

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

**Perfil metabólico de bovinos confinados com dietas de
diferentes densidades energéticas**

**Belo Horizonte
2020**

Ronaldo Alves Martins

Perfil metabólico de bovinos confinados com dietas de diferentes densidades energéticas

Tese apresentada ao colegiado de Pós-Graduação em Ciência animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina e Cirurgia Veterinárias

Orientador: Elias Jorge Facury Filho

Co-orientadores: Antônio Último de Carvalho

Rafael Resende Faleiros

Belo Horizonte

Escola de Veterinária – UFMG

2020

M386p Martins, Ronaldo Alves. 1986–
Perfil metabólico de bovinos confinados com dietas de diferentes densidades energéticas/
Ronaldo Alves Martins- 2020.
126f:il.

Orientador: Elias Jorge Facury Filho
Coorientadores: Antônio Último de Carvalho
Rafael Resende Faleiros

Tese (Doutorado) - Apresentado a Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

Área de concentração: Ciência Animal.

Bibliografia: f: 103 – 125.

1. Bovino –Alimentação e rações - Teses - 2. Metabolismo em animais - Teses – 3. Ciência Animal – Teses – I. Filho, Elias Jorge Facury – II. Carvalho, Antônio Último de – III. Faleiros, Rafael Resende - IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – V. Título.

CDD – 636.085

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

FOLHA DE APROVAÇÃO

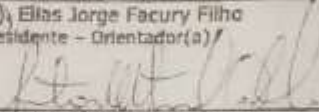
RONALDO ALVES MARTINS

Tese submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração em Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Aprovada em 22 de maio de 2020, pela banca constituída pelos membros:



Dr.(a) Elias Jorge Facury Filho
Presidente - Orientador(a)



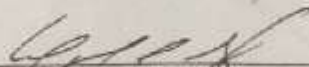
Dr.(a) Antônio Último de Carvalho



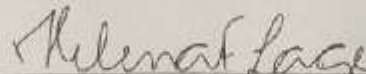
Dr.(a) Ana Luiza da Costa Cruz Borges



Dr.(a) Rodrigo Melo Meneses



Dr.(a) Gustavo Henrique Ferreira Abreu Moreira



Dr.(a) Helena Ferreira Lage



Dr.(a) Fabíola da Oliveira Paes Leme

“Um dia, quando olhares para trás, verás que os dias mais belos foram aqueles em que lutastes”

Sigmund Freud

“Insanidade é continuar fazendo sempre a mesma coisa e esperar resultados diferentes”

Albert Einstein

Dedico esta obra à Deus por me guiar em cada passo dado,
e a todos, que pela dedicação, orientação e apoio,
transformaram cada desafio em estímulo
e cada obstáculo em oportunidade de superação,
ajudando transformar sonhos em realidade.

AGRADECIMENTOS

Agradecer primeira e principalmente a Deus, por sempre, me abençoar e permitir que as metas almeçadas sejam alcançadas. Nossa Senhora Aparecida que zela por cada passo e decisões que tomo em minha vida.

Ao professor Elias Jorge que desde os tempos de graduação me deu oportunidades de crescer na profissão e inspiração para área acadêmica.

Ao professor Último que nos ensina muito além da técnica, conselheiro por muitos anos e também inspiração para muitas tomadas de decisões.

Ao professor Rafael Faleiros, por todo apoio por anos, e um dos grandes responsáveis do doutorado ser possível.

A professora Fabíola, que também é grande amiga além dos “muros” acadêmicos por longa data, e me socorreu muito no desenvolvimento deste trabalho.

A Loren com quem divido grande parte desta conquista, pois estava presente no desenvolvimento frustrado de outros projetos de doutorado e ajudou incondicionalmente para realização deste experimento desde a angústia do planejamento, dias árduos e intermináveis de período experimental, análises e escrita, impossível agradecer tanta dedicação e amor.

Aos colaboradores, também integrantes indispensáveis, Luana, Marcus, Pedro, Cleber, Mariana, Rodrigo, Guilherme, João, Lorena, Isadora, Vinícius, Laís, Gabriel, Brisa, Rayanne, Nayara Starling, Nayara, Joelma, Brian, Henry, Douglas, Jéssica, Mayara, Bruno, Letícia, Isabela Melo e todos estagiários curriculares de alguma forma contribuíram para o cotidiano com os animais.

Aos funcionários do Hospital Veterinário, principalmente o Pedralvo (Pedrinho) que é parte essencial deste trabalho.

À Escola de Veterinária da UFMG, minha morada nos últimos 15 anos, que me deu formação profissional e pessoal, em especial aos professores e funcionários desta Escola.

Aos professores Valentim, José Monteiro, Iran, Lívio, Paulo Marcos, Paulo Paes, Lúcio, Rodrigo, Tiago, Sandra, Helton, Ricardo e todos que contribuíram direta e indiretamente pelo crescimento profissional e pessoal e por muitos ajudarem diretamente neste trabalho.

Aos amigos da pós graduação Matheus, Letícia, João, Matheus Loes, Ana Luisa, Stephany, Jéssica, Mayara Gomes, Layane e todos que não consigo citar.

Aos diretores e professores da UNI-BH por disponibilizar os equipamentos e instalações para realização de parte deste trabalho.

Ao professor Leandro Abreu e toda equipe por realização das análises de proteinograma na Universidade Federal de Viçosa.

A professora Helena e todos seus alunos pela participação em uma etapa do experimento.

A toda minha família que sempre me apoia, mesmo não entendendo todo processo de uma pós graduação, em especial à minha mãe Vagna e aos meus tios Eliana e Eraldo por acreditarem em mim mesmo antes da graduação.

A todos amigos por entenderem muitas por muitas vezes as ausências em vários momentos, devido a compromissos com a pós graduação.

Aos meus animais e todos que zelaram por eles nos momentos em que não pude estar presente.

A todos os animais que passaram por todas etapas da minha formação, principalmente ao 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11, 13, 14, 15, 17, 18, jamais esquecerei estes números!

Ao colegiado de pós graduação por toda compreensão e auxílio durante os vastos anos de pós graduação.

A CAPES pelo auxílio financeiro

Enfim, não querendo ser injusto, agradecer imensamente a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho e que não consegui citar neste espaço.

Sumário

RESUMO	197
ABSTRACT	208
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. OBJETIVOS.....	20
2.1. Geral	20
2.2. Específicos.....	21
3. REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1. Morfofisiologia ruminal	21
3.1.1. Manutenção do pH ruminal	23
3.1.2. Ácidos graxos voláteis.....	25
3.1.3. Acidose ruminal.....	26
3.2. Homeostase do equilíbrio ácido base	27
3.2.1. Alterações no equilíbrio ácido base.....	30
3.2.2. Acidose metabólica.....	31
3.2.3. Alcalose metabólica.....	32
3.2.4. Acidose respiratória.....	33
3.2.5. Alcalose respiratória.....	33
3.2.6. Distúrbios mistos	33
3.2.7. Hemogasometria.....	34
3.3. Proteoma.....	36
3.4. Proteínas de fase aguda.....	39
3.4.1. Haptoglobina (Hp).....	39
3.4.2. α 1 Glicoproteína ácida (GPA).....	39
3.4.3. Ceruloplasmina.....	40
3.4.4. α 2 macroglobulina	40
3.4.5. Apolipoproteína AI (apoA-I) e AIV (apoA-IV)	41
3.4.6. Transferrina	41
3.4.7. Imunoglobulina G (IgG).....	42
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1. Animais.....	42

4.2. Dieta	42
4.3. Coleta de material	44
4.4. Coleta e análise do fluido ruminal	44
4.5. Coleta e análise de sangue	45
4.6. Hemogasometria	45
4.7. Etograma	46
4.8. Análises estatísticas	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1. Consumo de alimento, ganho de peso e comportamento	47
5.2. Avaliação de parâmetros ruminais	52
5.3. Avaliação do perfil energético	57
5.4. Avaliação dos parâmetros de hemogasometria	68
5.5. Proteinograma	82
5.6. Avaliação do perfil mineral	90
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	101
7. CONCLUSÕES	102
8. REFERÊNCIAS	103

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Linha do tempo das coletas para análise de fluido ruminal, bioquímica e hemogasometria de novilhos da raça Holandes (n=16), submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas.....44
- Figura 2. Perfil de consumo em matéria seca (%) em relação ao peso vivo (kg) de novilhos da raça Holandês, confinados por 112 dias, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas.....48
- Figura 3. Consumo (matéria seca em relação ao peso corporal -%) e peso (kg), de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a dietas com diferentes densidades energéticas, por período de confinamento (1- 19 a 35 dias, 2- 46 a 67 dias e 3- 76 a 97 dias de confinamento).....48
- Figura 4. Etograma em frequência relativa (%) do tempo de novilhos da raça Holandês submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 24 horas ...51
- Figura 5. Perfil do ganho de peso médio diário (GPMD) de novilhos da raça Holandês, confinados por 112 dias, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas52
- Figura 6. Perfil do pH e teste de redução do azul de metileno de fluido ruminal de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, durante 91 dias56
- Figura 7. Perfil da média de pH e teste de redução do azul de metileno de fluido ruminal de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 10 horas de avaliação a partir do momento da distribuição do alimento, avaliado ao longo de 91 dias.....57
- Figura 8. Concentrações de glicose sanguínea (mg/dL) de novilhos da raça Holandês submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, durante o período de dez horas de avaliação a partir do momento do primeiro arraçoamento do dia.....60
- Figura 9. Perfil metabólico energético de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dias67
- Figura 10. Perfil da média do pH do sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia.....68

Figura 11. Perfil da pressão parcial de dióxido de carbono (pCO ₂) do sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia.....	70
Figura 12. Perfil da frequência respiratória de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia	71
Figura 13. Perfil de dióxido de carbono total (tCO ₂) de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia	72
Figura 14. Perfil de bicarbonato (HCO ₃ ⁻) de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia	74
Figura 15. Perfil de excesso de base (BE) de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia	75
Figura 16. Perfil de dosagens médias de hemoglobina (Hg), hematócrito (Htc), transferrina e ferro de novilhos de raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia.....	76
Figura 17. Perfil da média de albumina e lactato de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia	77
Figura 18. Perfil do pH sanguíneo, pH urinário e pH ruminal de novilhos raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia	78
Figura 19. PH urinário e ruminal de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas	80
Figura 20. Perfil de albumina sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias	83

Figura 21. Perfil de Transferrina sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias	84
Figura 22. Perfil de α 2-macroglobulina sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias	84
Figura 23. Perfil de Apolipoproteína A1 (mg/mL) sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias.....	85
Figura 24. Perfil de Apolipoproteína A4 (mg/mL) sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias.....	86
Figura 25. Perfil de α 1-Glicoproteína ácida (mg/mL) sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias.....	87
Figura 26. Perfil de cadeia total de IgG (mg/mL) sérica em novilhos submetidos a duas diferentes dietas: maior (G1) e menor (G2) concentração de amido ao longo de 84 dias.	88
Figura 27. Perfil dos valores séricos médios de Ceruloplasmina (mg/mL) em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias	88
Figura 28. Perfil de Haptoglobina (mg/mL) sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias.....	89
Figura 29. Perfil da concentração média de sódio (Na^+)(mmol/L) do sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia.....	93
Figura 30. Perfil da concentração média de potássio (K^+) (mmol/L) do sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia.....	94

Figura 31. Perfil de cálcio sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia95

Figura 32. Perfil de fósforo sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia.96

Figura 33. Perfil de magnésio sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia97

Figura 34. Perfil de ferro sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia98

Figura 35. Perfil de cloreto sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia 100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Alteração dos componentes primários do equilíbrio ácido base e suas respostas compensatórias	31
Tabela 2. Valores normais dos principais parâmetros no exame hemogasométrico para bovinos	34
Tabela 3. Composição bromatológica das dietas utilizadas no confinamento dos animais	43
Tabela 4. Consumo (matéria seca em relação ao peso corporal - %) e peso (kg), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas por período de confinamento	49
Tabela 5. Etograma de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 24 horas (valores médios em horas) com avaliação do comportamento relacionado a ingestão de alimentos, descanso e ruminância.	49
Tabela 6. Valores médios e desvio padrão de pH de fluido ruminal de novilhos da raça Holandês, confinados por 112 dias, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas	53
Tabela 7. Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dias.....	58
Tabela 8. Concentrações plasmáticas médias de glicose (mg/dL), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 10 horas a partir do momento da primeira refeição nos dias 0, 7, 28, 35, 63 e 91 de confinamento.	61
Tabela 9. Concentrações plasmáticas médias de insulina (uIU/mL), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dia	61
Tabela 10. Concentrações plasmáticas médias de Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) (ng/mL), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dia.....	63

Tabela 11. Concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (mmol/L) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dias.....	64
Tabela 12. Concentrações plasmáticas de beta hidroxibutirato (BHB) (mmol/L), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dias.....	65
Tabela 13. Frequência respiratória (movimentos por minuto) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 112 dias.....	73
Tabela 14. Composição nas dietas e consumo em matéria seca (Kg) de minerais por períodos (I, II e III) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 112 dias.....	91
Tabela 15. Exigências de bovinos com ganhos médios diários de 1,5kg/dia e consumo de macrominerais (g) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, com ganho de peso médio diário de 1,79kg/dia dividido por períodos (I -19-35 dias, II – 46 -67 dias, III – 76-97 dias), ao longo de 112 dias.....	91
Tabela 16. Exigências de bovinos com ganhos médios diários de 1,0kg/dia e consumo de macrominerais (g) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, com ganho de peso médio diário de 0,89kg/dia dividido por períodos (I -19-35 dias, II – 46 -67 dias, III – 76-97 dias) ao longo de 112 dias.....	92
Tabela 17. Perfil da concentração média de sódio (Na ⁺) e de potássio (K ⁺) de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia.....	94

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de carnes
AG	Intervalo aniônico ou ânion GAP
AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AGVs	Ácidos graxos voláteis
ALR	Acidose láctica ruminal
apoA-I	Apolipoproteína A-I
apoA-IV	Apolipoproteína A-IV
ATP	Trifosfato de adenosina
BE	Excesso de bases
BHB	Beta hidroxibutirato
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
CH ₄	Metano
Cl ⁻	Cloreto
CNF	Carboidrato não fibroso
CO ₂	Dióxido de carbono
CONCEA	Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal
dCO ₂	Dióxido de carbono dissolvido
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
GPA	α 1 Glicoproteína ácida
GPD	Ganho de peso diário
H ₂ CO ₃	Ácido carbônico
HCl	Ácido clorídrico
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
HDL	Lipoproteína de alta densidade
Hp	Haptoglobina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E

IGF-I	Fator de crescimento à insulina tipo I
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL10	Interleucina 10
K ⁺	Potássio
Kg	quilograma
LDH	Enzima lactato desidrogenase
LPL	Lipase lipoproteica
MS	Matéria seca
Na ⁺	Sódio
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NDT	nutrientes digestíveis totais
NH ₄ ⁺	Amônio
PaCO ₂	Pressão arterial de dióxido de carbono
PaO ₂	Pressão arterial de oxigênio
pCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono
PCR	Proteína C reativa
PFAs	Proteínas de fase aguda
pH	Potencial hidrogeniônico
pO ₂	Pressão parcial de oxigênio
PV	Peso vivo
SAA	Amiloide sérica A
SDS-PAGE	Eletroforese em gel policacrilamida contendo dodecilsulfato de sódio
TCO ₂	Pressão de dióxido de carbono total
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

RESUMO

A inclusão de energia, principalmente de amido, na dieta dos bovinos é crescente devido à necessidade de aumento de produtividade e aumento de eficiência zootécnica e financeira nos rebanhos destinados a produção de leite e corte. No entanto, as altas inclusões de amido trazem transtornos metabólicos aos bovinos. O objetivo deste trabalho foi estudar as principais alterações metabólicas de novilhos submetidos a duas dietas com diferentes inclusões de amido (36,96% e 16,81% de amido na MS). Foram utilizados 16 novilhos da raça Holandês com peso vivo inicial médio de $250 \pm 25,5$ Kg, avaliados ao longo de 91 dias de confinamento. As avaliações foram comparadas entre dias e em cada dia avaliado foram coletados amostras nas horas , zero, quatro, seis, oito e dez utilizando com referência a primeira distribuição de alimento do dia. Os animais foram distribuídos de acordo com o peso, 8 animais por grupo. Foram avaliados parâmetros ruminais (pH de fluido ruminal e tempo de redução do azul de metileno), parâmetros sanguíneos (glicose, lactato, albumina, magnésio, cloreto, fósforo, cálcio, ferro, beta hidroxibutirato (B-HBO), ácidos graxos não esterificados (AGNE), insulina, IGF-1, pCO₂, TCO₂, bicarbonato, hemoglobina dentre outros) e o proteinograma, analisando alfa 1- glicoproteína ácida, alfa 2 macroglobulina, apolipoproteína A1, Apolipoproteína A4, IgG, ceruloplasmina, haptoglobina e transferrina. O aumento da inclusão de amido na dieta induziu respostas metabólicas. Os animais que ingeriram dietas com maior proporção de amido apresentaram quadros de compensação de acidose metabólica mais acentuados que animais que ingeriram dietas com menor concentração de amido. Os dois grupos estavam em estado anabólico com ganho de peso de 0,89 e 1,79kg/dia para o grupo de menor e maior inclusão de amido na dieta, respectivamente. Quanto maior o nível de amido na dieta, maiores foram os valores de glicose observados.

Palavras-chave –amido, acidose, equilíbrio ácido base, metabolismo, rúmen

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the main metabolic alterations in calves that underwent two different diets, one using a 36.96% starch in dry matter composition and another using 16.81%. Sixteen Hollsteiner calves were used, initially weighting an average of $250 \pm 25,5$ Kg, evaluated along a 91-day confinement period. Evaluations were made comparing between experimental days and different sampling moments within the day, at 0, 4, 6, 8 and 10 hours, using as reference the first serving of the day. Animals were distributed in groups of eight components each, according to their weight. Ruminal parameters such as pH of ruminal fluid and blue methylene reduction time were evaluated, as well as blood parameters such as blood glucose, lactate, albumin, magnesium, chloride, phosphorus, calcium, iron, beta-hydroxybutyrate (B-HBO), non-esterified fatty acids, insulin, IGF-1, pCo₂, acid glycoprotein, alpha-2-macroglobulin, apolipoprotein A1, apolipoprotein A4, IgG, ceruloplasmin, haptoglobin and transferrin. Evaluating both metabolic and ruminal profile, it was observed that inclusion of higher percentages of starch in diets are able to cause metabolic responses. Animals that have undergone a higher starch-composed diet presented more severe acidosis compensations when compared to the other experimental group. Both experimental groups were in anabolic gain weight of 0,89 e 1,79kg/day for the 36.96% starch-group and 18.81% starch-group, respectively. The higher the starch concentration in the diet, the higher the glucose values obtained. The inclusion of energy in diet, specially coming from starch addition, is becoming increasingly used in calves' diet in order to increase productivity rates and zootechnic and financial efficiency in both beef and dairy cattle. However, exceedingly higher starch concentrations may cause metabolic disturbances to calves.

Keywords: acidosis, electrolyte disturbances, metabolism, rumen, starch

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o país com maior rebanho bovino comercial do mundo com cerca de 213,5 milhões de cabeças (IBGE, 2017). A busca por produtos de maior qualidade, sustentáveis e que tenham boa rentabilidade vem modificando o perfil de produção na bovinocultura mundial. O aumento da produtividade com utilização de menores espaços territoriais faz com que os sistemas de produção tanto destinados para leite quanto para o corte, intensifiquem as operações nas propriedades rurais (ABIEC, 2019).

A exemplo, do ano de 2001 para o ano de 2018, o número de bovinos confinados para o abate saltou de 2,06 para 5,58 milhões de cabeças, tendo um crescimento de 170,87% (ABIEC, 2019), contribuindo para atender a demanda do mercado consumidor. Com a intensificação, consegue-se reduzir a idade dos animais ao abate, fornecendo carcaças de melhor qualidade e com melhores atributos em quantidade de carne produzida, além de movimentar o segmento de nutrição animal, incluindo técnicos, indústrias, fornecedores de insumo e pesquisa (Cervieri e Carvalho, 2009).

No entanto, para que ocorra a intensificação da produção na bovinocultura mundial, um dos pontos cruciais é o aumento da densidade energética das dietas ofertada aos animais, utilizando maior quantidade de concentrados. Tal fato se dá pela necessidade de maior área para produção de volumosos, em um cenário de terras cada vez mais valorizadas, maior necessidade de mão-de-obra para este fim e dificuldade de armazenamento. Ademais dietas ricas em volumoso são mais difíceis de manipular, requerem maior quantidade de máquinas e equipamentos, são menos estáveis no cocho e podem não permitir consumo de energia suficiente para otimizar o desempenho animal, com consequente aumento nos custos de produção (Paulino e Teixeira, 2009; Paulo e Rigo, 2012). Além disso, dietas mais energéticas possibilitam melhor composição física, acabamento, conformação da carcaça e melhor rendimento de cortes comerciais. Com isso, a utilização de dietas ricas em concentrados e com baixa quantidade de volumoso são cada vez mais comuns nas fazendas, principalmente aquelas destinadas à engorda de bovinos (Millen et al., 2009; Oliveira e Millen, 2014 ; Dias et al., 2016).

Apesar dos benefícios que a dieta com altos níveis de concentrado traz, há também algumas desvantagens, que torna os animais susceptíveis a distúrbios metabólicos, com aumento na produção de ácidos orgânicos, como o ácido láctico, redução do pH do fluido ruminal. Leva a quadros de acidose, timpanismo, ruminite e paraqueratose ruminal, principalmente quando o manejo nutricional é mal feito (Silva, 2009; Parra, 2011). A saúde do rúmen está diretamente correlacionada aos eventos que ocorrem neste compartimento digestivo e os produtos gerados nele, podendo influenciar positivamente ou negativamente a saúde sistêmica do animal. Os eventos lesivos podem ser divididos nos que são ocasionados por carências nutricionais e aos relacionados ao excesso de

carboidratos rapidamente fermentáveis presente na dieta associados à deficiência de fibra (Cabral et al., 2016).

Bovinos que iniciam no confinamento sofrem mudanças fisiológicas à medida que são adaptados à nova dieta e sistema de criação. Algumas dessas mudanças são reposição de água corporal perdida, estabelecimento da imunidade contra patógenos e adequação dos microrganismos no rúmen (Brown e Millen, 2009). No processo de transição a diminuição de volumoso é o que mais causa impactos na microbiota ruminal (Moreira, 2009). O desequilíbrio das espécies microbianas pode favorecer a ação de organismos facultativos oportunistas que podem acarretar distúrbios ruminais. Protocolos de adaptação em períodos excessivamente curtos podem permitir a ocorrência de distúrbios ruminais, por outro lado, períodos excessivamente longos comprometem o ganho de peso diário (GPD) e a exploração eficiente por parte do confinamento, do ganho de peso compensatório, além de aumentar o custo de produção (Torquato, 1983; Brown e Millen, 2009).

Dietas com maior inclusão de concentrados requerem período de adaptação muito bem realizado e acompanhamento bastante rígido das operações de mistura e distribuição do alimento, respeitando-se a quantidade a ser fornecida, os horários de fornecimento e constante monitoramento dos animais no que se refere ao consumo, comportamento e escore de fezes. Com isso, permite detectar, de forma precoce e rápida, qualquer tipo de eventualidade que possa comprometer a eficácia dessa tecnologia nutricional (Paulino et al., 2013).

Apesar dos benefícios trazidos pelos manejos intensivos com dietas contendo altos teores de concentrado, como já citado, estas dietas podem levar a distúrbios ruminais, e consequentemente distúrbios metabólicos e perdas econômicas resultantes da redução da produção de leite e carne, redução da eficiência produtiva, descarte prematuro e aumento na mortalidade (Krauze e Oetzel, 2005).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar as alterações metabólicas que ocorrem em bovinos confinados submetidos a dietas com diferentes inclusões de amido.

2.2. Específicos

- Avaliar o comportamento ingestivo de bovinos submetidos a dietas com diferentes inclusões de amido.
- Avaliar as características do fluido ruminal de bovinos submetidos a dietas com diferentes inclusões de amido.
- Avaliar as alterações do equilíbrio ácido base, do metabolismo energético e minerais em bovinos submetidos a dietas com diferentes inclusões de amido.
- Avaliar o proteinograma em bovinos confinados submetidos a dietas com diferentes inclusões de amido.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Morfofisiologia ruminal

Os ruminantes têm como característica evolutiva a capacidade de aproveitar de forma eficiente carboidratos estruturais e compostos nitrogenados não proteicos como fonte energética e proteica respectivamente (Valadares Filho e Pina, 2006). Essa capacidade em aproveitar tais nutrientes, foi adquirida em função do desenvolvimento de pré-estômagos (rúmen, retículo e omaso) e da simbiose com microrganismos que fermentam os componentes dos alimentos (carboidratos e proteínas), transformando-os em subprodutos como ácidos graxos voláteis (AGVs), proteína microbiana e vitaminas do complexo B e K, que são utilizados pelo metabolismo do animal (Van Soest, 1994).

O ecossistema de microrganismos ativos no interior do rúmen consiste principalmente de bactérias, constituintes de 60 a 90% da massa microbiana com cerca de 200 espécies (1.010 a 1.011 células/mL); protozoários (104 a 106 /mL); fungos anaeróbios (103 a 105 zoósporos/mL) e bacteriófagos (108 a 109/ mL). Estes microrganismos são mantidos pelo fornecimento de nutrientes via consumo de alimentos pelo animal e pelas condições físico-químicas ruminais (pH, temperatura, anaerobiose e osmolaridade), as quais são influenciadas pela dieta (Hungate, 1966; Kozloski, 2002; Russell e Rychlik, 2001). A qualidade e a quantidade dos produtos da fermentação são dependentes do sinergismo e antagonismo dos diferentes grupos de microrganismos, que resultam na bioconversão dos alimentos na forma que será utilizada pelo animal (Reece, 2006).

Como visto anteriormente, o perfil microbiano, assim como proporção e a quantidade dos subprodutos oriundos da fermentação microbiana, pode ser influenciado por parâmetros fisiológicos ruminais (pH, temperatura, anaerobiose e taxa de passagem), que por sua vez podem sofrer interferência pelo tipo de alimento e forma como é fornecido, bem como a taxa de passagem que a dieta apresenta. Há uma especificidade dos microrganismos em

digerir determinados nutrientes da dieta. Dietas ricas em forragens resultam em maior atividade de bactérias celulolíticas e sacarolíticas, aumentando a proporção, principalmente, de ácido acético. Já as dietas ricas em amido e/ou proteína aumentam a ação das bactérias amilolíticas e/ou proteolíticas, que são produtoras principalmente de ácido propiônico (Church, 1993; Manella; Lourenço e Leme, 2003). A amônia oriunda da degradação dos compostos nitrogenados, juntamente com o fornecimento de energia, oriundo de carboidratos e carbonos, é utilizada pelos microrganismos para síntese de proteína microbiana (Hungate, 1966; Lima, 2008; Ørskov et al., 1990, Van Soest, 1994). Dentre os fatores que podem influenciar a atividade de fermentação ruminal, a temperatura no interior do rúmen deve ser mantida relativamente constante entre 37°C e 39 °C pelos mecanismos de homeostase. No entanto, a temperatura da água consumida pode afetar a temperatura do rúmen, influenciando a atividade de fermentação ruminal (Owens e Goetsch, 1993; Berchielli et al., 2006).

A ausência ou baixíssima concentração de oxigênio no ambiente ruminal, demonstrado pelo potencial redox que varia entre -250 a -450 mV, é a condição fundamental para que haja a ação dos microrganismos que fermentam o alimento em ambiente anaeróbico. Em decorrência do elevado potencial redutor e ausência de oxigênio no ambiente ruminal, os microrganismos reduzem suas opções metabólicas, sendo obrigados a utilizar os equivalentes redutores (NADH) que se encontram em excesso no meio ruminal. Além disso, para dispor dos equivalentes redutores e utilizá-los nas diversas reações, os microrganismos reduzem todos os compostos disponíveis (CO₂ a metano e sulfatos, os nitratos a sulfitos e amônia e saturam os ácidos graxos insaturados) (Valadares Filho e Pina, 2006). O potencial redox é analisado com o auxílio de indicadores como, por exemplo, azul de metileno. Quando a atividade microbiana aumenta, ocorre à descoloração muito rápida e quando a atividade é moderada a descoloração requer mais tempo, indicando que a atividade do fluido ruminal diminuiu (Dirksen, 1981). As vias de entrada de oxigênio no rúmen são através da ingestão de alimento e água e por meio de difusão do sangue, no entanto esse oxigênio é rapidamente consumido pelas bactérias anaeróbicas facultativas ou eliminado através da eructação (Van Soest, 1994; Furlan et al., 2006).

A granulometria do alimento fornecido ao animal influencia na taxa de passagem da dieta e na fermentação ruminal. Dietas com moagem fina aumentam a densidade e a ingestão, promovendo rápida passagem do material insolúvel. As dietas que são totalmente moídas levam ao desaparecimento da estratificação do conteúdo ruminal (encontrada normalmente em animais alimentados com forragem), permitindo, dessa forma, rápida passagem de partículas com conseqüente redução da sua degradação e aproveitamento por parte dos microrganismos ruminais. Além disso, dietas que possuem altas taxas de passagem estão associadas a altas concentrações de acetato (Manella e Lourenço e Leme, 2003; Valadares Filho e Pina 2006).

A fermentação ruminal também gera substâncias que não são utilizadas pelo animal e são eliminadas, significando perda energética. As principais substâncias não aproveitadas pelo metabolismo do animal e que são perdidas via eructação são o metano (CH₄) e o gás carbônico (CO₂) (Van Soest, 1994). Outro fator importante é que dietas com alto grau de fermentação (com pouca fibra ou partículas muito pequenas) elevam a produção de AGVs, levando ao abaixamento do pH ruminal, o que desfavorece o desenvolvimento de algumas espécies de microrganismos que não toleram essas condições. Microrganismos celulolíticos e metanogênicos possuem pouca tolerância ao abaixamento do pH ruminal (Slyter, 1976). Dietas com alto teor de fibra com granulometria adequada estimulam maior taxa de ruminação e maior produção de saliva, o que leva ao aumento da diluição do conteúdo ruminal e tamponamento do mesmo, mantendo condições adequadas para o desenvolvimento de bactérias celulolíticas e protozoários. Segundo Valadares Filho e Pina (2006), dietas à base de forragem diminuem a concentração de ácidos ruminais em relação a dietas com concentrado (50 a 100 mmol/L de AGVs e 80 a 150 mmol/L de AGVs, respectivamente).

3.1.1. Manutenção do pH ruminal

Para que os microrganismos se desenvolvam de forma adequada eles necessitam de uma faixa de pH ideal. A utilização de forragem pelos ruminantes depende da atividade dos microrganismos ruminais, os quais são afetados pelas características do ambiente ruminal e a sua atividade fermentativa é sensível às variações do pH do meio (Mould e Ørskov, 1983).

O pH no rúmen é determinado pela relação entre a produção de ácidos pela microbiota ruminal e a eficiência dos mecanismos de tamponamento destes. A produção de ácidos orgânicos é dependente da quantidade de carboidratos consumida e da sua taxa e extensão de degradação ruminal, enquanto que o seu tamponamento é mantido pela ação da saliva (neutralização por íons bicarbonato e fosfato) e remoção desses ácidos do rúmen, via absorção pelo epitélio ruminal ou passagem para o trato digestivo (Cabral et al., 2016). Então, há um efeito cascata: quanto mais fibrosa tiver a dieta, mais o animal vai mastigar, mais saliva será produzida e mais tamponado o rúmen estará. A maior produção de AGV é desencadeada pelo aumento de consumo de amido, que leva ao acelerado crescimento de bactérias amilolíticas, culminando com o rápido aumento da produção de AGV's e consequente redução do pH ruminal (<6,0). A manutenção da elevada ingestão de amido e do pH do rúmen abaixo de 6,0 favorece o rápido crescimento de *Streptococcus bovis*, uma bactéria gram-positiva anaeróbia facultativa. Sob estas condições, *S. bovis* muda seu metabolismo e produz ácido láctico como produto principal da fermentação da glicose através da utilização da enzima lactato desidrogenase (LDH), reduzindo, com isso, a produção de acetato e formato (Owens e Goetsch, 1993).

Segundo Silveira et al. (2006), o pH ruminal varia de acordo com a dieta e com o tempo após a alimentação. As bactérias fibrolíticas e protozoários necessitam de pH variando entre 6,2 e 6,8 para atuarem de forma adequada. Segundo Van Soest (1994), pH abaixo de 6,2 aumenta o tempo de colonização da fibra e inibe a sua degradação. No entanto, as bactérias amilolíticas vão atuar em uma faixa de pH mais baixo (5,8). Isto demonstra que o pH do líquido ruminal afeta a degradação dos alimentos de forma diferenciada, dando uma faixa de pH ideal entre 5,5 e 7,0 (Furlan et al., 2006).

A manutenção do pH em níveis adequados, entre 6,0 e 7,0, depende da capacidade de produção de agentes tamponantes, como sais à base de carbonatos, e da remoção dos AGVs por meio da absorção no rúmen (Van Soest, 1994). Os ruminantes mantêm os níveis de pH do meio ruminal adequados através da saliva, que é rica em bicarbonato de sódio e possui pH em torno de 8,1. A secreção de saliva depende do tipo de dieta que o animal recebe: dietas com alto teor de umidade diminuem a produção de saliva, no entanto, alimentos ricos em fibra induzem maior secreção de saliva (Berchielli et al., 2006). Segundo Valadares Filho e Pina (2006), dietas com menos de 40% de forragem reduzem a produção salivar, diminuindo o crescimento da flora microbiana.

A fermentação de amido e açúcares diminui o pH ruminal por produzir maior quantidade de AGVs, principalmente propionato pela via do ácido lático, que pode se acumular no rúmen, reduzindo a digestão da fibra (Van Soest, 1994). Hoover (1986) relatou que a diminuição de pH ruminal abaixo de 6,0 resulta em perda acentuada de atividade fibrolítica, com uma completa cessação de degradação de fibra com pH entre 4,5 e 5,0. Orskov (1988) afirmou que valores de 6,2 de pH do líquido ruminal é considerado como limite mínimo para adequada fermentação da fibra.

Santos et al. (2014) avaliaram os parâmetros ruminais em tourinhos, suplementados durante a seca em pastagem diferida de *Brachiaria decumbens*, encontraram valores médios de pH de 7,13 e 5,92 respectivamente para bovinos com suplementação mineral e suplementação rica em milho quebrado e farelo de soja. Silveira et al. (2006), avaliando a fermentação ruminal de novilhos mantidos em pastagem e recebendo diferentes suplementos à base de sorgo (silagem de planta inteira, silagem de grão moído e grão seco), encontraram valores de pH ruminal maior para os animais mantidos apenas em pastejo sem receber qualquer suplementação (pH= 7,04).

Já Moreira et al. (2009), avaliando o pH no fluido ruminal de vacas leiteiras, concluíram que vacas submetidas a dietas ricas em concentrado apresentam menor valor de pH (5,6), devido a rápida fermentação ruminal, já dietas com maior quantidade de volumoso apresentam maior valor de pH (6,3), por induzir maior produção de saliva.

3.1.2. Ácidos graxos voláteis

Os ácidos graxos voláteis (AGVs) são os principais subprodutos da fermentação dos carboidratos e são utilizados como fontes de energia para o metabolismo dos ruminantes (Baldwin, 1998; Berchielli et al., 2006; Olson et al., 1999). Eles são produzidos pelos microrganismos do rúmen através das suas vias metabólicas e chega a suprir cerca de 85% das exigências de energia dos ruminantes (Van Soest, 1994).

Os AGVs predominantes no fluido ruminal são os ácidos acético, propiônico e butírico, sendo os isobutírico, valérico, isovalérico, 2-metilbutírico e outros geralmente presentes em quantidades relativamente pequenas (Dijkstra, 1994). Os ácidos acético, propiônico e butírico podem ser usados para gerar ATP no metabolismo intermediário, sendo o ácido propiônico um precursor de glicose, entrando no ciclo da gliconeogênese hepática (Huntington, 1990). A concentração e as proporções relativas de AGVs estão relacionadas à natureza do alimento. A proporção molar de acetato, propionato e butirato podem variar de 75:15:10 para 40:40:20, quando se altera a relação volumoso:concentrado das dietas (Bergman, 1990).

A degradação da celulose e hemicelulose produz maior proporção de acetato, enquanto que a degradação dos carboidratos solúveis (amido e açúcares) eleva a produção de propionato, diminuindo a proporção de acetato e de butirato (Mota et al., 2010). A diminuição na proporção de acetato em dietas com alto teor de carboidratos de rápida fermentação ocorre por conta da morte das bactérias fibrolíticas e dos protozoários (principais produtores de acetato), ocasionada pela diminuição do pH ruminal. Black (1990), estudando a nutrição de ruminantes em pastejo, relatou que a proporção dos AGVs produzidos quando o animal alimenta-se somente com forragens, é de 73:20:7 (acetato:propionato:butirato), comparado com 60:30:10 em animais alimentados com forragens e recebendo suplementação a base de concentrado e 50:40:10 para animais recebendo alto teor de concentrado. Mota et al. (2010), analisando os parâmetros ruminais de vacas leiteiras mantidas em pastejo recebendo suplementação com alta e baixa inclusão de concentrados, não encontraram diferença na concentração de AGVs totais (média de 49,7 mMol/mL), entre as dietas. Oliveira et al. (2009), avaliando os parâmetros ruminais e síntese de proteína metabolizável em bovinos de corte recebendo suplementação com proteinados com diferentes níveis de proteína bruta (30, 40 e 50%) encontraram que a concentração média de acetato:propionato não diferiu entre os tratamentos com diferentes níveis de proteína e o controle, apresentando valor de 3:1. No entanto, eles encontraram concentração de acetato maior para os animais recebendo dietas com diferentes níveis de proteína em relação aos animais recebendo a dieta controle (com valores de 6,47 mMol% e 5,85mMol% de acetato, respectivamente).

Manella et al. (2003), avaliando os parâmetros ruminais de bovinos em pastejo com suplementação de proteína ou acesso a banco de proteína encontraram que o

fornecimento de proteína alterou a proporção de AGVs, diminuindo a relação acetato:propionato decorrente do aumento da concentração do ácido propiônico, em associação à diminuição de ácido acético. Segundo esses autores, a maior produção de propionato, em vez de acetato ou butirato ocasiona maior eficiência energética, tanto devido ao maior aporte de substâncias gliconeogênicas (ácido propiônico), como pela diminuição na perda de energia devido à menor produção de metano.

3.1.3. Acidose ruminal

O equilíbrio entre a população de bactérias celulolíticas e as que utilizam outros carboidratos faz com que a digestão ocorra de forma adequada e alterações neste mecanismo podem ocasionar indigestão, disfunção ruminal e absorção de toxinas (Ogilvie, 2000; González e Silva, 2006).

A ingestão de grandes quantidades de alimento rico em carboidratos altamente fermentáveis altera a concentração de ácidos graxos voláteis, principalmente ácido propiônico e butírico em relação ao ácido acético, e contribui para diminuir o pH ruminal e alterar o perfil da microbiota ruminal (Hall, 2004). Esta alteração pode provocar o aparecimento de acidose ruminal (Blood et al., 1979; Kaneko et al., 1997). Segundo González e Silva (2006) a acidose ruminal comumente desencadeia acidose metabólica, caracterizada por nível de lactato sanguíneo superior a 5 mmol/L (valor de referência de 1,2 mmol/L).

Após duas a seis horas da ingestão de quantidades excessivas de alimentos altamente fermentáveis (amido) pelo ruminante é verificada mudança na população microbiana do rúmen. Há acentuado aumento no número de *Streptococcus bovis*, os quais utilizam os carboidratos para produzir grandes quantidades de ácido láctico, que diminuirá ainda mais o pH ruminal a tal ponto que serão destruídas as bactérias celulolíticas e os protozoários (Blood et al., 1979; Kaneko et al., 1997; Bevans et al., 2005).

No entanto, a acidose ruminal é um distúrbio que pode se manifestar em graus variados, sendo a classificação mais descrita na literatura como acidose ruminal aguda (também conhecida como acidose ruminal clínica ou acidose láctica) e acidose ruminal subaguda (também conhecida como acidose ruminal subclínica ou acidose latente crônica) (Blood et al., 1979; Stock e Britton, 1991; Ogilvie, 2000).

As perdas econômicas são mais acentuadas em quadros de acidose subclínica do que em acidose clínica, pois os sinais, na maioria dos casos não são evidentes como em casos clínicos (Nocek, 1997). A acidose subclínica ocorre quando a produção de AGVs é maior que a capacidade de tamponamento ruminal, reduzindo o pH do fluido ruminal abaixo dos valores fisiológicos por períodos variados (Beauchemin, 2002).

Embora não exista um consenso entre os autores, a acidose ruminal subaguda é caracterizada basicamente pelos valores de pH do fluido ruminal. Valores entre 5,5 a 6,0,

independente do método de obtenção da amostra, são utilizados como ponto de corte (Bauer et al., 1995; Hibbard et al., 1995; Reinhardt et al., 1997; Cooper et al., 1999; Beauchemin et al., 2001; Ghorbani et al., 2002; Koeing et al., 2002;). Em bovinos de corte é considerada acidose subaguda quando o pH ruminal abaixa de 5,8 por mais de 12 horas durante o dia. Essa situação resulta do consumo de grande quantidade de concentrado ou dietas com baixo teor de fibra efetiva (Nocek, 1997; Krause e Oetzel, 2006).

Já a definição e diagnóstico da acidose aguda são mais evidentes e geralmente os animais apresentam alterações no fluido ruminal além do pH como coloração cinza-leitoso e aquoso com odor ácido. O pH é variável, dependendo da duração do quadro e da dieta, mas é diagnóstico se for menor que 5,0 (Ogilvie, 2000; González e Silva, 2006). Além disso, a ausência de protozoários vivos no líquido ruminal, coloração de Gram evidenciando estreptococos, com uma população predominante de bastonetes Gram-positivos e outras formas mistas, principalmente Gram-negativas, corroboram com o diagnóstico da acidose ruminal aguda (Ogilvie, 2000; González e Silva, 2006; Milleo et al., 2007).

Para realização de diagnósticos de acidose ruminal muitas vezes a mensuração do pH do fluido ruminal é realizada. No entanto, um estudo demonstrou que a rumenocentese é um teste de campo mais confiável que a sonda ororuminal para mensurar o pH ruminal. Isto porque com a sonda pode haver contaminação do conteúdo ruminal com a saliva e heterogeneidade entre os locais de amostragem dentro do rúmen, podendo mascarar os resultados (Duffield et al., 2004). Salles et al. (2013), comparando pH ruminal entre amostras dos mesmos animais coletadas por fístula ruminal e por sonda ororuminal observaram valores de pH para as amostras colhidas antes da alimentação de $6,75 \pm 0,8$ e $7,15 \pm 1,69$ e depois da alimentação $6,39 \pm 2,11$ e $6,95 \pm 0,93$ para amostras coletadas por fístula e sonda, respectivamente. Duffield et al. (2004) encontraram valores de pH ruminal variando de 0,35 e 0,33 unidades mais baixas quando comparando as técnicas de coleta por sonda e fístula ruminal quando comparada à técnica de ruminocentese.

Dentre as consequências observadas em quadros de acidose ruminal destaca-se a ocorrência de acidose metabólica (Owens et al., 1993). É difícil afirmar, qual grau de acidose ruminal relaciona-se à acidose metabólica, mas certo grau de acidose metabólica sempre pode ser esperado em casos de acidose ruminal influenciado, principalmente, pelo tempo em que o pH fica abaixo do nível fisiológico e pela sua velocidade de redução (Nocek, 1997).

3.2. Homeostase do equilíbrio ácido base

A manutenção da homeostase é diretamente dependente do equilíbrio dinâmico que há entre os líquidos corporais, pH e eletrólitos (Cunningham, 2004). A estabilidade do pH

dos fluidos corpóreos destaca-se entre as muitas funções que o organismo deve manter em equilíbrio. Dessa forma, o organismo desenvolveu no decorrer da evolução uma série de mecanismos que fazem com que o pH permaneça dentro de limites muito estritos (Ortolani, 2003).

A manutenção do pH em valores fisiológicos é de extrema importância, uma vez que inúmeros processos bioquímicos são influenciados por enzimas intracelulares, as quais têm sua atividade excelente somente em determinada faixa de variação de pH (Cunningham, 2004; Houpt, 2006).

Fisiologicamente, os valores de pH sanguíneo variam entre 7,35 e 7,50, sendo que o organismo possui diversos mecanismos para regulá-lo (Carlson, 1997; Radostits et al., 2007). As reações metabólicas, porém, tendem a desviar continuamente este pH para baixo ou para cima. Em condições normais, os ácidos e bases absorvidos ou gerados endogenamente são devidamente tamponados, transformados em outros compostos ou sumariamente eliminados. Entre os órgãos envolvidos no equilíbrio ácido base destacam-se rins, sangue, intestinos, pulmões e fígado (Ortolani, 2003). Portanto, para combater os desequilíbrios ácido base, o organismo utiliza três mecanismos principais: tamponamento químico, principalmente pelo bicarbonato, ajuste respiratório e excreção de íons pelos rins. Os sistemas tampão e respiratório atuam dentro de poucos minutos, ao contrário dos rins, que respondem lentamente ao excesso de ácido ou de base (Guyton e Hall, 2002; Houpt, 2006). Os tampões presentes nos fluidos corporais são constituídos de pares conjugados de ácidos e bases fracas, sendo as bases substâncias capazes de doar prótons e os ácidos capazes de receber prótons (Dibartola, 2000).

Assim, a regulação do pH está ligada a um rigoroso e preciso controle da concentração de íons H^+ intra e extracelulares (Dibartola, 2000). Os tampões intracelulares são as proteínas, fosfatos orgânicos e inorgânicos e a hemoglobina, nos glóbulos vermelhos (Carlson, 1997). As proteínas plasmáticas funcionam como o tampão. O mecanismo de ação ocorre através dos aminoácidos, os quais podem associar ou dissociar H^+ de acordo com a necessidade do sangue e assim, atuar na manutenção do pH fisiológico. Os fosfatos orgânicos e inorgânicos, por sua vez, atuam no transporte de H^+ e de sódio, aumentando as trocas renais para a correção dos desequilíbrios ácido base. Já a hemoglobina destaca-se por ser a proteína que atua como tampão intracelular mais abundante no organismo (Carlson, 1997; Rose e Post, 2001). A capacidade tampão da hemoglobina está relacionada à sua oxigenação e desoxigenação. Logo, o aumento da acidez favorece a liberação de oxigênio, enquanto que sua redução facilita a fixação de oxigênio. Quando a hemoglobina é desoxigenada, forma compostos carbamínicos e íons H^+ são liberados. Além disso, a maior porção do gás carbônico que entra nos eritrócitos é hidratada para formar ácido carbônico por ação da anidrase carbônica. Em seguida, o ácido carbônico ioniza-se, formando H^+ e bicarbonato, que se difundem para o plasma. Quando o ácido carbônico ioniza-se, forma um número igual de cátions hidrogênio e ânions bicarbonato.

Os íons H^+ se combinam com a hemoglobina e a carga da hemoglobina se reduz. O sódio e o potássio são balanceados eletricamente com os bicarbonatos formados, mantendo a neutralidade elétrica da solução (Ortolani, 2003).

A troca catiônica realizada pelas células é outro recurso do organismo que pode auxiliar o tamponamento dos meios intra e extracelular. Este processo é realizado pela membrana celular, constituindo-se no movimento de H^+ através da membrana na troca por potássio (K^+) e sódio (Na^+) (Rose e Post, 2001). O cloreto (Cl^-) e o bicarbonato (HCO_3^-) são os principais ânions no meio extracelular e suas interações são complexas e dependem diretamente da concentração de Na^+ , além das concentrações de K^+ e do pH sanguíneo (DiBartola, 2000). O potássio é o principal cátion do meio intracelular, sendo sua distribuição associada ao sódio, pela “bomba de Na^+/K^+ - ATPase” (Carlson, 1997). O aumento dos níveis de K^+ no meio extracelular é uma resposta fisiológica à acidose metabólica (Tietz et al., 1994).

No meio extracelular, o par conjugado bicarbonato/ácido carbônico é o sistema de tamponamento mais importante (Rose e Post, 2001). O bicarbonato é proveniente do ácido carbônico que é sintetizado endogenamente em vários órgãos do corpo, tais como rins, hemácias, fígado, etc. Contudo, depois de formado, o ácido carbônico tem estabilidade muito baixa, permanecendo por poucos segundos, sendo transformado em bicarbonato e H^+ ou CO_2 e água, dependendo do grau de saturação e da natureza da reação. O CO_2 produzido nos tecidos, ao difundir-se na corrente sanguínea, combina-se instantaneamente com H_2O , formando o ácido carbônico (H_2CO_3), um ácido fraco, que, devido a sua instabilidade, dissocia-se em H^+ e HCO_3^- . Esta reação é mediada pela anidrase carbônica, que está presente nos eritrócitos (Dibartola, 2000).



A concentração sérica do bicarbonato é, em média, de 24 mEq/L, entretanto, a concentração do ácido carbônico não pode ser mensurada devido à sua alta instabilidade (Cunningham, 2004; Houpt, 2006). Desta forma, a determinação da pressão parcial de CO_2 (pCO_2) é o método utilizado para a avaliação da concentração do H_2CO_3 já que há uma correlação direta entre a concentração de CO_2 no sangue e a quantidade de ácido carbônico (H_2CO_3) (Carlson, 1997). Assim, pCO_2 e a concentração sérica de HCO_3^- formam o par de tampões utilizados para o monitoramento do pH no meio extracelular (Rose e Post, 2001). Logo, quanto maior a concentração HCO_3^- no meio, maior será o pH do fluido, ocorrendo o inverso com a pCO_2 . Portanto, quando há acúmulo de CO_2 no sangue há diminuição no pH, o que pode significar biologicamente acidose, enquanto o aumento no teor de HCO_3^- representará alcalose (Gomes, 1997).

Os rins e pulmões atuam integradamente para controlar desvios acentuados de H^+ e, conseqüentemente, do pH sanguíneo. Estes órgãos são capazes de interferir no equilíbrio

ácido base por regularem o principal tampão do organismo, o par CO_2 e HCO_3^- . Após a adição ou acúmulo de uma determinada quantidade de ácido não volátil, por exemplo, este é imediatamente tamponado pelo HCO_3^- que, ao ligar-se ao íon hidrogênio proveniente do ácido não volátil, forma H_2CO_3 . Este, por sua vez, é convertido em CO_2 pela enzima anidrase carbônica. O aumento da concentração de CO_2 estimula maior ventilação pulmonar, de modo a eliminar o CO_2 adicional formado. Os rins, por sua vez, podem aumentar a reabsorção de H_2CO_3 filtrado de modo a repor a quantidade perdida na titulação de ácido. Dessa maneira, os rins e os pulmões contribuem para a manutenção do pH em níveis fisiológicos (Carlson e Bruss, 2008; Freitas, 2010).

Estes traços de adaptações aparecem em vários níveis de organização e é o que leva a cinco respostas do sistema respiratório que podem ser a chave para a adaptação à hipoxia: 1) uma abrupta HVR (resposta de ventilação hipóxica) mediado pelo sensor de O_2 do seio carótido e, servindo contra o potencial de alcalose que levará a uma hiperventilação; 2) resposta hipóxica vasoconstritora dos pulmões mediada pelos sensores de O_2 vascular que funcionam para minimizar os riscos de hipertensão pulmonar; 3) regulação do crescimento vascular endotelial expresso pelos sensores de O_2 vascular, angiogênese e, ainda, aumenta o volume de sangue circulante; 4) regulação da expressão de eritropoietina mediada pelos sensores de O_2 renal, eritropoiese, e aumento de volume de RBC (células vermelhas do sangue) capacitadas para carrear O_2 ; e 5) ajuste das passagens metabólicas para alterar o fluxo de fluidos essenciais no músculo esquelético e atenuar as concentrações de enzimas especializadas em metabolismo aeróbico e ainda, alterar as razões de metabolismo glicolítico/mitocondrial (Hochachka et al., 1997).

3.2.1. Alterações no equilíbrio ácido base

Distúrbios do equilíbrio ácido base são classificados de acordo com o componente responsável pela alteração. O processo patológico que provoca acúmulo de ácidos é chamado acidose e o que causa acúmulo de bases é denominado alcalose. A redução do pH sanguíneo é denominada acidemia, por outro lado, a elevação do pH sanguíneo é denominado alcalemia. Dependendo da natureza do elemento acumulado, volátil ou não, o desequilíbrio pode ser classificado também em metabólico ou respiratório (Goel e Calvert, 2011). Existem numerosas doenças e alterações metabólicas que podem causar desequilíbrios ácido base dos ruminantes (Carlson, 1997; Gomes, 1997). Segundo Constable (2014) a equação de Henderson-Hasselbalch é muito utilizada para o diagnóstico e tratamento desses desequilíbrios. Contudo, ele recomenda a utilização da equação de Henderson-Hasselbalch para o diagnóstico de equilíbrio ácido base para casos em que a concentração de proteínas totais estejam normais. Assim, em casos em que as concentrações de albumina sérica, globulina, ou fosfato são anormais, o equilíbrio ácido

base deve ser avaliado usando a abordagem simplificada de íons fortes de Constable (1997). A abordagem de íons fortes para o equilíbrio ácido base postula que o pH do sangue depende do sistema respiratório, avaliado por $p\text{CO}_2$, e do metabolismo, avaliado pelo SID (diferença entre cátions e ânions) e pela concentração de tampões não voláteis (albumina, globulina e fosfato) no plasma (Constable et al., 1997). Na Tabela 1 são apresentadas a classificação e caracterização dos quadros de acidose e alcalose.

Tabela 1. Alteração dos componentes primários do equilíbrio ácido base e suas respostas compensatórias

pH	$p\text{CO}_2$	HCO_3^-	EB	[proteínas totais]	Alteração
7,4	40mmHg	24mmEq/ L	N		Normalidade
↑	↓	↓	N ou ↓	-	Alcalose respiratória
↑	↑	↑	↑	↓*	Alcalose metabólica
↓	↑	↑	N	-	Acidose respiratória
↓	↓	↓	↓	↑*	Acidose metabólica
↓	↑	↓	↓	-	Acidose mista respiratória e metabólica
↑	↓	↑	↑	-	Alcalose mista respiratória e metabólica
7,4	↑	↑	↑	-	Distúrbio misto acidose alcalose
7,4	↓	↓	-		Distúrbio misto alcalose acidose

Fonte: (Bookallil, 2009; Constable, 2014)

EB – Excesso de base

*[] proteínas totais anormal; N: normal; ↑Aumenta; ↓Diminui

3.2.2. Acidose metabólica

A acidose metabólica é caracterizada por uma queda no pH e na concentração de HCO_3^- . Pode ser causada pelo aumento de H^+ ou pela perda de bicarbonato. O primeiro evento pode ser devido ao acúmulo de ácido láctico ou de corpos cetônicos, em alguns estados fisiológicos como exercício exagerado, jejum prolongado, diabetes ou cetose em vacas recém paridas ou em ovelhas com gestação avançada. O segundo evento pode ser devido a falhas renais que leva a uma menor capacidade de reter HCO_3^- ou para excretar H^+ , ou também devido a perdas de bicarbonato em uma diarreia severa (Lopes et al., 1996).

A resposta compensatória inicial é feita pelos sistemas tampão extracelulares, especialmente o tampão bicarbonato. Os sistemas tampão intracelulares (proteínas e fosfato) também contribuem no processo de tamponamento. Na acidose, o excesso de H^+ extracelular invade o espaço intracelular, deslocando o K^+ de dentro para fora da célula (troca catiônica). Este evento ajuda a prevenir o aumento excessivo de H^+ extracelular. Essa troca pode causar hipercalemia, mesmo que as reservas de potássio no organismo estejam diminuídas devido a perdas no rim ou intestino. O efeito compensatório rápido é feito pelo pulmão (Lopes et al., 1996). O decréscimo no pH é captado pelos quimiorreceptores dos grandes vasos, estimulando hiperventilação, a qual causa uma diminuição da pCO_2 . Este efeito é, contudo, de curta duração. O efeito compensatório à longo prazo requer a ação do rim. Quando não há lesão renal, os túbulos aumentam a reabsorção de HCO_3^- e a excreção de H^+ , especialmente sobre a forma de íons amônio (NH_4^+), uma vez que a excreção de H^+ via fosfato não tem capacidade de aumentar muito. A compensação de uma acidose metabólica pode ser comprometida quando há deficiência da função renal (Polzin, 1988).

3.2.3. Alcalose metabólica

A alcalose metabólica é caracterizada por elevação do pH e da concentração de bicarbonato. Em ruminantes este quadro se apresenta associado a distúrbios digestivos com perda excessiva de líquidos, como no sequestro de fluidos nos pré-estômagos. Em outros animais, pode ser devido à ingestão excessiva de álcalis, como no uso de bicarbonato de sódio como antiácido ou, mais frequentemente, por perda de ácido pelo organismo, como ocorre no vômito prolongado, devido à perda de HCl. Além disso, a administração de diuréticos pode causar perda de ácidos da urina (Lopes et al., 1996). A hipocalemia também contribui para a manutenção da alcalose metabólica. Na hipocalemia ocorre aumento da concentração intracelular de íons H^+ (que entram para manter o equilíbrio eletrolítico intracelular). Com isso, o aumento de H^+ no interior das células tubulares renais provoca aumento na excreção de H^+ e, portanto, na reabsorção de bicarbonato (Rose e Post, 2001).

A resposta compensatória na alcalose metabólica é feita pelo pulmão, reduzindo a taxa de ventilação. Este efeito é controlado pelos quimiorreceptores do centro respiratório e dos corpos carotídeos, os quais captam o valor elevado de pH, com efeito final de aumento da pCO_2 (de 40mmHg para 55mmHg) (Meyer et al., 1995; Gomes, 1997; Dibartola, 2000). A hiperclorêmia também pode ser observada na acidose metabólica compensada, pois a concentração de Cl^- tende a variar inversamente com a concentração de bicarbonato (Fürl, 2005; Russell e Roussel, 2007).

3.2.4. Acidose respiratória

Quadro de acidose respiratória é constatado pelo acúmulo de CO_2 na corrente circulatória devido à diminuição na ventilação alveolar, que resulta inicialmente em queda nos teores de O_2 e, em seguida, em aumento da pressão de CO_2 . Qualquer disfunção que interfira com a ventilação pode causar acidose respiratória, como obstrução respiratória anterior, pneumonias e pneumotórax. Doenças ou drogas anestésicas que interfiram com o centro respiratório, diminuindo a frequência respiratória podem causar retenção de CO_2 (Lopes et al., 1996).

A compensação orgânica na acidose respiratória não é tão eficiente como na acidose metabólica. Mesmo assim, o organismo aumenta a retenção renal de bicarbonato, só que este processo demora alguns dias e é verificado mais em quadros crônicos de acidose respiratória. Animais com acidose respiratória muitas vezes assumem atitude ortopnéica, com o pescoço estendido, os membros abduzidos e as narinas bem abertas, podendo ser acompanhado de dispneia, respiração superficial e taquipneia. Em algumas situações pode ser verificada congestão ou cianose das mucosas (Parker et al., 2003; Förl, 2005; Russell e Roussel, 2007).

3.2.5. Alcalose respiratória

A alcalose respiratória é uma condição na qual o sangue é alcalino porque a respiração rápida ou profunda acarreta uma concentração baixa de dióxido de carbono. A hiperventilação (respiração rápida e profunda) provoca eliminação excessiva de dióxido de carbono do sangue. A resposta compensatória inicial é feita através do tamponamento pelo sistema bicarbonato (Thrall, 2007).

O efeito compensatório posterior é feito pelo rim, ocorre diminuição tanto na excreção de H^+ como da reabsorção de HCO_3^- . A diminuição na concentração plasmática do bicarbonato é equilibrada pelo aumento na retenção de Cl^- , para manter a eletroneutralidade, levando a hiperclorêmia de compensação (Förl, 2005; Russell e Roussel, 2007).

3.2.6. Distúrbios mistos

Em algumas situações, um quadro clínico mais complexo pode se caracterizar por dois ou mais distúrbios primários. Nesse caso, tem-se então, os chamados distúrbios mistos. A ocorrência destes é suspeita quando os valores de pH e demais variáveis associadas ao equilíbrio ácido base não correspondem ao esperado em função das suspeitas clínicas

iniciais e respostas compensatórias previstas (Hubble, 2004; Ayers e Dixon, 2012; Escalera-Valente et al., 2013).

3.2.7. Hemogasometria

A hemogasometria é um exame de grande importância na avaliação do equilíbrio ácido base e pode fornecer informações fundamentais para o diagnóstico e o prognóstico de várias enfermidades dos bovinos (Ortolani, 2003). Na hemogasometria, os parâmetros mais relevantes para avaliação do equilíbrio ácido base são pH, pressão parcial de dióxido de carbono ($p\text{CO}_2$), pressão parcial de oxigênio ($p\text{O}_2$), bicarbonato (HCO_3^-), total de CO_2 (TCO_2), excesso de bases (BE) e intervalo aniônico (ânion gap) (Tabela 2) (Russell e Roussel, 2007; Dibartola, 2012).

O pH é o resultado final da interação de todos os elementos envolvidos no equilíbrio ácido base, portanto é tomado como ponto de partida na avaliação do exame hemogasométrico. O pH do sangue venoso dos bovinos varia de 7,35 a 7,50 sendo os valores inferiores a esta variação indícios de acidose e os superiores, alcalose (Carlson, 1997; Radostits et al., 2007). Variações fora de 7,0 a 7,7 são críticas para a vida do animal (Quiroz-Rocha et al., 2000). Valores de pH dentro do intervalo de referência não excluem alterações do equilíbrio ácido base, pois podem indicar um desequilíbrio primário devidamente compensado ou um distúrbio misto no qual as influências da acidose e alcalose no pH se anulam (Goel e Calvert, 2011; Monnig, 2013).

Tabela 2. Valores normais dos principais parâmetros no exame hemogasométrico para bovinos

PARÂMETRO	CARLSON, (1997)	SUCUPIRA e ORTOLANI, (2003)	RASDOSTITS et al., (2007)	KANEKO et al., (2008)
pH	7,35 – 7,50	7,29 – 7,40	7,35 – 7,50	7,31 – 7,53
HCO_3^- (mM)	20 – 30	20 – 29	20 – 30	17 – 29
TCO_2 (mM)	25,6 – 33,4	21 – 30	-	-
EB (mM)	-	-2,3 – 3,7	-	-
$p\text{CO}_2$ (mmHg)	-	33 – 46	-	-
$p\text{O}_2$ (mmHg)	-	83 – 95	-	-
Ânion GAP (mmol/L)	13,9 – 20,2	-	17,2	10 – 20

A $p\text{CO}_2$ (pressão parcial de dióxido de carbono), juntamente com o pH, é utilizada para avaliar o equilíbrio ácido base. A $p\text{CO}_2$ é uma medição da tensão ou pressão do dióxido de carbono dissolvido no sangue e representa o equilíbrio entre a produção celular de CO_2 e a remoção de CO_2 pela ventilação, sendo que mudança na $p\text{CO}_2$ indica alteração

neste equilíbrio (ABBOTT, 2017). Elevações em seu valor indicam acidose respiratória e reduções indicam alcalose respiratória (Carlson, 1997; Gomes, 1997).

O bicarbonato pode ser mensurado como padrão e sérico. O HCO_3^- padrão se refere aos valores plasmáticos, sem levar em consideração as influências respiratórias, ou seja, este valor é calculado considerando que a pCO_2 é de 40 mmHg. Já o bicarbonato sérico é aquele medido diretamente no sangue (Bookallil, 2009). Os valores fisiológicos de HCO_3^- plasmático para bovinos giram em torno de 27 mmol/L. O bicarbonato é o alcalinizante mais importante do equilíbrio ácido base e está diretamente relacionado à capacidade de tamponamento do sangue. Sua redução indica acidose metabólica e a sua elevação indica alcalose metabólica. O tCO_2 envolve a soma do HCO_3^- e do CO_2 , sendo ligeiramente maior que o HCO_3^- . Sua redução indica acidose e sua elevação indica alcalose, porém, por envolver os componentes metabólicos e respiratórios, é pouco específico quanto à origem do desequilíbrio (Bateman, 2008; Freitas et al., 2010; Russell e Roussel, 2007).

A pO_2 (pressão parcial do oxigênio) é uma medição da tensão ou pressão do oxigênio dissolvido no sangue. Algumas causas de valores reduzidos de pO_2 incluem reduzida ventilação pulmonar (ex. obstrução das vias respiratórias ou trauma cerebral) e troca de gases diminuída entre o ar alveolar e sangue capilar (ex. bronquites, enfisema ou edema pulmonar) e a alteração no fluxo sanguíneo dentro do coração ou pulmões (ex. deformações congênitas no coração ou desvio de sangue venoso para o sistema arterial sem oxigenação nos pulmões) (ABBOTT, 2017).

Para quantificar o componente metabólico do desequilíbrio, criou-se o conceito de excesso de base, que significa a quantidade de base ou ácido necessária para titular a amostra de sangue até o pH de 7,4 com a pCO_2 em 40mmHg. Sua variação é interpretada de maneira semelhante ao HCO_3^- , sendo que sua redução indica acidose metabólica e sua elevação indica alcalose metabólica. O excesso de base também é utilizado para calcular a dose de bicarbonato de sódio no tratamento da acidose metabólica (Constable, 2003; Kellum, 2005).

O conceito de intervalo aniônico ou ânion GAP (AG) foi criado para auxiliar a caracterizar mais especificamente os desequilíbrios metabólicos. É calculado pela diferença entre os principais cátions, sódio e potássio, e os principais ânions, cloreto e bicarbonato, do líquido extracelular. No entanto, essa diferença não é real, pois a homeostase do organismo exige a manutenção da eletroneutralidade, ou seja, a soma da carga de todos os cátions deve ser igual à soma da carga de todos os ânions. Como não são mensurados todos os eletrólitos presentes no sangue, para simplificação da definição, adota-se como valor de intervalo aniônico a seguinte equação: $\text{AG} = [\text{Na}^+ + \text{K}^+] - [\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-]$ (Constable, 1999). Estes íons são utilizados para este cálculo por estarem em maior concentração e importância no meio extracelular. As cargas dos cátions não medidos no sangue tendem a balancear as cargas dos ânions não medidos. Os cátions não medidos são o cálcio e o magnésio, enquanto os ânions são as proteínas, o fosfato e os

sulfatos (Carlson, 1997). O aumento do AG sugere uma acidose metabólica ou insuficiência renal (retenção de ácidos). A vantagem do AG é que ânions não mensurados como lactato e corpos cetônicos são clinicamente relevantes (Constable, 2000; Freitas, 2010; Russell e Roussel, 2007). Aumento do AG em bovinos pode ocorrer em importantes condições clínicas como a cetose, a diarreia de bezerros e a acidose láctica ruminal, devido ao acúmulo de corpos cetônicos e lactato, respectivamente (Fürll, 2005; Müller et al., 2012; Ortolani e Maruta e Minervino, 2010).

O sangue venoso é rotineiramente utilizado para a realização de hemogasometria por ser de mais fácil colheita do que o arterial, e por oferecer resultados confiáveis nos casos de acidose metabólica (Dibartola, 1992). Sucupira e Ortolani (2003) encontraram alta correlação nos valores de pH, bicarbonado e excesso de base (BE) entre sangue venoso e arterial de bovinos, indicando que o sangue venoso pode refletir precisamente o equilíbrio ácido base. Apesar das pesquisas com equilíbrio ácido base nas enfermidades de bovinos no Brasil serem escassas, o conhecimento da fisiologia dos mecanismos de regulação do equilíbrio eletrolítico e ácido base é de extrema importância para a determinação do prognóstico clínico e para a escolha do tratamento adequado, minimizando, dessa forma, as possíveis perdas econômicas por diminuição da produção ou até mesmo pela morte dos animais (Freitas, 2010).

3.3. Proteoma

O termo “proteoma” foi proposto por Wilkind e Willians em 1996, como sendo todo o conjunto de proteínas expressas por um genoma. Após o sequenciamento dos genomas de vários organismos, a comunidade científica percebeu que os dados do genoma não revelavam informações sobre a expressão dos genes, a quantidade expressa e o funcionamento de seus produtos (Silva e Corrêa e Reis, 2007) e que para se compreender melhor a função gênica era necessário o estudo em larga escala das proteínas expressas (Gygi et al., 1999). Os genes são compostos de sequência linear de nucleotídeos relativamente invariável quando comparada às estruturas proteicas que são mais complexas em função do *splicing* alternativo do gene, das modificações pós-traducionais e de interações proteína-proteína. Assim, diferente do genoma, o proteoma é altamente dinâmico e variável. Considera-se que os genomas humanos e bovinos contêm de 20 a 25 mil genes codificadores de proteínas, gerando um proteoma potencialmente complexo (Berry et al., 2011).

A proteômica, portanto, aborda a estrutura, função e controle dos sistemas biológicos por meio da análise das propriedades das proteínas, podendo ainda demonstrar como os processos metabólicos, regulatórios e de sinalização se tornam disfuncionais nos estados patológicos (Zapata e Wick, 2012). Segundo Rocha et al. (2005), o estudo do proteoma pode levar à descoberta de vias metabólicas nas diversas etapas celulares, viabilizar a

identificação de novas moléculas bioativas em extratos biológicos naturais e auxiliar na identificação e caracterização de marcadores biológicos.

Dessa maneira, a pesquisa proteômica torna possível a identificação e caracterização de biomarcadores, ou seja, moléculas endógenas ou exógenas específicas de um determinado estado patológico. A capacidade de identificar essas moléculas é extremamente útil no diagnóstico precoce de doenças e no acompanhamento da evolução do tratamento (Cash, 2002). Os perfis e características de proteínas em fluidos fisiológicos, por exemplo, são excelentes indicadores do estado nutricional e de modificações pós-traducionais de proteínas. Os perfis de proteínas no plasma/soro podem ser usados como biomarcadores para avaliar a adequação de nutrientes específicos, diagnosticar doenças e monitorar a resposta terapêutica. Existem evidências de que a nutrição altera os proteomas do plasma e dos fluidos corporais em humanos e animais. Por exemplo, a suplementação dietética com α -tocoferol aumenta as isoformas plasmáticas da apolipoproteína A1 em indivíduos saudáveis normais (Aldred et al., 2006), enquanto que uma redução acentuada nos níveis plasmáticos de três proteínas ocorre em ratos deficientes em retinol (Linke e Ross e Harrison, 2004). Além disso, o fornecimento inadequado de vitamina B-12 na dieta induz mudanças profundas no proteoma do líquido cefalorraquidiano do rato, vinculando a vitamina B-12 às funções neurológicas (Gianazza et al., 2003).

Os estudos proteômicos na produção animal têm abordado principalmente o monitoramento da saúde e bem-estar animal por meio da identificação de biomarcadores, compreensão de vias metabólicas, definição do status sanitário, mecanismos patogênicos, interação patógeno-hospedeiro, diagnósticos e desenvolvimento de vacinas (Almeida et al., 2014; Bendixen et al., 2010; Danielsen et al., 2010). Apesar de ainda configurar uma pequena parcela dos resultados nas pesquisas de saúde animal, a abordagem proteômica na medicina veterinária e saúde animal tem aumentado nos últimos anos (Bilić et al., 2018).

Para monitorar a saúde e a doença em animais de fazenda, amostras de fluidos corporais como soro, plasma e leite são importantes no diagnóstico, uma vez que suas composições refletem o estado geral de saúde de cada animal (Eckersall, 2007; Eckersall e Saini e McComb, 1996). A resposta fisiológica a infecções e lesões, por exemplo, envolve inflamação local e o início de eventos que levam a uma resposta sistêmica, denominada reação de fase aguda. A reação de fase aguda, por sua vez, leva à modificação quantitativa e qualitativa de um grupo de proteínas presentes no sangue e em outros fluidos biológicos, denominadas coletivamente de proteínas de fase aguda (PFAs). Acredita-se que as PFAs desempenham papéis importantes em vários aspectos da reação sistêmica à inflamação, incluindo a opsonização de vários patógenos, a eliminação de substâncias potencialmente tóxicas e a regulação geral de diferentes estágios da inflamação (Ceciliani et al., 2012).

As PFAs podem ser produzidas por hepatócitos e tecidos periféricos e podem ser classificadas de acordo com a modificação em suas concentrações sendo, PFAs positivas se aumentar ou PFAs negativa se diminuir, podendo, portanto, ser usadas como biomarcadores de doenças em ruminantes (Petersen e Nielsen e Heegaard, 2004). Notavelmente, algumas proteínas que são reguladas negativamente durante a fase aguda do soro são, ao contrário, reguladas positivamente em tecidos extra-hepáticos (Ceciliani et al., 2012).

Alterações no padrão sérico bovino foram estudadas em animais com inflamação aguda do úbere (Schmid et al., 1973) e durante a prenhez com ou sem complicações. A mudança no proteoma no soro de bovino de vacas em torno do parto mostraram aumentos em PFAs, como haptoglobina e alfa-1-glicoproteína ácida (Cairolí et al., 2006). As PFAs têm sido usadas, também, por pesquisadores para investigar aspectos da fisiopatologia do trato gastrointestinal de bovinos e em vários estudos sobre os efeitos que a variação da dieta podem exercer sobre a fisiologia do trato gastrointestinal (Ceciliani et al., 2012). Em um estudo de Romao et al. (2014), foi estudada as alterações proteômicas no tecido adiposo subcutâneo de bovinos alimentados com dieta rica em grãos para entender os mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento da gordura. A baixa abundância de proteínas lipogênicas na gordura subcutânea implicava que os nutrientes consumidos pelo gado eram canalizados para o desenvolvimento muscular em vez de deposição de gordura e, como consequência, estudos nessa área poderiam ajudar desenvolver novas estratégias para manipular a adiposidade em bovinos de corte, melhorando a qualidade da carne e produtividade animal.

Em 2009, Kuhla et al., realizaram um estudo que visava explorar a inter-relação entre estado nutricional e adaptação fisiológica no fígado de vacas leiteiras privadas de alimento. Entre 34 proteínas expressas diferencialmente identificadas, foi encontrada regulação negativa de proteínas associadas à oxidação de ácidos graxos, glicólise, transferência de elétrons, degradação de proteínas e processamento de antígenos, além de rearranjo citoesquelético. As proteínas reguladas positivamente após a privação alimentar incluíram enzimas do ciclo da ureia, proteínas de transporte de ácidos graxos ou colesterol, um inibidor da glicólise e alterações anteriormente desconhecidas na rede de sinalização de cálcio. Foi encontrada correlação direta entre a expressão de enzimas glicolíticas e o conteúdo de glicose/glicogênio, enquanto foi observada uma correlação inversa entre a expressão de enzimas β -oxidativas e o conteúdo total de gordura hepática. É desejável que um biomarcador seja especificamente e quantitativamente correlacionado com o estado ou doença de interesse, e que possa ser mensurado por métodos sensíveis e específicos que permitam resultados reprodutíveis (Bergman e Bergquist, 2014). Assim, o conhecimento mais detalhado do organismo e a utilização de análises proteômicas tornam-se ferramentas importantes que podem auxiliar na saúde e bem estar animal (Bendixen et al., 2011).

3.4. Proteínas de fase aguda

3.4.1. Haptoglobina (Hp)

A haptoglobina (Hp) é uma glicoproteína ácida com peso molecular variável entre as espécies. É formada por duas subunidades alfa (16 a 23 kDa) e duas betas (35 a 40 kDa) formando um tetrâmero. Em humanos, há três subtipos da Hp (Hp 1-1, Hp 1-2, Hp 2-2), os subtipos Hp 1-1 e Hp 2-2 possuem similaridades com a Hp canina e bovina, respectivamente. Os ruminantes possuem particularidades que os diferem das outras espécies, cujos tetrâmeros de Hp formam polímeros originando um complexo macromolecular. Além disso, esta proteína só está presente no soro dos animais que apresentam uma resposta de fase aguda (Morimatsu et al., 1992).

A Hp possui capacidade de se ligar à fração de hemoglobina (Hb) livre no plasma sanguíneo evitando o dano oxidativo aos tecidos (Eckersall et al., 2008; Jain, Gautam e Naseem, 2011). A ligação do complexo Hp – Hb ao CD163 de monócitos / macrófagos resulta na regulação positiva de mediadores anti-inflamatórios, como a heme oxigenase-1 e a liberação de IL10, ativando, assim, resposta anti-inflamatória (Philippidis et al., 2004; Schaer et al., 2006).

Nos ruminantes, a Hp é a principal proteína de fase aguda. Seus níveis circulantes apresentam-se abaixo de 0,2 mg/dL e podem atingir 0,2 g/dL em alguns dias após o estímulo. Estudos apontam a Hp como marcador eficaz durante processo inflamatórios/infecciosos até a sua resolução em bovinos com mastite, peritonite, pneumonia, endocardites, abscesso e monitoramento de processos cirúrgicos (Murata e Shimada e Yoshioka, 2004). Nos casos de acidose subaguda induzida com dietas acidóticas em novilhos, Gozho et al. (2005) observaram aumento na concentração plasmática de Hp e amiloide sérica A (SAA) para uma dieta composta por 60% de grãos em comparação com uma dieta de feno, sugerindo que a Hp e SAA são úteis para detectar acidose subaguda em bovinos.

3.4.2. α 1 Glicoproteína ácida (GPA)

A GPA é uma PFA que apresenta resposta moderada em diferentes espécies e tem sido bem estudada, especialmente pela sua capacidade de se ligar a diversos fármacos (Nakano et al., 2004; Ceciliani et al., 2005; Balaguer e Neusüss, 2006). A GPA pode atuar, portanto, como proteína de transporte plasmático e imunomodular a resposta inflamatória (Ceciliani et al., 2012). A função de transporte plasmático da GPA advém da capacidade da proteína de se ligar e transportar substâncias endógenas (heparina, histamina, serotonina, esteroides e catecolaminas) e exógenas (compostos farmacológicos) (Fournier e Medjoubi-n e Porquet, 2000). A capacidade de se ligar a fármacos pode trazer

implicações terapêuticas, uma vez que, durante a resposta de fase aguda há aumento da concentração da GPA que, por sua vez, ligará a fração metabolicamente ativa do fármaco (fração livre) podendo afetar a farmacocinética do mesmo (Eckersall et al., 2008).

Atividades anti-inflamatórias como a inibição da proliferação de linfócitos e da atividade das células “natural killer” e a capacidade de se ligar a lipopolissacarídeos também são atribuídas à GPA (Murata e Shimada e Yoshioka, 2004). Além disso, ela reduz a apoptose de monócitos bovinos, prolongando sua atividade anti-inflamatória no foco inflamatório (Ceciliani et al., 2012).

A GPA apresenta uma resposta moderada, aumentando de forma lenta e permanecendo elevada por mais tempo. Essa característica é vantajosa na utilização dessa PFA como marcador de evolução do processo inflamatório, sendo possível observar a progressão do processo inflamatório agudo ao crônico (Eckersall et al., 2008). Em ruminantes, estudos demonstram a resposta da GPA em processos mais crônicos. Ovelhas com linfadenite caseosa em um modelo experimental, apresentaram o pico da Hp em uma semana e o decréscimo em 14 dias, seguido pela elevação de forma mais lenta da AGP, que perdurou por cerca de um mês (Eckersall, 2007). Em doenças como mastite, metrite, abscesso hepático e doença do trato respiratório, a elevação da AGP também foi observada (Eckersall e Bell, 2010).

3.4.3. Ceruloplasmina

A ceruloplasmina (125 kDa) apresenta concentrações elevadas nos processos inflamatórios, infecciosos, virais e parasitários. Já sua diminuição ocorre após o parto, desnutrição, deficiência na absorção de nutrientes, nefrose e moléstias infecciosas associadas à intoxicação por cobre (Jain, 1993). Apresenta atividade enzimática e antioxidante, protegendo o organismo contra os danos causados pelo ferro livre (Jain e Gautam e Naseem, 2011). Ela possui, ainda, a capacidade de se ligar ao cobre sérico livre, contendo a maior parte do cobre circulante, necessário para cicatrizar feridas, além de favorecer a produção de colágeno (Kaneko et al., 2008).

3.4.4. α 2 macroglobulina

A α 2-macroglobulina (180 kDa) apresenta resposta de fase aguda moderada e possui atividade antiprotease, ou seja, tem como principal função neutralizar a atividade de enzimas proteolíticas liberadas por células do sistema imunológico durante o processo inflamatório, minimizando assim danos aos tecidos sadios. Apesar da falta de esclarecimento dessa proteína para fins de diagnósticos, sabe-se que o aumento da concentração da α 2-macroglobulina tem sido descrito em síndrome nefrótica e lesão hepática crônica (Eckersall et al., 2008).

3.4.5. Apolipoproteína AI (apoA-I) e AIV (apoA-IV)

A apolipoproteína AI (apoA-I) e a apolipoproteína AIV (apoA-IV) são componentes da lipoproteína de alta densidade (HDL). O HDL desempenha um papel crítico no transporte de colesterol, removendo o excesso de colesterol das células periféricas e entregando ao fígado para o catabolismo (Fielding e Fielding, 1995). Nos vertebrados, o HDL normal exerce potentes efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (Rye e Barter, 2008) e possui propriedades anti-infecciosas no plasma (Kelesidis et al., 2011). Os efeitos benéficos do HDL são, portanto, altamente dependentes das estruturas e funções das apoA-I e apoA-IV. Sabe-se também que as apoA-I e apoA-IV livre de lipídios podem estimular a secreção de insulina das células β pancreáticas (Fryirs et al., 2010; Swaney e Reese e Eder, 1974).

As apoA-I bovina e suína exibem propriedades únicas nos estados isentos de lipídios e ligados a lipídios em comparação com a apoA-I humana. Especificamente, as apoA-I bovinas e suínas demonstraram habilidades antioxidantes aprimoradas e foram resistentes à desnaturação pela ureia, sugerindo que elas podem ser veículos de transporte eficazes para medicamentos ou vacinas terapêuticas (Kim et al., 2013).

A apoA-IV, por sua vez, participa de um amplo espectro de processos biológicos, incluindo metabolismo lipídico (Chen e Albers, 1985), proteção contra aterosclerose (Hatch, 1968; Hixson et al., 1993; Innis-Whitehouse et al., 1998), agregação plaquetária e trombose (Karathanasis e Yunis e Zannis, 1986), hemostasia da glicose (Kitchen e Masters e Winzor, 1973; Kratz et al., 2003; Laemmli, 1970; Lagrost et al., 1989) e ingestão de alimentos (Mackness et al., 1993; Mezdour et al., 1995). Em estudos clínicos em humanos, a baixa concentração plasmática de apoA-IV está associada à doença arterial coronariana em homens (Steinmetz e Utermann, 1985). Níveis elevados de apoA-IV no plasma também estão correlacionados à insuficiência renal leve a moderada, atuando como preditor da progressão da doença renal (Takahashi et al., 2003; Utermann e Beisiegel, 1979). Além disso, a apoA-IV pode servir como biomarcadores de diagnóstico precoce para pré-diabetes, fibrose hepática e câncer de ovário (Weinberg e Scanu, 1983; Williams et al., 1986).

3.4.6. Transferrina

A transferrina é uma glicoproteína de peso molecular de 76 kDa, considerada uma PFA negativa, assim como a albumina, e suas concentrações séricas tendem a diminuir diante de um processo inflamatório. Trata-se de glicoproteína de síntese hepática, que tem como função o transporte de ferro plasmático, cujo aumento da concentração plasmática está relacionada à deficiência de ferro (Kaneko et al., 2008). Nas situações em que o organismo é invadido por microrganismos, a absorção de ferro intestinal é interrompida e a interleucina-1 estimula a secreção de transferrina e haptoglobina pelos hepatócitos,

umentando a incorporação de ferro no fígado. Desta forma, há redução na disponibilidade de ferro e, portanto, a invasão bacteriana é retardada (Jain, 1993).

3.4.7. Imunoglobulina G (IgG)

As imunoglobulinas são glicoproteínas sintetizadas pelo sistema imune que atuam como anticorpos, sendo produzidas, de maneira específica, em resposta a presença de antígenos. Em animais domésticos, quatro tipos de Ig tem sido identificadas com mais evidência (IgG, IgA, IgM, e IgE). A imunoglobulina G (IgG) apresenta as subunidades de cadeia leve (35 kDa) e cadeia pesada (58 kDa) (Kaneko et al., 2008). Trata-se da classe de anticorpos com maior concentração no soro. São responsáveis pela imunidade humoral do organismo e desempenham atividades como opsonização, aglutinação e fixação do complemento (Jain, 1993).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados 16 bovinos machos inteiros da raça Holandês, com aproximadamente doze meses de idade e peso médio inicial de $250 \pm 25,5$ kg.

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais por pares, de acordo com o peso inicial. O grupo 1 (G1) foi submetido uma dieta de maior teor de amido, visando um ganho de peso médio diário de 1,5 kg por dia. O segundo grupo (G2) foi submetido a uma dieta com menor inclusão de amido, visando ganho de peso médio diário previsto de 0,7 kg por dia (Quadro 1).

Os animais foram pesados em balança ao longo do experimento para realização do cálculo de ganho de peso diário.

O início do fornecimento da dieta ocorreu em fevereiro de 2019 e término em junho de 2019, quando os animais foram destinados ao abate em frigorífico comercial. Durante o período experimental os animais permaneceram em um galpão fechado, contendo telas para controle de ectoparasitas em sistema de *tie stall* com tapetes de borracha. A instalação era provida de ventilação natural e mecânica além da presença de exaustores.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) (ANEXO 1) da Universidade Federal de Minas Gerais com o protocolo 192/19 e encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

4.2. Dieta

Os animais passaram por um período de adaptação da dieta durante vinte e oito dias. Os animais do G1 começaram o período experimental com quarenta por cento do total de

concentrado que iriam ingerir ao final do período de adaptação. Acréscimo de dez por cento a cada quatro dias foi realizado. Ao final dos vinte oito dias de experimento os animais do G1 já estavam ingerindo a proporção calculada de concentrado para dieta deste grupo. O G2 permaneceu com dieta semelhante à ofertada anteriormente ao experimento, com ajuste da quantidade para atender às exigências de ganho de peso desejado.

Para formulação da dieta total foi utilizado *software* comercial específico para gado de corte (SuperCrac Bovinos Corte 4.9). A dieta do G1 era composta de 19,59% de volumoso e 80,41% de concentrado e o G2 74,95% de volumoso e 25,05% de concentrado em matéria seca.

O volumoso utilizado foi silagem de milho e o concentrado constituído de milho moído e farelo de soja na proporção de 70% e 30% respectivamente. Sal mineral comercial para bovinos (FOSBOVI[®] 1 40) diluído em sal branco (NaCl) na proporção de 1:1, foi fornecido na quantidade de 100g por animal/dia, individualmente para garantir a ingestão total por cada animal. As dietas de ambos os grupos foram compostas pelos mesmos ingredientes, variando apenas a proporção dos mesmos (Quadro 1). Anteriormente ao início do experimento os animais já se encontravam nas instalações citadas e recebiam silagem de milho e concentrado semelhante ao utilizado, no entanto a dieta era para manutenção e não visava o ganho de peso.

Tabela 3. Composição bromatológica das dietas utilizadas no confinamento dos animais

Descrição	% MS	
	G1	G2
Matéria Seca	59,51	34,13
Proteína Bruta	14,36	11,89
FDA	15,04	29,38
FDN	26,82	45,20
Lipídeos	3,56	2,58
Cinzas	5,78	10,49
Lignina	2,33	4,9
Amido	36,98	16,81
Amido %CNF	72,29	53,33
CNF	51,15	31,53
NDT	76,33	60,58

MS – Matéria seca/ FDA – Fibra em detergente ácido/ FDN – Fibra em detergente neutro / CNF – Carboidrato não fibroso / NDT – Nutrientes digestíveis totais.

¹ Tortuga CIA Zootécnica Agrária

² - Biotécnica Biotecnologia Avançada©

O fornecimento da dieta foi realizado duas vezes ao dia, às oito e às dezoito horas. Ao longo do dia o alimento foi revirado nos cochos dos animais. Diariamente o alimento fornecido e as sobras foram pesadas individualmente para o cálculo de consumo e eventuais ajustes da quantidade a ser oferecida no dia seguinte. A quantidade da dieta oferecida foi ajustada diariamente de forma que houvesse sobra de alimento no cocho de, no mínimo, 5% até o momento do próximo fornecimento.

4.3. Coleta de material

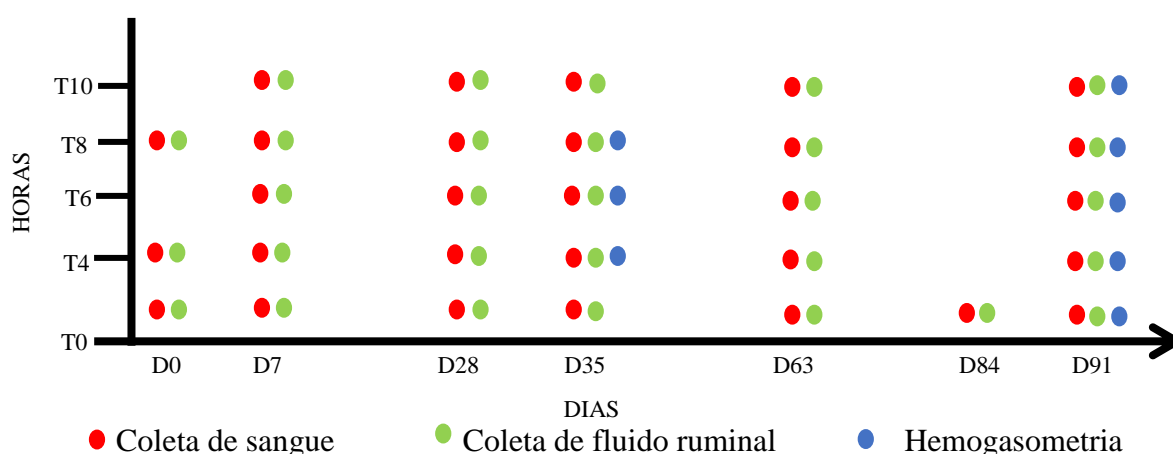


Figura 1. Linha do tempo das coletas para análise de fluido ruminal, bioquímica e hemogasometria de novilhos da raça Holandeses (n=16), submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas.

4.4. Coleta e análise do fluido ruminal

As coletas de fluido ruminal ocorreram nos dias 0, 7, 28, 35, 63, 84 e 91. O dia 0 é marcado pelo início do fornecimento de dietas distintas, o dia 28 pelo final do período de adaptação à dieta e o dia 91 pelo final do experimento.

No dia 84 a coleta foi realizada apenas no momento zero. Nos demais dias, as coletas de fluido ruminal foram coletadas em vários momentos: T0, T4, T6, T8 e T10. Os momentos são representados por horas em relação ao primeiro fornecimento de dieta no dia (T0). O segundo fornecimento só ocorria após a última coleta do dia (T10).

Foram coletadas amostras de 200 mL através de sondagem oro-ruminal. Inicialmente a sonda era adaptada a uma bomba de vácuo, no entanto, ao longo do experimento foi possível retirar o fluido ruminal sem o auxílio dessa bomba.

Após a coleta, o fluido foi coado em peneiras revestidas por gazes e o pH mensurado com um medidor de pH digital portátil, previamente calibrado. Em seguida foi realizada a prova de redução do azul de metileno de acordo com Rodrigues et al. (2013).

4.5. Coleta e análise de sangue

As coletas de sangue ocorreram por venopunção de jugular utilizando-se tubos a vácuo seco, contendo EDTA e fluoreto de sódio. Os momentos de coleta seguiram o mesmo padrão das coletas de fluido ruminal.

Os tubos foram centrifugados a 3.000 rpm durante 10 minutos para a retirada do soro e do plasma. Em seguida foram congelados à -20° C em tubo tipo eppendorf para posteriores análises. A bioquímica clínica foi realizada por espectrofotometria em aparelho automático Cobas Mira Plus, utilizando reagentes de kits comerciais (Biotécnica²). As variáveis séricas avaliadas foram: glicose, lactato, albumina, magnésio, cloreto, fósforo, cálcio e ferro. Ainda foram dosadas as variáveis beta hidroxibutirato (B-HBO) e ácidos graxos não esterificados (AGNE) utilizando Kits comerciais (Randox³ Laboratories Ltd). As dosagens de insulina e IGF-I foram realizadas por quimiluminescência em analisador automático IMMULITE 2000, utilizando kits comerciais (Siemens). As amostras foram processadas na Unidade Multidisciplinar de Pesquisa Animal – MULTILAB da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – EV-UFMG.

Para realização do proteinograma foi utilizada técnica de Eletroforese em de policacrilamida contendo dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE), no Laboratório de Pesquisa em Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV), como descrito por SOUTO (2019). Foram analisadas Alfa 1-glicoproteína ácida, Alfa 2 glicoproteína, Apolipoproteína A1, Apolipoproteína A4, IgG cadeia total, Ceruloplasmina, Haptoglobina e Transferrina.

4.6. Hemogasometria

A hemogasometria foi realizada com amostras de sangue venoso obtidas mediante venopunção da jugular utilizando-se seringas acopladas a agulha hipodérmica 25x0,7 mm. Quando presentes, o ar residual e as bolhas foram desprezados.

Os exames de hemogasometria foram realizados nos dias 35 e 91, nos mesmos momentos das coletas para provas bioquímicas e parâmetros ruminais (Figura 1).

Foi utilizado analisador clínico portátil i-STAT⁴, calibrado automaticamente antes do processamento das amostras, utilizando cartucho i-STAT CG8+ Cartridge. As análises foram realizadas imediatamente após a coleta e incluíram pH sanguíneo, pressão parcial de oxigênio (pO₂), pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂), dióxido de carbono total (tCO₂), concentração de bicarbonato (HCO₃⁻), excesso de bases (BE) e saturação de

² - Biotécnica Biotecnologia Avançada©

³ - Randox -Laboratories Ltd, Ardmore, Crumlin, UK

⁴ STAT®1 – Abbott Laboratories – EUA

oxigênio (sO_2), além da concentração de sódio (Na^+), potássio (K^+), glicose e cálcio ionizado (Ca^{2+}).

4.7. Etograma

A coleta de dados referentes ao comportamento ingestivo dos animais ocorreu durante o período de terminação. Assim, no dia 80 foi realizada a avaliação do etograma durante 24 horas. Para o registro do tempo destinado ao consumo de alimento e água, ruminância deitado e em pé, ócio deitado e em pé, adotou-se observação visual dos animais a cada 5 minutos. Durante as observações noturnas, o ambiente foi mantido com iluminação artificial. As observações foram realizadas por duplas de observadores que foram trocadas a cada duas horas, sem repetição de observadores ao longo do período de avaliação.

4.8. Análises estatísticas

Para testar as diferenças entre grupos, levando em consideração as horas e os dias, foram ajustados modelos de equações de estimativas generalizadas para cada variável resposta. (Guimarães e Hirakata, 2012). Foi ajustado um modelo separado para cada variável resposta mensurada, sendo que o grupo, a hora e o dia, juntamente com a interação entre grupo e hora e grupo e dia, foram utilizados como preditores (variáveis independentes). Para todas as variáveis foi utilizada uma estrutura de autocorrelação temporal de simetria composta. Após o ajuste do modelo, testaram-se os efeitos das horas, dos dias, do grupo e da interação de forma global (*overall*) e calcularam-se os valores médios e seus respectivos intervalos de 95% de confiança para cada grupo em cada hora/dia. Para verificar a significância da diferença entre grupos em cada hora/dia, ou da diferença entre horas/dias em cada grupo, foi necessária a aplicação testes de comparações múltiplas (*pairwise*). Para estes testes aplicou-se a correção de Tukey. Algumas divergências entre o teste geral (*overall*) e os testes par-a-par (*pairwise*), ou seja, o teste geral apresentar um p-valor significativo, mas o teste par-a-par não encontrar diferença significativa para nenhuma dupla e vice-versa. Para estes casos a diferença foi o limiar da significância (próximo a 0,05) e não se rejeitou a hipótese de igualdade. Dessa forma, diferenças foram consideradas apenas quando ambos os testes foram concordantes, isto é, apenas quando o teste global (*overall*) reportou um valor p significativo e o teste par-a-par evidenciar pelo menos uma dupla diferente entre si.

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software R versão 3.6.1 (R Core Team, 2019).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Consumo de alimento, ganho de peso e comportamento

O consumo voluntário mensurado diariamente em matéria natural foi, em média $16,76 \pm 2,9$ (G1) e $17,74 \pm 4,9$ (G2) kg/animal/dia. O consumo em matéria seca (MS) em relação ao peso vivo (PV) foi de $2,6\% \pm 0,005$ e $2,06\% \pm 0,003$, respectivamente, para os grupos G1 e G2. Os achados diferem de Missio et al. (2010), que mensuraram o consumo dos animais, em dietas com 22, 40, 59 e 79% de concentrado em matéria seca e observaram que a ingestão diária, não foi influenciada pelos níveis de concentrado na dieta, com consumo médio de 3% de MS do peso vivo para todos os grupos estudados.

No dia experimental 8 (D8) um dos animais do G1 diminuiu consideravelmente a ingestão voluntária de alimento e no D10 três animais do grupo G2 apresentavam fezes com sangue e diminuição no consumo voluntário de alimento. Na ocasião, foi realizado exame para contagem de ovos e oocistos nas fezes de todos os animais do experimento e o resultado foi negativo para ambos os testes. No D11 os animais de ambos os grupos diminuíram o consumo de alimento e no dia 12 foi diagnosticado, por esfregaço sanguíneo, babesiose nos animais de ambos os grupos. Todos os animais foram tratados com Dipropionato de Imidocarb ($1,2\text{mg/kg}$) por via subcutânea, dose única. O volume globular destes animais foi acompanhado a cada 48 horas e as coletas experimentais retornaram quando os valores de volume globular atingiram níveis fisiológicos e o consumo voluntário retornou ao observado anteriormente à doença. No dia 41 alguns animais demonstraram comportamento apático e foi realizado esfregaço sanguíneo e mensuração de volume globular, sendo que três animais do G1 e cinco animais do G2 apresentaram riquetsemia discreta de *Anaplasma marginale*. No dia 44 todos os animais apresentaram riquetsemia discreta a moderada e três animais apresentaram volume globular menor que 25%. Todos os animais foram tratados com enrofloxacino ($7,5\text{mg/kg}$) por via intramuscular, dose única, e acompanhados clinicamente até o restabelecimento do volume globular e consumo voluntário de alimento semelhante ao observado antes da doença. No dia 67 alguns animais repetiram o comportamento de diminuição do consumo voluntário, sendo diagnosticados com *A. marginale* novamente. No D70 todos os animais foram tratados com enrofloxacino, conforme episódio anterior. Durante as fases consideradas como doença, não houve coletas do experimento.

A redução do consumo alguns dias antes dos animais apresentarem outros sinais clínicos e do diagnóstico das enfermidades, vai ao encontro dos achados por Oliveira Junior et al. (2018), que observaram queda no consumo um dia antes do aparecimento de sinais clínicos de tristeza parasitária em bezerras. Alguns estudos relataram que a diminuição no consumo de alimentos é uma resposta à doença e pode ser explicada por mudanças neuroendócrinas juntamente com a resposta febril, como um mecanismo para combater infecções (Johnson, 2002; Kongsman et al., 2002). Este fato foi relatado por pesquisadores

em várias enfermidades como metrites, mastites, cetose e claudicação (Urton et al., 2005; Huzzey et al., 2007; Lukas et al., 2008; Gonzalez et al., 2008b; Weary et al., 2009).

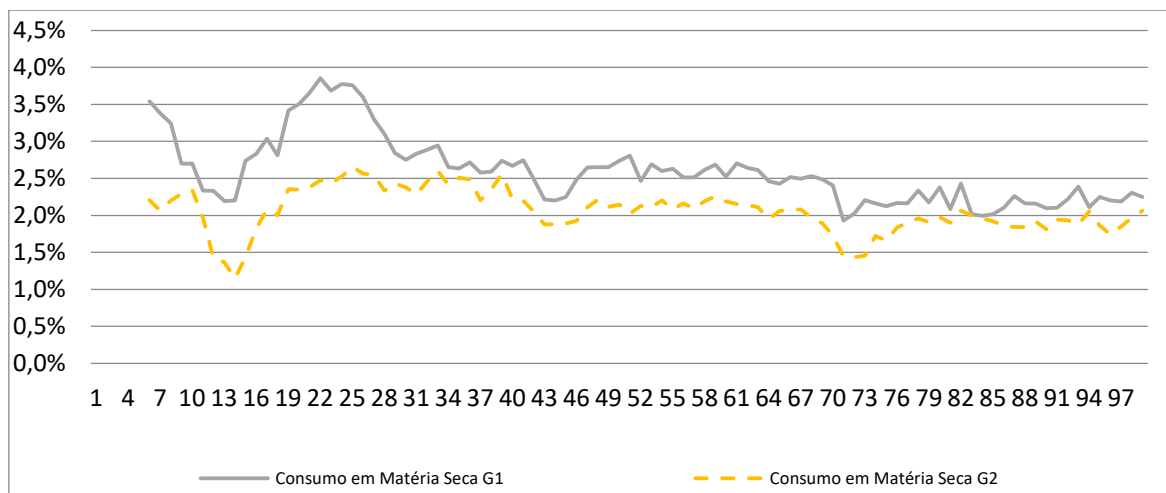


Figura 2. Perfil de consumo em matéria seca (%) em relação ao peso vivo (kg) de novilhos da raça Holandês, confinados por 112 dias, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

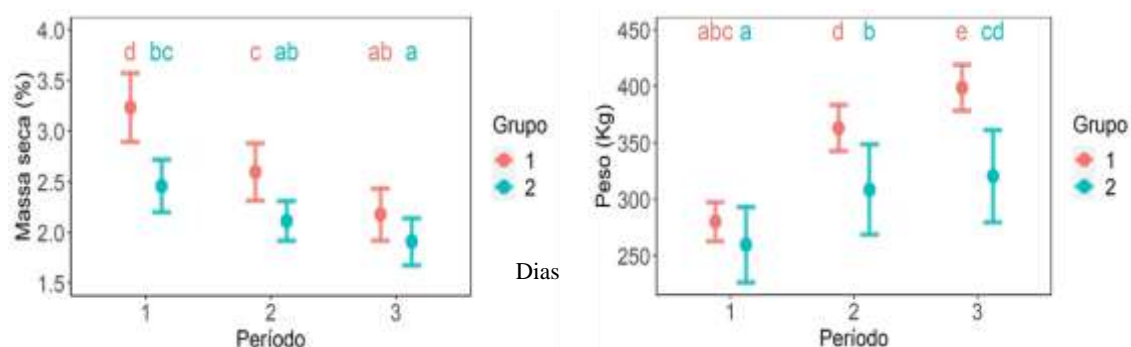


Figura 3. Consumo (matéria seca em relação ao peso corporal -%) e peso (kg), de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a dietas com diferentes densidades energéticas, por período de confinamento (1- 19 a 35 dias, 2- 46 a 67 dias e 3- 76 a 97 dias de confinamento)

Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre momentos. Letras minúsculas iguais indicam semelhança estatística entre momentos ($p < 0,05$).

A partir da avaliação do comportamento do consumo de matéria seca durante a fase experimental, os dados foram agrupados em três períodos, excluindo-se aqueles dias com quedas de consumo que ocorreram em consequência dos surtos de babesiose e anaplasmose. Assim, os dados foram agrupados em: Período 1- D19 a D35, 2- D46 a

D67 e 3- D76 a D97. O consumo do G1 foi superior ao do G2 nos dois primeiros períodos, porém se igualaram no terceiro. O G1 demonstrou diminuição do consumo (kg MS/kg pv) em cada período. O consumo do G2 foi mais constante, com queda gradual entre o primeiro e terceiro períodos (Tabela 4).

Tabela 4. Consumo (matéria seca em relação ao peso corporal - %) e peso (kg), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas por período de confinamento

Período (dias)	Grupo 1			Grupo 2		
	1 (19-35)	2 (46-67)	3 (76-97)	1 (19-35)	2 (46-67)	3 (76-97)
Consumo MS (% PV)	3,24 d	2,6 c	2,18 ab	2,46 bc	2,11 ab	1,91 a
Peso vivo (kg)	280 abc	363 d	399 e	260 a	309 b	321 cd

Valores seguidos por letra minúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$). G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As avaliações relacionadas ao comportamento realizadas no D80 estão apresentadas na Tabela 5. Ao longo do dia os animais dos grupos G1 e G2 passaram em média 12,96 e 14,4 minutos do dia bebendo água, 108 e 203,04 minutos comendo, 853,92 e 434,88 minutos de ócio deitados, 198,72 e 231,84 minutos em ócio em pé, 257,76 e 516,96 minutos ruminando deitados e 8,64 e 37,44 minutos ruminando em pé, respectivamente.

Tabela 5. Etograma de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 24 horas (valores médios em horas) com avaliação do comportamento relacionado a ingestão de alimentos, descanso e ruminância.

Comportamento	G1	G2
Bebendo água	0,22 a	0,24 a
Comendo	1,80 c	3,38 d
Ruminando em pé	0,14 a	0,62 b
Ruminando deitado	4,30 e	8,62 g
Ócio em pé	3,31 d	3,86 de
Ócio deitado	14,23 h	7,25 f

Valores seguidos por letras minúsculas distintas diferem entre si ($P < 0,05$)

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

O tempo destinado ao consumo de alimentos foi menor no G1 do que no G2, em média 1,8 e 3,38 h/dia, respectivamente. Os resultados foram semelhantes ao encontrado em um estudo avaliando o comportamento ingestivo de novilhos submetidos a dietas com diferentes porcentagens de concentrado, no qual observou-se que o tempo destinado ao consumo de alimentos apresentou comportamento linear decrescente com o incremento

do teor de concentrado na dieta. Este comportamento foi atribuído à capacidade dos animais ingerirem mais energia em menor tempo, nas dietas com maior teor de concentrado (Missio et al., 2010). O mesmo comportamento ingestivo foi observado por diversos pesquisadores, que estudaram o incremento energético na dieta para bovinos (Ramonet et al., 1999; Burger et al., 2000; Silva et al., 2005).

O tempo diário total médio gasto ruminando dos animais do G1 foi 4,44 horas e do G2 9,24 horas. Estes dados são compatíveis aos descritos na literatura, na qual é descrita que animais que consomem alimentos concentrados e fenos finamente triturados ou peletizados apresentam menor tempo de ruminação e animais que consomem dietas com maior quantidade de fibra efetiva gastam mais tempo do dia ruminando (Albright, 1993; Van Soest, 1994). Missio et al. (2010) observaram menor tempo destinado à ruminação com o incremento de concentrado na dieta, devido principalmente, à diminuição na ingestão de fibra em detergente neutro. O tempo que o animal disponibiliza para ruminação é diretamente relacionado à qualidade e à quantidade de alimento consumido (Arnold e Dudzinski, 1978). A natureza da dieta influencia diretamente no tempo de ruminação, sendo proporcional ao teor de parede celular do volumoso (Van Soest et al., 1991). Polli et al. (1996) observaram maior tempo de ruminação em animais que eram alimentados com dietas contendo cana-de-açúcar comparado aos alimentados com silagem de milho. Greenough (2007) observou que vacas em decúbito esternal aumentam o tempo de ruminação e a produção de saliva quando comparada a vacas com a mesma dieta, porém com restrição de tempo deitadas. O tempo em que os animais permaneceram deitados não influenciou o tempo de ruminação, uma vez que o G1 apresentou maior tempo deitado, porém menor tempo de ruminação do que o G2. Isto demonstra que a quantidade de matéria natural ingerida e a maior proporção de fibra na dieta do G2 foram os principais fatores que influenciaram o tempo de ruminação.

Os animais gastaram, em média, 0,22 (G1) e 0,24 h/dia (G2) ingerindo água. Este achado foi semelhante ao encontrado por Missio et al. (2010) que observaram que bovinos em distintas dietas gastavam, em média, 0,22h/dia destinadas ao consumo de água, independente do teor de concentrado na dieta. Pelo método utilizado para mensurar esta variável, não foi possível avaliar o volume de água consumido dos grupos. Os animais podem ter ingerido quantidades diferentes em um mesmo intervalo de tempo. Hoffman e Self (1973), observaram que novilhos castrados despenderam tempos semelhantes ingerindo água no verão e no inverno (de 0,26 e 0,20h/dia), porém com volumes muito diferentes (30,7 litros e 19,2 litros, respectivamente).

O G1 passou, em média, 17,54h/dia e o G2 11,11 horas do dia em ócio, das quais 3,31h e 3,86h foram em pé. Estes resultados foram semelhantes aos observados por Missio et al. (2010) que relataram que as atividades em pé não diferem em bovinos em relação ao teor de concentrado na dieta, sendo o tempo gasto ruminando em pé em média 3,33h/dia. No entanto, o incremento de concentrado na dieta influencia o tempo total de descanso dos

animais, resultado relacionado ao aumento da eficiência de alimentação em maiores níveis de concentrado, diminuição do tempo gasto com ingestão de alimento e ruminação.

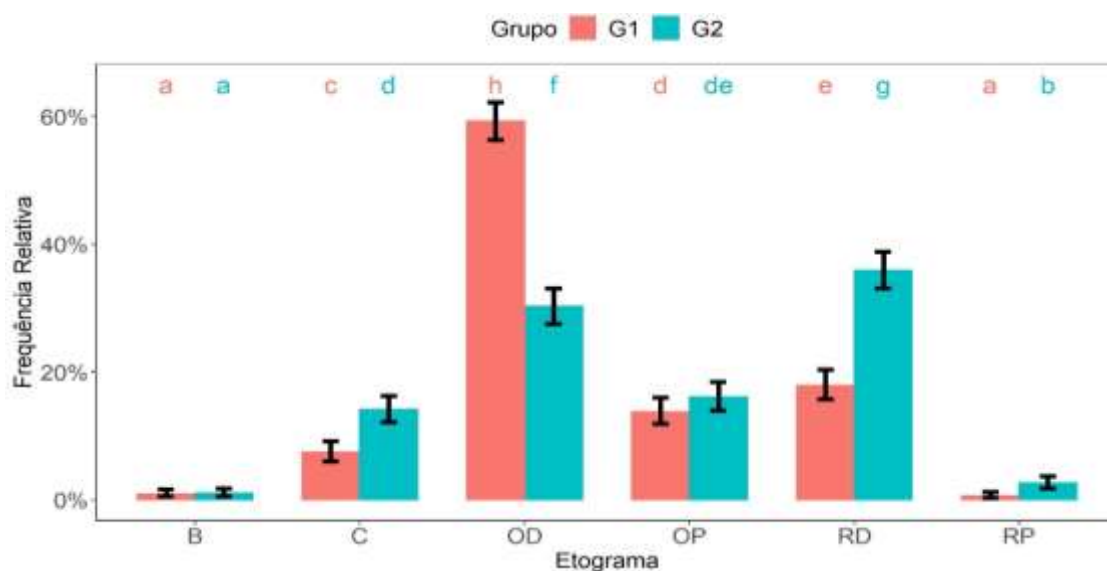


Figura 4. Etograma em frequência relativa (%) do tempo de novilhos da raça Holandês submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 24 horas. Valores seguidos por letras minúsculas distintas diferem entre si ($P < 0,05$).

B – bebendo água; C – comendo; OD – Ócio deitado; OP – Ócio em pé; RD – Ruminando deitado; RP – Ruminando em pé

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

O ganho de peso médio do grupo G1 foi 1,79kg/dia, já do grupo G2 que teve oferta de dieta com menor concentração de amido, foi 0,89kg/ dia. A partir do D41, observou-se diferença estatística significativa entre a média de peso dos grupos. Os animais do G1 foram abatidos pesando $421,75 \pm 27,75$ kg e os animais do G2 com peso de $336 \pm 50,21$ kg (Figura 5).

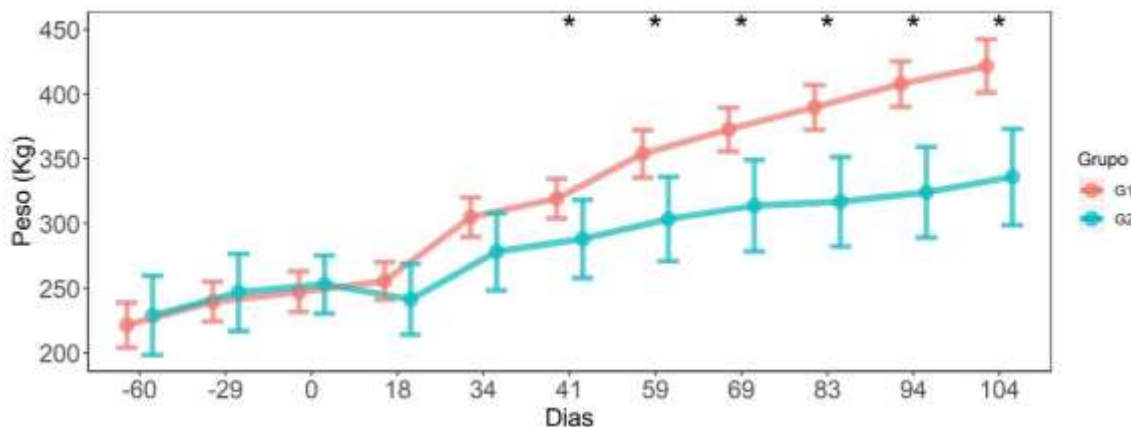


Figura 5. Perfil do ganho de peso médio diário (GPMD) de novilhos da raça Holandês, confinados por 112 dias, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas

*Diferença estatística ($P < 0,05$).

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

5.2. Avaliação de parâmetros ruminais

Para observação dos parâmetros ruminais foram avaliados o pH de rúmen ao longo do dia a partir do momento do fornecimento da dieta, considerado como T0. Para acompanhamento foram coletadas novas amostras após 4, 6, 8 e 10 horas. Foram mensurados o pH ruminal e a prova da redução do azul de metileno, imediatamente após a coleta realizada por sondas ororuminais.

No início da fase de adaptação, no sétimo dia do experimento, já foi possível observar decréscimo nos valores de pH ruminal de ambos os grupos ($p < 0,05$), em relação ao dia de início de fornecimento das dietas. Ao longo dos dias experimentais, os valores médios de cada dia de avaliação do pH do fluido ruminal dos animais do G1 foram mais baixos do que os valores encontrados no G2 ($p < 0,05$). Quando as médias dos grupos foram avaliadas por horas após a ingestão, este comportamento permaneceu (Tabela 5).

O aspecto do fluido ruminal também distinguiu entre os grupos a partir da coleta no sétimo dia. A partir daí, o líquido ruminal do G1 apresentou coloração amarelada e aspecto leitoso, enquanto o fluido ruminal do G2 apresentou coloração castanho esverdeado, permanecendo assim até a última coleta. A queda mais brusca do pH ocorreu na primeira semana, quando os animais do G1 chegaram ao sétimo dia ingerindo 60% do concentrado em matéria seca, da dieta final. Estes resultados são semelhantes aos encontrados em um estudo que avaliou dois tipos de adaptação a dietas com alto teor de concentrado. Os menores valores de pH e os distúrbios digestivos, mesmo que mínimos, ocorreram quando os animais ingeriram 65% em matéria seca do concentrado total, independente do período de adaptação. Já quando foram observados os valores de pH no

primeiro dia após o fornecimento de 90% do concentrado, houve diferença entre os grupos, sendo os menores valores de pH observados nos grupo de rápida adaptação, tornando estes animais mais susceptíveis a distúrbios ruminais (Bevans et al., 2005).

O pH ruminal de todos os animais se manteve dentro dos valores normais citados na literatura de 5,5 a 7,4 (Afonso e Mendonça, 2007; Dirksen, 2008; Tajik et al., 2009). Alguns estudos encontraram valores médios diários de pH inferiores aos encontrados no presente estudo para bovinos que consomem dietas rica em concentrados, variando entre 5,71 e 6,06 (Beauchemin et al., 2001; Ghorbani et al., 2001; Koenig et al., 2003).

Tabela 6. Valores médios e desvio padrão de pH de fluido ruminal de novilhos da raça Holandês, confinados por 112 dias, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas

	0 ^h	4 ^h	6 ^h	8 ^h	10 ^h	
G1	0 ^d	7,5 ± 0,1 Ed	6,9 ± 0,2 EFa	-	7,2 ± 0,2 EFb	-
	7 ^d	7,0 ± 0,2 CDd	6,3 ± 0,5 CDa	6,2 ± 0,2 CDa	6,7 ± 0,3 CDb	6,8 ± 0,3 CDc
	28 ^d	6,8 ± 0,1 ABd	6,4 ± 0,3 ABa	6,3 ± 0,4 ABa	6,4 ± 0,3 ABb	6,4 ± 0,3 Abc
	35 ^d	6,7 ± 0,1 ABCd	6,4 ± 0,3 ABCa	5,9 ± 0,3 ABCa	6,2 ± 0,3 ABCb	6,8 ± 0,2 ABCc
	63 ^d	6,4 ± 0,3 Ad	6,2 ± 0,2 Aa	6,3 ± 0,2 Aa	6,1 ± 0,1 Ab	6,3 ± 0,4 Ac
	91 ^d	6,8 ± 0,2 BCDd	6,3 ± 0,3 BCDa	6,5 ± 0,3 BCDa	6,8 ± 0,2 BCDb	6,9 ± 0,3 BCDc
G2	0 ^d	7,5 ± 0,3 Ed	6,9 ± 0,1 Fab	-	7,1 ± 0,2 Fbc	-
	7 ^d	7,1 ± 0,3 Dd	6,8 ± 0,3 Dab	6,6 ± 0,3 Da	6,6 ± 0,4 Dbc	6,9 ± 0,3 Dc
	28 ^d	7,2 ± 0,2 Dd	6,7 ± 0,4 Deab	6,7 ± 0,2 DEa	6,8 ± 0,2 Dbc	6,9 ± 0,2 Dc
	35 ^d	7,1 ± 0,2 Dd	6,8 ± 0,2 Dab	6,6 ± 0,3 DEa	6,8 ± 0,2 Dbc	6,9 ± 0,2 Dc
	63 ^d	6,8 ± 0,2 ABCDd	6,6 ± 0,2 ABCDab	6,6 ± 0,2 ABCDa	6,6 ± 0,2 ABCDbc	6,7 ± 0,2 ABCDc
	91 ^d	7,0 ± 0,3 Dd	6,5 ± 0,5 Dab	6,8 ± 0,2 DEa	7,0 ± 0,2 Debc	7,1 ± 0,2 Dc

Letra maiúsculas sinalizam diferenças entre os grupos e entre coletas para a mesma hora (colunas) e letras minúsculas diferentes entre horas para um mesmo grupo no mesmo dia (linhas).

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

“h” horas referente ao horário de distribuição da primeira refeição do dia. / “d” dias em confinamento / “-” Parametro não aferido

No presente trabalho, o fluido ruminal foi coletado através de sonda ororuminal com amostras de, no mínimo, 200 mL e filtrado em gase para realização das análises. Este método de coleta, mesmo com os cuidados apresentados, pode influenciar no pH de rúmen, obtendo-se valores mais altos devido à possível contaminação com saliva e também à heterogeneidade entre os locais de amostragem dentro do rúmen. Salles et al. (2013), comparando pH ruminal entre amostras dos mesmos animais coletadas por fístula ruminal ou por sonda ororuminal observaram valores de pH para as amostras coletadas antes da alimentação de $6,75 \pm 0,8$ e $7,15 \pm 1,69$ e depois da alimentação $6,39 \pm 2,11$ e

6,95 ± 0,93 para amostras coletadas por fístula e sonda, respectivamente. Duffield et al. (2004) encontraram valores de pH ruminal variando de 0,35 e 0,33 unidades mais baixas quando comparando as técnicas de coleta por sonda esofágica e fístula ruminal quando comparada à técnica de ruminocentese.

No presente estudo optou-se pela utilização da sonda para coleta do líquido ruminal pela frequência e repetição das coletas, visando o bem estar dos animais. A coleta cuidadosa com sonda ororuminal permitiu avaliar o comportamento da dinâmica ruminal entre os diferentes momentos analisados, no entanto, os valores de pH ruminal podem estar superestimados em ambos os grupos.

Analisando os valores de pH ao longo do dia, os menores valores encontrados foram as seis horas após o fornecimento da primeira refeição do dia. Analisando-se as médias dez horas após o fornecimento do alimento, é possível observar que os valores de pH ruminal não retornaram aos valores encontrados na coleta do momento 0. Este comportamento demonstra que, apesar de não atingir valores de pH médios considerados como de acidose ruminal subaguda, entre 5,2 e 6,0 por mais de doze horas em um mesmo dia (Afonso e Mendonça, 2007; Abdela, 2016; Nocek, 1997; Radostits et al., 2007), o retorno ao pH demorou para acontecer, demonstrando alteração no controle do pH ruminal nos dois grupos (Figura 7). Alterações na capacidade de produção de agentes tamponantes, como sais à base de carbonatos, e da remoção dos AGVs por meio da absorção no rúmen, além da diminuição da chegada de bicarbonato no rúmen, seja via saliva ou via parede ruminal, podem interferir no retorno dos valores de pH após oito horas de alimentação (Van Soest, 1982).

O comportamento da curva da prova de redução do azul de metileno (Figura 6), demonstrou que nos dois grupos houve uma boa atividade microbiana, com tempo de redução menor do que três minutos, como descrito por Dirksen (2008) e Feitosa (2008). No entanto a redução do azul de metileno ocorreu de forma mais rápida no grupo G1, demonstrando maior atividade dos microrganismos presentes no rúmen do grupo que consumiu dieta de maior proporção de concentrado quando comparado ao grupo que recebeu dieta com menor proporção, demonstrando maior atividade fermentativa nos animais do G1. Estes dados são semelhantes aos encontrados por Rodrigues et al. (2013), que encontraram menor tempo para redução do azul de metileno no líquido ruminal dos animais que receberam maior quantidade de concentrado quando comparado aos animais que ingeriram menor quantidade.

No presente experimento, os animais submetidos à dieta com maior proporção de amido (G1) apresentaram valores de pH mais baixos e menor tempo de prova de redução do azul de metileno, demonstrando maior atividade fermentativa. No entanto, não foi possível observar, avaliando isoladamente os parâmetros ruminais, quadros de acidose ruminal sub-clínica (pH ruminal entre 5,2 e 6,0 por doze horas consecutivas) nem tão pouco acidose ruminal clínica (pH ruminal abaixo de 5,5 por períodos de seis horas

consecutivas) (Afonso e Mendonça, 2007; Abdela, 2016; Nocek, 1997; Radostits et al., 2007). Os achados podem ser justificados por um longo período de adaptação de 28 dias. Os resultados são semelhantes aos encontrados em alguns estudos que utilizaram modelos para indução de acidose ruminal e obtiveram declínio no pH ruminal, não sendo possível observar sinais clínicos (Bevans et al., 2005; Krause e Oetzel, 2005; Gozho et al., 2007; Nagaraja e Titgemeyer, 2007).

Na literatura não há um acordo quanto a uma definição precisa de acidose ruminal subaguda (SARA) e também não há acordo sobre quais os valores de pH de rúmen são prejudiciais à saúde e à produção dos bovinos. Duffield et al. (2004) propuseram que os limiares para pH anormal indicando SARA deveriam ser 5,5, 5,8 e 5,9 quando as amostras de líquido ruminal são coletadas por ruminocentese, através de uma cânula ruminal do saco ventral e usando sonda ororuminal, respectivamente. Pode-se destacar que no grupo G1 alguns animais apresentaram momentos com valores de pH ruminal 5,7, mesmo que por curtos períodos durante o dia, principalmente no dia 35, primeira semana da dieta contendo a fração total de concentrado.

Embora as médias dos valores de pH ruminal encontrados no presente estudos, em sua maioria, não apresentaram valores menores que 6,0, deve-se levar em consideração que o fluido ruminal foi obtido por sonda e os valores reais podem estar mais baixos, enquadrando os animais em quadros de acidose ruminal subaguda, ou em condições limítrofes de saúde e doença como pode ser observado com os demais resultados deste estudo.

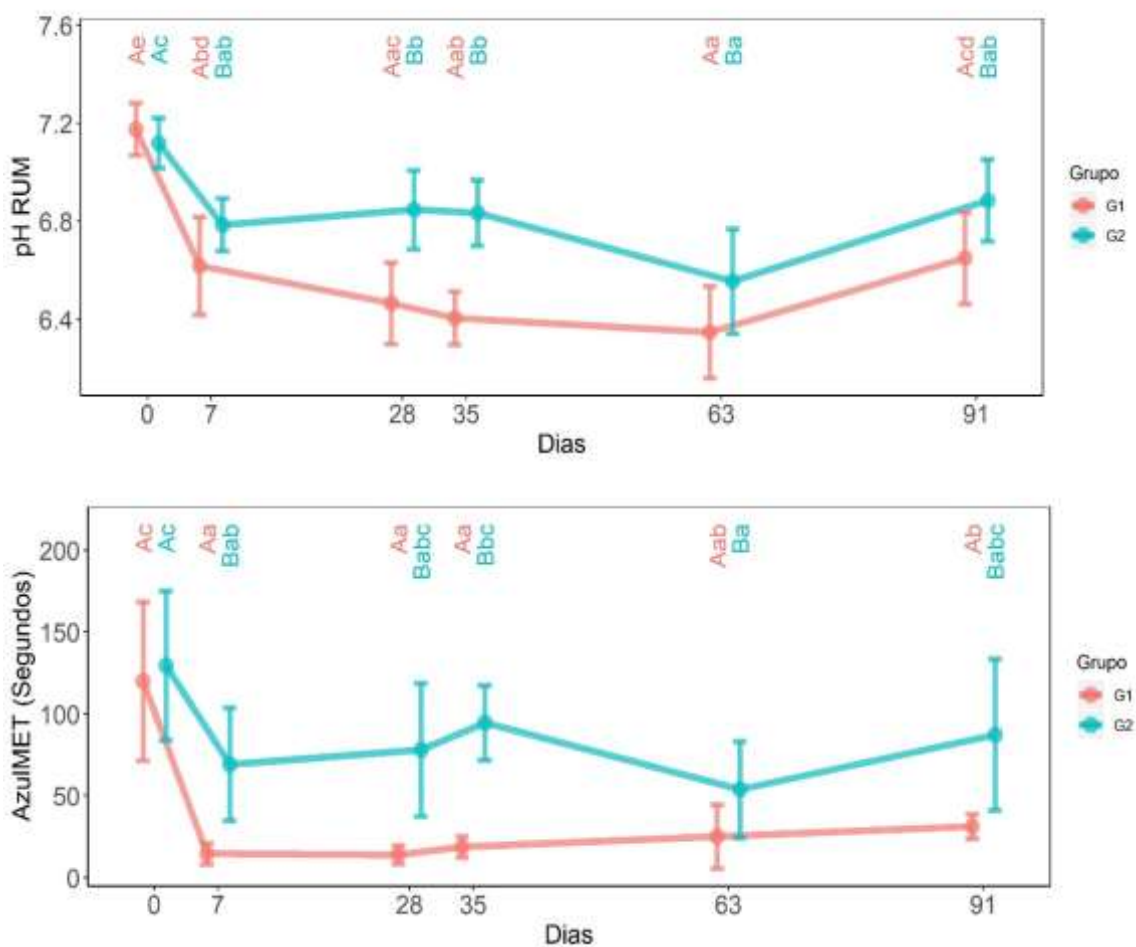


Figura 6. Perfil do pH e teste de redução do azul de metileno de fluido ruminal de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, durante 91 dias

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

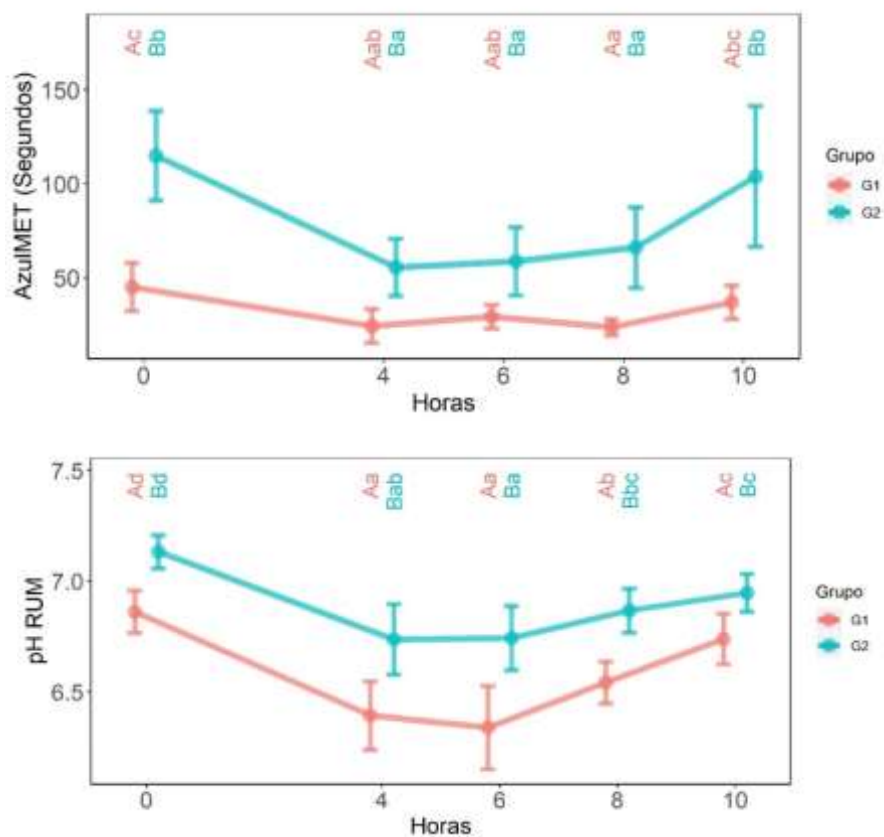


Figura 7. Perfil da média de pH e teste de redução do azul de metileno de fluido ruminal de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 10 horas de avaliação a partir do momento da distribuição do alimento, avaliado ao longo de 91 dias

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

5.3. Avaliação do perfil energético

Na Tabela 7 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de glicose.

Tabela 7. Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dias

Dias	G1		G2	
	Média	SE	Média	SE
0	71,5 Aa	2,0	69,9 Adef	1,4
7	77,9 Bbc	1,6	66,6 Abd	1,0
28	83,8 Bd	1,8	65,0 Abc	1,2
35	84,4 Bcd	1,9	67,0 Abcde	1,8
63	82,3 Bcd	1,1	70,3 Acef	1,6
91	86,9 Bd	2,7	73,7 Af	2,4

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre grupos e letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre tempos ($P < 0,05$). SE – erro padrão

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

No D0 não houve diferença dos níveis glicêmicos entre os grupos, com valores dentro da faixa de normalidade proposta por Kaneko et al. (1997) (45 – 82,8 mg/dL) e por Kaneko et al. (2008) (45 -75 mg/dL) para bovinos.

A partir do D7 até o D91 o G1 apresentou concentrações plasmáticas superiores aos animais do G2. Os animais que ingeriram maior quantidade de amido (36,98 % MS) apresentaram-se com valores acima dos valores de referência proposto por Kaneko et al. (2008), apresentando níveis hiperglicêmicos por todo período de confinamento. Já os animais do grupo com ingestão de dieta com menor teor de amido (16,81% MS) mantiveram os níveis glicêmicos dentro dos padrões de referência.

Embora neste estudo não tenha sido feita a determinação da produção e proporção dos ácidos graxos voláteis no rúmen, a dieta formulada para o G1 possivelmente proporcionou maior disponibilidade de substrato gliconeogênico, o que resultou em maiores concentrações circulantes de glicose plasmática. Isso provavelmente ocorreu porque animais com dietas mais ricas em carboidratos não-fibrosos de fácil digestão têm aumento na proporção de ácido propiônico produzido no ambiente ruminal, devido ao favorecimento do desenvolvimento de bactérias amilolíticas, produtoras deste AGV.

As concentrações plasmáticas de glicose encontradas nos animais do G1 são superiores às encontradas por Pogliane e Birgel Junior (2007) em novilhos machos da raça Holandesa ($74,17 \pm 6,15$). No entanto, se assemelham aos valores encontrados no G2. Os valores apresentados para os animais do grupo que consumiram dieta com maior densidade energética são semelhantes aos descritos por Amorim et al. (2007), que, ao longo de confinamento com dieta similar à do presente estudo, para animais jovens confinados por 120 dias, as concentrações foram 86,86, 89,02 e 91,77 mg/dL nos terços; inicial, médio e final do confinamento. Vivenza (2012) avaliando o perfil metabólico de novilhos

cruzados zebu x taurinos confinados, sobre três planos nutricionais distintos encontrou valores médios de 67,83 mg/dL em animais em manutenção, 74,11 mg/dL para bovinos que ganhavam 0,500 kg/dia e 83,3 mg/dL para animais que ganhavam 0,900kg/dia e que ingeriam maior proporção de concentrado. Assim como Lima (2005), cujos animais tinham aumento de peso médio de 0,900 kg/dia apresentavam concentrações de 77,4 mg/dL e os animais com dieta de manutenção apresentaram níveis glicêmicos de 63,06 mg/dL.

Ellenberger et al. (1989), avaliando dois grupos de novilhos, um com acesso à vontade a dieta com alta proporção de concentrados (70% de concentrado e 30% de volumoso) e outro grupo com acesso restrito (50% da mesma dieta), consumindo 212.8 e 111.8 kcal respectivamente, encontraram concentrações médias de glicose de 93,3 mg/dl e 84,0 mg/dl, sendo diferentes estatisticamente, respectivamente para o grupo de maior e menor ingestão. Estes dados demonstram que, apesar das concentrações entre os grupos diferirem, ambos apresentaram hiperglicemia, demonstrando que os valores de glicose estão mais relacionados ao tipo de dieta do que a quantidade ofertada. Todos os estudos, já citados relataram maiores taxas de glicose sanguínea em grupos que ingeriam maior proporção de concentrado na dieta. No entanto, Lipinski (2013), avaliando o desempenho de animais da raça Purunã, encontrou altas concentrações plasmáticas testando os animais um dia anterior ao primeiro dia de confinamento, animais a pasto com níveis de 81,8 mg/dL e níveis próximo a 76,01 mg/dL do trigésimo aos 120 dias de confinamento, níveis inferiores estatisticamente ao encontrado nos animais a pasto.

Avaliando a curva glicêmica ao longo do dia, em ambos os grupos os maiores valores de glicose foram observados antes da distribuição do primeiro trato do dia (T0) e foram decaindo ao longo das 10 horas de observação (Figura 8). Apesar de, o comportamento ser semelhante entre os dois grupos, os valores para glicose do G1 foram sempre maiores quando comparado ao G2.

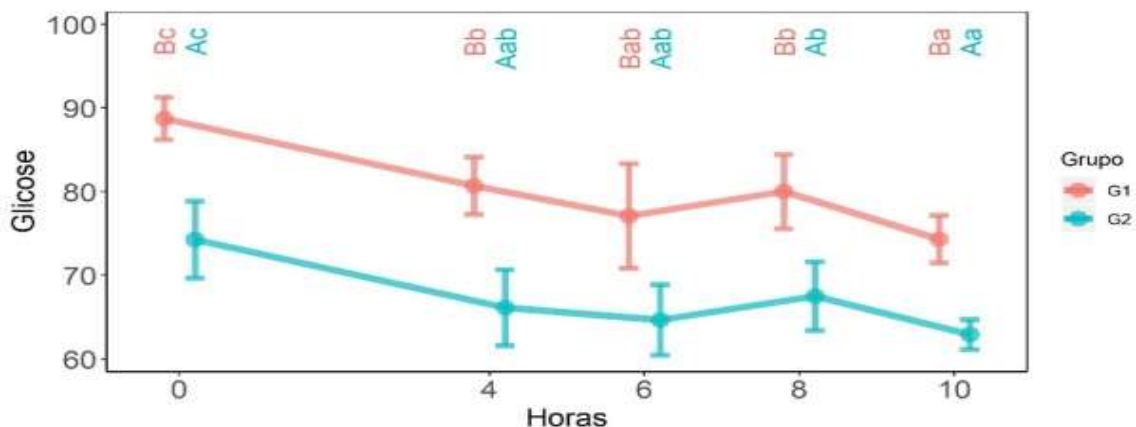


Figura 8. Concentrações de glicose sanguínea (mg/dL) de novilhos da raça Holandês submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, durante o período de dez horas de avaliação a partir do momento do primeiro arraçoamento do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Embora os dados sobre curva glicêmica em ruminantes sejam escassas na literatura, esta curva observada nos valores de glicose por dez horas pode ser explicada pelo fato de que, nos ruminantes, a glicose raramente é absorvida em quantidades significativas de forma direta como nos monogástricos, que se dá durante as primeiras quatro horas pós-prandial (Kosloski, 2002; Paulino e Sartori, 2006). Nos ruminantes, esta condição é relativamente mais variável, menos aguda e mais demorada, pois o alimento ingerido é previamente fermentado a taxas variáveis nos pré-estômagos e o fluxo da digesta torna-se relativamente mais constante. Esta fase pode durar até cerca de 8 horas após a ingestão do alimento, sendo os ácidos graxos voláteis os principais nutrientes absorvidos. Deste modo, a gliconeogênese hepática é um processo constante e inclusive, mais intenso nos animais alimentados que nos animais em jejum (Kosloski, 2002).

Tabela 8. Concentrações plasmáticas médias de glicose (mg/dL), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 10 horas a partir do momento da primeira refeição nos dias 0, 7, 28, 35, 63 e 91 de confinamento.

Horas	G1		G2	
	Média	SE	Média	SE
0	88,75 Bc	0,9	74,25 Ac	1,6
4	80,71 Bb	1,2	66,14 Aab	1,6
6	77,10 Bab	2,2	64,67 Aab	1,5
8	80,02 Bb	1,6	67,49 Ab	1,5
10	74,31 Ba	1,0	62,94 Aa	0,6

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre grupos e letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre tempos ($P < 0,05$). SE – erro padrão

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Na Tabela 9 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de insulina em uIU/mL, nos animais que foram alimentados com dieta com maior (G1) e com menor (G2) densidade energéticas ao longo de 91 dias de confinamento.

Tabela 9. Concentrações plasmáticas médias de insulina (uIU/mL), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dia

Dias	G1		G2	
	Média	SE	Média	SE
7	19,68 Aa	8,4	11,5 Aa	1,0
35	14,08 Aa	4,8	9,9 Aa	1,3
91	21,54 Aa	7,8	12,6 Aa	3,0

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre grupos e letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre tempos ($P < 0,05$). SE – erro padrão

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Apesar de haver diferença na glicemia entre os dois grupos, a insulinemia não diferiu em nenhum momento entre o G1 e o G2.

A insulinemia reflete diretamente o *status* energético em ruminantes. Contudo, diante da complexa regulação do metabolismo da glicose no ruminante, a glicemia nestes animais é bem menor que em monogástricos, ao redor de 40% a 50% inferior, indicando que este limiar de não estimulação da liberação de insulina também seria menor nos ruminantes (Berne e Levy, 2004). Em animais recebendo dietas com maiores níveis de energia, consequentemente há maior produção de ácidos graxos voláteis principalmente

propionato, refletindo um estado anabólico com maiores níveis glicêmicos e maiores concentrações plasmáticas de insulina circulantes, como nos animais do presente estudo. Vivenza (2012) encontrou menores valores de insulina em novilhos submetidos a dieta de manutenção (8,276 uIU/mL), valores intermediários para novilhos que recebiam dieta para ganho de 0,500 kg/dia (13,611 uIU/mL), e valores mais altos de insulina em novilhos submetidos a dieta para ganhos de 0,900 kg/dia (21,659 uIU/mL), valores estes que se assemelham aos encontrados no presente estudo. Em outro estudo avaliando a eficiência alimentar de nelore confinado, com dieta para ganho de 0,780 kg/dia, relação volumoso:concentrado era de 45:55, FDN de 50,03 e FDA de 31,02, condições que se assemelham ao G2 deste experimento, os autores encontraram valores médios de insulina que variaram de 3,86 a 4,17 uIU/ml (Nascimento, 2013). Estes valores são inferiores aos encontrados no presente experimento, apesar dos valores médios encontrados para glicose (69,3 – 71,7 mg/dL) serem semelhantes aos encontrados no G2 do atual estudo.

Alcantara (2019) comparou o perfil metabólico de animais que foram alimentados com uma dieta exclusiva de concentrado com um grupo que recebia dieta com bagaço de cana além do concentrado utilizado no primeiro grupo na proporção de 70:30 encontrou valores de insulina médio de 1,81 μ UI/mL para o grupo que ingeriu dieta exclusiva de concentrado versus 2,32 μ UI/mL para os animais alimentados com bagaço de cana e concentrado, ademais, os valores de glicose variaram entre 48,01 – 75,43 e 57,5-7,37 mg/dL, respectivamente, para os dois grupos. Os dados encontrados por Alcantara (2019) foram semelhantes ao estudo de Brown et al. (2000) que trabalharam com acidose ruminal subaguda em novilhos alimentados com dieta concentrada, cujas concentrações de insulina variaram de 2,0 a 4,6 μ UI/mL. Ban-Tokuda et al. (2007) também encontraram menores (1,8 a 5,5 μ UI/mL) em bovinos.

Apesar dos dados sobre valores de referência para insulina em bovinos serem escassos e haver falta de consenso nos valores encontrados na literatura, pelos dados encontrados no atual experimento, supõe-se que os animais apresentaram quadros de hiperinsulinemia, e estes valores aumentaram de acordo com os incrementos de concentrado nas dietas.

Na Tabela 10 estão apresentados os valores médios das concentrações plasmáticas do Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I).

Tabela 10. Concentrações plasmáticas médias de Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) (ng/mL), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dia

Dias	G1		G2	
	Média (ng/mL)	SE	Média (ng/mL)	SE
7	248,50 Ba	18,0	171,84 Aa	14,9
35	398,58 Bb	37,4	222,25 Aab	23,9
91	350,56 Bb	20,5	235,55 Ab	17,7

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre grupos e letras minúsculas diferentes no mesma coluna diferem entre tempos ($P < 0,05$). SE – erro padrão

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Já na primeira semana de dietas distintas os níveis de IGF-1 foram maiores no grupo que ingeriu maior quantidade de energia em comparação ao de menor ingestão de energia, mesmo os animais do G1 recebendo dieta que continha aproximadamente 50% do total de concentrado fornecido ao fim do período de adaptação. Além disso, notou-se que a partir do D35, os níveis de IGF-1 aumentaram significativamente no G1, quando os animais já se alimentavam com a dieta de engorda final. Este aumento, apesar de ocorrer no G2, não foi tão expressivo, ocorrendo apenas no D91.

Nascimento (2013) observou diferença nos valores de IGF-1 em bovinos Nelore com a mesma dieta e mesmo ganho médio de peso diário (0,780 kg/dia). No entanto, os animais classificados como melhor e intermédia eficiência alimentar apresentaram valores maiores, 41,9 e 43,82 ng/mL, respectivamente, quando comparados a animais classificados como menos eficientes pelo método de consumo alimentar residual, cujas concentrações foram 39,05 ng/mL.

Comparando os valores de IGF-1 no momento 0 e 10 horas do dia, pode observar que os valores às 10 horas após a alimentação são maiores quando comparados com o momento antes da alimentação em ambos os grupos.

Na Tabela 11 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE).

Tabela 11. Concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (mmol/L) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dias

Dias	G1		G2	
	Média	SE	Média	SE
0	0,239 Ab	0,021	0,198 Aa	0,015
7	0,166 Aa	0,009	0,166 Aa	0,020
28	0,166 Aa	0,006	0,179 Aa	0,011
35	0,186 Bab	0,005	0,162 Aa	0,003
91	0,164 Aa	0,010	0,178 Aa	0,012

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças entre grupos e letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferenças entre tempos ($P < 0,05$). SE – erro padrão

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE) não diferiram entre os grupos ao longo do tempo, exceto no dia 35, quando os níveis de AGNE no grupo G1 foram superiores aos do G2. No G1 houve diminuição do dia D0 para o D7 e permaneceu constante até o fim do período de confinamento. Os valores encontrados no presente estudo estão dentro da faixa de normalidade de AGNE para bovinos, que varia de 0,110 a 0,350 mmol/L (Kaneko et al., 2008).

A elevação dos níveis séricos/plasmáticos de AGNE tem relação direta com o processo de lipólise (Caldeira, 2005). Os níveis de AGNE no sangue estão relacionado ao balanço energético do animal, em que altos valores de ácidos graxos não esterificados são observados nos animais em balanço energético negativo. Em contrapartida, valores baixos são registrados quando o balanço energético é positivo (Dante, 1995; Peel e Bauman, 1987). Contradizendo os dados encontrados na literatura, Lipinski (2013) avaliando animais em 120 dias de confinamento com ganho de peso médio diário de 1,5kg/dia, observou aumento nos valores de AGNE, que variaram entre 0,381 a 0,607 mmol/L, sendo os menores valores encontrados no início do confinamento e os maiores ao final.

As concentrações de AGNE encontradas no presente experimento são condizentes com o *status* energético de ambos os grupos, com ganhos de peso diários de 1,79kg no G1 e 0,89kg no G2. O fato de os ruminantes produzirem constantemente AGV e apresentarem valores sanguíneos relativamente baixos é devido ao seu metabolismo dinâmico, uma vez que estes compostos são fontes prontamente disponíveis de combustível metabólico (Palmquist e Mattos, 2011). Os AGNE são direcionados para a produção de energia pela via da β -oxidação no fígado, no tecido muscular esquelético e no coração (Bruss, 2008). No período absorptivo, os ácidos graxos que chegam ao fígado podem ser incorporados às VLDL e liberados na circulação. Estes podem ser direcionados para duas rotas

metabólicas: quando a demanda energética do animal encontra-se atendida, os ácidos graxos são transportados ao tecido adiposo e armazenados na forma de triglicerídeos; por outro lado, se a demanda energética não foi suprida, os ácidos graxos são transportados aos tecidos periféricos e oxidados para produzir energia (Palmquist e Mattos, 2011).

Na Tabela 12 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de beta hidroxibutirato (BHB) em mmol/L..

Tabela 12. Concentrações plasmáticas de beta hidroxibutirato (BHB) (mmol/L), de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dias

	G1	G2
Dias	Média	Média
0	0,331 Aab	0,322 Aab
7	0,386 Aab	0,350 Aab
28	0,337 Aab	0,330 Aa
35	0,332 Aa	0,343 Aab
63	0,567 Bc	0,397 Aab
91	0,392 Abc	0,407 Ab

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças entre grupos e letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferenças entre tempos (P<0,05). SE – erro padrão

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Os valores de beta hidroxibutirato não diferiram nos momentos do experimento entre os grupos e ao longo do tempo dentro de cada grupo, exceto no D63, quando houve elevação no G1. Observando-se os gráficos de consumo, percebe-se que o D63 faz parte do período de maior atividade ruminal, possivelmente fase de maior produção de AGV, incluindo o butirato. Ao longo do dia, o maior valor médio de BHB ocorreu 4 horas após a primeira alimentação do dia no grupo G1, este comportamento pode ser associado ao que ocorreu na curva de pH ruminal, quando observou-se o menor pH ruminal no dia, possivelmente à maior produção de ácidos graxos voláteis.

As concentrações de BHB encontradas no presente experimento são maiores do que as encontradas por Lipinski (2013), que avaliou ganho de peso médio diário de 1,5 kg, cujas concentrações de BHB variaram de 0,189 à 0,228 mmol/L, concentrações estas semelhantes às encontradas por Sucupira (2003) e Pogliani e Birgel Junior (2007).

Ao contrário dos não ruminantes, as concentrações séricas/plasmáticas de corpos cetônicos são relativamente constantes nos ruminantes, dada sua origem a partir dos ácidos graxos voláteis (AGVs) produzidos na fermentação de carboidratos no rúmen. Enquanto o propionato é o principal precursor para gliconeogênese, o butirato é o principal precursor para a cetogênese, sendo aproximadamente 50% da quantidade de butirato absorvida no rúmen é convertida a corpos cetônicos. Nessa condição, o butirato

passa por uma série de reações de oxidação catalisadas por enzimas específicas nas células epiteliais do rúmen, onde é convertido a BHB e liberado no plasma (Bruss, 2008). Este corpo cetônico não é captado pelo fígado, sendo direcionado para o tecido muscular e adiposo, onde é utilizado como fonte de energia (Kozłowski et al., 2009).

Os dados encontrados no atual experimento são semelhantes ao encontrados por Antonelo (2015), BHB 2,3 mmol/L, AGNE 0,27 mmol/L e Glicose 80,3 mg/dL. Já Vivenza (2012) não observou diferenças quanto às concentrações plasmáticas de beta-hidroxibutirato (BHB) 0,378; 0,432, 0,264 e AGNE 0,113; 0,123 e 0,072 para animais em manutenção, ganho médio e ganho livre respectivamente.

Em estudo para avaliar a influência da carência energética prolongada no perfil metabólico de garrotes, Sucupira (2003) determinou os valores plasmáticos de AGNE e beta-hidroxibutirato (BHB), sendo que, de acordo com o tipo de dieta fornecida, foram estabelecidos os seguintes valores: dietas com altos teores de energia - AGNE igual a $150,9 \pm 40,54 \mu\text{M/L}$ e BHB igual a $4,4 \pm 0,83 \text{ mg / dL}$; dietas com teores moderados de energia - AGNE igual a $255,7 \pm 142,47 \mu\text{M/L}$ e BHB igual a $2,19 \pm 0,73 \text{ mg / dL}$; dietas com baixos teores de energia - AGNE igual a $58,6 \pm 151,83 \mu\text{M/L}$ e BHB igual a $1,7 \pm 0,73 \text{ mg / dL}$.

Estudo conduzido por Hocquette e Bauchart (1999) indicou que 40% dos AGNE têm origem a partir da mobilização de gordura dos tecidos adiposos e 60% foi originado da hidrólise dos triglicérides circulantes através da ação da lipase lipoproteica (LPL), sendo esta enzima considerada por esses autores fundamental na regulação do metabolismo lipídico. O beta-hidroxibutirato (BHB), além de estar relacionado com a taxa de mobilização lipídica, pode também ser originado do butirato produzido na fermentação ruminal (Hocquette e Bauchart, 1999). De acordo com Preston e Leng (1987), 90% do butirato produzido no rúmen é metabolizado no próprio epitélio ruminal, sendo a maior parte (75%) convertida em BHB e o restante em acetoacetato. Por este motivo, o ruminante normalmente mantém os valores de BHB em níveis medianos.

Observa-se na literatura uma escassez de estudos que avaliaram a correlação entre os indicadores do status energético e os principais hormônios envolvidos na regulação do metabolismo em ruminantes, principalmente para animais de corte em fase de engorda. Neste ponto, destaca-se que a maioria dos trabalhos são realizados com vacas leiteiras de raças especializadas no período de transição, sendo praticamente inexistentes informações para animais em confinamento.

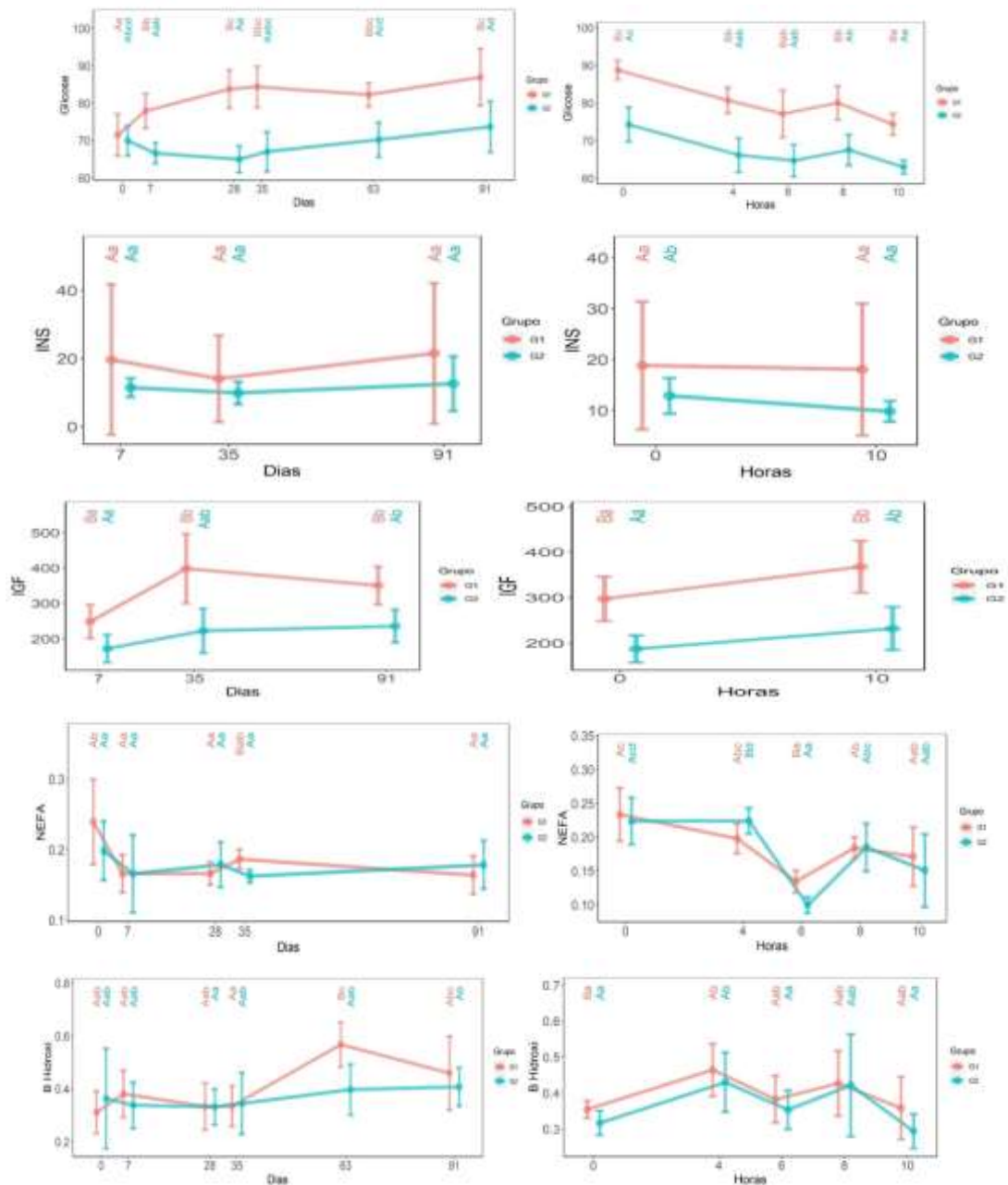


Figura 9. Perfil metabólico energético de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 91 dias. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo.

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

5.4. Avaliação dos parâmetros de hemogasometria

A hemogasometria foi realizada no D35 nos momentos T4, T6, e T8 horas e no D91 avaliado nos momentos T0, T4, T6, T8 e T10 horas após o fornecimento do primeiro arraçoamento do dia. O pH sanguíneo no D35 não diferiu entre os grupos, sendo as médias de $7,43 \pm 0,02$ para o G1 e $7,40 \pm 0,04$ para o G2. Já no dia 91 houve diferença entre o grupo de maior e menor concentração de amido na dieta, $7,42 \pm 0,02$ e $7,40 \pm 0,02$, respectivamente. Dessa forma em nenhum momento foi observado valores de pH fora dos limites fisiológicos (7,31 a 7,53) (Carlson, 1997; Rasdostits et al., 2007; Kaneko et al., 2008). A manutenção do pH fisiológico é uma condição vital e, para tanto, o organismo lança mão de mecanismos compensatórios, ou seja, a avaliação isolada do pH sanguíneo não informa a real situação do equilíbrio ácido base. Da mesma forma, a variação de pH sanguíneo também não foi observada em outras pesquisas. Quaresma et al. (2019), avaliando a hemogasometria de novilhos em confinamento, com dieta exclusiva de grãos, um grupo recebendo milho e outro cevada, observaram que os animais apresentavam pH sanguíneo de 7,40 e 7,42, respectivamente aos 80 dias de confinamento. Em outro estudo, vacas leiteiras lactentes com dietas semelhantes, porém em diferentes dias em lactação, divididas em 4 grupos, apresentaram pH sanguíneo de $7,40 \pm 0,04$, $7,38 \pm 0,04$, $7,40 \pm 0,03$ e $7,39 \pm 0,03$, todos apresentando-se dentro da normalidade (Rodrigues et al., 2013).

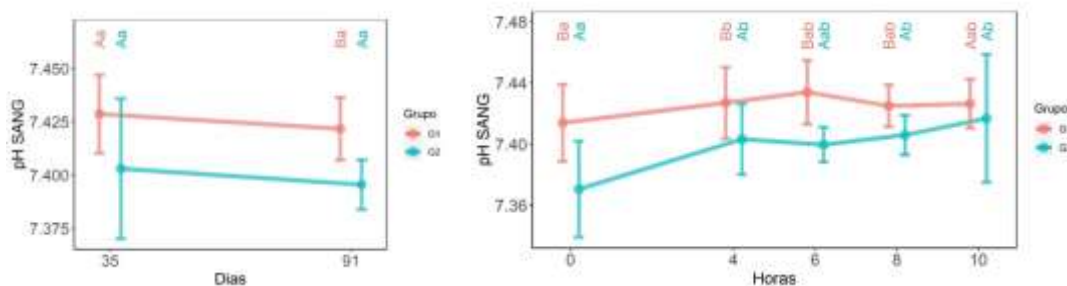


Figura 10. Perfil da média do pH do sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

O dióxido de carbono total (tCO_2) sanguíneo no dia 35 foi $30,3 \pm 2,7$ mmol/L e $27,4 \pm 2,3$ mmol/L, respectivamente, para o grupo G1 e G2. No dia 91, essas concentrações foram de $32,1 \pm 2,2$ mmol/L e $29,3 \pm 2,0$ mmol/L. Nos bovinos, os valores fisiológicos,

do tCO₂, variam de 25,6 a 33,4 mmol/L. Como os valores de tCO₂ são diretamente dependentes das influências metabólicas e respiratórias, a interpretação de seus resultados é limitada (Meyer et al., 1995; Carlson, 1997). As concentrações encontradas em vacas leiteiras, produzindo em média 20 litros de leite por dia e recebendo 10 kg de ração foram 26,41 ± 2,06 mmol/L, 26,02 ± 2,8 mmol/L e 26,32 ± 2,98 mmol/L versus 27,67 ± 2,36 mmol/L para vacas que produziam menos de 20 litros de leite por dia, recebendo 5 kg de ração por dia (Rodrigues et al., 2013).

A pCO₂ representa o componente respiratório do equilíbrio ácido base, e consiste na mensuração da tensão ou pressão de dióxido de carbono dissolvido no sangue. Pode-se dizer que pCO₂ representa o equilíbrio entre a produção celular de CO₂ e a sua remoção pela ventilação (Carlson, 1997; Gomes, 1997). A pressão parcial de dióxido de carbono sanguíneo (pCO₂), encontrados no dia 35 foi mais elevada no G1 (G1=43,4 ± 2,7 e G2=42,2 ± 2,2 mmHg). No dia 91 os valores de pCO₂ foram iguais (G1=47,2 ± 3,5 e G2= 45,5 ± 3,0 mmHg). No entanto, do dia 35 para o dia 91 houve um incremento da pCO₂, em ambos os grupos, estando acima dos valores de referência (35-44 mmHg) (Carlson, 1997). O incremento de pCO₂ pode estar relacionado ao maior metabolismo ruminal, demonstrado pelas provas de azul de metileno e à maior atividade celular, demonstrado pelas taxas de ganho de peso dos animais. Ao longo do dia a pCO₂ não variou entre os animais do mesmo grupo e entre animais dos grupos G1 e G2, diferindo apenas 4 horas pós fornecimento da primeira refeição do dia, quando G1 foi superior ao G2.

Os resultados de pH ruminal e redução do azul de metileno demonstraram maior atividade fermentativa após o D63, que condiz com os achados na hemogasometria, e uma vez que, nos ruminantes, o CO₂ encontrado dissolvido no sangue pode ter como origem a fermentação ruminal. Alguns estudos relataram que a diminuição no pH ruminal pode estar correlacionado ao aumento da concentração de dióxido de carbono dissolvido (dCO₂) (Loerting et al., 2000; Adamczyk et al., 2009; Loerting e Bernard, 2010; Laporte-Urbe, 2016). O CO₂ dissolvido é uma molécula biologicamente ativa que influencia diretamente o metabolismo bacteriano e que, se encontrado em altas concentrações, pode aumentar a difusão de CO₂ do rúmex para o sangue, levando à hipercapnia e, consequentemente acidose metabólica (Turner e Hodgetts, 1955b; Ash e Dobson, 1963; Gutknecht et al., 1977; Endeward et al., 2013). No presente estudo, ocorreu hipercapnia intensa, especialmente no G1, porém não houve diminuição do pH sanguíneo, o que pode estar relacionado à ativação de mecanismos de compensação.

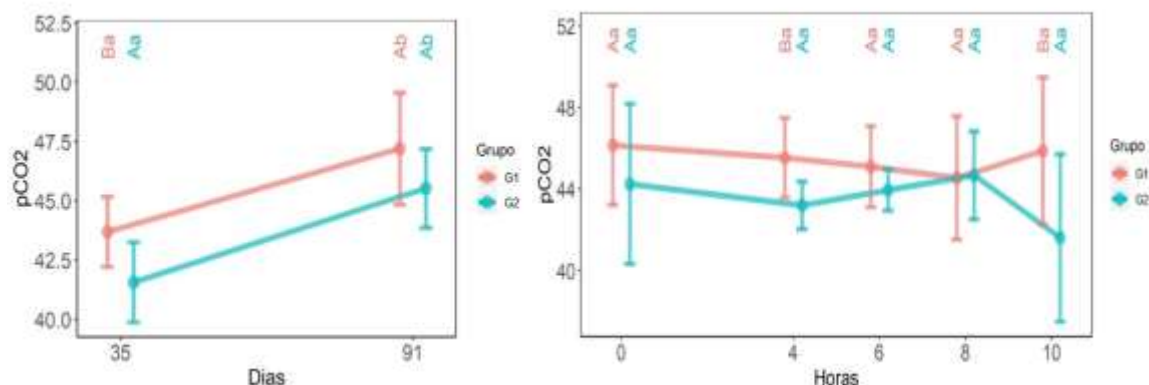


Figura 11. Perfil da pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂) do sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

O G1, que consumiu dietas com maior densidade energética, apresentou frequência respiratória mais elevada nos dias 35 e 91, nos quais foram realizadas as análises de hemogasometria. Nestes momentos, a frequência respiratória média do G1 foi cerca de 40% maior que do G2 (Tabela 13). Além disso, a frequência respiratória do G1 ao longo do dia foi maior em todos os momentos. Após o primeiro fornecimento da dieta do dia, a frequência respiratória aumentou, sendo as maiores frequências às 4 e 6 horas após a distribuição do alimento. Nestes mesmos momentos, foram observados os menores valores de pH ruminal, bem como o menor tempo de redução do azul de metileno, revelando um momento de grande fermentação ruminal. Como resultado dessa fermentação, ocorre a produção de ácidos graxos voláteis e de gases, especialmente CO₂ e metano (CH₄). A formação dos principais AGV's determina a produção de CO₂ e CH₄ e estão associados à formação do acetato, propionato e butirato. A formação do acetato libera 2 mol de CO₂ e 4 mol de H₂ por mol de glicose fermentada. Os 4 mol de H₂ são utilizados pela metanogênese para reduzir 1 mol de CO₂ para CH₄. Por isso, a formação do acetato resulta na produção de 1 mol de CO₂ e 1 mol de CH₄ por mol de glicose fermentada. Similarmente, a produção de butirato resulta na produção de 1,5 mol de CO₂ e 0,5 mol de CH₄ por mol de glicose fermentada. Por outro lado, a formação do propionato não resulta na produção de CO₂ e requer um consumo da forma reduzida, resultando na diminuição da produção de CH₄. Dessa forma, a formação do propionato conserva mais energia na fermentação da glicose que será utilizada pelo animal (Ellis et al., 2008).

Dietas ricas em amido, como a do G1, favorecem a produção de grande quantidade de CO₂. Parte do CO₂ apresenta-se na forma gasosa, sendo eructado, e outra parte fica diluído no fluido ruminal (dCO₂), o qual será absorvido para a corrente circulatória. A curva de aumento de frequência respiratória segue um padrão inverso à curva de pH ruminal do grupo que consumia maior densidade energética.

Na respiração celular, a glicose é o substrato mais comum. Os organismos oxidam a glicose na presença de oxigênio liberando energia, além de 6 moléculas de H₂O mais 6 moléculas de CO₂ (McDonald et al., 2010). O grupo G1 apresentou maior taxa de crescimento e maiores valores de glicose plasmática (Tabela 7), sugerindo maior metabolismo, maior utilização de glicose e conseqüentemente, maior liberação de CO₂ na corrente circulatória.

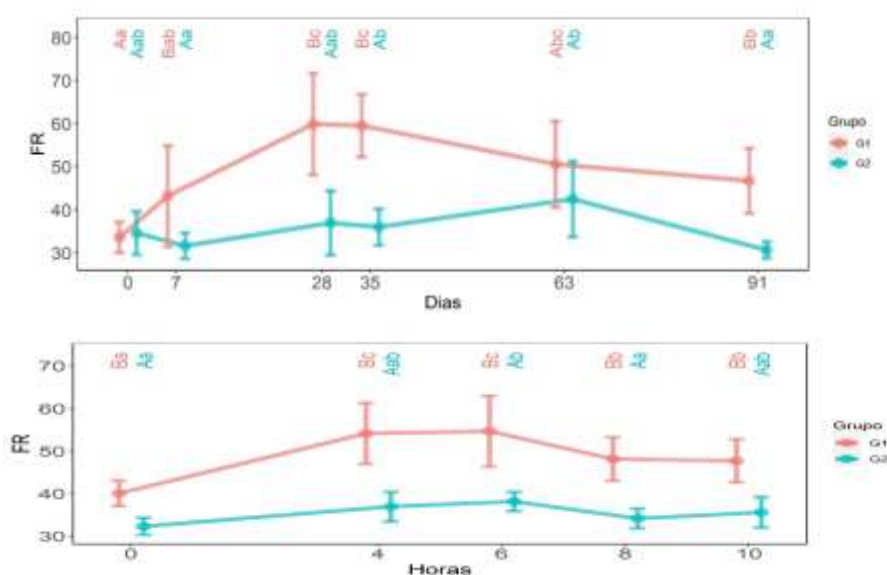


Figura 12. Perfil da frequência respiratória de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

A frequência respiratória do G2 se manteve constante ao longo do dia. Estes achados são coerentes aos relatados para animais em acidose ruminal, que geralmente apresentam respiração superficial e frequência aumentada de 60 a 90 movimentos por minuto (Blood et al., 1979; Ogilvie, 2000). Os pulmões agem na oxigenação sanguínea e na ventilação alveolar e também exercem grande influência no mecanismo de controle do pH, uma vez que o CO₂ é o responsável pela maior parte da carga ácida produzida durante os processos metabólicos (Drage e Wilkinson, 2001). A compensação respiratória ocorre

dentro de minutos, mas se o organismo apresenta um pH alterado devido a causas respiratórias, mecanismos metabólicos (excreção renal de H^+ ou reabsorção de HCO_3^-), podem compensar a alteração (Tortora, 2001).

A pressão arterial de oxigênio (PaO_2) é o parâmetro utilizado para a avaliação da oxigenação pulmonar, enquanto a $PaCO_2$ é utilizada para avaliação da ventilação pulmonar. A $PaCO_2$ é inversamente proporcional à função alveolar e tal fato implica que pequenas mudanças na ventilação pulmonar alteram rapidamente na concentração de CO_2 , íons H^+ e no pH (Gomes, 1997). Os pulmões respondem rapidamente às alterações de pH, alterando a taxa de remoção de CO_2 do sangue e, conseqüentemente a taxa de H_2CO_3 (Cunningham, 2004).

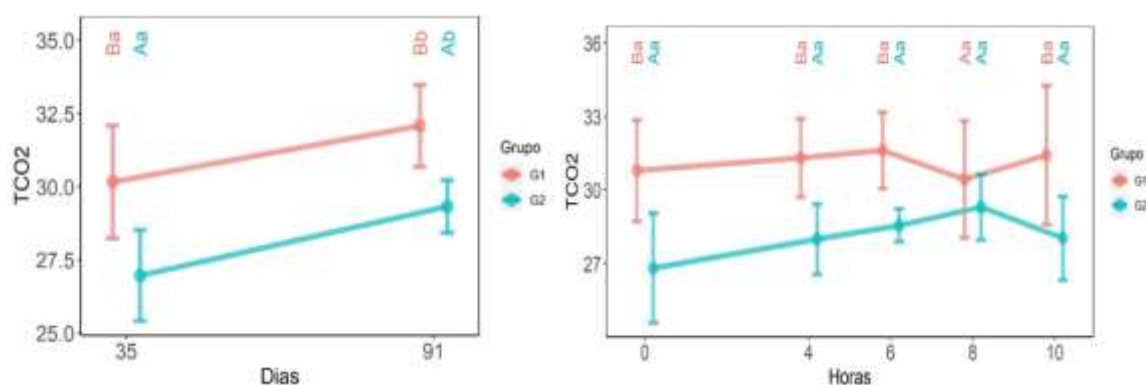


Figura 13. Perfil de dióxido de carbono total (tCO_2) de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Tabela 13. Frequência respiratória (movimentos por minuto) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas ao longo de 112 dias

Dias	G1	G2
0	32,1 Ba	33,7 Aab
7	43,2 Bc	31,6 Aabc
28	59,9 Bc	37,0 Aabc
35	59,6 Bc	36,1 Abc
63	54,8 Abc	38,4 Ac
91	46,8 Bb	30,7 Aa

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças entre grupos e letras minúsculas diferentes no mesma coluna representam diferenças entre tempos ($P < 0,05$). SE – erro padrão

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

O bicarbonato sérico no dia 35 para o G1 foi $29,1 \pm 2,71$ mmol/L e para o G2 $26,16 \pm 2,13$ mmol/L, sendo diferentes entre os grupos. No dia 91 as concentrações foram $30,8 \pm 2,0$ mmol/L e $27,9 \pm 1,9$ mmol/L, respectivamente, para os grupos G1 e G2, permanecendo diferentes entre os grupos. Os níveis plasmáticos fisiológicos para bovinos variam de 17 -30 mmol/L (Carlson, 1997; Rasdostits et al., 2007; Kaneko et al., 2008). Os valores de bicarbonato aumentaram do dia 35 para o dia 91 nos dois grupos, demonstrando que os mecanismos tampão foram incrementados ao longo do confinamento. Com dietas de alto concentrado e reduzida contribuição de saliva, maior proporção de bicarbonato deve ser derivada do sangue para tamponar o rúmen (Owens et al., 1998). Ao longo do dia não houve diferença nas concentrações de HCO_3^- dentro de cada grupo, no entanto, o G1 apresentou concentrações mais altas quando comparado ao G2, exceto oito horas após à primeira alimentação do dia. A hemogasometria foi realizada em um hemogasômetro portátil (Istat®⁵), que utiliza os valores de pH sanguíneo e pCO_2 para calcular os valores de bicarbonato ($\log \text{HCO}_3^- = \text{pH} + \log \text{PCO}_2 - 7,608$) assim como os valores do dióxido de carbono total (tCO_2) e o excesso de bases (BE). Dessa forma, provavelmente a maior produção de CO_2 dissolvido no rúmen dos animais do G1 e, conseqüentemente, a maior pCO_2 apresentada por estes animais influenciou o aumento dos valores de HCO_3^- observados. O bicarbonato quando conjugado com ácido carbônico é o sistema de tamponamento mais importante no meio extracelular. O bicarbonato é abundante no líquido extracelular (LEC) e pode ser recuperado pelos rins, enquanto o CO_2 , produzido pela respiração celular tecidual, pode ser eliminado pela ventilação alveolar nos pulmões, caracterizando um sistema aberto (Rose e Post, 2001).

⁵ STAT@1 – Abbott Laboratories – EUA

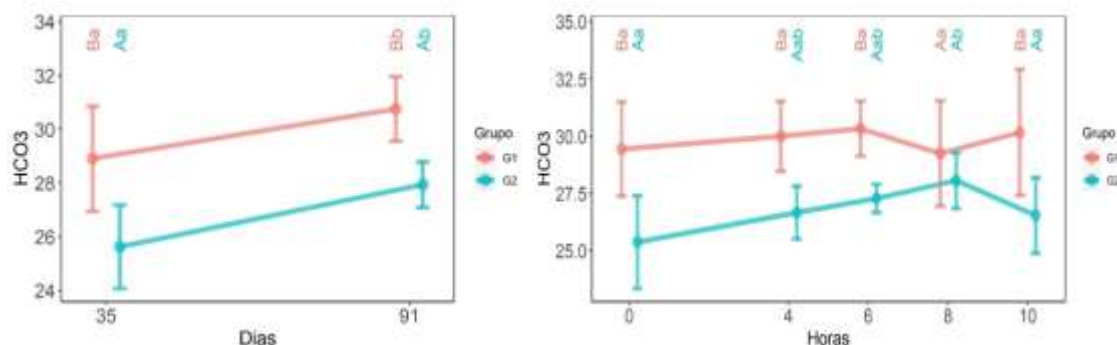


Figura 14. Perfil de bicarbonato (HCO_3^-) de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Em ambos os dias de avaliação (D35 e D91) houve diferença entre os valores de excesso de base (EB), com valores maiores para o G1 que o G2. Dentro de cada grupo houve aumento significativo entre os dois dias, sendo no D35 valores de $4,9 \pm 4,4$ e $2,1 \pm 2,1$, e no dia 91 valores de $6,3 \pm 2,1$ e $3,0 \pm 2,0$, respectivamente, no grupo G1 e G2. Assim como as concentrações de HCO_3^- , os valores de excesso de base também são calculados pela fórmula: $\text{BE}_{\text{ecf}} = \text{HCO}_3^- - 24,8 + 16,2 (\text{pH} - 7,4)$. Logo, o excesso de base segue o mesmo padrão que o pCO_2 . Com isso, os valores também são influenciados pela frequência respiratória, atividade ruminal e metabolismo celular que aumentam ou diminuem a quantidade de CO_2 dissolvido no sangue. O BE traz como informação o equilíbrio do organismo quanto à quantidade de bases e ácidos no fluido extracelular. A concentração de bases em excesso no fluido extracelular permanece virtualmente constante durante variações agudas da pCO_2 e reflete apenas o componente metabólico de perturbações no pH.

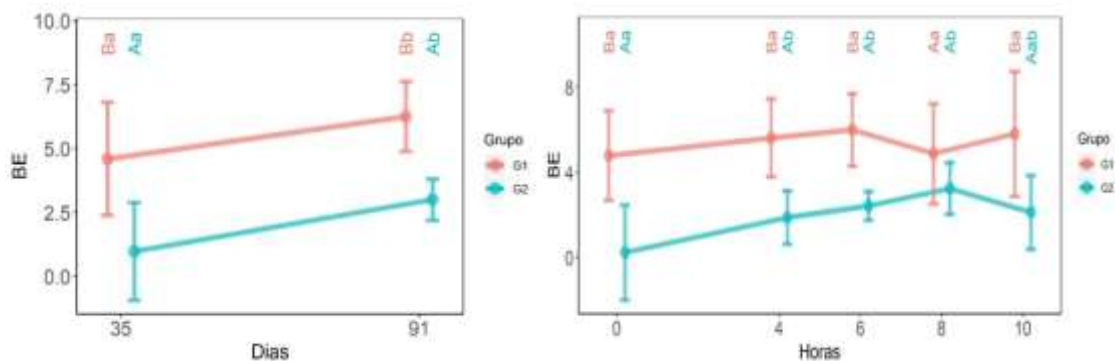


Figura 15. Perfil de excesso de base (BE) de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações de hemoglobina, tanto no dia 35 quanto no dia 91, diferiram entre os grupos sendo maior no G1 ($p < 0,001$). As concentrações de hemoglobina no D35 foram $9,1 \pm 0,5$ e $8,0 \pm 0,7$ e no dia 91 foram $9,55 \pm 0,5$ e $8,20 \pm 1,0$, respectivamente, para os grupos G1 e G2. Observando-se o comportamento dentro de cada grupo, a hemoglobina não diferiu ao longo do tempo no G2, já no G1 houve aumento do D35 para o D91 ($p = 0,039$), demonstrando que no grupo de consumo da dieta com maior densidade energética houve acréscimo dos mecanismos tamponantes. A hemoglobina é a proteína que atua como tampão intracelular mais abundante no organismo, cerca de 80%, e tem a capacidade de fixar CO_2 e H^+ . Independentemente da causa, a hipóxia estimula os rins a acelerarem a liberação de eritropoietina, hormônio que circula através do sangue até a medula óssea, onde acelera a eritropoiese (Hochachka et al., 1997). Assim, o aumento da concentração de hemoglobina no G1 provavelmente está relacionada à maior concentração de CO_2 verificada nos animais desse grupo.

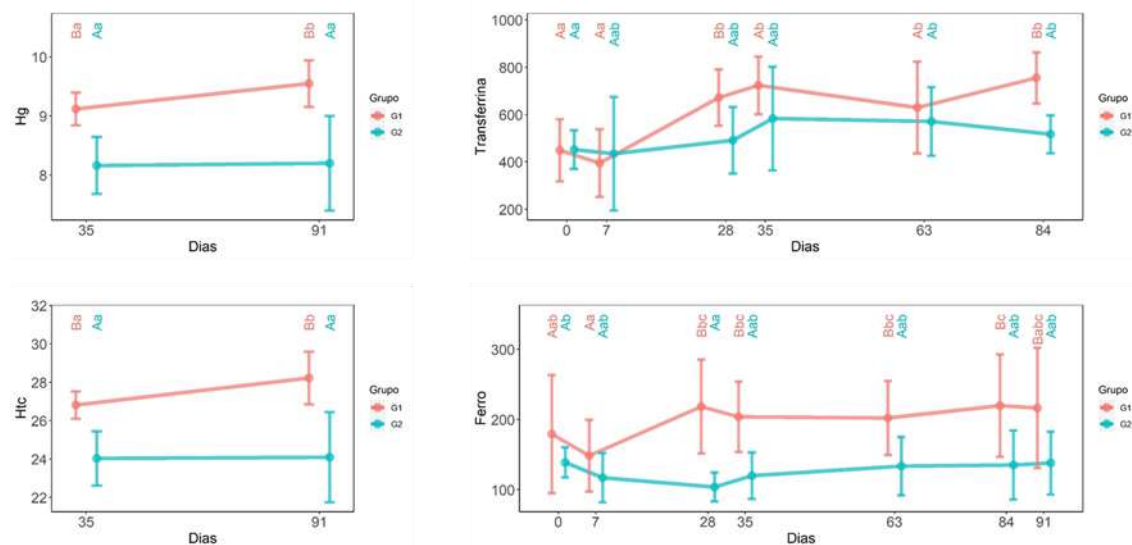


Figura 16. Perfil de dosagens médias de hemoglobina (Hg), hematócrito (Htc), transferrina e ferro de novilhos de raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

É interessante observar que as concentrações séricas de Ferro foram mais altas no G1 em relação ao G2 ($p < 0,001$) a partir do D28 e que a transferrina do G1 foi mais alta do que do G2 aos 28 e 84 dias ($p = 0,009$). Além disso, no G1, a transferrina apresentou elevação a partir do D28 até o final do experimento. Estes achados reforçam o maior estímulo para hematopoiese no G1, resultando em valores mais elevados de hematócrito e hemoglobina, tendo como precursores a disponibilidade de ferro para formação do grupo heme da hemoglobina e da transferrina, responsável pelo transporte do ferro para o interior das células eritroides (Grotto, 2008).

As concentrações de albumina foram mais altas no G1 durante o experimento ($p = 0,008$), o que pode ter ocorrido devido à maior ingestão de proteína neste grupo. O teor de proteína na dieta de 14,36% PB na MS no G1 e 11,89% no G2 associado ao maior consumo de MS (2,6% PC no G1 e 2,06% PC no G2) podem ter contribuído para isso. As maiores concentrações de albumina podem ter auxiliado na manutenção do equilíbrio ácido base no G1, pois ela atua como um tampão importante no meio extracelular e tem a capacidade de ligar-se a íons H^+ (Carlson, 1997; Rose e Post, 2001).

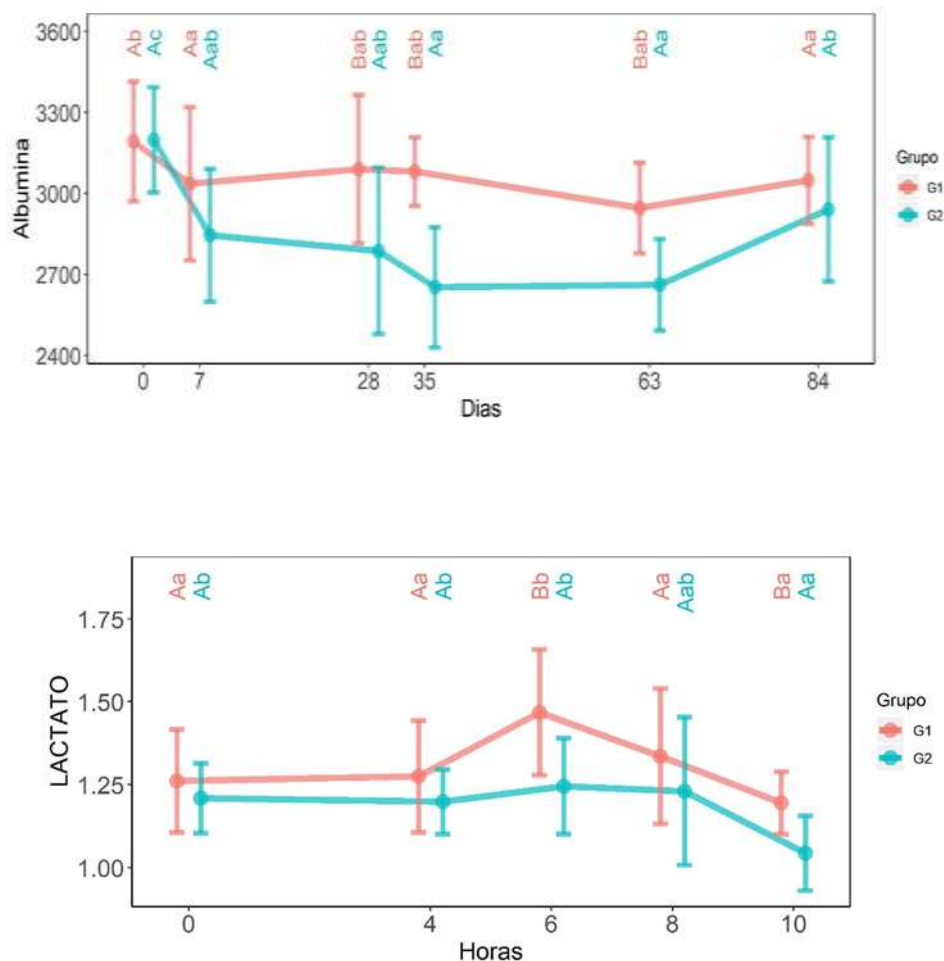


Figura 17. Perfil da média de albumina e lactato de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações de lactato plasmático se mantiveram dentro de limites fisiológicos e não apresentaram grande variação entre os grupos durante os dias experimentais, sendo os do G1 maior que do G2 apenas no D28. Quando foi avaliado em horas após a alimentação, os níveis de lactato se mostraram mais altos no G1 em relação ao G2 seis horas após a alimentação. De acordo com os dados apresentados de pH de rúmen e de redução do azul de metileno, nesse momento observou-se a maior atividade ruminal e, portanto, a maior produção de AGVs e também a possibilidade de aumento da produção de lactato no rúmen por *Streptococcus bovis*, uma vez que a faixa de pH médio se manteve

em torno de 5,9 - 6,3. Apesar de significativo, esse aumento não foi tão expressivo e os valores retornaram aos iniciais dentro de duas horas. Além disso, o lactato mensurado no presente trabalho foi apenas o isômero L lactato, o qual apresenta metabolização mais rápida do que o D lactato, que pode ser produzido no rúmen em grande quantidade nos quadros de acidose ruminal aguda (Ortolani et al. 2008; Ortolani et al., 2010).

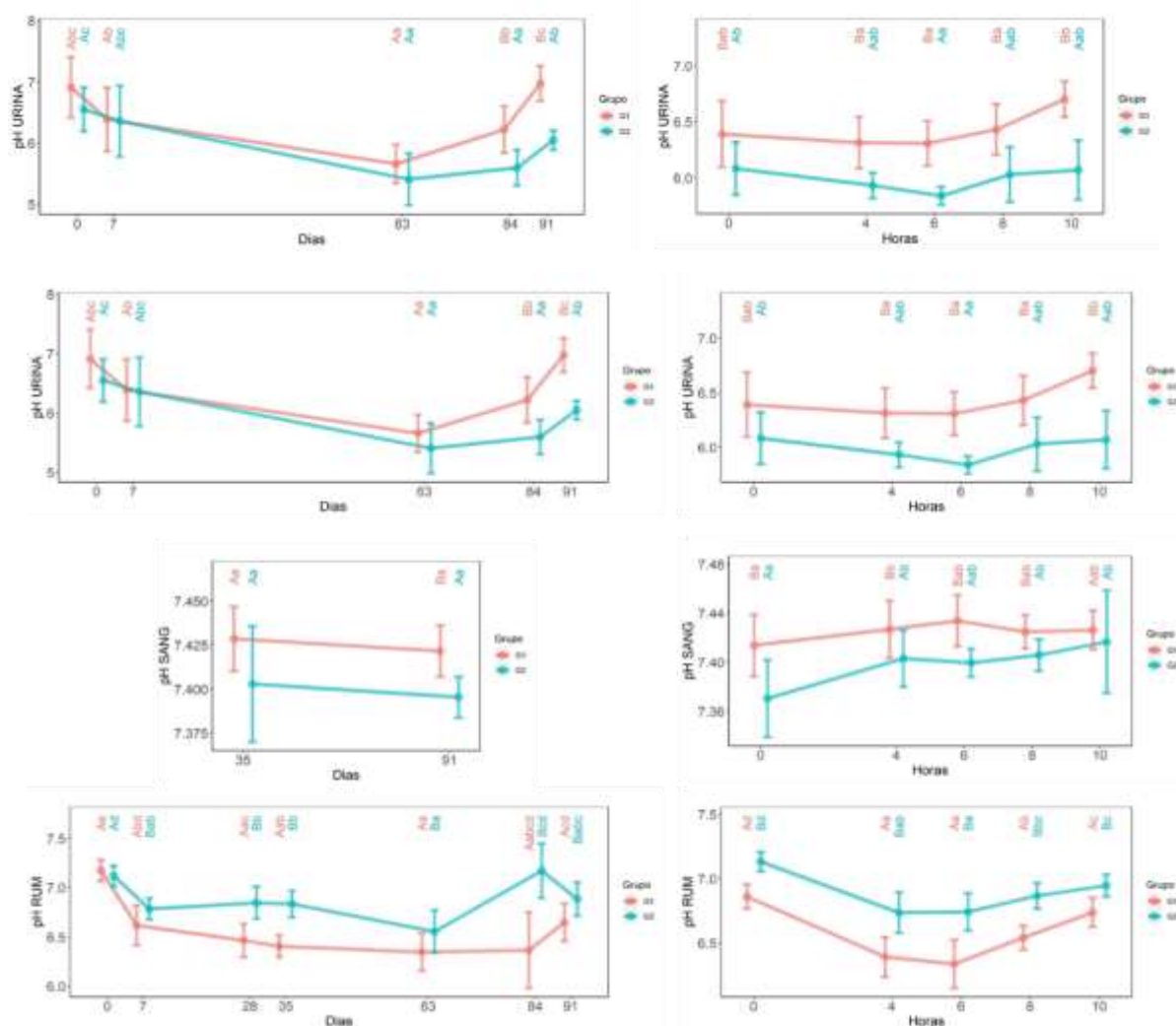


Figura 18. Perfil do pH sanguíneo, pH urinário e pH ruminal de novilhos raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo.

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

O pH urinário dos dois grupos se manteve abaixo dos valores fisiológicos para bovinos (7,4 a 8,4) (Garcia-Navarro, 1996) durante todo o período experimental. No dia do início

do experimento, os animais já apresentavam acidúria, provavelmente refletindo a dieta que estavam recebendo, pois já estavam confinados e recebiam silagem de milho e concentrado. Nos dias seguintes a tendência dos valores de pH urinário foi reduzir mais intensamente. No D63, os dois grupos apresentaram os menores valores de pH urinário e no D91 o pH urinário se elevou e o do G1 ($6,97 \pm 0,4$) foi maior do que do G2 ($6,05 \pm 0,3$). Esse comportamento do pH urinário nos respectivos dias é semelhante ao do pH de rúmen que diminuiu a partir do D7, com níveis mais baixos no D63 para os dois grupos. Apesar do pH ruminal no grupo 1 ter sido numericamente menor do que o do G2, durante este período (D7-D63) não houve diferença no pH urinário entre eles. Entretanto, vale destacar que nesse período a frequência respiratória do G1 foi sempre mais elevada do que a do G2. Assim, pode-se inferir que o abaixamento do pH ruminal no G1 possivelmente provocou algum grau de acidose respiratória, com resposta pelos mecanismos de compensação pulmonares para eliminação de CO_2 , gerando a taquipneia observada. Esta resposta ocorreu rapidamente, concomitante com a queda do pH urinário. No G2 também se observou acidúria no mesmo período, porém sem aumento da frequência respiratória.

No D63, os dois grupos apresentaram os menores valores de pH ruminal, bem como de pH urinário. Neste momento o G2 também apresentou aumento da frequência respiratória, concomitante com o aumento do metabolismo ruminal, caracterizado pela diminuição de pH ruminal. A partir do D63 observou-se aumento do pH ruminal e do pH urinário nos dois grupos. No último período de avaliação, de 67 a 91 dias de confinamento, ocorreu diminuição do consumo de matéria seca de alimento dos grupos G1 e G2. Assim, ocorreu diminuição do metabolismo ruminal, caracterizado pelo aumento do pH ruminal. Observou-se, então, a diminuição da ação dos mecanismos de compensação, ou seja, ocorreu aumento no pH urinário e diminuição da frequência respiratória em ambos os grupos.

Quando analisados separadamente os resultados do D91, observou-se que o pH de sangue e de urina foram mais altos ($p < 0,05$) no G1. Vários trabalhos mostraram que existe uma relação positiva entre estes dois analitos, ou seja, valores mais altos de pH sanguíneo são seguidos por pH urinário mais alto (Lubestkaya e Melnichuick, 1999; Ortolani et al., 1997; Ortolani et al., 2003). Além disso, a concentração de bicarbonato no G1 nesse momento é mais alta, influenciando sua excreção pelos rins e favorecendo o aumento do pH urinário (Kaneko et al., 1997). O pH urinário é determinado pelo balanço de íons H^+ e bicarbonato na urina, refletindo, em muitos casos, o estado de acidose ou alcalose do organismo, embora muitas vezes pode não refletir o que acontece no sangue, devido ao mecanismo compensatório de eliminação do íon oposto (Carlson, 1997). A eliminação de íons H^+ na urina está atrelada principalmente à excreção da amônia pelos rins, mas parte deste íon também pode ser eliminado associado a moléculas de fosfato e lactato. Já o bicarbonato é oriundo, na sua maioria, da própria passagem do HCO_3^- sanguíneo pelo

glomérulo renal e, quanto maior a concentração sanguínea deste íon, maior a taxa de filtração pelo glomérulo (Reece, 1996; Cuninngham, 2004). A concentração mais alta de HCO_3^- no G1 pode ser explicada pela maior produção endógena de CO_2 , seja a partir da maior concentração de CO_2 dissolvido no rúmen e absorvido para o sangue, ou pela maior produção celular. Possivelmente, a maior produção de CO_2 ruminal se deve à formação dos ácidos graxos voláteis, os quais provavelmente foram produzidos em maior quantidade no G1, uma vez que houve maior queda de pH ruminal neste grupo. Adicionalmente as células do organismo utilizam continuamente o oxigênio para as reações metabólicas que liberam energia a partir das moléculas dos nutrientes e produzem ATP e, ao mesmo tempo, essas reações liberam dióxido de carbono (Tortora, 2001) justificando maior produção de CO_2 celular, pela fase anabólica mais acentuada no G1. O aumento da frequência respiratória no G1 mostrou claramente a necessidade de eliminar o excesso de CO_2 , fazendo com que este permanecesse apenas ligeiramente elevado neste grupo em relação ao G2. A manutenção da concentração de bicarbonato em níveis normais no G1 e mais elevados do que no G2, são indicativos que apesar da diminuição do pH ruminal, houve formação de HCO_3^- no sangue a partir do excesso de CO_2 , ou seja o CO_2 residual do mecanismos de compensação respiratória, desloca o equilíbrio ácido base favorecendo sua reação com a água, formando H_2CO_3 , que pela ação da anidrase carbônica, se dissocia em H^+ e HCO_3^- (DiBartola, 2000). Desta forma, no G1 há excreção de H^+ pelos rins, levando a acidúria, e manutenção dos níveis de HCO_3^- .

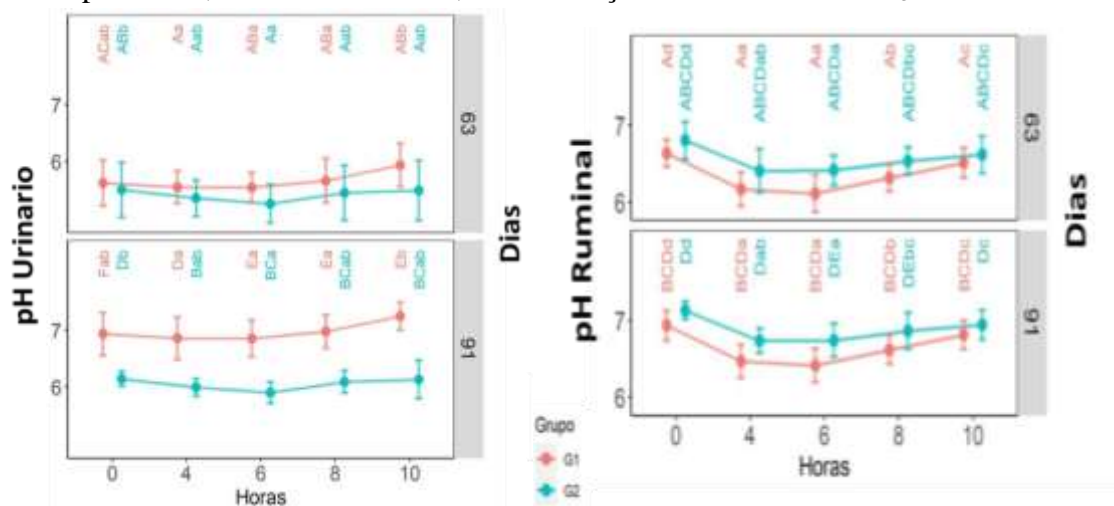


Figura 19. PH urinário e ruminal de novilhos da raça Holandês confinados submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

A avaliação do pH urinário em todos os momentos do dia em relação ao fornecimento da primeira refeição foi realizada apenas nos dias experimentais 63 e 91. Os dois grupos

apresentaram pH abaixo do fisiológico durante os dois dias de avaliação, porém os pH's urinários dos animais do G1 foram mais elevados do que os do G2 em todos os momentos do D91. Ao mesmo tempo, o pH de rúmen do G2 apresentou valores mais elevados em todos os momentos do D91 em relação ao D63, o que pode ser explicado pela diminuição da atividade ruminal, uma vez que houve diminuição do consumo de matéria seca neste período. Consequentemente ocorreu menor demanda sobre os mecanismos de compensação causando elevação do pH urinário e diminuição da frequência respiratória no D93.

Quando analisado o comportamento do pH urinário durante as 10 horas após a alimentação nos dias 63 e 91, pôde-se observar uma coincidência entre os momentos de menor pH de rúmen para cada grupo (G1= 4-6 horas e G2= 6 horas) com os de menor valor de pH urinário (G1= entre 4-8 horas e G2= 6 horas). Estes resultados mostram que há uma relação entre o metabolismo ruminal e o pH de urina e que estes efeitos ocorrem de forma relativamente rápida, especialmente nestes animais que já estavam há vários dias na mesma situação de alimentação e alojamento. Ortolani (2003) relatou que o pH urinário dos ruminantes tem valores mais baixos após a alimentação devido à menor taxa de filtração glomerular e, consequentemente, menor filtragem de HCO_3^- e maior excreção de H^+ neste período, variando de 5,5 a 8.

Os dados de hemogasometria publicados em casos de acidose tendem a seguir um padrão. Maruta et al. (2008) encontraram valores médios mais altos de pH sanguíneo, bicarbonato e BE e pH urinário em animais sadios ($7,37 \pm 0,05$; $25,3 \pm 2,8$ mmol L e $1,0 \pm 2,9$ mmol L e $7,21 \pm 0,79$, respectivamente) do que nos mesmos animais após serem induzidos e apresentarem sinais clínicos de acidose ruminal ($7,22 \pm 0,05$, $17,6 \pm 3,3$ mmol L, $-8,9 \pm 3,9$ mmol L e $5,49 \pm 0,64$ respectivamente). Angst et al., (2018), avaliando o perfil de hemogasometria de um bovino com quadro de acidose clínica, observaram pH sanguíneo de 7,253 e pCO_2 de 57,2. A maioria dos estudos relatam que em quadros de pH ruminal baixo, há diminuição do pH e aumento do pCO_2 sanguíneos.

No presente estudo, a análise dos dados mostraram que os animais do G1 apresentaram várias alterações sistêmicas importantes que se relacionam com o abaixamento do pH ruminal induzido pela dieta com maior densidade energética e rica em amido. Esta dieta, em média, não atingiu níveis de pH considerados como de acidose ruminal subclínica ($\text{pH} < 5,8$), porém vários animais individualmente atingiram estes valores. Também vale a pena destacar que, neste trabalho, quando as alterações em horas após a alimentação foram avaliadas, observou-se que o tempo gasto para retorno aos limites iniciais de alguns analitos estudados foi maior no G1, como por exemplo, frequência respiratória, pH ruminal e de urina. Além disso, a coleta de fluido ruminal foi realizada por sonda ororuminal, o que pode determinar valores de pH mais elevados, em média 0,3 pontos a mais do que através de ruminocentese (Duffield et al., 2004).

O pH sanguíneo se manteve dentro de limites fisiológicos e isso pode ser explicado pela ativação dos mecanismos de compensação. O aumento da frequência respiratória e a acidúria são importantes mecanismos de compensação de quadros de acidose metabólica, porém deveriam vir acompanhados de diminuição da concentração de HCO_3^- e da diminuição da pCO_2 , os quais não foram observados neste experimento. Esse quadro apresentado, segundo Bookallil (2009) pode ser classificado como “Distúrbio misto acidose alcalose”. Nesta situação o pH se apresenta em torno de 7,4, há aumento da pCO_2 , elevação do HCO_3^- e do excesso de base. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados neste trabalho. É interessante observar que houve participação também de outros mecanismos de controle do pH sanguíneo, como a albumina e hemoglobina, que se mantiveram em concentrações mais elevadas no G1.

5.5. Proteinograma

As proteínas de fase aguda são consideradas componentes da resposta imune inata de caráter inespecífico. Suas concentrações estão diretamente relacionadas à gravidade do dano tecidual e, dessa forma, a quantificação dessas proteínas pode fornecer informações diagnósticas e prognósticas em processos inflamatórios (Murata et al., 2004).

Durante todo o período experimental os valores de albumina permaneceram dentro dos valores de referência. De acordo com Meyer e Harvey (2004), a concentração dessa proteína varia entre as espécies, mas seu valor sérico ou plasmático pode variar entre 2,5g/dL a 4,5g/dL. Os valores de albumina foram semelhantes na primeira semana entre os dois grupos, entretanto nas coletas do D28, D35 e D63 os valores de albumina foram maiores no G1, voltando a se igualarem na coleta do D84. Ao longo do confinamento o grupo G1 manteve seus níveis de albumina, enquanto no G2 os valores ao longo dos dias de confinamento foram menores quando comparado ao D0.

Silva et al., (2008) encontraram maiores valores de albumina sérica em bovinos confinados quando compararam com bovinos terminados a pasto. Fagliari et al., (1998), encontraram em bovinos terminados a pasto com suplementação mineral, valores de albumina semelhantes aos encontrados em animais confinados. Os níveis mais elevados de albumina nos animais confinados, quando comparados aos animais criados a pasto, foram atribuídos por vários autores à influência do estado de nutrição (Jain, 1993; Cardoso, 1996; Contreras, 2000; Garcés et al., 2001, Silva et al., 2008). Payne e Payne (1987) relataram que as alterações dos valores de albumina devido à alimentação demoram cerca de um mês para detecção, o que é compatível com o presente trabalho, no qual a diferença entre as concentrações de albumina entre o G1 e G2 se iniciaram a partir de 28 dias de confinamento.

A análise das concentrações de albumina durante o período experimental mostra uma redução durante o confinamento em relação ao dia do seu início. Esta redução foi mais acentuada no G2, provavelmente pela menor ingestão de proteína por este grupo. A

albumina pode ser classificada como uma das proteínas de fase aguda (PFAs) e, assim como a transferrina, são PFAs negativas, ou seja, diminuem nas injúrias (Eckersall e Bell, 2010). Para Kaneko et al. (2008), em processos agudos, esta proteína se torna uma das PFAs que estão diminuídas na circulação devido ao seu alto aproveitamento pelos hepatócitos para síntese das PFAs positivas.

Sabe-se que este decréscimo pode se apresentar de forma mais rápida, em um período de 24 horas, ou de maneira gradual, em um período de dias, sendo mais evidenciada em doenças crônicas (Eckersall, 2008). Em casos de estresse, a concentração sérica desta proteína diminui, dando suporte a descrição de que a albumina é uma PFA negativa (Eckersall e Bell, 2010).

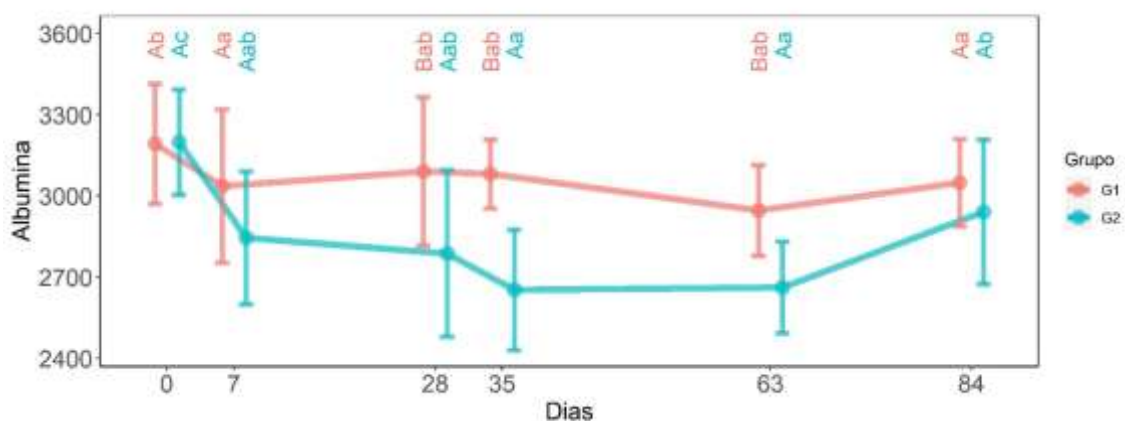


Figura 20. Perfil de albumina sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

No presente estudo os valores de transferrina diferiram entre os grupos apenas no D28 e D84, quando o G1 apresentou valores maiores em comparação com o G2. No entanto, no G1 os valores de transferrina após o dia 28, apresentaram aumento e permaneceram altos em comparação ao período de adaptação ao longo do confinamento, ao passo que os valores encontrados no G2 permaneceram constantes ao longo do experimento. Assim como a albumina, a transferrina também é considerada uma PFA negativa, pois em momentos de injúria encontra-se diminuída. Nestas ocasiões ela encontra-se ligada a íons de ferro para prevenção de possíveis danos teciduais (Gruys et al., 2005). Sabe-se que este decréscimo pode se apresentar de forma mais rápida, em um período de 24 horas, ou de maneira gradual, em um período de dias, sendo mais evidenciada em doenças crônicas (Eckersall, 2008).

Alguns autores relataram concentrações de transferrina que variam entre 74,73 e 409,31 mg/dL em bovinos em sistema de pastejo e que a elevação desses valores ao longo do

tempo no confinamento, assim como o da albumina, está associado à melhor qualidade da alimentação empregada nos confinamentos (Fagliari et al., 2007; Juliano et al., 2009; Benatti, 2013).

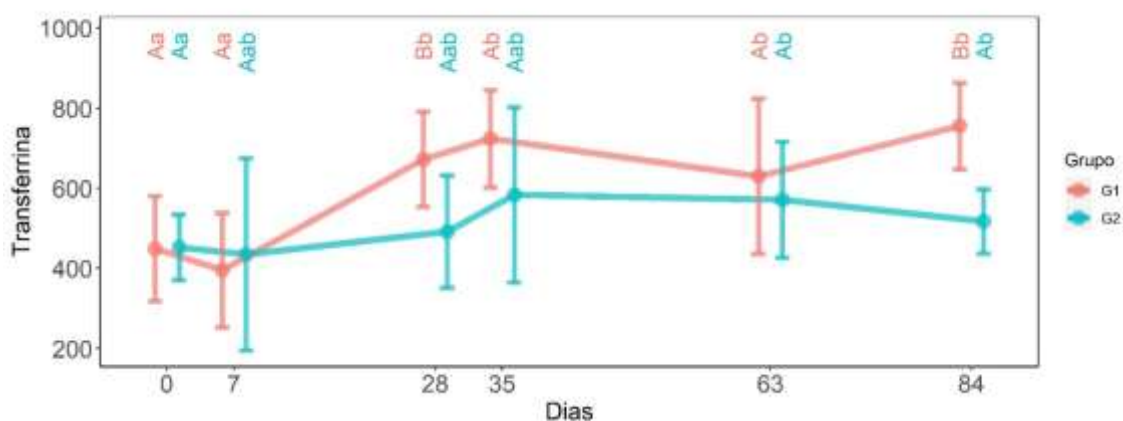


Figura 21. Perfil de Transferrina sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo.

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações da $\alpha 2$ -macroglobulina diferiram entre os grupos apenas no momento D63. A $\alpha 2$ -macroglobulina é uma proteína com função antiprotease, ou seja, durante um processo inflamatório agudo tem como papel neutralizar as atividades das enzimas proteolíticas produzidas pelo sistema imune, minimizando os danos aos tecidos normais. O aumento da concentração da $\alpha 2$ -macroglobulina tem sido descrito em síndrome nefrótica e lesão hepática crônica. Apesar disso, estas proteínas ainda não possuem fins diagnósticos esclarecidos (Eckersall, 2008).

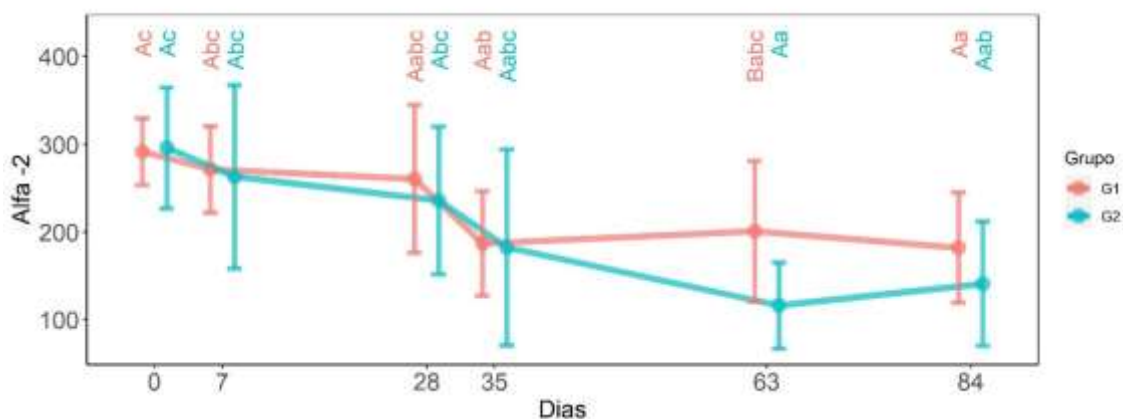


Figura 22. Perfil de $\alpha 2$ -macroglobulina sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias.

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações de Apolipoproteína A1 não diferiram, entre os grupos em nenhum momento durante o período de confinamento. No entanto o comportamento da curva foi semelhante, com diminuição nas suas concentrações no D7, sendo mais acentuada no G1, e a partir do D28, houve aumento nas concentrações em ambos os grupos.

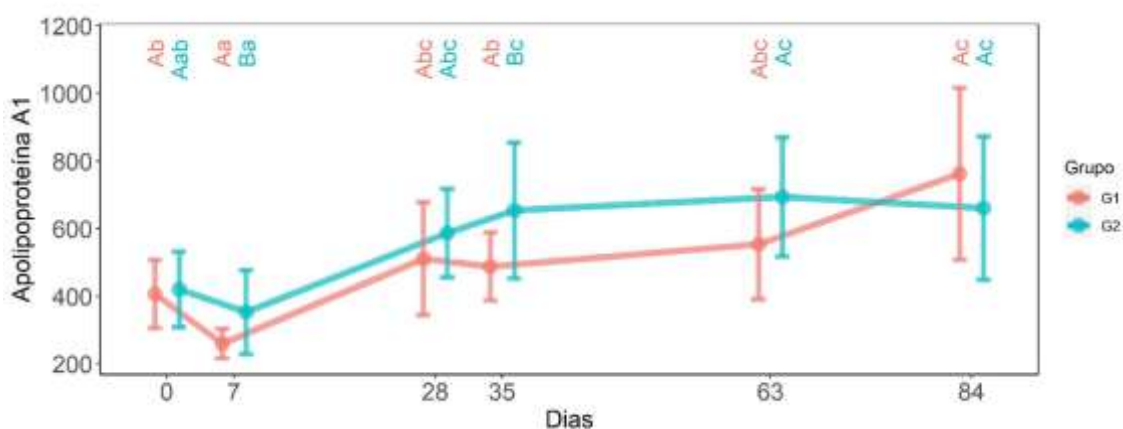


Figura 23. Perfil de Apolipoproteína A1 (mg/mL) sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações de Apolipoproteína A4 não diferiram entre os grupos ao longo do período de confinamento entre os grupos, exceto no D84, quando as concentrações no G1 foram maiores aos encontrados no G2. Dentro de cada grupo aparentemente as concentrações permanecerem constantes ao longo de todo período.

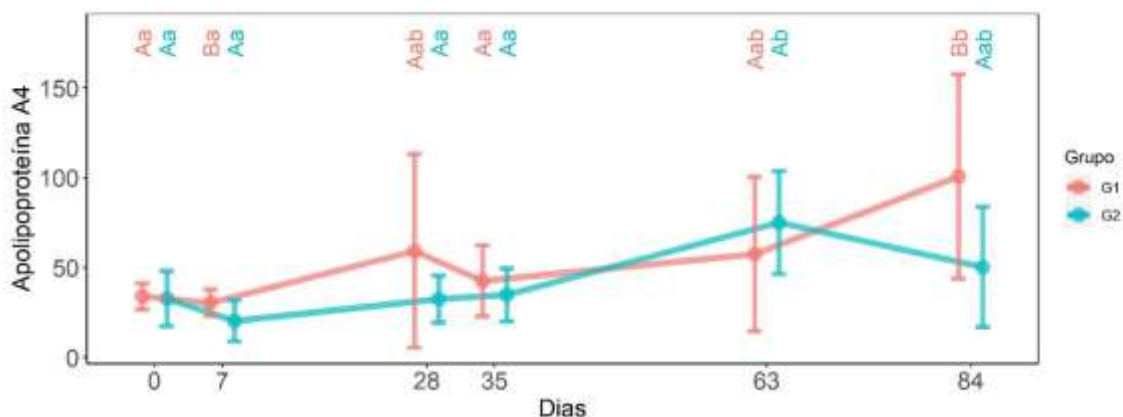


Figura 24. Perfil de Apolipoproteína A4 (mg/mL) sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações de α -glicoproteína ácida (α 1-GPA) não diferam em nenhum momento entre os grupos ao longo do experimento, nem tão pouco dentro de cada grupo. A α 1-GPA é considerada um marcador moderado para processos infecciosos em bovinos, porém não foram encontrados relatos vinculando a α 1-GPA ao estresse (Ceciliani et al., 2012). Diferentemente do presente estudo, Benatti (2013) observou um aumento das concentrações séricas de α 1-glicoproteína ácida (GPA) em bovinos no dia 103 de confinamento quando comparado ao dia zero, sem correlação com enfermidades.

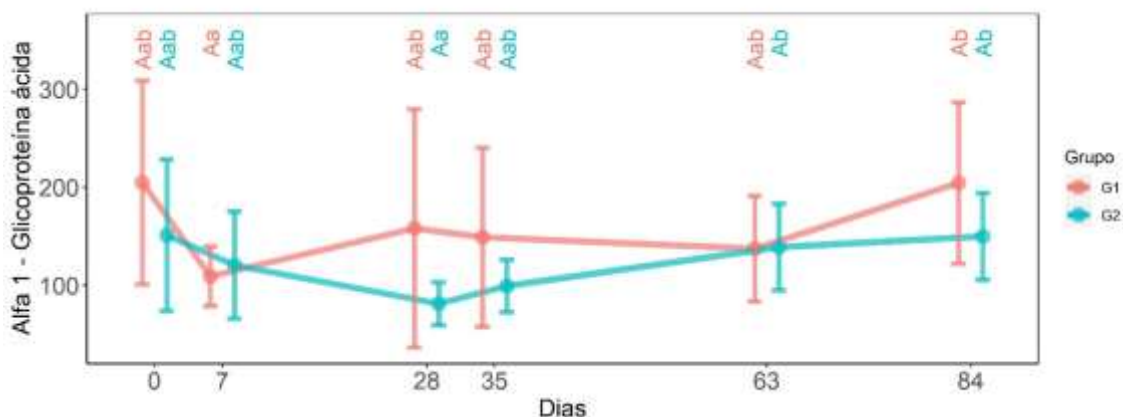


Figura 25. Perfil de α 1-Glicoproteína ácida (mg/mL) sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações de IgG apresentaram comportamento semelhante nos dois grupos. Houve incremento a partir do dia 28, se estendendo até o dia 84 no G1 e até o dia 63 no G2. A variação entre grupos dos valores de IgG foi notada apenas no D35, com valores maiores para o G2. Segundo Kaneko et al. (2008) IgG é a classe de imunoglobulina com maior concentração no soro, são responsáveis pela resposta humoral. Ela é sintetizada pelo sistema imunológico em resposta a estímulos antigênicos. Benatti (2013) ao contrário do que foi observado no atual estudo, observou diminuição da concentração de IgG ao longo do período de confinamento e atribuiu as concentrações mais altas no início ao manejo vacinal dos animais neste período e possível contribuição do estresse do transporte. No presente experimento, os novilhos adoeceram por volta do dia 14, 44 e 70 com babesiose e dois picos de anaplasnose. Estas doenças podem ter sido responsáveis pelo estímulo antigênico e produção de IgG's específicas.

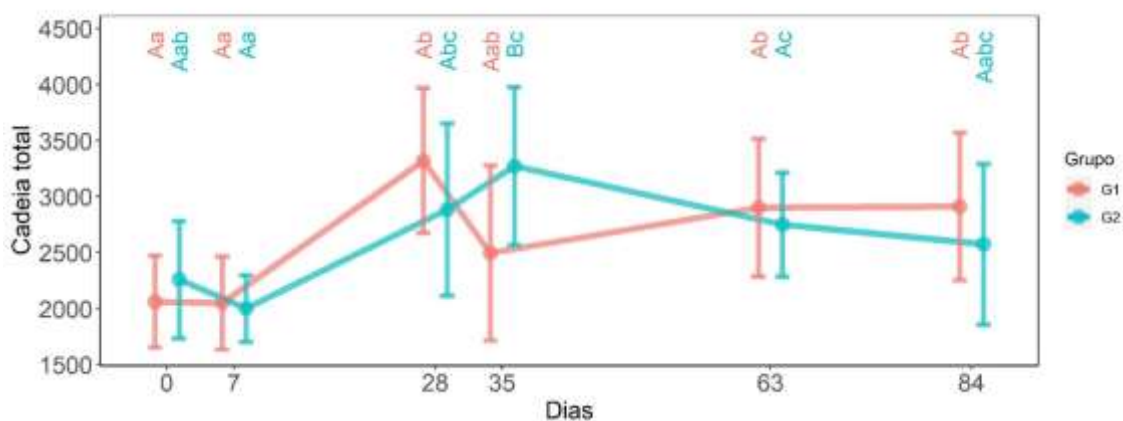


Figura 26. Perfil de cadeia total de IgG (mg/mL) sérica em novilhos submetidos a duas diferentes dietas: maior (G1) e menor (G2) concentração de amido ao longo de 84 dias. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo.

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações plasmáticas de Ceruloplasmina não diferiram entre os grupos ao longo do confinamento, também se mantiveram constantes dentro de cada grupo. Benatti (2013) também não observou diferença entre os valores de ceruplasmina no início e no final do confinamento. A ceruloplasmina é considerada como um fraco marcador de estresse em bovinos (Petersen et al., 2004). Sabe-se que essa PFA possui meia-vida em bovinos em torno de quatro dias e que está intimamente relacionada ao metabolismo do cobre (Ceciliani et al., 2012) e ao metabolismo do ferro, além de atuar como anti-oxidante (Eckersall e Conner, 1988).

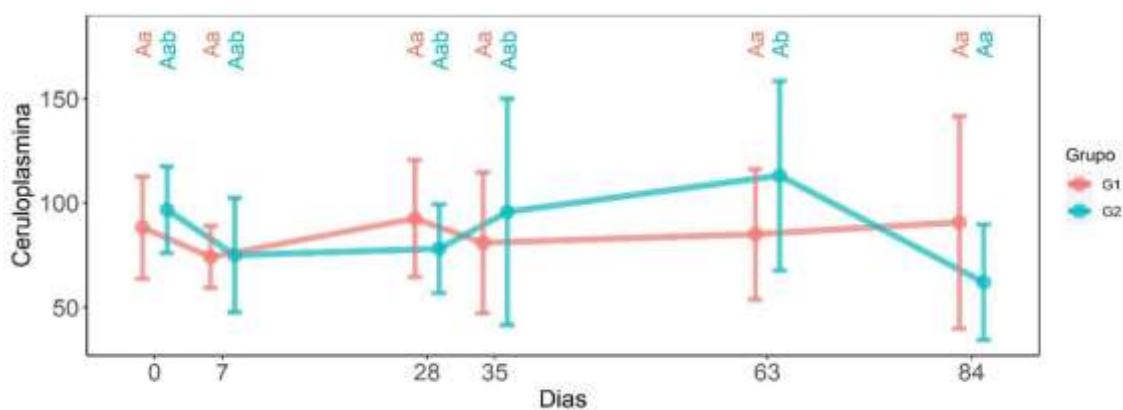


Figura 27. Perfil dos valores séricos médios de Ceruloplasmina (mg/mL) em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias.

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo.

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações de Haptoglobulina não apresentaram variações entre os grupos ao longo dos dias de confinamento e se mantiveram estáveis ao longo de todo período experimental em ambos os grupos. Benatti (2013) observou acréscimo na concentração de Haptoglobulina no dia 103 de confinamento. Outros estudos também demonstraram elevação da Haptoglobulina e da Amilóide sérica A em animais com acidose ruminal subaguda, indicando a presença de inflamação (Gozho et al., 2005; Gozho et al., 2006). No presente estudo, não se observou este resultado, entretanto pode-se observar que há desvio padrão elevado nos valores de haptoglobulina nos animais do G1, indicando grande variação da resposta entre indivíduos (Figura 25).

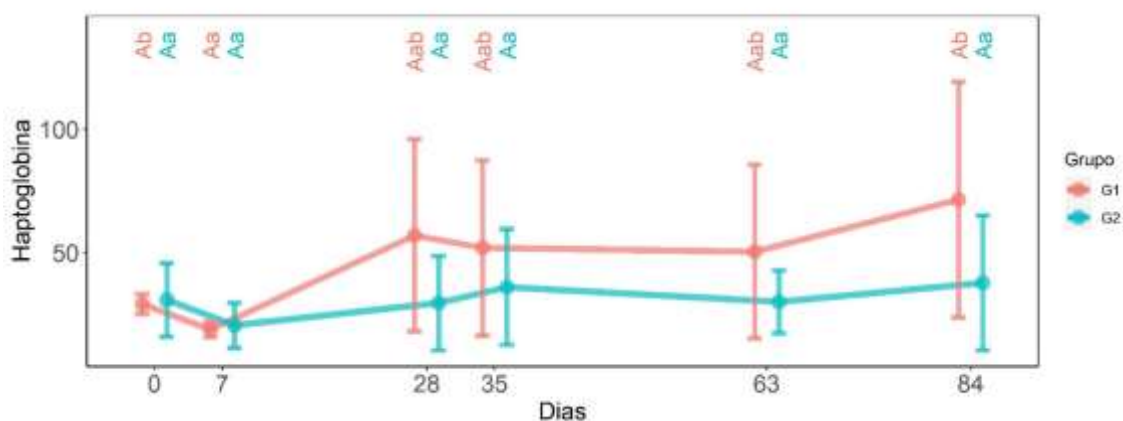


Figura 28. Perfil de Haptoglobulina (mg/mL) sérica em novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 84 dias

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

O comportamento das PFAs encontradas nesse estudo foi variável, dificultando correlação direta com possíveis inflamações. Vale a pena ressaltar que os animais ficaram confinados por tempo prolongado, o que pode ter influenciado esse o comportamento. Entretanto, é possível evidenciar algumas alterações importantes neste perfil de proteínas com o passar do tempo nos dois grupos. Ocorreu diminuição da albumina durante o tempo de confinamento, caracterizando seu comportamento como o de uma proteína de fase aguda negativa (Petersen et al., 2004). A transferrina também é considerada uma PFA negativa, porém neste trabalho, seus níveis aumentaram a partir do dia 28 e especialmente no G1. Como discutido anteriormente, este aumento pode ser resultado da maior demanda de eritropoiese desse grupo devido à necessidade de controlar a alta produção endógena de CO₂. A partir dos dias 28 e 35, pode-se observar o incremento das concentrações séricas de algumas PFAs como apolipoproteína A1 e A4, IgG de cadeia

leve e pesada. Esse comportamento indica a ocorrência de resposta inflamatória nestes animais nos momentos de maior atividade ruminal, ou seja, durante o período após a fase de adaptação da dieta e com alto consumo. A haptoglobina é considerada como um dos principais indicadores de inflamação em bovinos, entretanto neste trabalho, não se verificou seu aumento. Como discutido acima, parece ter ocorrido grande variação na resposta da haptoglobina entre os animais, uma vez que o desvio padrão do G1 foi alto. Segundo Ceciliani et al. (2012), nos bovinos as principais PFAs são a haptoglobina (Hp), a amiloide sérica A (SAA), cujos aumentos são considerados como fortes; a ceruloplasmina, o fibrinogênio e a $\alpha 1$ glicoproteína ácida ($\alpha 1$ -GPA), com moderados aumentos; a fetuína e a proteína C-reativa (PCR) com fracas elevações. A albumina e a transferrina são consideradas proteínas de fase aguda negativas, pois diminuem suas concentrações durante a resposta de fase aguda (Petersen et al., 2004). Apesar da indicação do uso das principais proteínas em bovinos, a ausência de estudos com a espécie, principalmente em regime de confinamento, dificulta a interpretação e comparações das concentrações e principalmente comparação com valores de referência para a espécie bovina.

5.6. Avaliação do perfil mineral

O consumo diário de minerais pelos animais dos dois grupos foi diferente devido a diferenças entre a proporção de concentrado e volumoso das dietas. A suplementação mineral foi a mesma para os dois grupos. Além disso, pôde-se observar variação no consumo de matéria seca entre os períodos de confinamento, porém isso refletiu pouco na quantidade absoluta de minerais ingeridos em cada período (Tabela 14). Os valores de referência diferenciam de acordo com o peso corporal do animal, assim como o estado metabólico.

Tabela 14. Composição nas dietas e consumo em matéria seca (Kg) de minerais por períodos (I, II e III) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 112 dias

Mineral	Composição (MS)		Consumo					
			Período I (D19-35)		Período II (D46-67)		Período III (D76-97)	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2
Cálcio	0,25%	0,61%	0,023	0,039	0,024	0,040	0,022	0,037
Fósforo	0,28%	0,50%	0,025	0,032	0,026	0,033	0,024	0,031
Magnésio	0,07%	0,11%	0,006	0,007	0,007	0,007	0,006	0,007
Potássio	0,49%	0,96%	0,044	0,061	0,046	0,063	0,043	0,059
Sódio	0,29%	0,67%	0,026	0,043	0,027	0,044	0,025	0,041
Enxofre	0,09%	0,14%	0,008	0,009	0,008	0,009	0,008	0,009
Cloreto	0,75%	1,19%	0,068	0,076	0,071	0,078	0,065	0,073
Zinco	56,6 (ppm)	106 (ppm)	513,5	677,9	534,19	691,1	492,3	649,9
Manganês	26,5 (ppm)	66,5 (ppm)	240,4	425,3	250,1	433,6	230,50	407,7
Cobre	12,5 (ppm)	30,6 (ppm)	113,4	195,7	117,9	199,5	108,7	187,6
Ferro	270 (ppm)	1979 (ppm)	2449,4	12657,7	2548,3	12902,9	2348,5	12133,5
Alumínio	329 (ppm)	2988 (ppm)	2984,7	19111,3	3105,1	19481,5	2861,7	18319,7
Boro	5,99 (ppm)	11,7 (ppm)	54,3	74,8	56,5	76,3	52,1	71,7

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Tabela 15. Exigências de bovinos com ganhos médios diários de 1,5kg/dia e consumo de macrominerais (g) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, com ganho de peso médio diário de 1,79kg/dia dividido por períodos (I -19-35 dias, II – 46 -67 dias, III – 76-97 dias), ao longo de 112 dias

	Exigências(g)* (300 Kg)	Consumo (g) período I (280 Kg)	Exigência (g)* (350 Kg)	Consumo (g) período II (360kg)	Exigência(g)* (400 Kg)	Consumo (g) período III (399 Kg)
Ca	34,83	23	34,43	24	34,29	22
P	19,59	25	20,05	26	20,61	24
Mg	6,14	6	6,93	7	7,72	6
Na	10,71	26	11,51	27	12,31	25
K	20,62	44	23,36	46	26,07	43

*(Valadares Filho et al., 2016)

Tabela 16. Exigências de bovinos com ganhos médios diários de 1,0kg/dia e consumo de macrominerais (g) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, com ganho de peso médio diário de 0,89kg/dia dividido por períodos (I -19-35 dias, II – 46 -67 dias, III – 76-97 dias) ao longo de 112 dias.

	Exigências(g)* (250 Kg)	Consumo(g) período I (260 Kg)	Exigência(g) * (300 Kg)	Consumo (g) período II (309kg)	Exigência(g)* (300 Kg)	Consumo (g) período III (321 Kg)
Ca	25,31	39	25,16	40	25,16	37
P	14,43	32	14,99	33	14,99	31
Mg	4,96	7	5,75	7	5,75	7
Na	8,01	43	8,81	44	8,81	41
K	15,91	61	18,58	63	18,58	59

*(Valadares Filho et al., 2016)

A análise do consumo de macrominerais pelos dois grupos mostra que a ingestão foi maior no grupo 2, possivelmente devido à maior quantidade de silagem consumida, em relação ao G1. Para quase todos os macrominerais o consumo foi maior do que os requisitos, exceto para o cálcio no G1, que teve um consumo cerca de 30% abaixo dos requisitos.

Apesar de não se observar valores de sódio (Na^+) fora dos valores de referência, entre 132 e 152 mmol/L (Carlson, 1997; Rasdostits et al., 2007; Kaneko et al., 2008), houve diferença nas concentrações de sódio entre os grupos em diferentes momentos. As concentrações encontradas para o sódio (Na^+), diminuíram em ambos os grupos do dia 35 ao dia 91, sendo diferentes dentro de cada grupo. Foram encontradas, no dia 35, concentrações de $141,2 \pm 2,0$ e $140,4 \pm 1,2$ mmol/L para os grupos G1 e G2, respectivamente, sem diferença entre os grupos. Já no dia 91 as concentrações encontradas foram $139,3 \pm 1,0$ e $138,5 \pm 1,1$ para os grupos G1 e G2 respectivamente, sendo maior no G1, apesar do consumo de sódio ter sido maior no G2 por todo período.

A manutenção da concentração do Na^+ corporal é controlada unicamente pela ingestão e excreção (Dibartola, 2000; Cunningham, 2004). Sua absorção ocorre no intestino delgado em um processo passivo e está ligada ao movimento de solutos ativamente absorvidos ou secretados. Esta absorção ocorre em maior abundância com a presença de glicose e aminoácidos, pois estes são co-transportadores desse íon para o interior dos enterócitos nas micovilosidades (Desjeux et al., 1977; Smith, 2009). Em média, 37,5% e 38,6% do Na consumido é eliminado via fezes e urina, respectivamente (Valadares Filho et al., 2016), sendo um importante mecanismo de controle da utilização do sódio no organismo. Além disso, a utilização de bicarbonato de sódio na dieta pode potencializar as excreções via urinária. Desta forma, é provável que tenha ocorrido alta excreção de sódio fecal e urinário, uma vez que as dietas dos dois grupos forneceram este mineral em grande quantidade, ultrapassando 2,5 a 5 vezes os requisitos.

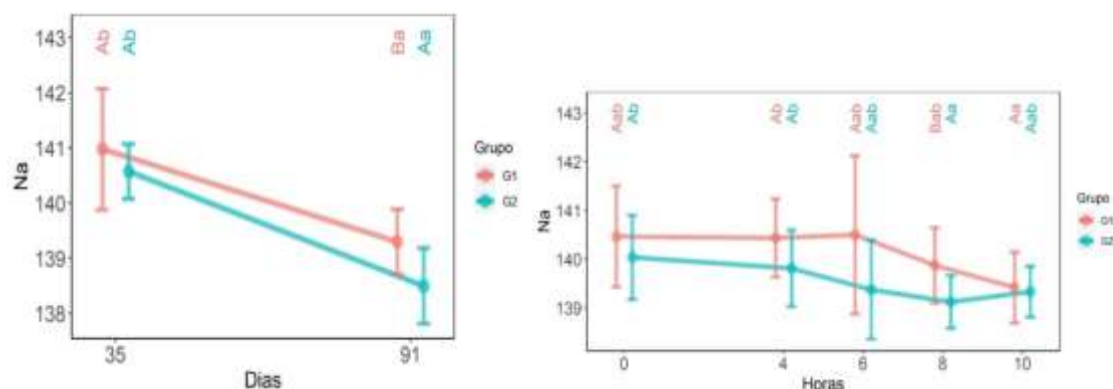


Figura 29. Perfil da concentração média de sódio (Na^+)(mmol/L) do sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações encontradas para potássio (K^+) no dia 35 foi $3,7 \pm 0,3$ e $3,8 \pm 0,4$ mmol/L para os grupos G1 e G2, respectivamente. No dia 91 as concentrações foram $3,81 \pm 0,2$ e $3,71 \pm 0,3$ para os grupos G1 e G2, respectivamente. Em nenhum momento dos exames houve diferença nas concentrações de potássio entre os grupos ou entre os momentos dentro de cada dia. As concentrações encontradas estavam próximas dos limites inferiores dos níveis fisiológicos para bovinos (3,9 a 5,8 mmol/L) (Carlson, 1997; Rasdostits et al., 2007; Kaneko et al., 2008), apesar do consumo desse mineral ter sido elevado, cerca de duas vezes o requisito no G1 e de até três vezes no G2. Uma vez que as dietas oferecidas eram ricas em potássio de forma crônica, o organismo necessitou lançar mão de mecanismos de homeostase, através da ação da aldosterona e também da insulina. A aldosterona favorece aumento da excreção urinária de potássio como resultado de elevada secreção tubular no túbulo conector, ducto coletor cortical, e ducto coletor medular externo. A insulina por sua vez favorece o influxo de potássio intracelular no fígado e nos músculos (Di Bartolla, 2012). Como as dietas oferecidas eram ricas em carboidratos, os níveis de insulina se mantiveram altos durante todo o experimento (Tabela 9), garantindo sua ação, favorecendo o influxo intracelular do potássio, assim como os ganhos de peso apresentados.

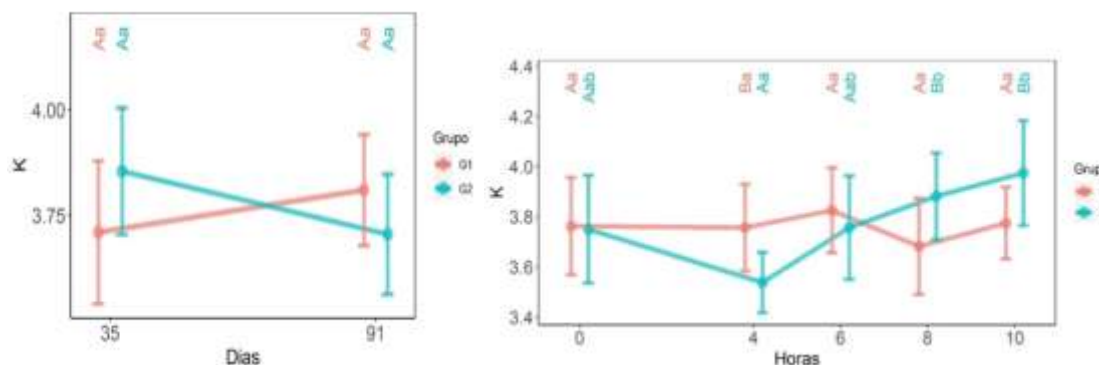


Figura 30. Perfil da concentração média de potássio (K^+) (mmol/L) do sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Tabela 17. Perfil da concentração média de sódio (Na^+) e de potássio (K^+) de sangue venoso de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas aos 35 e 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

	D35		D91	
	G1	G2	G1	G2
Na^+ (mmol/L)	$141,2 \pm 2,0$ ^{Ab}	$140,0 \pm 1,2$ ^{Ab}	$139,3 \pm 0,99$ ^{Ba}	$138,5 \pm 1,06$ ^{Aa}
K^+ (mmol/L)	$3,70 \pm 0,27$ ^{Aa}	$3,80 \pm 0,39$ ^{Aa}	$3,81 \pm 0,2$ ^{Aa}	$3,71 \pm 0,31$ ^{Aa}

Na- sódio; K- potássio.

Letra maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos, letras minúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre tempos dentro de um mesmo grupo.

As concentrações de cálcio foram semelhantes entre os grupos até o D28. Após o período de adaptação da dieta os valores médios de cálcio foram superiores no grupo G1 (Figura 31). No entanto os níveis de ambos os grupos são superiores aos indicados como fisiológicos para a espécie bovina (9,7 a 12,4 mg/dL) (Radostits et al., 2007; Carlson e Bruss, 2008). A dieta do G1 forneceu menos cálcio do que o determinado pelos requerimentos, enquanto a do G2 forneceu cálcio em excesso. A manutenção da calcemia normal é uma condição vital e, para tanto, o controle é efetuado através dos hormônios calcitonina e paratormônio (PTH). Assim, possivelmente no G1 ocorreu ativação do PTH, levando à reabsorção de cálcio ósseo, visando a manutenção da calcemia e da proporção cálcio/fósforo. Como o fósforo das dietas estava alto, as concentrações séricas também se mostraram elevadas, determinando a manutenção de níveis elevados de

calcemia, determinados provavelmente, pelo cálcio da dieta no G2 e pela reabsorção óssea no G1.

Avaliando as médias das concentrações de cálcio ao longo do dia, observou-se que há diferença entre os grupos no T6 e T8 após o fornecimento de alimento. Estes momentos foram também os momentos de maior concentração plasmática de cálcio ao longo do dia em ambos os grupos, sendo o T8 o pico nos dois grupos. Esses momentos são coincidentes com os de maior atividade ruminal, caracterizada pelos menores valores de pH ruminal e maior atividade da redução do azul Kg PC (NRC, 1984) a 43,5 mg/Kg PC (Ezequiel, 1987). Os animais do G2 consumiram níveis superiores aos recomendados pela literatura (NRC, 2001, Valadares Filho et al., 2016), já os animais do G1 ingeriram quantidades menores ao indicados por Valadares Filho (2016), para ganhos de peso em animais cruzados. No entanto, as concentrações séricas foram maiores no G1. Segundo Field (1983) a absorção de Ca é regulada a nível intestinal, sendo a excreção pela urina deste mineral pequena, enquanto as perdas endógenas fecais são constantes.

Apesar dos altos níveis ingeridos de Ca no G2, superiores aos recomendados, estes não atingiram quantidades tóxicas, que segundo o NRC (2000) seriam a partir de 44g/kg de MS. As dietas utilizadas no G1 continham 2,5g/ Kg de MS e no G2 6,1g/Kg de matéria seca, ou seja, abaixo dos níveis considerados tóxicos.

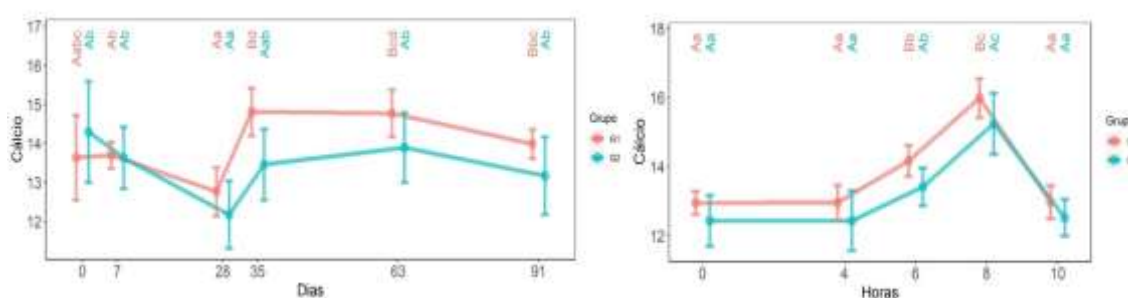


Figura 31. Perfil de cálcio sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

De acordo com as Tabelas 15 e 16, a ingestão de fósforo pelos animais dos dois grupos foi superior aos requerimentos (Valadares Filho et al., 2016), em torno de 25% no G1 e de 100% no G2. As concentrações médias de fósforo no D0 foram maiores no G1 em comparação com o G2. No D7 até o D35 as concentrações foram iguais em ambos os grupos e no D63 e D91 as concentrações de fósforo no G2 foram maiores quando comparadas ao G1. Quando avaliadas ao longo do dia as concentrações do G2 foram superiores as do G1 nos momentos T0 e T4, evidenciando a maior ingestão de fósforo

neste grupo. A partir do T6 as concentrações foram iguais em ambos os grupos. Os níveis sanguíneos de fósforo observados são elevados para a espécie e estão relacionados ao alto consumo desse mineral.

Os valores de fósforo sanguíneo são influenciados pela quantidade que se recicla via saliva e a sua absorção no rúmen e intestino (González, 2000) e podem estar maior em alguns momentos no G2 pelo fato dos animais passarem mais tempo comendo e ruminando.

Segundo o ARC (1980), o fósforo dietético que excede as exigências do animal não é absorvido ou, se for, é excretado na urina. Dados publicados por Valadares Filho et al. (2016) sugerem que o nível de exigência para manutenção de fósforo seja de 13,5 mg/Kg de peso corporal.

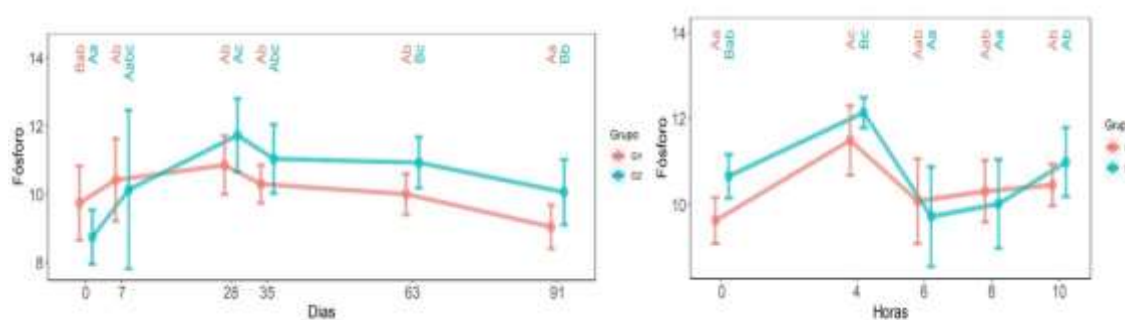


Figura 32. Perfil de fósforo sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia.

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações médias de magnésio teve comportamento semelhante às de cálcio, no entanto, no D7, D63 e D91 ocorreu diferença entre os grupos, sendo os valores do G1 maiores que os do G2, nestes momentos.

Em ambos os grupos os níveis de magnésio também estavam acima dos valores considerados fisiológicos para espécie bovina (1,8 a 2,3 mg/dL) (Radostits et al., 2007; Carlson e Bruss, 2008) (Figura 32). Ao longo do dia houve diferença no T0, T6, T8 e T10 e as concentrações do G1 foram maiores que o do G2. O pico também ocorreu no T8 no G1, já no G2 suas concentrações ao longo do dia aparentemente se manteve estável.

Segundo González (2000), não há controle homeostático para o magnésio, logo, suas concentrações sanguíneas refletem diretamente o nível da dieta. A absorção de magnésio ocorre por transporte ativo no intestino e sofre interferência da relação Na:K, quantidade de energia e Ca e P presentes no alimento. De acordo com Valadares Filho et al. (2016) 49,5% do magnésio consumido é excretado nas fezes e 24% via urina. Gonzáles (2000)

relatou que o excesso de potássio na dieta inibe a absorção intestinal de magnésio, podendo ser o motivo pelo qual os níveis de magnésio fossem menores no G2, que apresentaram níveis de ingestão maiores de potássio em comparação com o G1 (Tabela 13).

A ingestão de magnésio em ambos os grupos foi semelhante. No entanto, no G1 o consumo de magnésio em alguns momentos não supriu o requerimento dos animais deste grupo. Já no G2 a quantidade ingerida foi superior ao exigido para o desempenho apresentado pelos animais, sugerindo maior excreção deste mineral pelo G2 via fezes e urina. Na Figura 33, pode-se observar maiores níveis de magnésio no G1 após a alimentação, demonstrando maior absorção deste mineral pela alimentação.

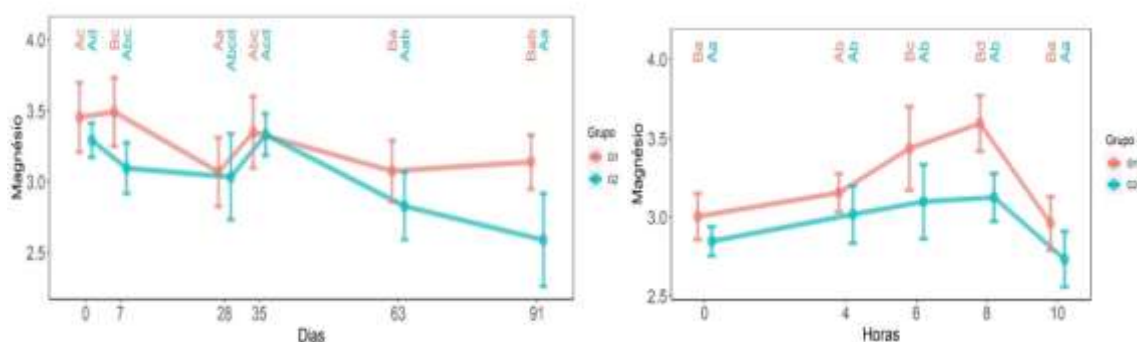


Figura 33. Perfil de magnésio sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações séricas de ferro foram semelhantes entre os dois grupos até o D7, a partir do D28 as concentrações de ferro do G1 foram maiores quando comparados ao G2 até o fim do experimento. Ao longo do dia os valores médios de ferro sérico do G1 sempre foi maior em comparação ao G2, sem variação dos valores ao longo de dez horas após a primeira alimentação do dia em ambos os grupos (Figura 34).

O principal mecanismo de controle do metabolismo do ferro está relacionado à síntese de hemoglobina (McDowell, 1992; McDonald et al., 1993). Esta é regulada pelo hormônio eritropoetina produzido nos rins, em função da concentração sanguínea de oxigênio (Larvor, 1983). Este fato pode justificar as maiores concentrações de Fe sanguíneo no G1 em comparação com o G2. Os valores de hemoglobina e hematócrito superiores no G1 (Figura 16) sugerem maior atividade eritropoética, conseqüentemente maior concentração de eritropoetina e maior absorção de Fe neste grupo, mesmo tendo concentração deste mineral inferior na dieta quando comparado ao G2.

Os níveis de Fe na dieta, principalmente do G2, foram superiores aos níveis de recomendações (Tabela 14), chegando a níveis tóxicos de 1000 ppm/Kg (McDowell, v1992). Tais níveis podem levar a sinais clínicos como redução no consumo alimentar, diarreia, hipotermia e acidose metabólica (Ishler et al., 1997). No entanto, segundo McDonald et al. (1993), a intoxicação por excesso de Fe aconteceria apenas por exposições crônicas, determinando transtornos alimentares e crescimento retardado. Ainda de acordo com estes autores, a intoxicação aguda está associada à aplicação parenteral de suplementos de Fe.

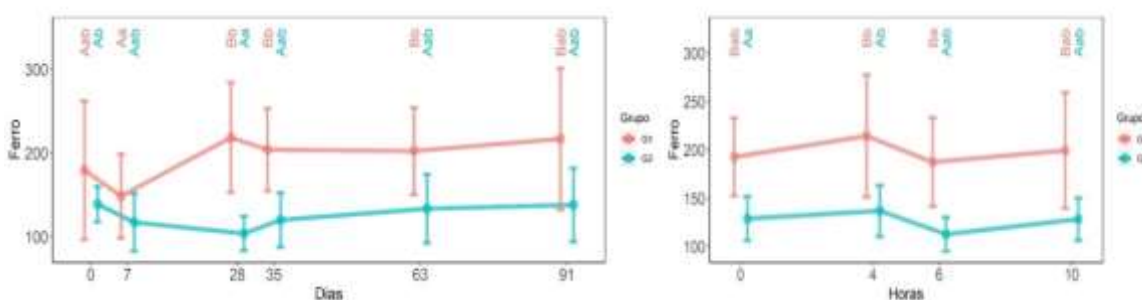


Figura 34. Perfil de ferro sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

As concentrações médias de cloreto não diferiram entre os grupos, exceto no D63 em que os valores do G2 foram maiores que os do G1 (Figura 35). Pode-se observar que no D63 o G2 apresentou menor valor médio de pH ruminal (Figura 6). Ao longo do dia as curvas dos dois grupos foram semelhantes, com valores mínimos no T0 e pico no T4, demonstrando absorção deste componente após fornecimento da dieta (Figura 35). No momento T8 o valor médio de cloreto foi maior no G1 em relação ao G2. Os dados encontrados podem ser explicados pelo princípio da eletroneutralidade, a elevação do Cl^- provoca redução da concentração de HCO_3^- (Constable 1999, Constable 2003).

Acompanhante do sódio, o cloreto é o ânion mais abundante no LEC, presente também em baixas concentrações no LIC. Está presente nos alimentos, comumente associado com o sódio ou potássio. A absorção, distribuição e excreção do Cl^- ocorre de forma passiva, sendo distribuído de acordo com os gradientes elétricos originados pelo transporte ativo do Na^+ (Carlson, 1997; Dibartola, 2000; Cunningham, 2004). As alterações da cloremia normalmente estão associadas às alterações da natremia e do balanço hídrico. Em ruminantes, encontra-se a absorção conjunta de Na^+ e Cl^- no rúmen, além do sistema de cotransporte HCO_3^- e Cl^- (Larvor, 1983). Quando há excreção, estes dois minerais são

excretados principalmente na urina e, em pequenas quantidades, nas fezes (Valadares Filho et al., 2016).

Observando o comportamento da curva de Na^+ (Figura 26), o perfil é semelhante ao observado na curva de cloreto (Figura 35), apesar do Na^+ ter sido mensurado apenas no D35 e D91, pode-se observar decréscimo das concentrações de ambos os minerais, quando analisados estes pontos. A semelhança entre as curvas é explicada pelo fato de que tanto a ingestão quanto a excreção do cloreto é inseparável das do sódio. O hormônio antidiurético (ADH) intensifica a excreção de cloreto e reduz a sua absorção pelos túbulos renais. Existe uma estreita relação entre os íons sódio e cloreto. A concentração de cloreto está mais sujeita a maiores variações do que o sódio, pois outros ânions especialmente bicarbonato podem ser trocados pelo cloreto (Cunningham, 2004). Ao analisar os valores de bicarbonato dos dois grupos (Figura 14), pode-se observar que as concentrações de bicarbonato são maiores no G1 e menores no G2, e ao avaliar os valores de cloreto (Figura 35) as concentrações tendem a serem maiores no G2 em relação ao G1, ocasionando, pelo princípio da eletroneutralidade, queda nos valores de cloreto no G1, mais acentuada no D63.

A hiperclorémia é normalmente observada em animais com acidose metabólica, sendo a alta concentração deste íon associada ao aumento da reabsorção renal do cloreto, em resposta à baixa relação entre cloreto e bicarbonato, devido à redução do bicarbonato plasmático. A concentração sérica do cloreto tende a variar inversamente à concentração de bicarbonato (Dibartola, 2000; Rose e Post, 2001; Cunningham, 2004). As alterações na clorémia, quando não associadas à natremia e à hidratação, estão associadas a algum distúrbio ácido base (Rose e Post, 2001; Rossell e Roussel, 2007). Assim, no presente trabalho pode-se verificar que ocorreu diminuição da clorémia entre os dias 28 e 91, em ambos os grupos, ao mesmo tempo em que foi observada elevação da concentração do bicarbonato (mensurado apenas nos dias 35 e 91), o que evidencia que os animais, em ambos os grupos, utilizaram mecanismos de compensação do equilíbrio ácido base.

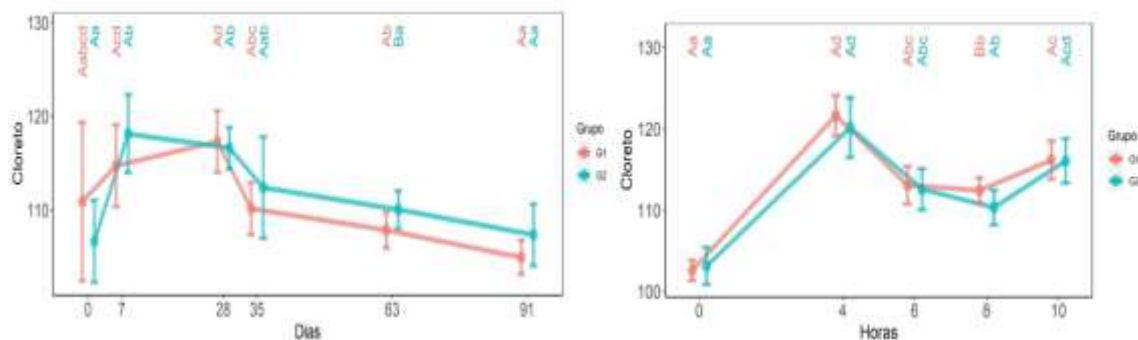


Figura 35. Perfil de cloreto sérico (mg/dL) de novilhos da raça Holandês confinados, submetidos a duas dietas com diferentes densidades energéticas, ao longo de 91 dias de confinamento e ao longo de 10 horas a partir da primeira alimentação do dia

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos e letras minúsculas distintas indicam diferença entre tempos em um mesmo grupo

G1- dieta contendo 36,96% de amido / G2- dieta contendo 16,81% de amido

Através das análises de cátions e ânions sanguíneos há uma semelhança no perfil de ambos os grupos, evidência da homeostase destes elementos, independente das concentrações de cada mineral nas distintas dietas. Portanto, as mudanças são mais correlacionadas ao teor de amido que pela concentração de minerais.

A maior ingestão de minerais pelo grupo G2 e diminuição dos mesmos nos níveis plasmáticos, principalmente dos cátions, pode ser justificado por maior eliminação destes minerais na urina, que de acordo com Costa e Silva et al. (2015) as perdas de minerais na urina podem chegar a 35% da quantidade do mineral consumido. A regulação da absorção intestinal e eliminação nas fezes, por mecanismos homeostáticos específicos de cada mineral, também podem estar relacionadas a este achado (Valadares Filho, 2016)

A troca catiônica realizada pelas células é um recurso do organismo que pode auxiliar o tamponamento dos meios intra e extracelular. Este processo é realizado pela membrana celular, constituindo-se no movimento de íons H^+ através da membrana na troca por K^+ e Na^+ (Rose e Post, 2001), também utilizado para regular os níveis plasmáticos de íons no organismo.

Os maiores níveis plasmáticos, principalmente de cátions, no G1 pode ser explicado pela maior exigência mineral destes animais, conseqüentemente apresentando maior absorção dos mesmos, muitas vezes facilitados pela acidez da ingesta, quantidade proteica e digestibilidade da dieta (Field, 1983; Cheeke, 2005; Sathler, 2015). Além de utilizar a troca de íons para regulação do pH sanguíneo (Rose e Post, 2001). Assim, demonstrando o desencadeamento de mecanismos hormonais e hidroeletrolíticos para uma compensação dos distúrbios metabólicos causados por distúrbios digestivos, mesmo subclínicos.

Os dados encontrados no presente experimento estão de acordo com o esperado para a influência do pH sanguíneo no metabolismo. Quando o pH sanguíneo é menor as

concentrações de Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} estão diminuídos e Cl^- e fosfatos aumentados e o contrário para pH sanguíneo elevado é verdadeiro (Constable, 2000 e Russell e Roussel, 2007). Isto evidencia a influência do metabolismo mineral para manutenção do equilíbrio ácido base.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos dados encontrados no presente estudo, ressalta-se a importância de análises conjuntas de sinais clínicos e alterações metabólicas para diagnosticar as alterações desencadeadas por dietas contendo altas concentrações de amido.

As dietas com níveis elevados de amido podem levar a distúrbios metabólicos e ao desenvolvimento de mecanismos de compensação ácido base, com conseqüente aumento da frequência respiratória, o que pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de doenças respiratórias, principalmente em animais em confinamento de engorda. No presente estudo pode-se observar taquipneia considerável, que pode diminuir as defesas do sistema respiratório superior, como diminuição do turbilhonamento, filtração, aquecimento e umidificação do ar, predispondo a desenvolvimento de patologias do sistema respiratório.

Os quadros de hipercapnia com ausência de acidose metabólica nos animais do G1 podem estar relacionados à incapacidade de eliminação da grande quantidade de CO_2 , oriundo da altas taxas de fermentação e metabolismo anabólico, mesmo com o aumento da frequência respiratória. No entanto, estes animais desenvolveram ao longo do confinamento outros mecanismos para compensar e restabelecer o equilíbrio ácido base. Apesar de atingirem o equilíbrio ácido base, os animais do G1 encontraram-se em um distúrbio metabólico compensatório mais grave que o G2, demonstrado pelos dados de hemogasometria, perfil mineral e energético.

A ausência de sinais clínicos patológicos pode estar relacionada a um período de adaptação longo de 28 dias e período de desafio relativamente curto de 91 dias. Assim sendo, os animais foram adquirindo mecanismos para compensar os efeitos dos distúrbios ruminais, mesmo que brandos. Mesmo o atual trabalho não induzindo a acidose subaguda clássica, pode-se notar os efeitos metabólicos de dietas com altos teores de amido.

Mesmo com o maior desempenho zootécnico dos animais submetidos a dietas de maiores teores de amido, não deve se negligenciar as alterações metabólicas, que são potencialmente lesivas aos bovinos. Quando se trata de bovinos de corte em confinamento os prejuízos podem não ser evidenciados, apesar de presentes, pelo curto período em que são desafiados com dietas altamente energéticas. No entanto, os achados presentes neste atual estudo servem de alerta para os riscos sanitários, que por ventura podem acometer os animais que são submetidos por longos períodos a dietas ricas em amido, principalmente na bovinocultura de leite.

7. CONCLUSÕES

Em relação às dietas com diferentes inclusões de amido e proporção de fibra , observou-se:

- a) Menor tempo de ingestão e ruminação, aumentando o tempo de ócio de bovinos que se alimentaram com dietas com maior quantidade de amido e menor quantidade de fibra.
- b) Os valores de pH ruminal dos animais que ingeriram maior proporção de amido foram menores e apresentaram maior atividade da microbiota ruminal.
- c) Ambas induziram alterações do equilíbrio ácido base, sendo mais evidenciado nos animais submetidos à dieta com maior inclusão.
- d) Maiores níveis de amido na dieta são capazes de induzir a hiperglicemia, hiperinsulinemia e maiores valores de IGF-1 em bovinos.
- e) O proteinograma não foi um bom método para avaliação de alterações causadas pelos distúrbios digestivos causados por diferentes inclusões de amido na dieta.
- f) A inclusão de amido em dietas de bovinos é capaz de induzir distúrbios metabólicos e é potencializado com a diminuição da proporção de fibra, levando um desequilíbrio na homeostase ácido base, mineral e energético em bovinos.

8. REFERÊNCIAS

- ABDELA, N. Sub-acute Ruminant Acidosis (SARA) and its Consequence in Dairy Cattle: A Review of Past and Recent Research at Global Prospective. **Achievements in the Life Sciences**, v. 10, n. 2, p. 187–196, 2016.
- ABIEC, Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. **BeefREPORT Perfil da Pecuária no Brasil**, 2019.
- ADAMCZYK, K. et al. Real-time observation of carbonic acid formation in aqueous solution. **Science**, v. 326, n. 5960, p. 1690–1694, 2009.
- AFONSO, J. A. B; MENDONÇA, C.L. *Acidose Lática Ruminant*. Doenças de Ruminantes e Equídeos. 3ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p. 313-319.
- ALBRIGHT, J. L. Feeding Behavior of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 485–498, 1993.
- ALCANTARA, U. A. A. *Perfil metabólico e características do fluido ruminal de bovinos submetidos à dieta grão de milho inteiro*. 2019. 122f. Dissertação (Mestrado em Sanidade e Reprodução de Ruminantes) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns.
- ALDRED, S. et al. Alpha tocopherol supplementation elevates plasma apolipoprotein A1 isoforms in normal healthy subjects. **Proteomics**, v. 6, n. 5, p. 1695–1703, 2006.
- ALMEIDA, A. M. et al. Animal board invited review: Advances in proteomics for animal and food sciences. **Animal**, v. 9, n. 1, p. 1–17, 2014.
- AMORIM, L. S. et al. Perfil metabólico de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) confinados e tratados com somatotrofina bovina recombinante (r-bST). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 434–442, 2007.
- ANGELOS, S.M.; VAN MESTRE, D.C. Treatment of sodium balance disorders: water intoxication and salt toxicity. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.15, n.3, p.587-606, 1999
- ANGST, J. P., SILVA, R. S., SIQUEIRA, L. C., WOLKMER, P. *Acidose metabólica em bovino da raça angus: relato de caso*. In: XXIII Seminário interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2018.
- ANTONELO, D. S. *Efeitos da imunocastração e de beta-agonistas adrenérgicos sobre o desempenho, perfil sanguíneo, comportamento ingestivo e características de carcaça de*

bovinos Nelore confinados. 2015. 74f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

ARC – Agricultural Research Council. 3rd ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK, 351p. 1980.

ASH, R. W.; DOBSON, A. The effect of absorption on the acidity of rumen contents. **The Journal of Physiology**, v. 169, n. 1, p. 39–61, 1963.

AYERS, P.; DIXON, C. Simple acid-base tutorial. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 36, n. 1, p. 18–23, 2012.

BALAGUER, E.; NEUSÜSS, C. Glycoprotein characterization combining intact protein and glycan analysis by capillary electrophoresis-electrospray ionization-mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 15, p. 5384–5393, 2006.

BALDWIN. Use of Isolated Ruminant Epithelial Cells in the Study of Rumen Metabolism. **The Journal of Nutrition**, v. 128, n. 2, p. 293S-296S, 1998.

BAN-TOKUDA, T. et al. Effects of species and sex on plasma hormone and metabolite concentrations in crossbred Brahman cattle and crossbred water buffalo. **Livestock Science**, v. 107, n. 2–3, p. 244–252, 2007.

BATEMAN, S. W. Making Sense of Blood Gas Results. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 38, n. 3, p. 543–557, 2008.

BAUER, M. L. et al. Efficacy of laidlomycin propionate to reduce ruminal acidosis in cattle. **Journal of animal science**, v. 73, n. 11, p. 3445–3454, 1995.

BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z.; RODE, L. M. Effects of barley grain processing on the site and extent of digestion of beef feedlot finishing diets. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 7, p. 1925–1936, 2001.

BEAUCHEMIN, K. et al. Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Feed Utilization by Ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 14_suppl_2, p. E37–E47, 2002.

BENATTI L. A. T. *Marcadores fisiológicos do estresse e perfil metabólico de bovinos das raças curraleiro péduro, pantaneiro e nelore em confinamento experimental*, 2013. 110f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

BENDIXEN, E. et al. Advances in porcine genomics and proteomics—a toolbox for developing the pig as a model organism for molecular biomedical research. **Briefings in Functional Genomics and Proteomics**, v. 9, n. 3, p. 208–219, 2010.

BENDIXEN, E. et al. Farm animal proteomics - A review. **Journal of Proteomics**, v. 74, n. 3, p. 282–293, 2011.

BERCHIELLI, T. T. A. V. P.; OLIVEIRA, S. G. DE. Nutrição de ruminantes. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006.

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, n. 2, p. 567–590, 1990.

BERGMAN, N.; BERGQUIST, J. Recent developments in proteomic methods and disease biomarkers. **Analyst**, v. 139, n. 16, p. 3836–3851, 2014.

BERNE, R.M.; LEVY, M.N., *Hormones of the pancreatic islets: Physiology*, 3ed. St Louis: Mosby Year Book, 1993. p. 851–875.

BERRY, D. P. et al. The integration of omic disciplines and systems biology in cattle breeding. **Animal**, v. 5, n. 4, p. 493–505, 2011.

BEVANS, D. W. et al. Effect of rapid or gradual grain adaptation on subacute acidosis and feed intake by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 5, p. 1116–1132, 2005.

BILIĆ, P. et al. Proteomics in Veterinary Medicine and Animal Science: Neglected Scientific Opportunities with Immediate Impact. **Proteomics**, v. 18, n. 14, p. 1–7, 2018.

BLACK, J.L. Nutrition of the grazing ruminant. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 50, 1990.

BLOOD, D.C.; HENDERSON, J.A.; RADOSTITS, O.M. Doenças do trato alimentar. In: *Clínica Veterinária*. 5ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1979, p.95-149.

BOOKALLIL, M. J. *pH of the blood: acid base balance*, 2008. Disponível em: <http://www.anaes.med.usyd.edu.au/lectures/acidbase_mjb/acidbase.html> Acesso em 29/04/20.

BROWN MS, MILLEN DD. *Practices for adapting feedlot cattle to high concentrate rations*: Brazilian ruminant nutrition conference—Recent advances in feedlot cattle nutrition, 1ed. Botucatu: Ruminant Nutrition Group, 2009.

BROWN, M. S. et al. Evaluation of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry, and endocrine profiles of beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 12, p. 3155–3168, 2000.

BRUSS L.M. *Lipids and ketones*, p.81-115: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. Academic Press, San Diego, California, 2008.

BRUSS, M. L. *Lipids and Ketones: Clinical bichemistry of domestic animals*. 5.ed. Academic Press. 1997. p.83-115..

BÜRGER, P. J. et al. Comportamento Ingestivo em Bezerros Holandeses Alimentados com Dietas Contendo Diferentes Níveis de Concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 236–242, 2000.

CABRAL, L., LIMA, L. R., SILVA, J. A., & de TOLEDO, C. L. B. *Saúde ruminal em bovinos: Nutrição e alimentação de bovinos de corte e leite*. Dracena: Unesp, 2016. 140p.

CABRAL, L., LIMA, L. R., SILVA, J. A., de TOLEDO, C. L. B. *Saúde ruminal em bovinos: Nutrição e alimentação de bovinos de corte e leite*, 2016.

CAIROLI, F. et al. Serum protein pattern during cow pregnancy: Acute-phase proteins increase in the peripartum period. **Electrophoresis**, v. 27, n. 8, p. 1617–1625, 2006.

CARLSON, G. P.; BRUSS, M. Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Balance. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, p. 529–559, 2008.

CARLSON, G.P. *Fluid electrolyte and acid-base balance: Clinical biochemistry of domestic animals*. 5.ed. London: Academic, 1997. p.485-515.

CASH, P. Proteonomics: The protein revolution. **Biologist**, p. 58–62, 2002.

CECILIANI, F. et al. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 14, p. 4207–4231, 2012.

CECILIANI, F. et al. Identification of the bovine α 1-acid glycoprotein in colostrum and milk. **Veterinary Research**, v. 36, n. 5–6, p. 735–746, 2005.

CERVIERI, R. C; CARVALHO, J. C. F. Manejo alimentar em confinamentos: importância dos subprodutos da Agroindústria. In: Simpósio de Bovino de Corte, 6., 2009, Lavras: UFLA/NEPEC, 2009. p. 103-129.

CHEEKE, P. R. *Applied animal nutrition: feeds and feeding*. 3.ed. Upper Saddle River, NJ: Pearson Education Inc., 604p. 2005.

CHEN, C. H.; ALBERS, J. J. Activation of lecithin : cholesterol acyltransferase by apolipoproteins E-2, E-3, and A-IV isolated from human plasma. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Lipids and Lipid Metabolism**, v. 836, n. 3, p. 279–285, 1985.

CHURCH, D. C. *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. **Waveland Press**, p. 564, 1993.

CONSTABLE, P. D. A simplified strong ion model for acid-base equilibria: Application to horse plasma. **Journal of Applied Physiology**, v. 83, n. 1, p. 297–311, 1997.

CONSTABLE, P. D. Acid-Base Assessment: When and how to apply the henderson-hasselbalch equation and strong ion difference theory. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 30, n. 2, p. 295–316, 2014.

CONSTABLE, P. D. Clinical assessment of acid-base status. Strong ion difference theory. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 15, n. 3, p. 447–471, 1999.

CONSTABLE, P. D. Clinical Assessment of Acid-Base Status: Comparison of the Henderson-Hasselbalch and Strong Ion Approaches. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 29, n. 4, p. 115–128, 2000.

CONSTABLE, P. Fluid and electrolyte therapy in ruminants. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 19, n. 3, p. 557–597, 2003.

CONTRERAS, P. A. *Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos: Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre: UFRGS, 2000. cap. 2, p. 23- 30.

COOPER, R. J. et al. Effects of imposed feed intake variation on acidosis and performance of finishing steers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 5, p. 1093–1099, 1999.

COSTA E SILVA, L. F.; VALADARES FILHO, S. C.; ENGLE, T. E.; ROTTA, P. P.; MARCONDES, M. I.; SILVA, F. A. S.; MARTINS, E. C.; TOKUNAGA, A. T. Macromineral and trace element requirements for beef cattle. **PLoS ONE**, v. 10, n.12, 2015.

CUNNINGHAM, J.G. *Tratado de fisiologia veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 454p.

DANIELSEN, M. et al. Quantitative milk proteomics - Host responses to

lipopolysaccharide- mediated inflammation of bovine mammary gland. **Proteomics**, v. 10, n. 12, p. 2240–2249, 2010.

DANTE, P.D.L.; KAREN, L.H.O.; DIANE, M.H. et al. Effect of somatotropin treatment on lipogenesis, lipolysis, and related cellular mechanism in adipose tissue of lactating cows. **J. Dairy Sci.**, v.78, p.1703-1712, 1995.

DESJEUX, J.F. et al. Effects of sugars and amino acids on sodium movement across small intestine. **American Journal of Diseases of Children**, v.131, p.331-340, 1977.

DIAS, A. M. et al. Terminação de novilhos Nelore, castrados e não castrados, em confinamento com dieta alto grão. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 17, n. 1, p. 45–54, 2016.

DIBARTOLA S.P. *Fluid Therapy in Small Animal Practice*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. 720p.

DIBARTOLA, S. P. *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice*, 4ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2012.

DIBARTOLA, S.P. *Fluid therapy in small animal practice*. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. 720p.

DIJKSTRA, J. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. **Livestock Production Science**, v. 39, n. 1, p. 61–69, 1994.

DIRKSEN G. *Sistema digestivo*. In: Exame Clínico dos Bovinos. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2008, p. 166-228.

DIRKSEN, G. Indigestionen beim Rind. Schnetztor-Verlag GmbH Konstanz, 1981. 78p

DOUGHERTY, R. W.; RILEY, J. L.; COOK, H. M. Changes in motility and pH in the digestive tract of experimentally overfed sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 36, n. 6, p. 827–829, 1975.

DRAGE, S.; WILKINSON, D. Acid base balance. **Update in Anaesthesia**, v. 13, p. 52–61, 2001.

DUFFIELD, T. et al. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 1, p. 59–66, 2004.

ECKERSALL, P. D. Acute phase protein: Biomarkers of disease in cattle and sheep.

Cattle Practice, v.15, n. 3. P. 240–243, 2007

ECKERSALL, P. D. et al. Maternal undernutrition and the ovine acute phase response to vaccination. **BMC Veterinary Research**, v. 4, n. 1, 2008.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **Veterinary Journal**, v. 185, n. 1, p. 23–27, 2010.

ECKERSALL, P. D.; CONNER, J. G. Bovine and canine acute phase proteins. **Veterinary Research Communications**, v. 12, n. 2–3, p. 169–178, 1988.

ECKERSALL, P. D.; SAINI, P. K.; MCCOMB, C. The acute phase response of acid soluble glycoprotein, α 1-acid glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and C-reactive protein, in the pig. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 51, n. 3–4, p. 377–385, 1996.

ELLIS, J. L. et al. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. **Journal of Agricultural Science**, v. 146, n. 2, p. 213–233, 2008.

ENDEWARD, V. et al. How does carbon dioxide permeate cell membranes? A discussion of concepts, results and methods. **Frontiers in Physiology**, v. 4 jan, p. 1–21, 2013.

ESCALERA-VALENTE, F. et al. Influence of intense exercise on acid-base, blood gas and electrolyte status in bulls. **Research in Veterinary Science**, v. 95, n. 2, p. 623–628, 2013.

ESTHER GUIMARÃES CARDOSO. EMPRAPA GADO DE CORTE: Engorda de bovinos em confinamento - aspectos gerais. In: **Os alimentos**, 1996.

EZEQUIEL, J. M. B. Exigências de proteína e minerais de bovídeos: frações endógenas. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1987. 131f.

FAGLIARI, J. J. et al. Constituintes sanguíneos de bovinos lactantes, desmamados e adultos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 3, p. 263–271, 1998.

FAGLIARI, J. J. et al. Serum protein concentrations, including acute phase proteins, in calves with hepatogenous photosensitization. **Arquivo Brasileiro de Medicina**

Veterinaria e Zootecnia, v. 59, n. 6, p. 1355–1358, 2007.

FEITOSA L.F.F. 2008. *Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico*. 2ª ed. Roca, São Paulo. 735p.

FIELD, A. C. A review of requirements of dairy and beef cattle for major elements. **Livestock Production Science**, v. 10, p. 327-338, 1983.

FIELDING, P. E.; FIELDING, C. J. Plasma Membrane Caveolae Mediate the Efflux of Cellular Free Cholesterol. **Biochemistry**, v. 34, n. 44, p. 14288–14292, 1995.

FLINDERS, J. T.; ARNOLD, G. W.; DUDZINSKI, M. L. Ethology of Free Ranging Domestic Animals. **Journal of Range Management**, v. 32, n. 6, p. 480, 1978.

FOURNIER, T.; MEDJOUBI-N, N.; PORQUET, D. Alpha-1-acid glycoprotein. **Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology**, v. 1482, n. 1-2, p. 157–171, 2000.

FREITAS, M. D. Determinação do perfil hidroeletrólítico e do equilíbrio ácido-básico de bezerras híidas de três aos trinta dias de idade. **Ciência Animal Brasileira**, v. 40, n. 12, p. 2608–2615, 2010.

FRYIRS, M. A. et al. Effects of high-density lipoproteins on pancreatic β -cell insulin secretion. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 30, n. 8, p. 1642–1648, 2010.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. *Anatomia e fisiologia do trato gastrintestinal: Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

FÜRL, M. *Transtornos del metabolismo del agua, equilibrio ácido-base y electrolitos/Fluidoterapia: Medicina Interna y Cirugía del bovino*. 4. Ed. Buenos Aires: Inter-Médica Editorial, 2005. cap. 4.3.6, p. 232-243

GALYEAN, M. L.; PERINO, L. J.; DUFF, G. C. Interaction of cattle health/immunity and nutrition. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 5, p. 1120–1134, 1999.

GARCÉS, M.L.V. et al. Observaciones hematoquímicas em um rebanho de vacas lecheras com freqüentes estados de anemia. **Revista Produccion Animal**, v.13, n.1, p.83-88, 2001.

GARCIA-NAVARRO C.E.K. *Manual de urinálise veterinária*. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 95p.

GHORBANI, G. R. et al. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, 2002.

GIANAZZA, E. et al. Cobalamin (vitamin B12)-deficiency-induced changes in the proteome of rat cerebrospinal fluid. **Biochemical Journal**, v. 374, n. 1, p. 239–246, 2003.

GOEL, N.; CALVERT, J. Understanding blood gases/acid-base balance. **Paediatrics and Child Health**, v. 22, n. 4, p. 142–148, 2011.

GOMES, O.M. Interpretação clínicas das alterações acidobásicas e distúrbio da oxigenação. Belo Horizonte: Edictor, 1997. 254p.

GONZÁLEZ F.H.D.; SILVA S.C. *Introduction to Veterinary Clinical Biochemistry*. 2ed. Graphic of the Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2006. 357p.

GONZÁLEZ, F.H.D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: González, F.H.D., Barcellos, J.O., Ospina, H., Ribeiro, L.A.O. (Eds.) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*, Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

GONZÁLEZ, L. A. et al. Increasing sodium bicarbonate level in high-concentrate diets for heifers. II. Effects on chewing and feeding behaviors. **Animal**, v. 2, n. 5, p. 713–722, 2008.

GOZHO, G. N. et al. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 4, p. 1399–1403, 2005.

GOZHO, G. N., KRAUSE, D. O., PLAIZIER, J. C. Effects of gradual adaptation to concentrate and subsequent induction of subacute ruminal acidosis in steers on ruminal lipopolysaccharide and acute phase proteins. **J. Dairy Sci**, v. 89, p. 4404–4413, 2006.

GOZHO, G. N.; KRAUSE, D. O.; PLAIZIER, J. C. Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 2, p. 856–866, 2007.

GREENOUGH, P. R. **Bovine Laminitis and Lameness**, 2007.

GROTTO, H. Z.W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 8 – 17, 2010

GRUYS, E. et al. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal of Zhejiang University: Science**, v. 6 B, n. 11, p. 1045–1056, 2005.

GUTKNECHT, J.; BISSON, M. A.; TOSTESON, F. C. Diffusion of carbon dioxide through lipid bilayer membranes. **Journal of General Physiology**, v. 69, n. 6, p. 779–794, 1977.

GUYTON A.C. & HALL J.E. *Tratado de Fisiologia Médica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1014p.

GYGI, S. P. et al. Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tags. **Nature Biotechnology**, v. 17, n. 10, p. 994–999, 1999.

HALL J.H. Ionophores: *Clinical Veterinary Toxicology*. Mosby, St. Louis, Missouri, 2004, p. 120–127.

HATCH, F. T. Practical methods for plasma lipoprotein analysis. **Advances in lipid research**, v. 6, p. 1–68, 1968.

HIBBARD, B. et al. The effect of slaframine on salivary output and subacute and acute acidosis in growing beef steers. **Journal of animal science**, v. 73, n. 2, p. 516–525, 1995.

HIXSON, J. E. et al. Baboon apolipoprotein A-IV. Identification of Lys76 → Glu that distinguishes two common isoforms and detection of length polymorphisms at the carboxyl terminus. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 21, p. 15667–15673, 1993.

HOCHACHKA, P. W.; GUNGA, H. C.; KIRSCH, K. Our ancestral physiological phenotype: An adaptation for hypoxia tolerance and for endurance performance? **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 4, p. 1915–1920, 1997.

HOFFMAN, M. P.; SELF, H. L. Behavioral traits of feedlot steers in Iowa. **Journal of animal science**, v. 37, n. 6, p. 1438–1445, 1973.

HOOVER, W. H. Chemical Factors Involved in Ruminant Fiber Digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 10, p. 2755–2766, 1986.

HOUP, T.R.. *Equilíbrio ácido-básico: Dukes fisiologia dos animais domésticos*. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 147-160.

HUBBLE, S. M. Acid-base and blood gas analysis. **Anaesthesia and Intensive Care**

Medicine, v. 5, n. 11, p. 380–383, 2004.

HUNGATE, R. E. *The Rumen Protozoa: The Rumen and its Microbes*, 1966, p. 91–147.

HUNTINGTON, G. B. Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: Influence of physiological state and nutrition. **Reproduction Nutrition Development**, v. 30, n. 1, p. 35–47, 1990.

HUZZEY, J. M. et al. Parturition behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 7, p. 3220–3233, 2007.

IBGE. Indicadores IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE**, p. 33, 2017.

INNIS-WHITEHOUSE, W. et al. An efficient chromatographic system for lipoprotein fractionation using whole plasma. **Journal of Lipid Research**, v. 39, n. 3, p. 679–690, 1998.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (Genebra, Suíça). Climate change 1994: radiative forcing of climate change and an evaluation of the IPCC IS92 emission scenarios. Cambridge: University Press, 1995. 339p.

JAIN, N. C. (NEMI C. *Essentials of veterinary hematology*: Philadelphia, 1993, 417p.

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: As diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, n.1, p. 118–127, 2011.

JOHNSON, K. A. et al. The effect of oilseeds in diets of lactating cows on milk production and methane emissions. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 6, p. 1509–1515, 2002.

JULIANO, R. S. et al. Proteinograma sérico de bovinos da raça Curraleiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 533–538, 2009.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5ed. San Diego: Academic Press, 1997, 932p.

KANEKO, K. et al. Increased vulnerability to rotenone-induced neurotoxicity in ceruloplasmin-deficient mice. **Neuroscience Letters**, v. 446, n. 1, p. 56–58, 2008.

KARATHANASIS, S. K.; YUNIS, I.; ZANNIS, V. I. Structure, Evolution, and Tissue-Specific Synthesis of Human Apolipoprotein AIV. **Biochemistry**, v. 25, n. 13, p. 3962–

3970, 1986.

KELESIDIS, T. et al. HIV-1 infected patients with suppressed plasma viremia on treatment have pro-inflammatory HDL. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, 2011.

KELLUM, J. A. Clinical review: Reunification of acid-base physiology. **Critical Care**, v. 9, n. 5, p. 500–507, 2005.

KIM, S. M. et al. Bovine apolipoprotein (apo)A-I displays more enhanced antioxidant and anti-atherosclerotic activity in lipid-free and lipid-bound states than human and porcine apoA-I. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 32, n. 4, p. 843–850, 2013.

KITCHEN, B. J.; MASTERS, C. J.; WINZOR, D. J. Effects of lipid removal on the molecular size and kinetic properties of bovine plasma arylesterase. **Biochemical Journal**, v. 135, n. 1, p. 93–99, 1973.

KOENIG, K. M.; BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M. Effect of grain processing and silage on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in beef cattle fed barley-based diets. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 4, p. 1057–1067, 2003.

KONSMAN, J. P.; PARNET, P.; DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behaviour: Mechanisms and implications. **Trends in Neurosciences**, v. 25, n. 3, p. 154–159, 2002.

KOZLOSKI, G. B. *Bioquímica dos ruminantes*. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 139p.

KRATZ, M. et al. Dietary Mono- and Polyunsaturated Fatty Acids Similarly Increase Plasma Apolipoprotein A-IV Concentrations in Healthy Men and Women. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 6, p. 1821–1825, 2003.

KRAUSE, K. M.; OETZEL, G. R. Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 10, p. 3633–3639, 2005.

KRAUSE, K. M.; OETZEL, G. R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, n. 3-4, p. 215–236, 2006.

KUHLA, B. et al. Proteome analysis of fatty liver in feed-deprived dairy cows reveals interaction of fuel sensing, calcium, fatty acid, and glycogen metabolism. **Physiological Genomics**, v. 37, n. 2, p. 88–98, 2009.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680–685, 1970.

LAGROST, L. et al. Correlation between apolipoprotein A-IV and triglyceride concentrations in human sera. **Journal of Lipid Research**, v. 30, n. 5, p. 701–710, 1989.

LAPORTE-URIBE, J. A. The role of dissolved carbon dioxide in both the decline in rumen pH and nutritional diseases in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219, p. 268–279, 2016.

LIMA, A. S. *Avaliação do perfil hormonal de garrotes submetidos à carência energética prolongada*. 2005. 139f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

LIMA, M. L. M. Padrão de fermentação ruminal de bovinos recebendo produto homeopático standard of fermentation ruminal of bovines receiving homeopathic product. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 969–975, 2008.

LINKE, T.; ROSS, A. C.; HARRISON, E. H. Profiling of rat plasma by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, a novel tool for biomarker discovery in nutrition research. **Journal of Chromatography A**, v. 1043, n. 1, p. 65–71, 2004.

LIPINSKI, L. C. *Perfil metabólico de bovinos de corte da raça Purunã*. 2013. 124f. Dissertação (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

LOERTING, T.; BERNARD, J. Aqueous carbonic acid (H₂CO₃). **ChemPhysChem**, v. 11, n. 11, p. 2305–2309, 2010.

LOPES, S.; BIONDO, A.; CUNHA, C.; FAN, L. *Patologia Clínica Veterinária*. Santa Maria, 1996. cap. 9 p. 135-142.

LUCIANO SANTOS PINTO GUIMARÃES, V. N. H. Uso do modelo de equações de estimativas generalizadas na análise de dados longitudinais. **Rev HCPA**, v. 32, n. 4, p. 503–511, 2012.

LUKAS, J. M.; RENEAU, J. K.; LINN, J. G. Water intake and dry matter intake changes as a feeding management tool and indicator of health and estrus status in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p. 3385–3394, 2008.

MACKNESS, M. I. et al. Protection of low-density lipoprotein against oxidative

modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. **Atherosclerosis**, v. 104, n. 1–2, p. 129–135, 1993.

MANELLA, M. D. Q.; LOURENÇO, A. J.; LEME, P. R. Recria de bovinos Nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* com suplementação protéica ou com acesso a banco de proteína de *Leucaena leucocephala*. Características de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 4, p. 1002–1012, 2003.

MARUTA, C. A. et al. The measurement of urine pH to predict the amount of buffer used in the treatment of acute rumen lactic acidosis in cattle. **Ciencia Rural**, v. 38, n. 3, p. 717–722, 2008.

MCDONALD, P.; EDWARDS, J.; GREENHALGH, J.F. D.; MORGAN, C. A.; SINCLAIR, L. A.; WILKINSON, R. G. *Animal Nutrition*. 7ed, 2010, 691p.

MESSA, PIERGIORGIO. Derangement of acid-base balance in uremia and under hemodialysis. **Journal of Nephrology**, v. 14, n. 4, p. 12–21, 2001.

MEYER, D.J. et al. *Medicina de laboratório veterinária – Interpretação e diagnóstico*. São Paulo: Rocca, 1995. 308p.

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

MEZDOUR, H. et al. Genetic but not diet-induced hypercholesterolemia causes low apolipoprotein A-IV level in rabbit sera. **Atherosclerosis**, v. 113, n. 2, p. 171–178, 1995.

MILLEN, D. D. et al. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 10, p. 3427–3439, 2009.

MILLEO, T.C.; HARTMANN, W.; HILL, J.A.G.; NASCIMENTO, A.C.; GUTIERREZ NETTO, U.; MAURER JUNIOR, F.R. Avaliação clínica e laboratorial em quadro de acidose láctica ruminal em bovinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, suppl., p.290, 2007.

MISSIO, R. L. et al. Comportamento ingestivo de tourinhos terminados em confinamento, alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1571–1578, 2010.

MONNIG, A. A. Practical acid-base in veterinary patients. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 43, n. 6, 2013.

MOREIRA, P. et al. Avaliação do pH do fluido ruminal de vacas leiteiras. **Estudos**, v. 36, n. 11/12, p. 1201–1218, 2009.

MORIMATSU, M. et al. Bovine haptoglobin: Single radial immunodiffusion assay of its polymeric forms and dramatic rise in acute-phase sera. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 33, n. 4, p. 365–372, 1992.

MOTA, M. F. et al. Parâmetros ruminais de vacas leiteiras mantidas em pastagem tropical. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 226, p. 217–224, 2010.

MOULD, F. L.; ØRSKOV, E. R. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. **Animal Feed Science and Technology**, v. 10, n. 1, p. 1–14, 1983.

MÜLLER, K. R. et al. Importance of the Effective Strong Ion Difference of an Intravenous Solution in the Treatment of Diarrheic Calves with Naturally Acquired Acidemia and Strong Ion (Metabolic) Acidosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 3, p. 674–683, 2012.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. **Veterinary Journal**, v. 168, n. 1, p. 28–40, 2004.

NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C. Ruminal acidosis in beef cattle: The current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. S, p. E17–E38, 2007.

NAKANO, M. et al. Detailed structural features of glycan chains derived from α 1-acid glycoproteins of several different animals: The presence of hypersialylated, O-acetylated sialic acids but not disialyl residues. **Glycobiology**, v. 14, n. 5, p. 431–441, 2004.

NASCIMENTO, C.F. *Relações entre os parâmetros sanguíneos e classes do consumo alimentar residual em bovinos Nelore*. 2013. 64f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal Sustentável) – Instituto de Zootecnia – Programa de Pós-Graduação em Produção Animal Sustentável, Nova Odessa.

NOCEK, J. E. Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 5, p. 1005–1028, 1997.

NRC – National Research Council. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 6th.ed.

Washington, DC: National Academy Press. 90p. 1984.

NRC – National Research Council. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7th.ed. Washington, DC: National Academy Press, 242p. 2000.

NRC – National Research Council. *Nutrient requirements of dairy cattle*. Washington, DC, USA: National Academy Press, 362 p. 2001.

NUSSIO, L. G; CAMPOS, F. P; LIMA, M. L. M. *Metabolismos de carboidratos estruturais: Nutrição de ruminantes*. 1.ed. Jaboticabal: Funep. 2006, p.183- 223.

OGILVIE, T.H. *Medicina interna de grandes animais*. Porto Alegre : Artes Médicas Sul, 2000. 568 p.

OLIVEIRA JÚNIOR, B. R. et al. Short communication: Tick-borne disease is associated with changes in feeding behavior in automatically fed weaned dairy calves. **Journal of Dairy Science**, 2018.

OLIVEIRA, C. A.; MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 64–75, 2014.

OLIVEIRA, L. O. F. et al. Parâmetros ruminais e síntese de proteína metabolizável em bovinos de corte sob suplementação com proteinados contendo diversos níveis de proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 12, p. 2506–2515, 2009.

OLSON, K. C. et al. Effects of ruminal administration of supplemental degradable intake protein and starch on utilization of low-quality warm-season grass hay by beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 4, p. 1016–1025, 1999.

ORSKOV, E.R. *Nutrición proteica de los rumiantes*. Zaragoza: Acribia, 1988. 178p.

ØRSKOV, F. et al. Clonal relationships among classic enteropathogenic escherichia coli (EPEC) belonging to different O groups. **Journal of Infectious Diseases**, v. 162, n. 1, p. 76–81, 1990.

ORTOLANI, E. *Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes*. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais (sangue, leite e urina), 2003, p. 18–26.

ORTOLANI, E. L., MENDES NETTO, D., MARUTA, C. A. *O uso do pH urinário para estimar o grau de acidose metabólica em garrotes com acidose láctica ruminal*. In: Anais do XXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Gramado, 1997, p.214.

ORTOLANI, E. L.; MARUTA, C. A.; MINERVINO, A. H. H. Aspectos clínicos da indução experimental de acidose láctica ruminal em zebuínos e taurinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 4, p. 253–261, 2010.

ORTOLANI, E. L.; MARUTA, C. A.; MINERVINO, A. H. H. Influência da raça sobre volemia e função renal de bovinos com acidose láctica ruminal aguda, induzida experimentalmente. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.45, n. 6, p. 451-457, 2008.

OVERMANN J. *Blood proteins and acute phase proteins: Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics*. Hoboken: Wiley and Sons Ltd; 2018: p. 133-737.

OWENS, F. N. et al. Acidosis in Cattle: A Review. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 275–286, 1998.

OWENS, F. N., AND A. L. GOETSCH. *Ruminal fermentation: The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition* 5.ed. New Jersey: Englewood, Cliffs, 1993. p.145-171.

PALMQUIST, D.L; MATTOS, W.R.S. *Metabolismo de lipídeos: Nutrição de Ruminantes*. 3.ed. Jaboticaba: Funep, 2011. p. 299-322.

PARKER, A. J. et al. Quantitative analysis of acid-base balance in *Bos indicus* steers subjected to transportation of long duration. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 6, p. 1434–1439, 2003.

PARRA, F. S.; RONCHESEL, J. R.; ARRIGONI, M. D. B.; MARTINS, C. L.; MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ESPIGOLAN, R. Effects of restricted versus conventional dietary adaption over periods of 14 and 21 days on rumen papillae of feedlot Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. Suppl 1, p. 616, 2011.

PAULINO, M. D. L. SARTORI, R. D. S. *Metabolismo e Transporte de Nutrientes: Agronomia – Base da Fisiologia animal*. Cap 3, 2006.

PAULINO, P. V. R. et al. Dietas Sem Forragem para Terminação de Animais Ruminantes. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 161–172, 2013.

PAULINO, V.; TEIXEIRA, E. Sustentabilidade de pastagens–Manejo adequado como

medida redutora da emissão de gases de efeito estufa. **CPG – Produção animal sustentável, Ecologia de Pastagens, IZ, APTA/SAA**, v. 4, n. 21, p. 872–878, 2009.

PAULO, R. E. C; RIGO, J. E. Dietas com milho grão inteiro como alternativa em confinamento sem volumoso. **Caderno da pós-graduação da FAZU**, v. 3, 2012.

PAYNE J. M.; PAYNE S. *The metabolic profile test*. Oxford: Oxford University Press, 1987. 348 p.

PEREIRA, E. M. O.; EZEQUIEL, J. M.; BIAGIOLI, B.; FEITOSA, J. Determinação in vitro do potencial de produção de metano e dióxido de carbono de líquido ruminal proveniente de bovinos de diferentes categorias. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 14, n.4. p.120-127, 2006

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, v. 35, n. 2, p. 163–187, 2004.

PHILIPPIDIS, P. et al. Hemoglobin Scavenger Receptor CD163 Mediates Interleukin-10 Release and Heme Oxygenase-1 Synthesis: Antiinflammatory Monocyte-Macrophage Responses In Vitro, in Resolving Skin Blisters In Vivo, and after Cardiopulmonary Bypass Surgery. **Circulation Research**, v. 94, n. 1, p. 119–126, 2004.

POLLI, V. A. et al. Aspectos relativos à ruminção de bovinos e bubalinos em regime de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 5, p. 987–993, 1996.

POLZIN, D. J. *Diferença aniônica: aplicações terapêuticas e diagnósticas*. Atualização terapêutica veterinária. São Paulo: Manole, 1988, p. 68-76.

PRESTON, T. R.; LENG, R. A.; *Ruminant production systems*. Armidale: Penambul Books, 245 p. 1987.

QUARESMA, C. T., SILVA, R. S., BORGES, L. F. K., SIQUEIRA, L. C., ARALDI, D. F., WOLKMER, P. Efeito de dietas à base de grão de milho ou cevada no Equilíbrio ácido básico em novilhos confinados. In: XXIV Seminário interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2019.

QUIROZ-ROCHA, G. F.; BOUDA, J.; OCHOA, L. N. *Determinação de transtornos ácido-básicos. Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais em bovinos*. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2000. p. 35-38.

RADOSTITS, O. et al. *A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and*

Goats: veterinary medicine. **Veterinary Medicine**, v. 10, p. 2045–2050, 2007.

RAMONET, Y.; MEUNIER-SALAÜN, M. C.; DOURMAD, J. Y. High-Fiber Diets in Pregnant Sows: Digestive Utilization and Effects on the Behavior of the Animals. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 3, p. 591–599, 1999.

REECE, W.O. *Metabolismo dos carboidratos: Fisiologia dos animais domésticos*. 12^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006 p. 462-475.

REINHARDT, C. D. et al. Effect of Steam-Flaked Sorghum Grain Density on Performance, Mill Production Rate, and Subacute Acidosis in Feedlot Steers. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 11, p. 2852–2857, 1997.

ROCHA TL, COSTA PHA, MAGALHÃES JCC, EVARISTO RGS, VASCONCELOS EAR, COUTINHO MV, et al. *Eletroforese bidimensional e análise de proteomas*: Comunicado Técnico Embrapa; 2005.

ROMAO, J. M. et al. Effect of age on bovine subcutaneous fat proteome: Molecular mechanisms of physiological variations during beef cattle growth. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 8, p. 3316–3327, 2014.

ROSE, D.B.; POST, T.W. *Clinical physiology of acid –base and electrolyte disorders*. 5ed. New York: Mcgraw- Hill, 2001. 992p.

RUSSELL, J. B.; RYCHLIK, J. L. Factors that alter rumen microbial ecology. **Science**, v. 292, n. 5519, p. 1119–1122, 2001.

RUSSELL, K. E.; ROUSSEL, A. J. Evaluation of the Ruminant Serum Chemistry Profile. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 403–426, 2007.

RYE, K. A.; BARTER, P. J. Antiinflammatory actions of HDL. A new insight. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 28, n. 11, p. 1890–1891, 2008.

SALLES, M. S. V. et al. Avaliação de colheita de líquido ruminal por fístula ou sonda esofágica em bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 4, p. 438–442, 2003.

SANTOS M. G. M. F. *Suplementação energética de bovinos mantidos em pastagens tropicais com diferentes estratégias de manejo e seus efeitos sobre o consumo de forragem, comportamento ingestivo e parâmetros metabólicos*. 2015. 57f. Dissertação

(Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SATHLER, D. F. T. *Efeito da suplementação mineral sobre as digestibilidades total, ruminal e intestinal em zebuínos*. 55f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2015.

SCHAER, C. A. et al. Constitutive endocytosis of CD163 mediates hemoglobin-heme uptake and determines the noninflammatory and protective transcriptional response of macrophages to hemoglobin. **Circulation Research**, v. 99, n. 9, p. 943–950, 2006.

SCHMID, K. et al. Structure of α 1-Acid Glycoprotein. the Complete Amino Acid Sequence, Multiple Amino Acid Substitutions, and Homology with the Immunoglobulins. **Biochemistry**, v. 12, n. 14, p. 2711–2724, 1973.

SILVA E SILVA, A.M.; CORRÊA, G.C.; REIS, E.M. Proteômica – Uma abordagem funcional do estudo do Genoma. **Saúde e Ambiente em Revista**, v. 2, n. 2, p. 1–10, 2007.

SILVA, H.L. *Dietas de alta proporção de concentrado para Bovinos de corte confinados*. 157f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

SILVA, R. R. et al. Comportamento Ingestivo De Novilhas Mestiças De Holandês Em Pastejo. **Archivos de Zootecnia**, v. 54, p. 75–85, 2005.

SILVEIRA, M. F. et al. Ganho de peso vivo e fermentação ruminal em novilhos mantidos em pastagem cultivada de clima temperado e recebendo diferentes suplementos. **Ciencia Rural**, v. 36, n. 3, p. 898–903, 2006.

SLYTER, L. L. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of animal science**, v. 43, n. 4, p. 910–929, 1976.

SMITH, B.P. *Large animal internal medicine*. 4.ed. Missouri: Mosby Elsevier, 2009. 380-390p.

STEINMETZ, A.; UTERMANN, G. Activation of lecithin:cholesterol acyltransferase by human apolipoprotein A-IV. **Journal of Biological Chemistry**, v. 260, n. 4, p. 2258–2264, 1985.

STOCK, R.; BRITTON, R. Acidosis. *Institute of Agriculture and Natural Resources*, University of Nebraska-Lincoln.1991.

SUCUPIRA, M. C. A. *Estudo comparativo de exames clínicos-laboratoriais no diagnóstico de carência energética prolongada em garrotes*. 173 p. Tese (Doutorado em Clínica Médica) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SUCUPIRA, M. C. A.; ORTOLANI, E. L. Uso de sangue arterial e venoso no exame do equilíbrio ácido-básico de novilhos normais ou com acidose metabólica. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 863–868, 2003.

SWANEY, J. B.; REESE, H.; EDER, H. A. Polypeptide composition of rat high density lipoprotein: Characterization by SDS-gel electrophoresis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 59, n. 2, p. 513–519, 1974.

TAJIK, J. et al. Prevalence of subacute ruminal acidosis in some dairy herds of khorasan razavi province, Northeast of Iran. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 10, n. 1, p. 28–32, 2009.

TAKAHASHI, Y. et al. Bovine apolipoprotein E in plasma: Increase of ApoE concentration induced by fasting and distribution in lipoprotein fractions. **Journal of Veterinary Medical Science**, 2003.

THRALL, M.A. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 1.ed. São Paulo: Roca. cap. 21, 2007, p.289-328.

TIETZ, N. W.; PRUDEN, E. L.; ANDERSEN, O. S. *Blood Gases and pH: Textbook of Clinical Chemistry*. 4. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994. p. 506-522.

TORQUATO, C.; CABRAL, W. B.; JÚNIOR, L.C.V. Protocolos de adaptação de dietas com baixa e alta participação de concentrado sobre o desempenho de bovinos em confinamento. **Revista eletrônica Nutritime**, v. 9006, p. 2050-2074, 1983.

TORTORA, G.J. *Corpo Humano – Fundamentos de Anatomia e Fisiologia*. 4ª ed. Editora ArtMed: Rio de Janeiro, 2001, 19 – 23, 153 - 203, 321- 380, 406- 430 p.

TURNER, W.; HODGETTS, V. E. Buffer systems in the rumen of the sheep i. ph and bicarbonate concentration in relationship to pcO₂. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 1, p. 115–124, 1955.

URTON, G.; VON KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Feeding behavior identifies dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 8, p. 2843–2849, 2005.

UTERMANN, G.; BEISIEGEL, U. Apolipoprotein A-IV: a Protein Occurring in Human Mesenteric Lymph Chylomicrons and Free in Plasma: Isolation and Quantification. **European Journal of Biochemistry**, v. 99, n. 2, p. 333–344, 1979.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. *Fermentação Ruminal: Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

VALADARES FILHO, SEBASTIÃO DE CAMPOS; SILVA, LUIZ FERNANDO COSTA E; GIONBELLI, MATEUS PIES; ROTTA, POLYANA PIZZI; MARCONDES, MARCOS INÁCIO; CHIZZOTTI, MÁRIO LUIZ; PRADOS, LAURA FRANCO. *Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados: BR-CORTE*. 3ed, 326p, 2016.

VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2 ed. Cornell: Cornell University Press, 1994. 476p

VIVENZA, P. A. D. *Perfil metabólico e hormonal de novilhos f1 holandês x gir submetidos à respirometria, sob diferentes planos nutricionais, em jejum e realimentação*. 2012. 110f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

WEARY, D. M. et al. Identifying and preventing pain in animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 100, n. 1–2, p. 64–76, 2006.

WEINBERG, R. B.; SCANU, A. M. Isolation and characterization of human apolipoprotein A-IV from lipoprotein-depleted serum. **Journal of Lipid Research**, v. 24, n. 1, p. 52–59, 1983.

WILKINS, M. R. et al. From proteins to proteomes: Large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. **Bio/Technology**, v. 14, p. 61–65, 1996.

WILLIAMS, S. C. et al. Mouse apolipoprotein A-IV gene: nucleotide sequence and induction by a high-lipid diet. **Molecular and Cellular Biology**, v. 6, n. 11, p. 3807–3814, 1986.

ZAPATA, I.; WICK, M. Electrophoresis-based proteomic meat animal research. **Food Technology and Biotechnology**, v. 50, n. 3, p. 261–269, 2012.

CALDEIRA, R. M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas Monitoring the adequacy of feeding plan and nutritional status in ewes. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 100, p. 125–140, 2005.

ELLENBERGER, M. A. et al. Endocrine and metabolic changes during altered growth rates in beef cattle. **Journal of animal science**, v. 67, n. 6, p. 1446–1454, 1989.

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**, v. 39, n.1, p. 27 - 48, 1999.

KOZLOWSKI, M. et al. Differences in growth and transcriptomic profile of bovine mammary epithelial monolayer and three-dimensional cell cultures. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, n. SUPPLE 1, p. 5 - 14, 2009.

PEEL, C. J.; BAUMAN, D. E. Somatotropin and Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 2, p. 474–486, 1987.

POGLIANI, F. C.; BIRGEL JUNIOR, E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no estado de são paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 5, p. 373–383, 2007.

ANEXO 1 - Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Avaliação das alterações digestivas, metabólicas e podais relacionadas a dieta rica em concentrado em bovinos.", protocolo do CEUA: 192/2019 sob a responsabilidade de Elias Jorge Facury Filho que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 18/11/2019.

Vigência da Autorização	18/11/2019 a 17/11/2024
Finalidade	Pesquisa
*Espécie/linhagem	Bovino / Mestiço
Nº de animais	8
Peso/Idade	250kg / 12(meses)
Sexo	masculino
Origem	Fazenda São João
*Espécie/linhagem	Bovino / Mestiço
Nº de animais	8
Peso/Idade	250kg / 12(meses)
Sexo	masculino
Origem	Fazenda São João

Considerações posteriores:

18/11/2019	Aprovado na reunião do dia 18/11/2019. Validade: 18/11/2019 à 17/11/2024
------------	--

Belo Horizonte, 20/11/2019.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - cetea@prpq.ufmg.br