.X.; GONZÁLEZ, F.H.D. Metabolic evaluation of dairy cows submitted to three different strategies to decrease the effects of negative energy balance in early postpartum. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 3, Supl.1, p.11-17, 2011. <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v31s1/v31s1a03.pdf>

GEISHAUSER, T.; SHOUKRI, M.; KELTON, D.; LESLIE, K. Analysis of survivorship after displaced abomasum is diagnosed in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2346-2353, 1998.

GLÓRIA, J.R.; BERGMANN, J.A.G.; QUIRINO, C.R.; RUAS, J.R.M.; MATOS, C.R.A.; PEREIRA, J.C.C. Curvas de lactação de quatro grupos genéticos de mestiças Holandês-Zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.2160-2165, 2010.

GONÇALVES, R.C. et al. Influência da idade e do sexo sobre o hemograma, proteínas séricas totais, albumina e globulina de bovinos sadios da raça Guzerá (*Bos indicus*). **Veterinárias Notícias**, Uberlândia, v.7, n.1, p.61-68, 2001.

GONZÁLEZ, F. H. D., ROCHA, J. A. Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arquivo da**

Faculdade de Veterinária da UFRGS, 1998, v.26, p.52-64.
http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/gonzalez_perfil_reprod.pdf

GONZÁLEZ, F.H.D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.25, p.13-33, 1997.

GONZÁLEZ, F.H.D. Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; OSPINA, H.; BARCELOS, J.O.; RIBEIRO, L.A.O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Gráfica UFRGS, 2000
<http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/perfil%20nutricional%20ruminantes.pdf>

GONZÁLEZ, F.H.D.; CONCEIÇÃO, T.R.; SIQUEIRA, A.J.S.; ROSA, L.A. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**. Ano 20, n.117, 2000.
http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/gonzalez_perfil_butia.pdf

GONZALEZ, F.H.D.; HAIDA, K.S.; ZANOLLA, N.; FIGUR, K. Influência da época do ano no perfil metabólico leiteiro no sul do Brasil. **Arquivo Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v.24, n.2, 1996.
http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/gonzalez_perfil_esta_ao.pdf

GONZALEZ, F.H.D.; 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, Suplemento 1**, 2009. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, p.64-69.
http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/buiatria_lipomob.pdf

GONZÁLEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R. (Eds.). **Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p.73-89. Disponível em:
<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/13177/000386508.pdf?...1>. Acesso em: 11/05/2016.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 357p. 2006.

GOREWIT, R. C.; SAGI, R. Effects of exogenous oxytocin on production and milking variables. **Journal Dairy Science**, v.67, p.2050-2054, 1984.

GOULARTE, S.R.; ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T.; ÍTAVO, C.C.B.F.; OLIVEIRA, L.C.S.; FAVARO, S.P.; DIAS, A.M.; TORRES JUNIOR, R.A.A.; BITTAR, C.M.M. Ácidos graxos voláteis no rúmen de vacas alimentadas com diferentes teores de concentrado na dieta. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia** [online]. 2011, v.63, n.6, p.1479-1486, 2016. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352011000600027&lng=en&nrm=iso

GRANDE, P.A.; SANTOS, G.T. O uso do perfil metabólico na nutrição de vacas leiteiras. disponível em: <https://www.google.com.br/webhp?sourceid=chrome->

[instant&ion=1&espv=2&ie=UTF-8#q=Grande+e+Santos+perfil+metab%C3%B3lico](#),
Acesso em: 11/05/2016.

GRUFFAT, D.; DURAND, D.; GRAULET, B.; BAUCHART, D. Regulation of VLDL synthesis and secretion in the liver. **Reproduction, nutrition, development**, 36(4):375–389, 1996.

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

GRUMMER, R.R., CARROLL, D.J. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: Importance to ovarian function. **Journal Animals Science**, 66:3160-3173. 1988.

GRÜN WALDT, E.G.; GUEVARA, J.C.; ESTÉVEZ, O.R.; VICENTE, A.; ROUSSELLE, H.; ALCUTEN, N.; AGUERREGARAY, D.; STASI, C.R. Biochemical and hematological measurements in beef cattle in Mendoza Plain Rangelands (Argentina). **Tropical Animal Health and Production**, Netherlands, v.37, p.527-540, 2005.

GUEORGUIEVA, T.M.; GUEORGUIEV, I.P. Serum cholesterol concentration around parturition and in early lactation in dairy cows. **Revista Medicina Veterinaria**, v.148, p.241-244, 1997.

GUYTON, HALL, JOHN E. **Tratado de fisiología médica**. Elsevier Health Sciences, 2011.

HARVEY, J.W.; WEST, C.L. Prednisone-induced increases in serum alpha-2-globulin and haptoglobin concentrations in dog. **Veterinary Pathology**, Boston, v.24, p.90-92, 1987.

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 Community**, October, v.30, n.7, p.749-74, 2006.

HEGARDT, F.G. Mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase: a control enzyme in ketogenesis, **Biochemical Journal**, 338 (Pt 3), p.569-82, 1999.

HERDT, T.H., Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. The Veterinary Clinics of North America. **Food Animal Practice**, v.16, n.2, p.215-230, 2000.

HILLERTON J.E., KNIGHT C.H., TURVEY A., WHEATLEY S.D., WILDE C.J. Milk yield and mammary function in dairy cows milked four times daily, **Journal Dairy Research**, v. 57, p.285–294, 1990.

HOCQUETTE, J.F; BAUCHART,D. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. **Reproduction, Nutrition Development**. N.39, p.27-48, 1999.

HYVARINEN, H.; HELLE, T.; VÄYRYNEN; VÄYRYNEN, P. Seasonal and nutritional effects on serum proteins and urea concentration in the reindeer (*Rangifer tarandus tarandus* L.) **British Journal Nutrition**, v.33, p.63-72, 1975.

IMHASLY, S. Blood plasma biomarkers correlating with hepatic lipidosis in dairy cows. **Tese** (Doutorado) 110 p., ETH Zurich – Swiss Federal Institute of Technology, Suíça, 2015.

INGRAHAM, R.H.; KAPPEL, L.C. Metabolic profile testing. *Veterinarian Clin. N. Amer.:* **Food Animal Practice**, v.4, p.391-411, 1988.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal Dairy Science**, v.76, p.3851-3863, 1993. Disponível em: <http://www.bovinos.ufpr.br/aula%203p3.pdf>. Acesso em 11/05/2016.

JENKINS, T.C.; JENNY, B.F. Effect of hydrogenated fat intake, nutrient digestion, and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.9, p.2316-2324, 1989.

JOHANSSON, B., OLOFSSON, J., WIKTORSSON, H., UVNÄS-MOBERG, K. AND SVENNERSTEN-SJAUNJA, K.A comparison between manual prestimulation versus feeding stimulation during milking in dairy cows. Sw. **Journal Agriculture Research**, 28:177-187, 1998.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6a ed. São Paulo: Manole, 2000.

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. <http://www.vetres.org/articles/vetres/pdf/2003/01/02.pdf>

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 6.ed. San Diego: Academic Press, 1000p. 2008.

KAPPEL, L.C.; INGRAHAM, R.H.; MORGAN, E.B.; ZERINGUE, L.; WILSON, D.; BABCOCK, D.K. Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. **Animal Journal Veterinary Research**, v.45, p.2607-2612, 1984. https://www.researchgate.net/publication/16671061_Relationship_between_fertility_and_blood_glucose_and_cholesterol_concentrations_in_Holstein_cows

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.

KERR, G. M. **Exames laboratoriais em Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca. 436 p. 2003.

KIDA, K. Relationships of metabolic profiles to milk production and feeding in dairy cows. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v.65, p.671-677, 2003. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/65/6/65_6_671/_pdf

KLEIN, B.G.; BRADLEY G. **Cunningham tratado de fisiologia veterinária** / Bradley G. Klein. - 5. ed. - Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

KLIMIENE, I.; SPAKAUSKAS, V.; MATUSEVIEIUS, A. Correlation on different biochemical parameters in blood sera of healthy and sick cows. **Veterinary Research Communications**, Netherlands. v.29, p.95-102, 2005.

KNIGHT C.H. Mammary cell changes during pregnancy and lactation, **Livestock Production Science**, v.35, p. 3–19, 1993.

KOZLOSKI, V. G. Bioquímica microbiana ruminal. In: **Bioquímica dos ruminantes**. 1 ed. Santa Maria: UFMS, cap.1, p.140, 2002.

LAGO, E. P.; COSTA, A. P. D.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; FARÍAS, V. P.; DO LAGO, L. A. Parâmetros metabólicos em vacas leiteiras durante o período de transição pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Science**, v.11, p.98-103, 2004.

LASSEN, E.D. Avaliação laboratorial do fígado. In: THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, cap. 23, p.343-347, 2007.

LEEMASTER, J.W; SEALS, R.C; HOPKINS, F.M; SCHRICK, F.N. Effect of administration of oxytocin on embryonic survival progesterone-supplemented cattle. **Prostaglandins**. v.57, p. 259-268, 1999.

LEROY, J.L.M.R, OPSOMER, G; VAN SOOM, A; GOOVAERTS, I.G.F; BOLS, P.E.J. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I. **Reproduction Domestic Animal**, v.43, p.612-622, 2008.

LI, P.; RUDLAND, P.S.; FERNIG, D.G.; FINCH, L.M.; WILDE, C.J. Modulation of mammary development and programmed cell death by the frequency of milk removal in lactating goats, **Journal Physiology** (Londres) v.519, p-885–900, 1999.

LIM, M.M.; YOUNG, L.J. Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals. **Hormones and Behavior**, v.50, p.506–517, 2006.

LOLLIVIER, V., MARNET, P.G. Galactopoietic effect of milking in lactating Holstein cows: Role of physiological doses of oxytocin. **Livestock Production Science**, v. 95, p.131-142, 2005.

LOLLIVIER, V.; GUINARD-FLAMENT, J.; OLLIVIER-BOUSQUET, M.; MARNET, P. Oxytocin and milk removal: two important sources of variation in milk production and milk quality during and between milkings, **Reproduction Nutrition Development**, v.42 173–186, 2002.

LOLLIVIER, V.; RAINTEAU, D.; MARNET, P.G.; LETORT, S.; DELPAL, S.; OLLIVIER-BOUSQUET, M. Early oxytocin effects on secretory events in rabbit and cow mammary cells, **Livestock Production Science**, v.70, p. 180, 2001.

LÓPEZ, S. E.; LÓPEZ, J.; STUMPF JUNIOR, W. Parâmetros séricos de vacas leiteiras na fase inicial de lactação suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Archivos Latinoamericano Produção Animal**. v.12, n.3, p.96-102, 2004.

MACIEL, A.B.B. Proposta de avaliação da condição corporal em vacas holandesas e nelores. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 103p. 2006.

MACUHOVÁ, J.; TACIN, V.; BRUCKMAIER, R.M. Effects of Oxytocin Administration on Oxytocin Release and Milk Ejection. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1236–1244, 2004.

MAIA, F. J. Própolis como aditivo nutricional em dietas contendo óleo de soja para vacas em lactação: parâmetros digestivos e estabilidade e qualidade do leite. 2013. 106p. **Tese** (Doutorado em Zootecnia), Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR. <http://sites.uem.br/ppz/trabalhos-de-conclusao/teses/2013/fabio-jose-maia>

MANUAL MERCK DE VETERINÁRIA. **Um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. 1997. (7a. Ed.). Roca, São Paulo.

MARGOLLES, E. Metabólitos sanguíneos en vacas altas productoras durante la gestación-lactancia en la condiciones de Cuba y su relación com transtornes del metabolismo. **Revista Cubana de Ciencias Veterinarias**, v.14, p.221-230, 1983.

MATOS, M.S.; MATOS, P.F. **Laboratório Clínico Médico Veterinário**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 238p.,1988.

MATURANA FILHO, M. Desempenho produtivo e reprodutivo e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes de gordura no período de transição e início de lactação. 102p. **Dissertação (Mestrado em Ciências)**, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, 2009.

MCART, J.A.A.; NYDAM, D.V.; OSPINA, P.A.; OETZEL, G.R. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. **Journal Dairy Science**, v.94, 6011–6020, 2011.

MEYER, D. J., HARVEY, J. W. **Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 351p.2004.

MOORE, F. Interpreting serum chemistry profiles in dairy cows. **Veterinary Medicine**, v.92, p.986-9991, 1997.

MOORE, J.; CHRISTIE, W. Lipid metabolism in the mammary gland of ruminant animals. **Progress in Lipid Research**, 17 (4), p.347-395, 1979.

MORRISON, M.; MACKIE, R.I. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. **Australian Journal Agricultural Research**, v.47, n.2, p.227-246, 1996.

MORTON, G.; THACHER, B.; REIDELBERGER, R.D.; OGIMOTO, K.; WOLDEN-HANSON, T.; BASKIN, D.G.; SCHWARTZ, M.W.; BLEVINS, J. Peripheral oxytocin suppresses food intake and causes weight loss in diet-induced obese rats. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v.302, n.1, p.134-144, 2011. <http://ajpendo.physiology.org/content/302/1/E134.full>

MUNDIM, A.V.; COSTA, A.S.; MUNDIM, S.A.P.; GUIMARÃES, E.C.; ESPINDOLA, F.S. Influence of parity and stage of lactation on the blood biochemical profile of Saanen goats. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.306-312, 2007.

MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. **Harper: Bioquímica**. São Paulo: Atheneu, 7. ed., 763p. 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6.rev.ed. Washinton, D.C. 157p. 1989.

NAVES, A. B.; BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; FREITAS JÚNIOR, J. É.; VERDURICO, L. C.; BENEVENTO, B. C.; MINGOTI, R. D.; RENNÓ, F. P. Desempenho e perfil plasmático de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja integral ou moído. **Archivos de Zootecnia**, v.62, n.240, p.579-588, 2013.

NDLOVU, T.; CHIMONYO, M.; OKON, A. I.; MUCHENJE, V.; DZAMA, K.; RAATS, J. G. Assessing the nutritional status of beef cattle: current practices and future prospects. **African Journal of Biotechnology**, v.6, n.24, p.2727-2734, 2007.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 3 ed., São Paulo, 907p. 2002.

NEUMANN, I.D.; KROMER, S.A.; TOSCHI, N.; EBNER, K. Brain oxytocin inhibits the (re)activity of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in male rats: involvement of hypothalamic and limbic brain regions. **Regulatory peptides**, v.96, p.31-38, 2000. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016701150000197X>

NIELEN, M.; AARTS, M. G.; JONKERS, A. G.; WENSING, T.; SCHUKKEN, Y.H. Evaluation of two cowside tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.35, p.229-232, 1994.

NOSTRAND, S. D.; GALTON, D. M.; ERB, H. N.; BAUMAN, D. E. Effects of daily exogenous oxytocin on lactation milk yield and composition. **Journal Dairy Science**, v.74, p.2119-2127, 1991.

OLIVEIRA, L.H. Manejo de ordenha sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de vacas F1 Holandês-Gir. **Dissertação**, Universidade Federal de Minas Gerais, 67p. 2010.

OLIVEIRA, R.S.B.R.; MOURA, A.R.F.; PÁDUA, M.F.S.; BARBON, I.M.; SILVA, M.E.M.; SANTOS, R.M.; MUNDIM, A.V.; SAUT, J.P.E. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras com baixo escore de condição corporal no periparto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.34, n.4, p.362-368, 2014. <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v34n4/11.pdf>

ORTOLANI, E.L. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: **Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais**. 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Gramado. Brasil. p. 18-26, 2002.

OSPINA, P. A.; NYDAM D. V.; STOKOL T.; OVERTON, T.R. Evaluation of non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeast United

States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal Dairy Science**, v.93, n.2, p.546-554, 2010a.

OSPINA, P. A.; NYDAM, D. V.; STOKOL T.; OVERTON, T.R. Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **Journal Dairy Science**, v.93, n.8, p.3596-3603, 2010b. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030210001335>

OTT, I.; SCOTT, J. C. The action of infundibulin upon the mammary secretion, **Proceedings Society Experimental Biology Medicine**, v.8, p.48-49, 1910.

OYARZÚN, J.L. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos de rebãnos lecheros en el sur de Chile, 1986-1996. Tesis de pregrado, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, 1997. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/1997/fvo.98a/sources/fvo.98a.pdf>

PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. Metabolismo de lipídios. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.) **Nutrição de Ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, cap.10. p.299-322, 2011.

PAYNE, J.M., PAYNE, S. **The Metabolic Profile Test**. Oxford University Press. New York, 1987.

PETERS, J. P.; SHEN, R. Y. W.; ROBINSON, J. A.; CHESSER, S. T. Disappearance and passage of propionic acid from the rumen of the beef steer. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.68, n.10, p.3337-3349, 1990.

PETERSEN, W. E.; LUDWICK, T. M. The humoral nature of the factor causing the let-down of the milk. **Federation Proceedings**. V.1, p.66-67, 1942.

POGLIANI, F. C.; BIRGEL JUNIOR E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo. Braz. **Journal Veterinary Research Animal Science**, v.44, n.5, p.373-383, 2007.

POGLIANI, F.C. Valores de referência e influência dos fatores etários, sexuais e de gestação no lipidograma de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo. **Dissertação de mestrado em Clínica Veterinária**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 134p. 2006.

POGLIANI, F.C.; AZEDO, M.R.; SOUZA, R.M.; RAIMONDO, R.F.S.; BIRGEL JUNIOR, E.H. Influência da gestação e do puerpério no lipidograma de bovinos da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinaria Zootecnia**, v.62, n.2, p.273-280, 2010. <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v62n2/05.pdf>

PULLEN, D.L.; PALMQUIST, D.L.; EMERY, R.S. Effects on day of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.1, p.49-58, 1989.

QUARRIE L.; ADDEY, C.V.; WILDE, C.J. Local control of mammary apoptosis by milk stasis, in: **Intercellular Signalling in the Mammary Gland**, Plenum Press, New-York, pp. 95-96, 1995.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D.. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10ª edição, Philadelphia: Elsevier, p.2156, 2007.

RAMÍREZ, M.N. et al. Relación albumina:globulina plasmáticas en tres épocas Del año en vacas de la raza Carora Del estado Lara-Venezuela. In: **Congreso Nacional de Buiatria**, 2001, Vera Cruz. Anales... Vera Cruz, 2001.

REID, I. M.; COLLINS, R. A.; BAIRD, G. D.; ROBERTS, C. J.; SYMONDS, H. W. Effect of body condition at calving on tissue metabolization, development of fatty liver and blood chemistry of dairy cows. **Animal Production**, v.43, p.7, 1986.

RENAUD, L. P., TANG, M., MCCANN, M. J., STRICKER, E.M. AND VERBALIS, J. G. Cholecystokinin and gastric distension activate oxytocinergic cells in rat hypothalamus. **Animal Journal Physiology**, v.253, R661-R665, 1987.

RENNÓ, F.P.; C.S. LUCCI, A.G.; SILVA, F.P.; RENNO, L.N.; RENNO, B.P.; RENNO NETO, P.R.; CECON, P.F.B. Efeito da somatotropina bovina recombinante (rBST) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de vacas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.58, n.2, p.158-166, 2006. <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v58n2/29656.pdf>

RIBEIRO, E. M.; GONÇALVES, F. M.; MONTAGNER, P., LOPES, M.S.; DEL PINO, F. A. B.; ANCIUTI, M. A.; CORRÊA, M. N.; GENTILINI, F. P.; PROVENCINI, M.; NOVELINI, L. Níveis de proteínas plasmáticas totais, albumina, colesterol séricos em poedeiras comerciais em diferentes fases de produção de ovos. In: XVII Congresso de Iniciação Científica e X encontro de Pós Graduação. 2008, Pelotas. **Anais...** (CD ROOM). Pelotas, RS, 2008.

ROBERTS, T.; CHAPINAL, N.; LEBLANC, S.J.; KELTON, D.F.; DUBUC, J. DUFFIELD, T.F. Metabolic parameters in transition cows as indicators for early lactation culling risk. **Journal Dairy Science**, v.95, n.6, p-3057-3063, 2012.

RODRÍGUEZ, J. Mecanismos para el reconocimiento materno de la preñez. In: MARACAIBO, G.C. (ed.) **Reproducción bovina**. Venezuela: Fundación GIRARZ, 2001.

SAHINDURAN, S.; SEZER, K.; BUYUKOGLU, T.; ALBAY, M.K.; KARAKURUM, M.C. Evaluation of Some Haematological and Biochemical Parameters Before and After Treatment in Cows with Ketosis and Comparison of Different Treatment Methods. **Journal of Animals and Veterinary Advances**, v.9, n.2, p.266-271, 2010. <http://www.medwelljournals.com/fulltext/?doi=javaa.2010.266.271>

SALFER, J.A.; LINN, J.G.; OTTERBY, D.E.; HANSEN, W.P; JOHNSON, D.G. Early lactation responses of holstein cows fed a rumen-inert fat prepartum, postpartum, or both. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.2, p.368-377, 1995.

SAMUELSSON B., WAHLBERG, E. AND SVENNERSTEN, K. The effect of feeding during milking on milk production and milk flow. Sw. **Journal Agriculture Research**, V.23, p.101-106, 1993.

SANTOS J.E.P. Distúrbios metabólicos. In: Berchielli TT, Pires AV, Oliveira SG. **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Funep. p.439-520, 2011.

SANTOS, M.V. Correlação entre ácido ascórbico plasmático, contagem de células somáticas no leite e o perfil metabólico de vacas secas e em lactação. **Dissertação** (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 97f. 1998.

SAUBERLICH, H.E.; SKALA, J.H.; DOWDY, R.P. Laboratory tests for the assessment of nutritional status. **CRC Press**, Inc. Boca Raton, FL, USA, 1981.

SCARAMUZZI, R.J.; CAMPBELL, B.K.; DOWNING, J.A.; KENDALL, N.R; KHALID, M; MUÑOZ-GUTIÉRREZ, M; SOMCHIT, A. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. **Reproductive Nutrition Development**, v.46, p.1-16, 2006. <https://hal.inria.fr/file/index/docid/900620/filename/hal-00900620.pdf>

SCHALM, A. W.; NOORLANDER, D. O Experiments and observations leading to developments and the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.130, n.5, p.199- 207, 1957.

SCHNEIDER, P.; SKLAN, D.; CHALUPA, W.; KRONFELD, D.S. Feeding calcium salts of fatty acids to lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.8, p.2143-2150, 1988. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(88\)79787-8/abstract](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(88)79787-8/abstract)

SCHWALM, J.W.; SCHULTZ, L.H. Relationship of insulin concentration to blood metabolites in the dairy cow. **Journal Dairy Science**, v.2, n.59, p-255-61, 1976.

SEJRSEN, K.; HVELPLUND, T.; NIELSEN, M.O. Ruminant physiology. **The Netherlands: Wageningen Academic Publishers**, p.397-453. 2006.

SILANO, C. Fontes nitrogenadas e teor de proteína bruta em dietas com cana de açúcar para vacas em lactação: balanço de nitrogênio e análise econômica. 2014. 90p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP. <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10135/tde-16042014-113435/pt-br.php>

SMITH, B.P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais** – 3ªed. Editora Manole, 1784p. 2006.

SOUZA R.M.; BIRGEL JUNIOR E.H. Influência do puerpério e da fase pós-puerperal no lipidograma de vacas da raça Holandesa criadas no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.46, p.5-10, 2009. http://www.producao.usp.br/bitstream/handle/BDPI/1748/art_BIRGEL_JUNIOR_Influencia_do_puerperio_e_da_fase_2009_pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y

SOUZA, A.N.M. Cetose dos bovinos e lipidose hepática. **Seminário apresentado na disciplina de Bioquímica do Tecido Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS,** 2003/1.
<http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/cetose.pdf>

SOUZA, P. M. Perfil bioquímico sérico de bovinos das raças Gir, Holandesa e Girolanda, criados no Estado de São Paulo - influência de fatores de variabilidade etários e sexuais. **Doutorado** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 247 f. 1997.

SOUZA, R. M.; BIRGEL, E. H., AYRES, M. C. C.; MIRANDOLA, R. M.; BIRGEL JUNIOR, E. H. Influência dos Fatores Raciais na Função Hepática de Bovinos da Raça Holandesa e Jersey. Salvador. In: **Anais...** Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 28, 2001.

SOUZA, R.M. Avaliação da função hepática e do lipidograma no período puerperal e pós-puerperal e suas inter-relações com os distúrbios reprodutivos de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. **Dissertação** de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP. 196p. 2005. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-19102006-115359/pt-br.php>

SOUZA, R.M.; GARCIA, N.A.C.R.; BIRGEL, D.B.; BIRGEL JUNIOR, E.H. Influência do puerpério e da fase pós-puerperal na função hepática de vacas da raça Holandesa criadas no Estado de São Paulo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 140-147, 2008.
<https://revistas.ufg.emnuvens.com.br/vet/article/viewFile/844/3438>

SPÉZIA, J. P. S.; OKANO, W.; BARROS, M. P.; TOMA, H. S.; COSTA, D. S.; FREITAS, S. H.; CAMARGO, L.; SANTOS, M.M. D. Efeito de diferentes doses de ocitocina sobre a produção leiteira de fêmeas bovina, **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.9, n.2, p. 215-222, 2015.

STOCK, S.; UVNÄS-MOBERG, K. Increased plasma levels of oxytocin in response to afferent electrical stimulation of the sciatic and vagal nerves and in response to touch and pinch in anaesthetized rats. **Acta Physiology Scandinavian**, v.132, p.29-34, 1988.

STOCKHAM, S. L; SCOTT, D.V.M. Função Hepática. In: **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap.13, p.562-589, 2011.

SVENNERSTEN, K.; GOREWIT, R. C.; SJAUNJA, L-O; UVNÄS-MOBERG, K. Feeding during milking enhances milking-related oxytocin secretion and milk production in dairy cows whereas food deprivation decreases it. **Acta Physiology Scandinavian**, v.153, p.309-310, 1995.

SVENNERSTEN-SJAUNJA, K.; OLSSON, K. Endocrinology of milk production. **Domestic Animal Endocrinology**, n.29, p.241-258, 2005.

TAMMINGA, S.; VAN VUUREN, A.M. Formation and utilization of end products of lignocellulose degradation in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.21, n.2-4, p.141-159, 1988. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/256587936> Formation and utilization of end products of lignocellulose degradation in ruminants

TANCIN, V.; KRAETZL, W.D.; SCHAMS, D.; BRUCKMAIER, R.M. The effects of conditioning to suckling, milking and of calf presence on the release of oxytocin in dairy cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v.72, p.235-246, 2001.

TEIXEIRA, J.C.; TEIXEIRA, L.F.A.C. Princípios de nutrição de bovinos leiteiros. Lavras: UFLA/FAEP, 2001. 245p. (Textos acadêmicos). Citado por GOULARTE, S.R; ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T.; ÍTAVO, C.C.B.F.; OLIVEIRA, L.C.S.; FAVARO, S.P.; DIAS, A.M.; TORRES JUNIOR, R.A.A.; BITTAR, C.M.M. Ácidos graxos voláteis no rúmen de vacas alimentadas com diferentes teores de concentrado na dieta, **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, vol.63, n.6, Belo Horizonte, 2011. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352011000600027

TENNANT, B. C. Hepatic function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. San Diego: Academic Press, Cap.13, p.327-352, 1997.

THATCHER, W. W.; TUCKER, H. A. Lactational 21-acetate, prolactin, and growth hormone during prolonged lactation. **Endocrinology**, v.86, p.237, 1970.

THOMAS, J.S. Overview of plasma proteins. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**, 5 ed. Philadelphia: Wilkins, p.891-898, 2000.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, p.476, 1994.

VAZQUEZ-AÑÓN, M.; BERTICS, S.; LUCK, M.; GRUMMER, R.R. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.77, p.1521-1528, 1994. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030294770922>

VERBALIS, J.G., MCCANN, M.J.; MCHALE, C.M.; STRICKER, E.M. Oxytocin secretion in response to cholecystokinin and food: differentiation of nausea from satiety. **Science** (Washington, DC), v.232, p.1417-1419, 1986. <http://science.sciencemag.org/content/232/4756/1417.full.pdf+html>

WATHES, D.C.; ABAYASEKARA, D.R.E.; AITKEN, R.J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Biology of Reproduction**, 77, p.190-201, 2007.

WILDE, C. J.; PEAKER, M. Autocrine control in milk secretion. **Journal Agriculture Science**, v.114, p.235-238, 1990.

WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLES, 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. UFRGS, p.09-22, 2000. <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26657/000274557.pdf?sequence=1>

WITTWER, F.; BÖHMWALD, H.; CONTRERAS, P.A.; PHIL, M.; FILOZA, J. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en rebaños lecheros en Chile. **Archivos Medicina Veterinaria**, v.19, 35-45. 1987. https://www.researchgate.net/publication/286270411_Analisis_de_los_resultados_de_perfi_les_metabolicos_obtenidos_en_rebanos_lecheros_en_Chile

WITTWER, F.; REYES, J.M.; OPITZ, H. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Archivo Médico Veterinario**. v. 25, p. 165-172, 1993. <https://books.google.com.br/books?id=ESMwtcjVUYEC&pg=PA165&lpg=PA165&dq=Determinaci%C3%B3n+de+urea+en+muestras+de+leche+de+reba%C3%B1os+bovinos+para+el+diagnóstico+de+desbalance+nutricional&source=bl&ots=10D99L-p8q&sig=JkZpOgrfL65fnnESQBlTzpCrEA&hl=pt-BR&sa=X&ved=0ahUKEwiw5MbT2afNAhWCIZAKHe6UBcAQ6AEIODAD#v=onepage&q=Determinaci%C3%B3n%20de%20urea%20en%20muestras%20de%20leche%20de%20reba%C3%B1os%20bovinos%20para%20el%20diagnóstico%20de%20desbalance%20nutricional&f=false>

ZAMBRANO W.J.; MARQUES JÚNIOR A.P. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras do pré-parto ao quinto mês da lactação. **Zootecnia Tropical**, v.27, p.475-488, 2009. <http://www.bioline.org.br/pdf?zt09050>