

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA**

**PERFIL METABÓLICO E HORMONAL DE  
NOVILHOS F1 HOLANDÊS X GIR SUBMETIDOS  
À RESPIROMETRIA, SOB DIFERENTES PLANOS NUTRICIONAIS,  
EM JEJUM E REALIMENTAÇÃO**

**PAOLO ANTONIO DUTRA VIVENZA**

**BELO HORIZONTE**

**2012**

**PAOLO ANTONIO DUTRA VIVENZA**

**PERFIL METABÓLICO E HORMONAL DE NOVILHOS F1  
HOLANDÊS X GIR SUBMETIDOS À RESPIROMETRIA, SOB  
DIFERENTES PLANOS NUTRICIONAIS, EM JEJUM E  
REALIMENTAÇÃO**

**Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação  
em Zootecnia da Escola de  
Veterinária da Universidade  
Federal de Minas Gerais,  
como requisito parcial para  
obtenção do grau de Mestre  
em Zootecnia**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: NUTRIÇÃO ANIMAL**

**ORIENTADORA: Profa. Ana Luiza Costa Cruz Borges**

V857p Vivenza, Paulo Antônio Dutra, 1987-  
Perfil metabólico e hormonal de novilhos F1 Holandês X Gir submetidos à respirometria, sob diferentes planos nutricionais, em jejum e realimentação / Paulo Antônio Dutra Vivenza. – 2014.

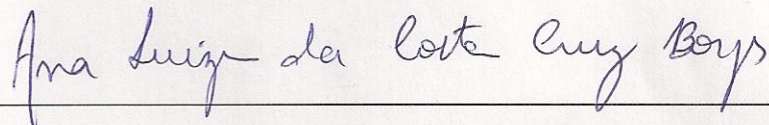
111p. : il.

Orientadora: Ana Luiza Costa Cruz Borges  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.  
Inclui bibliografia

1. Bovino – Alimentação e rações – Teses. 2. Metabolismo em animais – Teses.  
3. Calorimetria – Teses. 4. Exigências nutricionais – Teses. 5. Nutrição animal – Teses.  
I. Borges, Ana Luiza Costa Cruz. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

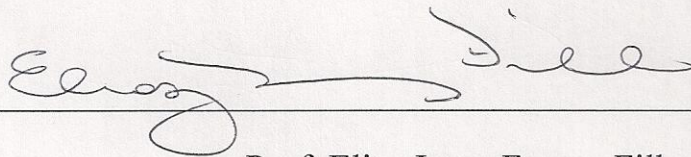
CDD – 636. 208 5

Dissertação defendida e aprovada dia 31 / 08 / 2012 pela Comissão Examinadora composta pelos seguintes membros:



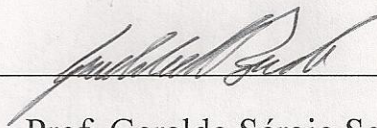
---

Profa. Ana Luiza Costa Cruz Borges (Orientador)



---

Prof. Elias Jorge Facury Filho



---

Prof. Geraldo Sérgio Senra Carneiro Barbosa

“(...) Porque qualquer um, independente das habilitações que tenha, ao menos uma vez na vida, fez ou disse coisas muito acima da sua natureza e condição, e se a essas pessoas pudéssemos retirar do cotidiano pardo em que vão perdendo os contornos, ou elas, a si próprias por violência se retirassem de malhas ou prisões, quantas mais maravilhas seriam capazes de obrar, que pedaços de conhecimento profundo poderiam comunicar, porque cada um de nós sabe infinitamente mais do que julga e cada um dos outros infinitamente mais do que neles aceitamos reconhecer...”.

José Saramago (A Jangada de Pedra)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico, com muito amor, aos meus amados pais,  
Antonio e Lindalva, pelo apoio e amor incondicional  
em todos os momentos!!

Aos meus queridos irmãos, Piero e Stefano.  
Mais do que irmãos, sempre grandes exemplos!

Por tudo de maravilhoso que aprendi com todos vocês!

Muito obrigado!

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela vida, saúde e pela oportunidade de tentar ser cada dia um pouco melhor

Aos meus pais, palavras jamais irão traduzir o sentimento de gratidão. Vocês que iluminaram os caminhos da vida com amor e dedicação, para que eu os trilhasse sem medo e cheio de esperança e sonhos. Muito obrigado por tudo!

Ao Piero e Stefano, meus queridos irmãos, pelo amor, amizade, incentivo, companheirismo, pelos sonhos compartilhados e por serem grande exemplos. Amo vocês, tenho muito orgulho de tê-los como irmãos. A pequena Valentina, minha sobrinha ainda por nascer, mas já grande motivo de felicidade!

A Professora Ana Luiza da Costa Cruz Borges, pela orientação, oportunidade, dedicação, críticas e principalmente pela amizade sincera.

Ao Professor Ricardo Reis, co-orientador, grande amigo e parceiro de longa data, pela amizade, apoio e valiosas contribuições. Valeu!

Ao Prof. Elias Facury, pelo imprescindível apoio em todos os momentos, pela participação na banca de defesa e por estar sempre disposto a ajudar!

Ao Prof. Geraldo Sérgio Senra Carneiro Barbosa, pela participação na defesa, com sugestões e questionamentos que com certeza contribuíram muito para a melhoria deste trabalho.

Ao Prof. Idalmo Garcia Pereira, pelo grande auxílio nas análises estatísticas e demais contribuições a este trabalho.

Ao querido Prof. Antonio Último de Carvalho, grande mestre, por sempre estar disposto a ajudar, contribuindo com nosso crescimento e pelo apoio em todos os momentos.

Ao Prof. Iran Borges, Prof. Paulo Ricardo Paes, Profa. Fabíola Paes Leme, pela ajuda constante, contribuições e apoio na realização deste trabalho.

A todos os amigos da Equipe NUTRIRUM, pelo auxílio em todas as etapas deste experimento, pelo trabalho em conjunto, pela amizade e pelos bons momentos de convivência. Este trabalho é de todos vocês! Agradecimento especial aos amigos Alexandre, Helena e Pedro, pelo comprometimento, responsabilidade e pelas boas risadas logo de manhã! Sem vocês o fardo teria sido bem maior. Obrigado!

A Escola de Veterinária e a Universidade Federal de Minas Gerais, pela oportunidade de contínuo crescimento pessoal e profissional. Espero sempre poder retribuir de alguma forma tudo que me foi proporcionado!

A CAPES, pela bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma contribuíram e torceram pelo sucesso deste trabalho!

Muito obrigado!



# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	
2.1. Perfil metabólico em ruminantes.....	19
2.1.1. Indicadores do <i>status</i> energético.....	21
2.1.2. Indicadores do <i>status</i> proteico.....	23
2.2. Perfil enzimático.....	24
2.3. Perfil hormonal.....	25
2.3.1. Insulina.....	25
2.3.2. Cortisol.....	27
2.4. Metabolismo energético.....	28
2.4.1. Glicólise.....	29
2.4.2. Gliconeogênese.....	30
2.4.3. Glicogenólise e glicogênese.....	31
2.5. Metabolismo proteico.....	32
2.6. Metabolismo lipídico.....	34
2.6.1. Oxidação de ácidos graxos.....	35
2.6.2. Lipogênese.....	35
2.6.3. Lipólise.....	36
2.6.4. Cetogênese.....	38
2.7. Métodos de estudo do metabolismo energético e exigência nutricional.....	38
2.7.1. Calorimetria.....	38
2.7.1.1. Quociente respiratório.....	39
2.8. Metabolismo intermediário em ruminantes.....	39
2.8.1. Metabolismo no estado alimentado.....	40
2.8.2. Metabolismo na restrição alimentar.....	41
2.8.3. Fatores que afetam a composição do substrato oxidado.....	42
2.8.3.1. Concentração hormonal e de substratos.....	42
2.8.3.2. Equilíbrio no balanço de nutrientes.....	42

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

3.1. Local de execução e período experimental.....	43
3.2. Animais utilizados e instalações experimentais.....	43
3.3. Dieta experimental.....	44
3.4. Avaliação do perfil metabólico e hormonal.....	46
3.5. Coleta e processamento das amostras.....	47
3.6. Avaliação do perfil metabólico.....	49
3.7. Avaliação do perfil hormonal.....	52
3.8. Volume globular.....	53
3.9. Análises estatísticas.....	53

### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

4.1. Avaliação da influência do plano nutricional no perfil metabólico e hormonal.....	55
4.2. Avaliação do perfil metabólico e hormonal em garrotes submetidos a período de jejum de 72 horas, durante avaliação das exigências nutricionais pela técnica respirométrica.....	69
4.3. Avaliação do perfil metabólico e hormonal em garrotes submetidos à realimentação pós-jejum.....	87

<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>100</b>
---------------------------	------------

<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>101</b>
---	------------

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Garrotes F1 Holandês x Gir alojados no Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal da Escola de Veterinária de UFMG.....44
- Figura 2.** a) Procedimento de coleta de sangue por punção da veia/ artéria coccígea; b) sangue coletado em tubo sem anticoagulante; c) material após ser centrifugado, para obtenção do soro; d) material após ser centrifugado, para obtenção do plasma; e) soro/ plasma armazenado em eppendorfs; f) Analisador Bioquímico Cobas Mira Plus®, utilizado para as análises bioquímicas.....48

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição das dietas experimentais.....	45
<b>Tabela 2.</b> Concentrações plasmáticas médias de glicose, expressas em mg/dL e mmol/L, nos grupos ganho livre, ganho médio e manutenção.....	55
<b>Tabela 3.</b> Valores médios da concentração plasmática de insulina (uU/ml) e valores transformados em $\log (x+1)$ , nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	57
<b>Tabela 4.</b> Concentrações plasmáticas médias de beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -HBO), ácidos graxos não esterificados (AGNE), expressos em mmol/ L, colesterol (Col) e triglicerídeos (Trig), expressos em mg/ dL, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	60
<b>Tabela 5.</b> Concentrações plasmáticas de ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dl) nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	63
<b>Tabela 6.</b> Concentrações plasmáticas de proteína total, albumina e globulinas, expressas em mg/ dL, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	64
<b>Tabela 7.</b> Concentrações plasmáticas das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT), expresso em UI, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	67
<b>Tabela 8.</b> Concentrações plasmáticas médias de glicose, expressas em mg/dL e mmol/L, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h de jejum), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	70
<b>Tabela 9.</b> Concentrações plasmáticas médias de insulina (uU/ml) e cortisol (mmol/L), e valores transformados em $\log (x+1)$ , durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h de jejum), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	73

<b>Tabela 10.</b> Concentrações plasmáticas médias de beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE), expressos em mmol/ L, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h de jejum), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	74
<b>Tabela 11.</b> Concentrações plasmáticas médias de AST e GGT, expresso em UI, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h de jejum), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	78
<b>Tabela 12.</b> Concentrações plasmáticas médias de triglicerídeos e colesterol, expressas em mg/dL, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h de jejum), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	80
<b>Tabela 13.</b> Concentrações plasmáticas médias de ureia e creatinina, expresso em mg/dL, e valor do hematócrito, expresso em %, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h de jejum), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	81
<b>Tabela 14.</b> Concentrações plasmáticas médias de proteína total, albumina e globulinas, expressos em mg/dL, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h de jejum), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	85
<b>Tabela 15.</b> Concentrações plasmáticas médias de glicose, expressas em mg/dL e mmol/L, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h de realimentação), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	87
<b>Tabela 16.</b> Concentrações plasmáticas médias de insulina (uU/ml) e cortisol (mmol/L), e valores transformados em $\log(x+1)$ , durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h, 72h de realimentação), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	90
<b>Tabela 17.</b> Concentrações plasmáticas médias de beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE), expressos em mmol/L, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h, 72h de realimentação), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....	91

**Tabela 18.** Concentrações plasmáticas médias de AST e GGT, expresso em UI, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h, 72h de realimentação), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....94

**Tabela 19.** Concentrações plasmáticas médias de triglicerídeos e colesterol, expressas em mg/dL, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h, 72h de realimentação), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....95

**Tabela 20.** Concentrações plasmáticas médias de ureia e creatinina, expressas em mg/dL, e valor do hematócrito, expresso em %, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h, 72h de realimentação), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....96

**Tabela 21.** Concentrações plasmáticas médias de proteína total, albumina e globulinas, expressas em mg/dL, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h, 72h de realimentação), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.....99

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Relação entre a concentração plasmática de glicose (mg/dL) e tempo de jejum (0, 24, 48 e 72 horas), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.....71
- Gráfico 2 -** Relação entre as concentrações plasmáticas de  $\beta$ -BHB e o tempo de jejum (0, 24, 48 e 72 horas), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.....75
- Gráfico 3 -** Concentrações plasmáticas de AGNE (mmol/L) e o tempo de jejum (0, 24, 48 e 72 horas), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.....76
- Gráfico 4 -** Concentrações plasmáticas de ureia (mg/dL) e o tempo de jejum (0, 24, 48 e 72 horas), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.....83
- Gráfico 5 -** Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL) e tempo de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.....88
- Gráfico 6-** Concentrações plasmáticas de  $\beta$ -BHB (mmol/L) e o tempo de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.....92
- Gráfico 7-** Concentrações plasmáticas de AGNE (mmol/L) e o tempo de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.....93
- Gráfico 8-** Concentrações plasmáticas de ureia (mg/dL) e o tempo de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.....97

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH: hormônio adrenocorticotrófico  
ADP: adenosina difosfato  
AGL: ácidos graxos livres  
AGNE: ácidos graxos não esterificados  
AGV: ácido graxo volátil  
AST: aspartato aminotransferase  
ATP: adenosina trifosfato  
CNF: carboidratos não fibrosos  
Col: colesterol  
CRF: corticotropina  
EB: energia bruta  
EDTA: ácido etilenodiaminotertracético  
EE: extrato etéreo  
EM: energia metabolizável  
FADH<sub>2</sub>: flavina-adenina dinucleótido  
FDA: fibra em detergente ácido  
FDN: fibra em detergente neutro  
GGT: gama glutamil transferase  
GH: hormônio do crescimento  
IGF-1: fator de crescimento à insulina tipo 1  
LHS: lipase hormônio sensível  
MS: matéria seca  
NAD: nicotinamida adenina  
NADH: nicotinamida adenina dinucleotídio (NADH)  
NRC: National Research Council  
PB: proteína bruta  
PM: proteína metabolizável  
QR: quociente respiratório  
RIA: radioimunoensaio  
SNC: sistema nervoso central  
TGI: trato gastrointestinal  
Trig: triglicerídeos  
UI: unidade internacional  
VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade  
β-BHB: beta-hidroxibutirato



## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar o perfil metabólico e hormonal de garrotes durante avaliação das exigências nutricionais pela técnica da respirometria. Foram realizadas três análises distintas: avaliação dos planos nutricionais frente ao perfil metabólico e hormonal; avaliação do perfil metabólico e hormonal em garrotes submetidos a período de jejum de 72 horas e durante a realimentação pós-jejum. Foram utilizados 15 garrotes F1 (Gir x Holandês), com peso vivo inicial médio de 304 kg. Estes animais foram distribuídos ao acaso em três grupos, recebendo dietas para proporcionar ganhos leves (grupo denominado manutenção), ganhos intermediários (grupo denominado ganho médio) e ganhos livres de peso (grupo denominado ganho livre). As variáveis analisadas foram os hormônios cortisol e insulina e os componentes glicose, beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB), ácidos graxos não esterificados (AGNE), ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, globulinas, triglicerídeos, colesterol, gama-glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST) e o hematócrito. Avaliando-se o plano nutricional frente ao perfil metabólico e hormonal, observa-se que os diferentes planos alimentares impostos promoveram diferenças quanto à glicemia e insulinemia, tendo os animais do grupo manutenção os menores valores destes componentes. Embora recebessem dieta que atendiam no mínimo suas exigências energéticas de manutenção, o menor nível nutricional foi capaz de alterar o perfil metabólico e hormonal dos animais deste grupo. O período de jejum de 72 horas caracterizou-se por redução na concentração de glicose nas primeiras 48 horas e recuperação dos níveis deste componente no tempo máximo do jejum, entre 48 e 72 horas. Isto associado à evidente mobilização de reservas lipídicas e proteicas durante o jejum, que variou entre os grupos, sendo maior nos animais do grupo de ganho livre. A resposta dos animais ao jejum alimentar imposto evidencia a eficiência dos mecanismos de manutenção da homeostase energética nestes, garantindo uma condição fisiológica adequada. O período de realimentação promoveu significativa recuperação do *status* energético logo nas primeiras 24 horas. Os efeitos da mobilização de reservas corporais foram transitórios nos animais, não provocando prejuízo ou disfunção no metabolismo hepático. A respirometria é uma técnica acurada para avaliação das exigências nutricionais em bovinos, uma vez que a metodologia imposta respeita às condições fisiológicas dos animais durante a avaliação.

**Palavras-chave:** calorimetria, crescimento, fisiologia, metabolismo, nutrição

## ABSTRACT

The objective of this work was to study the metabolic and hormonal profile of steers during evaluate of nutritional requirements by the respirometric technique. Three separate analyzes were performed: assessment of nutritional plans against metabolic and hormonal profile; evaluation of metabolic and hormonal profile in steers undergoing fasting period of 72 hours and during post-fasting feedback. Were used 15 steers F1 (Gir x Holstein) with an average initial weight of 304 kg. These animals were randomized allocated into three groups and fed diets to provide mild gains (group called maintenance), intermediate gains (group called average gain) and free weight gains (group called free gain). The variables analyzed were cortisol, insulin, glucose, beta-hydroxybutyrate ( $\beta$ -BHB), non-esterified fatty acids (NEFA), urea, creatinine, total protein, albumin, globulin, triglycerides, cholesterol, gamma glutamyl transferase (GGT), aspartate aminotransferase (AST) and hematocrit. Evaluating the nutritional plan against metabolic and hormonal profile, it is observed that different taxes eating plans promoted differences in blood glucose and insulin, and the animals of group maintenance have the lowest values of these components. While receiving diet that met their minimum energy requirements for maintenance, the low nutritional level was able to alter the metabolic and hormonal profile of this group of animals. The fasting period of 72 hours was characterized by a reduction in the concentration of glucose within the first 48 hours and recovery levels of this component in the maximum time of fasting, between 48 and 72 hours. This clearly associated with mobilization of lipid and protein reserves during fasting, which varied between groups, being higher in group free gain. The response of animals to fasting demonstrates the efficiency of mechanisms for maintaining energy homeostasis in these ensuring adequate physiological condition. The feedback period promoted significant recovery of energy status in the very first 24 hours. The effects of mobilization of body reserves were transient in animals, causing no damage or dysfunction in hepatic metabolism. The respirometry is a technique for accurately evaluating the nutritional requirements in cattle, since the methods imposed with regard to the physiological conditions of the animal during the evaluation.

**Key-words:** calorimetry, growth, metabolism, nutrition, physiology

## 1. INTRODUÇÃO

A eficiência produtiva e econômica dos sistemas de produção de bovinos é altamente dependente de medidas racionais de manejo alimentar dos animais. Por ser o componente de maior custo no processo de produção de carne e/ ou leite, a alimentação requer atenção especial.

A maioria dos bovinos brasileiros (94%) é criada em condições extensivas de manejo, alimentando-se basicamente de capins tropicais, em especial do gênero Braquiária, suplementados ou não com sal mineralizado. Cerca de 75% do crescimento dos capins tropicais ocorre no período chuvoso, quando as concentrações de energia, proteína e fósforo estão altas. Sem suplementação adequada no período seco, ocorre o surgimento de deficiências nestes nutrientes que quase invariavelmente provocam queda de produtividade e prejuízos econômicos (MARTHA JR. et al., 2010). Essas deficiências podem desencadear várias alterações metabólicas, em especial no perfil hormonal dos animais. Nessas situações, as necessidades energéticas e proteicas para o organismo são supridas a partir da mobilização de nutrientes dos tecidos, o que resulta na perda de condição corporal e de peso ponderal.

Neste ponto, a composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete de modo fiel a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional. Os nutrientes absorvidos da dieta são distribuídos para os tecidos do corpo "respeitando" uma dada função produtiva, isto é, há a priorização de funções fisiológicas para nutrientes disponíveis e não uma distribuição homogênea (GONZÁLEZ E SCHEFFER, 2003).

Dessa forma, o conhecimento acerca do metabolismo animal frente a diferentes condições nutricionais impostas é de grande importância, e carece de maiores estudos, visto as influências destas alterações ao longo da vida produtiva do animal.

Na bovinocultura, assim como na maioria das demais atividades zootécnicas, a nutrição é o item de maior custo operacional de produção. O conhecimento preciso das exigências nutricionais dos animais aliado ao conhecimento do valor nutricional dos alimentos disponíveis são ferramentas básicas para a formulação de dietas adequadas e para o consequente aumento das eficiências produtiva, econômica e ambiental da atividade.

No estudo das exigências nutricionais de bovinos destaca-se a técnica da respirometria por suas vantagens, como o alto grau de confiabilidade e versatilidade (SILVA, 2010).

A relação dos nutrientes absorvidos, depositados no organismo ou que estão em franca utilização, com a atuação dos hormônios, os destinos metabólicos e as compensações funcionais nos animais submetidos a diferentes planos nutricionais é bastante complexa, exigindo uma revisão detalhada do assunto para plena compreensão do mesmo. Além disso, também serão discutidas algumas implicações metabólicas do jejum nos bovinos e dos mecanismos que regem estes fenômenos, o que será feito no capítulo a seguir.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2. 1. Perfil metabólico em ruminantes

Metabolismo é definido como a soma de todas as transformações químicas que ocorrem em uma célula ou em um organismo. Estas séries de reações são catalisadas por enzimas e constituem-se nas vias metabólicas. De modo geral, um precursor é convertido em um produto por meio de uma série de intermediários metabólicos chamados de metabólitos. Essas vias estão sujeitas a controles reguladores complexos que são extremamente sensíveis a alterações nas condições metabólicas (NELSON e COX, 2011).

Ainda neste referencial teórico, o metabolismo pode ser dividido em catabolismo e anabolismo. O catabolismo é a fase de degradação do metabolismo, no qual moléculas nutrientes orgânicas (carboidratos, gorduras e proteínas) são convertidas em produtos finais mais simples (ácido láctico, gás carbônico e amônia). Essas vias liberam energia, sendo uma parte conservada na forma de ATP e de transportadores de elétrons reduzidos (NADH, NADPH e FADH<sub>2</sub>), e o restante perdido como calor. No anabolismo, também chamado de biossíntese, precursores pequenos e simples formam moléculas maiores e mais complexas, incluindo lipídeos, polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos. Essas reações necessitam de fornecimento de energia, geralmente na forma de potencial de transferência do grupo fosforil do ATP e do poder redutor de NADH, NADPH e FADH<sub>2</sub> (NELSON e COX, 2011).

Assim, a avaliação do metabolismo e *status* nutricional de um rebanho pode ser realizada mediante a determinação de alguns metabólitos sanguíneos, uma vez que a composição bioquímica do sangue reflete de maneira confiável o equilíbrio entre o ingresso, o egresso e a mobilização dos nutrientes nos tecidos animais. Este equilíbrio é denominado homeostase, sendo que neste processo estão envolvidos complexos mecanismos hormonais. A quebra da homeostase leva à diminuição do desempenho zootécnico e, dependendo do grau de desequilíbrio, a doenças da produção. A interpretação dos componentes químicos do sangue, o perfil metabólico, pode portanto ser útil para diagnosticar desequilíbrios provenientes de falhas na capacidade do animal em manter a homeostase (GONZÁLEZ et al., 2000).

O estudo da composição bioquímica do sangue é antigo, principalmente vinculado à patologia clínica em casos individuais. Na década de 70, Payne e colaboradores em Compton (Inglaterra), ampliaram a utilização deste estudo mediante o conceito de perfil metabólico, isto é, a análise dos componentes sanguíneos aplicados a populações. O trabalho de Payne,

aplicado inicialmente a rebanhos leiteiros, foi ampliado a outras espécies, com aplicações práticas no manejo alimentar (PAYNE e PAYNE, 1987).

Existem diversos fatores ou situações nas quais as concentrações dos metabólitos aumentam ou diminuem no sangue. Estas variações são estudadas nos perfis metabólicos, tratando de identificar deficiências ou excessos de alguns nutrientes ou, também, de diagnosticar alterações bioquímicas que levam a diminuição da produção, entre outros (GONZÁLEZ et al., 2000).

A interpretação do perfil bioquímico é complexa tanto quando se refere a rebanhos quanto a indivíduos, devido aos mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólitos. Além disso, existe grande variação desses níveis em função de fatores como raça, idade, estresse, dieta, nível de produção manejo, clima e estágio fisiológico (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

A utilização do perfil metabólico em animais de produção é um método auxiliar na avaliação de rebanhos com diferentes índices produtivos e reprodutivos, atuando também como uma importante ferramenta no diagnóstico clínico de doenças metabólicas. Além disso, o correto conhecimento do perfil bioquímico e metabólico de animais de diferentes raças e/ou cruzamentos está relacionado ao entendimento das relações entre as concentrações de metabólitos e o ganho de peso dos animais (BARINI, 2007).

Para uma adequada interpretação dos valores encontrados no perfil metabólico sanguíneo, deve-se ter um correto conhecimento da fisiologia e bioquímica animal, além da fonte e da função de cada um dos metabólitos avaliados. Os métodos utilizados na sua determinação também são de suma importância (WITTWER, 1995). Além disso, para a correta interpretação do perfil metabólico é indispensável a utilização de valores de referência apropriados para a região e a população em particular. No caso da ausência desses dados, os valores referenciais a serem usados devem ser de zonas climáticas e grupos de animais similares (GONZÁLEZ et al., 2000).

Neste ponto, destaca-se a pequena quantidade de informações e trabalhos acerca do perfil metabólico e bioquímico de animais zebuínos e seus cruzamentos. Considerando animais de raças europeias, geralmente priorizam-se vacas especializadas para produção de leite e em períodos caracterizados por transtornos metabólicos, como por exemplo, no período de transição.

### 2.1.1. Indicadores do *status* energético

Embora o ruminante não utilize a glicose como combustível universal para todas as células, este substrato é de fundamental importância para manutenção energética das células nervosas, da glândula mamária, da musculatura, dos tecidos fetais e em menor grau dos eritrócitos (LENG e ANNISON, 1962). Enquanto nos monogástricos, parte considerável da glicose é proveniente da absorção intestinal oriunda da digestão dos alimentos, nos ruminantes, este metabólito é oriundo da gliconeogênese, ou seja, sintetizado indiretamente a partir de diferentes compostos orgânicos. Esta adaptação metabólica é derivada da situação em que os substratos energéticos, em especial os que contêm glicose, são intensamente fermentados no rúmen (BERGMAN, 1973).

Para a avaliação do *status* energético, não existe uma variável de eleição. Alguns autores não consideram a glicose como um indicador confiável do *status* nutricional, especialmente do *status* energético (COGGINS e FIELD, 1976; HERDT, 1988; DRACKLEY et al., 1991; HERDT, 2000). Segundo estes autores, o nível de glicose plasmático é o indicador menos expressivo do perfil para avaliar o *status* energético, devido à insensibilidade da glicemia a mudanças nutricionais e à sua sensibilidade ao estresse. Além disso, destaca-se a importância da avaliação em conjunto dos principais hormônios reguladores do metabolismo da glicose, como a insulina, glucagon, hormônio do crescimento e cortisol. A glicemia, todavia, pode ser de utilidade em condições de déficit energético severo e em animais que não estão em gestação e nem lactação. Durante o déficit energético temporário ou prolongado existe uma tendência para menor formação de glicose, o que pode acarretar em hipoglicemia (BERGMAN et al., 1973).

PAYNE e PAYNE (1987) atribuem essa dificuldade em selecionar indicadores confiáveis para prever o *status* energético à complexidade do metabolismo energético. Geralmente recomenda-se a avaliação da glicose, dos ácidos graxos livres (AGLs) e de corpos cetônicos no plasma (PAYNE e PAYNE, 1987; HERDT, 1988; GONZÁLEZ et al., 2000; HERDT, 2000).

Um dos pontos obscuros na literatura é a quantificação dos teores plasmáticos de glicose em bovinos, considerados como valores de referência por compêndios clássicos incontestes (ROSEBERGER, 1993; KANEKO et al., 1997, KANEKO et al., 2008). Os valores de referência consagrados para glicose são 2,5 a 4,16 mmol/L, segundo KANEKO et al. (1997), e 2,0 a 3,0 mmol/L, segundo PAYNE e PAYNE (1987), os quais foram determinados em vacas leiteiras ou de corte em lactação ou em gestação. Segundo ROSENBERGER (1993), os

valores estão entre 45-75 mg/dL. HERDT (2000) considera que a glicose plasmática não é uma boa variável para o status energético, já que está sujeita a uma estreita regulação homeostática.

YAMBAYAMBA, PRICE e FOXCROFT (1996) trabalhando com bezerras submetidas a dietas com restrição energética por 95 dias, observaram nos primeiros 20 dias uma queda significativa de 14% nos níveis de glicose e no dia 48, uma queda significativa de 16% em relação ao controle. Já em relação aos ácidos graxos não esterificados (AGNE), nos primeiros 20 dias ocorreu um aumento significativo de 65% e no dia 48, um aumento significativo de 109% em relação ao controle, demonstrando que durante o período de restrição alimentar, há um deslocamento no balanço energético, pois a redução na concentração de glicose sérica torna os ácidos graxos a principal fonte de energia.

Os níveis plasmáticos de  $\beta$ -hidroxibutirato têm um valor limitado como indicador do déficit energético, sendo mais úteis em circunstâncias em que a demanda de glicose no organismo é crítica, como nos casos de início da lactação e final de gestação (GONZÁLEZ et al., 2000).

RUSSEL e WRIGHT (1983) concluíram que entre glicose,  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE), a glicose é a variável menos representativa do status energético (embora seja um bom indicador quando a carência energética é severa) e que AGNE é a melhor variável associada ao referido *status*. Segundo estes autores, os AGNE respondem rapidamente, sob qualquer circunstância fisiológica ou de manejo, sendo bastante sensíveis a graus moderados de déficit energético.

Os AGNE também são suscetíveis ao efeito das catecolaminas liberadas devido ao estresse, resultando em aumento das concentrações deste. Dessa forma, seu uso é limitado em condições de campo onde existem animais pouco acostumados com manejo frequente e procedimentos de coleta de sangue (GONZÁLEZ et al., 2000).

COGGINS e FIELD (1976) submeteram vacas de corte em lactação a três concentrações de energia (90, 125 e 175% da energia requerida para manutenção) e não observaram diferenças nas concentrações sanguíneas de glicose, AGL e de corpos cetônicos.

Observa-se, portanto, que ainda há divergências entre os autores sobre a real importância da glicose na avaliação do *status* energético em bovinos. Outro fator que merece destaque na literatura é a existência de poucos relatos sobre a correlação da glicose com os principais hormônios reguladores do metabolismo energético.



### 2.1.2. Indicadores do *status* proteico

Em contrapartida às divergências quanto aos indicadores mais utilizados na avaliação do status energético, para os indicadores e/ou metabólitos para avaliação do status proteico há mais consenso na literatura.

A avaliação do status proteico pode ser abordada mediante a determinação da concentração de proteína total, albumina, relação albumina/globulinas, relação de aminoácidos não essenciais/essenciais, ureia e relação ureia/creatinina (SAUBERLICH et al., 1981; PAYNE e PAYNE, 1987).

A concentração de ureia tem sido empregada nos perfis metabólicos como um indicador do metabolismo proteico. A ureia é o produto da desintoxicação da amônia quando se condensa com o CO<sub>2</sub>, processo este que se realiza no fígado. A mesma é sintetizada em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen e sua concentração sanguínea está diretamente relacionada com os níveis proteicos da ração e da relação energia/proteína da dieta (WITTWER et al., 1993).

Além destes fatores, a deficiência de água está correlacionada com uma maior concentração de ureia sanguínea, devido a hemoconcentração resultante (GONZÁLEZ et al., 2000). Nessas circunstâncias, para poder interpretar adequadamente o perfil metabólico, é necessário medir o hematócrito, que pode identificar a hemoconcentração e assinalar uma deficiência no aporte de água, responsável pela maior concentração de ureia.

O equilíbrio energia/proteína na dieta de ruminantes é fundamental para o bom aproveitamento do nitrogênio. Alterações na dieta, sazonais ou mesmo diárias, influenciam nos níveis de ureia no sangue e o seu bom aproveitamento pelo animal.

A diminuição da concentração de proteínas totais no plasma está relacionada com deficiência na alimentação, quando descartadas causas patológicas, tais como falhas hepáticas, transtornos renais e intestinais, parasitismos e hemorragias. Estima-se que dietas com menos de 10% de proteína causem diminuição nos níveis proteicos no sangue (KANEKO et al., 1997).

Dentre as proteínas totais, a albumina é a proteína mais abundante do plasma sanguíneo, correspondendo aproximadamente a 50% das proteínas circulantes. Outras destas proteínas são as globulinas. A albumina é sintetizada no fígado e sua concentração pode ser modificada pelo aporte de proteína na ração. Entretanto, o que determina em maior medida o valor de sua concentração sanguínea é a capacidade do fígado para sintetizá-la. A hemoglobina é um

pigmento transportador de oxigênio, constituída por uma proteína, a globina e uma protoporfirina heme (GONZÁLEZ et al., 2000).

A albumina é considerada como um indicador mais sensível para avaliar o status nutricional proteico do que as proteínas totais. Valores persistentemente baixos de albumina sugerem inadequado consumo de proteínas. Em casos de subnutrição severa, a albuminemia pode cair a níveis menores de 20 g/L (SAUBERLICH et al., 1981), prejudicando seu potencial produtivo.

A energia da dieta tem efeito sobre os indicadores do metabolismo proteico, situação que tem sido bastante estudada. As mudanças na concentração sanguínea de ureia estão correlacionadas com o conteúdo de amônia ruminal e a utilização da amônia ruminal depende da atividade metabólica dos microorganismos ruminais. Estes transformam o N da amônia em proteína microbiana, processo este que requer energia. Por isto, se a ração estiver deficiente em energia, as concentrações de amônia aumentam no rúmen e conseqüentemente a concentração de ureia aumenta no sangue (GONZÁLEZ et al., 2000).

## **2. 2. Perfil enzimático**

O interesse clínico pelas enzimas séricas começou há cerca de 50 anos, quando se verificou a utilidade de algumas enzimas para o diagnóstico de doenças (ZIMERMAN e HENRY, 1982). Nos últimos anos têm-se utilizado as determinações enzimáticas como valioso meio auxiliar para diagnosticar várias enfermidades que acometem os rebanhos, assim como no estudo do perfil metabólico sanguíneo dos animais.

A medição da atividade enzimática no plasma como ferramenta auxiliar diagnóstica está fundamentada nos seguintes conceitos: no plasma sanguíneo podem ser encontradas enzimas cuja síntese e função são exercidas em nível intracelular, mas que podem sair para a corrente circulatória, após a morte celular. Sob condições normais, estas enzimas têm baixa atividade no plasma. Como a concentração intracelular das enzimas é bem maior que no plasma, danos celulares relativamente pequenos podem levar a aumentos significativos da atividade das enzimas no plasma. Além disso, aumentos da atividade enzimática no plasma permitem fazer inferência sobre o lugar e o grau de dano celular, uma vez que muitas enzimas são específicas de órgãos. Dentre as enzimas de maior interesse para avaliação do status energético e estudo do perfil metabólico destacam-se a aspartato aminotransferase (AST) e a gama glutamiltransferase (GGT) (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

A enzima aspartato aminotransferase (AST) é encontrada principalmente no fígado, nos eritrócitos e nos músculos esquelético e cardíaco. O significativo aumento da AST sérica sugere lesão hepática grave e difusa (SANTOS et al., 2007). Isto pode ocorrer devido à lesão hepato-celular secundária a excessiva mobilização lipídica, o que pode ocorrer em situações de déficit energético que promovam excessiva mobilização de tecido adiposo na tentativa de manter a homeostase. Por isso, destaca-se a importância de sua dosagem em situações de restrição alimentar e balanço energético negativo (ROBERTS e REID, 1993).

Em conjunto com a dosagem da AST, faz-se necessário também a análise da enzima gama glutamiltransferase (GGT), que ocorre em todas as células com exceção das células musculares. Sua atividade é alta nos rins e no fígado, mas somente a GGT de origem hepática é encontrada no plasma (SANTOS et al., 2007). O aumento da atividade desta enzima ocorre em afecções hepatobiliares com colestase e também é importante no diagnóstico e avaliação da função hepática (DIRKSEN, 1993).

### **2.3. Perfil hormonal**

A partição de nutrientes é reconhecidamente regulada por vários hormônios e fatores de crescimento. Sendo assim, é de extrema importância, além das alterações metabólicas, uma análise concomitante do perfil hormonal, em especial no que concerne aos hormônios que regulam a utilização de carboidratos e gorduras, principais fontes de energia para os bovinos (GONZÁLEZ et al., 2000).

#### **2.3.1. Insulina**

A insulina é um hormônio polipeptídico originário das células beta do pâncreas, sendo um dos principais reguladores do estoque e produção de carboidratos. Promove a síntese de glicogênio, lipídeos e proteína, agindo principalmente nos músculos, tecido adiposo e no fígado, assim como inibe todos os processos catabólicos no organismo animal (CUNNINGHAM, 2004).

Vários fatores provavelmente determinam as concentrações de insulina: resposta à alimentação, sinais nervosos, hormônios gastrintestinais, aminoácidos e ácidos graxos voláteis, particularmente o ácido propiônico, principal precursor gliconeogênico no ruminante. Segundo BERGMAN et al. (1970), as concentrações de insulina foram mais altas, quando a produção de glicose foi maior, sendo sua secreção normalmente estimulada pelo

aumento da quantidade desta na circulação sanguínea. Com níveis altos de insulina há uma assimilação tecidual da glicose mais rápida, seguida por um declínio da concentração de insulina, enquanto a concentração de glicose se mantém. Neste ponto, a insulina destaca-se como principal hormônio regulador da utilização da glicose pelos tecidos extra-hepáticos em ruminantes. Além disso, a insulina também está diretamente envolvida com o eixo somatotrófico, regulando a síntese e disponibilidade de outros hormônios importantes, como GH e IGF-1 (RENAVILLE et al., 2002).

A insulina é um importante hormônio anabólico que desempenha um papel significativo na regulação de inúmeras vias metabólicas, aumentando a captação de glicose, estimulando seu armazenamento na forma de glicogênio e sua utilização como substrato para a lipogênese; aumentando o fluxo na via glicolítica e na via das pentoses; inibindo a gliconeogênese, reduzindo assim a produção hepática de glicose e inibindo a formação de corpos cetônicos (BERNE e LEVY, 2004).

Não há dúvida de que a insulina é o centro da regulação do metabolismo tanto nos ruminantes como em outros mamíferos. Em relação aos monogástricos, os ruminantes absorvem uma quantidade menor de glicose diretamente do trato gastrointestinal. Conseqüentemente, é esperado que a insulina tenha um papel menos importante na regulação da glicose e no metabolismo dos carboidratos nos ruminantes (PRIOR e SMITH, 1982). A glicose constitui o fator estimulante de maior importância na secreção de insulina, sendo a relação insulina-glicose plasmática uma sigmóide. Não ocorre praticamente nenhuma secreção de insulina abaixo do limiar de glicose plasmático, nos monogástricos 2,8 mmol/L, valor este ainda não determinado em ruminantes, em vista da complexa regulação do metabolismo da glicose nestes (BERNE e LEVY, 2004).

Animais submetidos à má nutrição apresentam uma queda significativa no volume celular, na concentração de insulina e nos valores dos hormônios tireoidianos. A carência energética, o jejum prolongado ou certas enfermidades geram um quadro de hipoglicemia e conseqüentemente um menor estímulo para a produção e secreção de insulina (OETZEL, OLSON E CURTIS, 1988).

É importante ressaltar que a maioria dos estudos a respeito do comportamento da insulina e as influências do plano nutricional têm sido realizados avaliando-se períodos curtos de subnutrição e/ ou carência energética. Estudos avaliando diferentes planos nutricionais impostos em médio e longo prazo e suas interferências nos principais hormônios reguladores do metabolismo animal são escassos, particularmente quando se trata de animais zebuínos e seus cruzamentos.

### 2.3.2. Cortisol

Os glicocorticoides, dentre os quais destaca-se o cortisol, são produzidos pela zona fasciculada e pela zona reticular do córtex adrenal, sendo importantes mediadores na regulação de todos os aspectos do metabolismo, seja diretamente ou através de interação com outros hormônios (CUNNINGHAM, 2004).

O cortisol é um importante mediador do metabolismo intermediário, exercendo efeitos no metabolismo dos carboidratos, proteínas e gorduras. No metabolismo dos carboidratos, o cortisol reduz a utilização da glicose pelas células, reduz a glicogênese e aumenta a glicogenólise, promovendo como consequência o aumento da glicemia. Neste ponto, o cortisol atua principalmente na gliconeogênese hepática, principalmente a partir da conversão de aminoácidos em carboidratos. No metabolismo das proteínas, o cortisol faz com que as células, de um modo geral, reduzam a síntese e aumentem a lise das mesmas, promovendo assim uma redução das proteínas e aumento na quantidade de aminoácidos circulantes. No fígado o efeito hormonal ocorre ao contrário, aumento na síntese e redução na lise proteica. Como consequência, há aumento na quantidade de proteínas plasmáticas. No metabolismo das gorduras, o cortisol aumenta a mobilização de ácidos graxos dos tecidos adiposos e a utilização das gorduras pelas células para produção de energia. O resultado final é uma tendência a aumentar os níveis de glicose sanguínea (NDIBUALONJI, 1995).

Enquanto o cortisol e a insulina têm efeitos semelhantes sobre o metabolismo de glicogênio hepático, seus efeitos sobre o uso periférico da glicose são diferentes. Os glicocorticoides inibem a captação de glicose e o metabolismo nos tecidos periféricos, particularmente no músculo e células adiposas, deixando este metabólito mais disponível como combustível para alguns órgãos vitais (CUNNINGHAM, 2004).

Existem diversos fatores que influenciam na secreção de cortisol, muitos ainda não bem esclarecidos. Um importante e conhecido fator estimulante da secreção de cortisol relaciona-se com o estresse. Qualquer condição que cause estresse físico (lesões teciduais diversas, como fraturas, entorses, contusões musculares, traumas, queimaduras, entre outros), dor, infecções, fome, sofrimento e outros, estimula o hipotálamo a secretar o fator de liberação da corticotropina (CRF). Este fator estimula a hipófise anterior a aumentar a secreção de ACTH. O ACTH estimula a córtex da adrenal a aumentar a secreção de cortisol (CUNNINGHAM, 2004).

Além dessas ações específicas sobre o metabolismo dos ruminantes, os glicocorticoides (cortisol) têm efeito importante sobre o sistema imune dos mesmos. Dentre as ações destaca-se a inibição da produção de anticorpos, da fagocitose, da produção de fatores ativadores de

linfócitos e da produção de fatores de crescimento das células T, dentre outros (MUNCK et al., 1984).

Simultaneamente ao aumento dos níveis de cortisol ocorre a liberação de catecolaminas, principalmente a adrenalina, elevando o débito cardíaco e a pressão arterial, aumentando o fornecimento de substratos aos tecidos que são essenciais para a defesa imediata do organismo (GRAHAM et al., 1997).

Neste ponto destaca-se não somente a relação entre cortisol e o estresse, mas principalmente a influência deste hormônio na disponibilização de diferentes substratos para os tecidos animais. Partindo-se do princípio que a oxidação destes diferentes substratos no corpo produz calor, enquanto consome oxigênio, torna-se extremamente importante o estudo do comportamento hormonal em animais submetidos à avaliação das exigências nutricionais pela técnica respirométrica. Nesta, a estimativa da produção de calor é feita pela quantificação do oxigênio consumido e gás carbônico e metano produzidos, por meio da mensuração das trocas gasosas. Portanto, qualquer fator que determine variação nas concentrações circulantes de cortisol e como consequência altere os efeitos deste no metabolismo animal devem ser bem avaliados.

#### **2.4. Metabolismo energético**

Os carboidratos são componentes fundamentais no metabolismo energético. Nos ruminantes representam de 70 a 80% da dieta do animal e são fundamentais para satisfazer as suas necessidades de energia, síntese de proteína microbiana, manutenção e saúde do animal, além das exigências para a produção (VAN SOEST, 1994; KOZLOSKI, 2002).

A fermentação dos carboidratos no rúmen dá origem à produção de ácidos graxos voláteis (AGVs), que representam a principal fonte de energia para os ruminantes, atendendo até 80% das exigências diárias de energia do animal (KOZLOSKI, 2002; PAULINO e SARTORI, 2006).

Os principais ácidos graxos voláteis produzidos pelos microrganismos do rúmen são o ácido acético, o ácido propiônico e o ácido butírico. Em dietas principalmente a base de forragem, a proporção de ácidos graxos voláteis é de aproximadamente 65-70% de ácido acético, 15-25% de ácido propiônico e 5-10% de ácido butírico (VAN SOEST, 1994), sendo que a energia presente nos ácidos graxos é cerca de 75 a 80% da energia originalmente presente nos carboidratos fermentados. Do ponto de vista bioquímico a glicose é utilizada como principal fonte de energia para os ruminantes por um número reduzido de órgãos.

Apesar da grande oferta de ácidos graxos voláteis para os tecidos, o sistema nervoso central requer primariamente glicose para satisfazer as suas exigências energéticas. (KOZLOSKI, 2002).

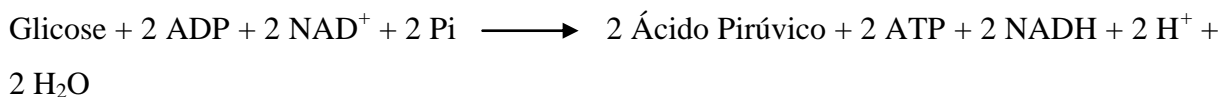
Durante o metabolismo microbiano que ocorre nos pré-estômagos dos ruminantes os carboidratos provenientes da dieta são transformados em ácidos graxos voláteis e pequenas quantidades de glicose chega ao intestino para ser absorvida. Como consequência, os ruminantes são dependentes da gliconeogênese para a manutenção dos níveis de glicose no sangue. Por outro lado, a ação da microbiota proporciona ao ruminante a possibilidade de aproveitar alimentos fibrosos, ricos em celulose e hemicelulose, o que não ocorre na maioria dos monogástricos (PAULINO e SARTORI, 2006).

O ácido acético é o maior precursor para a lipogênese e o ácido propiônico é o maior precursor para a gliconeogênese, sendo responsável pela produção de cerca de 50% de glicose no fígado. (RESENDE et al., 2006).

O fígado é um órgão vital na regulação do metabolismo energético, desempenhando um papel fundamental na manutenção do equilíbrio entre a captação, síntese e armazenamento da glicose e a degradação da mesma. Isto exige a regulação de duas importantes vias metabólicas, a gliconeogênese e a glicogenólise, que resultam na produção de glicose no fígado. Além disso, as vias metabólicas opostas, de utilização da glicose, a glicólise e a glicogênese, também devem ser reguladas (ROSA et al., 1992; NORDLIE et al., 1999).

#### **2.4.1. Glicólise**

A maior parte dos monossacarídeos que entram na célula microbiana são fermentados pelas bactérias ruminais pela via glicolítica (HOBSON e STEWART, 1997; KOZLOSKI, 2002). A glicólise ou via de Embden-Meyerhof, é uma via metabólica na qual uma molécula de glicose é degradada em uma série de reações catalisadas por enzimas, gerando duas moléculas com três átomos de carbono, o piruvato. Durante as reações sequenciais da glicólise, parte da energia livre da glicose é conservada na forma de ATP e NADH. No entanto, apenas uma pequena percentagem da energia total contida na glicose é conservada nestes, visto que a glicose é parcialmente oxidada. As duas moléculas de piruvato formadas pela glicólise ainda contêm a maior parte da energia potencial química existente na glicose, energia esta que pode ser extraída por reações oxidativas no ciclo do ácido cítrico e na fosforilação oxidativa, proporcionando assim maior rendimento energético. A glicólise ocorre no citosol da célula, sendo seu balanço global (KOZLOSKI, 2002):



A glicólise tem como função principal a oxidação parcial de compostos de carbono, geralmente com seis átomos de carbono, em compostos mais simples, gerando também energia no processo. O ácido pirúvico é o principal intermediário metabólico no rúmen e é formado através do catabolismo de açúcares pelas bactérias ruminais. A partir do piruvato várias vias metabólicas podem ser utilizadas até a formação dos produtos finais da fermentação, que são principalmente os ácidos graxos voláteis (AGV), o dióxido de carbono e o metano (HOBSON e STEWART, 1997). Dessa forma, este processo gera ATP para os microorganismos ruminais e ácidos graxos voláteis (AGV) para nutrir energeticamente as células e órgãos do ruminante.

A via glicolítica é precisamente regulada, sendo esta regulação alcançada pela interação entre o consumo de ATP, a regeneração de NADH e principalmente a regulação de enzimas chaves da via, dentre as quais destacam-se a hexoquinase, a fosfofrutoquinase e a piruvato quinase. Em uma escala de tempo um pouco maior, a glicólise é regulada pelos hormônios glucagon, adrenalina e insulina. Em períodos de restrição alimentar, o principal carboidrato de reserva, o glicogênio, em ruminantes, também podem entrar na via glicolítica. Após clivagem catalisada pela enzima glicogênio fosforilase forma-se glicose-1-fosfato, que posteriormente pode ser convertida em glicose-6-fosfato, que entra na glicólise (NELSON e COX, 2011).

#### **2.4.2. Gliconeogênese**

A gliconeogênese constitui a via metabólica inversa da glicólise, convertendo o ácido pirúvico ou piruvato, ou outros compostos intermediários, em glicose. Esta via metabólica é essencial para a produção de glicose e ocorre predominantemente no fígado ou no rim em casos de subnutrição, quando as reservas de glicogênio se esgotam (VAN SCHAFTINGEN e GERIN, 2002; MAUGHAN, 2005).

Os precursores importantes da glicose são basicamente compostos de três carbonos, como o lactato e o piruvato, assim como certos aminoácidos. No caso dos ruminantes existem algumas diferenças significativas. Como visto anteriormente, os ácidos graxos voláteis constituem os principais produtos finais da digestão fermentativa dos carboidratos, e quase toda a glicose disponível para o animal é originária de gliconeogênese. Por outro lado, a mobilização das reservas de glicogênio hepático nos ruminantes é pouco significativa. Deste



modo, os animais ruminantes vivem num estado contínuo de gliconeogênese (KOSLOSKI, 2002), processo este que embora seja energeticamente dispendioso, é essencial para o organismo animal.

O ácido propiônico é o principal ácido graxo precursor para a síntese de glicose no fígado, produzindo 50% do total da glicose (PAYNE e PAYNE, 1987) e em algumas condições pode ser responsável por até 65% desse total (HERDT, 2000). O propionato é um composto de três carbonos, que entra no ciclo do ácido cítrico, após a adição de mais um carbono, no ponto do succinato. A maior parte do propionato absorvido no rúmen é metabolizado no epitélio ruminal ou no fígado. Apenas uma pequena parte escapa desta metabolização, cai na circulação sistêmica e é metabolizada nos tecidos periféricos.

Além do propionato, o lactato também é importante substrato para a gliconeogênese no ruminante, podendo contribuir com até 15% da glicose formada (PAYNE e PAYNE, 1987). Este pode ser originado da dieta e do metabolismo do propionato e sendo um composto de três carbonos sofre a adição ou remoção de uma unidade, podendo assim, entrar em diferentes pontos do ciclo do ácido cítrico.

Os aminoácidos glicogênicos (como aspartato, alanina, glutamina) contribuem entre 25 e 30% da glicose neoformada. Intermediários do ciclo do ácido cítrico com quatro, cinco e seis carbonos, tais como citrato, isocitrato,  $\alpha$ -cetoglutarato, succinil-CoA, succinato e fumarato, podem sofrer oxidação a oxaloacetato e dessa forma levar a produção de glicose (BERGMAN, 1973; PAYNE e PAYNE, 1987).

Além destes, o glicerol proveniente da lipólise também pode gerar glicose, porém em menores quantidades que as outras fontes citadas. Neste processo, a fosforilação seguida pela oxidação neste composto gera diidroxiacetona-fosfato, um intermediário da gliconeogênese hepática (MARUTA, 2005).

Dentre as enzimas que controlam a gliconeogênese, podemos destacar a piruvato carboxilase, a fosfoenolpiruvato carboxilase, a frutose-1,6-difosfatase e a glicose-6-fosfatase. As vias da glicólise e da gliconeogênese são reguladas de forma que, quando o fluxo de glicose através da primeira aumenta, o fluxo de piruvato em direção à glicose diminui, e vice-versa (NELSON e COX, 2011).

### **2.4.3. Glicogenólise e glicogênese**

Em se tratando do metabolismo energético, há que se considerar também o metabolismo do glicogênio. O glicogênio é, nos animais, uma forma de armazenamento de glicose

facilmente mobilizável. Como já referido anteriormente, as reservas de glicogênio hepático para os ruminantes são praticamente insignificantes (menos de 3% do peso seco do fígado) (BOLLEN et al., 1998).

Dentre as vias metabólicas referentes ao metabolismo do glicogênio, destacam-se a glicogenólise, que consiste na degradação do glicogênio, e a via metabólica oposta de síntese do glicogênio, a glicogênese. O mecanismo geral de síntese e degradação do glicogênio é idêntico em todos os tecidos animais. Dentre as enzimas que catalisam diretamente estas reações, destacam-se a glicogênio fosforilase e a glicogênio sintase, sendo esta a principal enzima limitante da formação do glicogênio, que catalisa a reação de síntese do mesmo a partir da glicose-6-fosfato, proveniente da glicólise (BOLLEN et al., 1998).

## **2.5. Metabolismo proteico**

Proteínas são macromoléculas presentes nas células com funções diversas, como componentes estruturais, funções enzimáticas, funções hormonais, recepção de estímulos hormonais e armazenamento de informações genéticas (NELSON e COX, 2011).

As proteínas fornecem os aminoácidos necessários para a manutenção das funções vitais, reprodução, crescimento e lactação, tendo um papel fundamental no organismo, além de representar um dos principais componentes dos alimentos. Os ruminantes são caracterizados pela presença de uma população microbiana que degrada grande parte da proteína e outros compostos nitrogenados dos alimentos, além de utilizarem também compostos nitrogenados não proteicos, como a ureia. Esses microorganismos degradam a fração da proteína degradável no rúmen e utilizam peptídeos, aminoácidos e amônia para a síntese de proteína microbiana e multiplicação celular (VAN SOEST, 1994).

Assim, as principais consequências da fermentação ruminal, relativas aos compostos nitrogenados, são a síntese de proteína microbiana e a produção de amônia no interior do rúmen (KOSLOSKI, 2002).

A maior parte do nitrogênio consumido pelos animais é convertido em amônia pela atividade bacteriana ruminal. A eficiência de utilização desta pelos microorganismos para a síntese microbiana depende, entre outros fatores, principalmente da disponibilidade de energia no rúmen. A maior parte da amônia não utilizada para a síntese microbiana é absorvida através da parede ruminal e transportada ao fígado pela veia porta. No fígado, a amônia, composto com elevado grau de toxicidade, é transformada através do ciclo da ureia. Nesta

conversão, duas moléculas de amônia são convertidas em uma molécula de ureia, processo este que envolve um gasto energético (VAN SOEST, 1994).

O ciclo da ureia possui uma importante interconexão com o ciclo do ácido cítrico, também conhecida como "bicicleta de Krebs". Na terceira etapa do ciclo da ureia, ocorre a clivagem do arginino-succinato pela arginino-succinase, formando arginina livre e fumarato. Este último entra na mitocôndria para unir-se aos intermediários do ciclo do ácido cítrico, sendo esta a única reação reversível. A importância desta interconexão de vias é a redução do custo energético da síntese da ureia, uma vez que o ciclo da ureia isolado requer a hidrólise de quatro ligações fosfato ricas em energia. Entretanto, também ocorre uma conversão líquida de oxaloacetato em fumarato, além da regeneração do oxaloacetato e a consequente produção de NADH, sendo que esta molécula pode gerar até 2,5 ATPs durante a respiração mitocondrial (NELSON e COX, 2011).

Finalizada a produção de ureia no fígado, a mesma pode ser excretada, via urina, e parte pode retornar ao rúmen via saliva ou corrente sanguínea. Esse processo é conhecido como reciclagem de nitrogênio, sendo um processo contínuo que permite que este N seja reutilizado pelos microorganismos ruminais. Esta reciclagem proteica assume especial importância em dietas deficientes em proteína (GONZÁLEZ et al., 2000).

Portanto, em vista da particularidade dos ruminantes quanto ao metabolismo proteico, a proteína metabolizável (PM) no intestino destes é representada pelo total de aminoácidos provenientes da digestão intestinal da proteína microbiana produzida no rúmen, da proteína não degradável no rúmen e da proteína endógena. Outra importante via relacionada ao metabolismo proteico consiste da degradação dos aminoácidos, que podem ser importante na produção de energia para o organismo. O fluxo ao longo das vias catabólicas é bastante variado, dependendo do balanço entre as necessidades para processos biossintéticos e a disponibilidade de um determinado aminoácido. De forma geral, as vias convergem para formar seis produtos principais, os quais podem entrar no ciclo do ácido cítrico. A partir deste ponto, os esqueletos carbonados tomam vias distintas (KOZLOSKI, 2002).

Dentre os aminoácidos, sete deles, fenilalanina, tirosina, isoleucina, leucina, triptofano, treonina e lisina, são, inteiramente ou em parte, degradados em acetil-CoA e/ou acetoacetil-CoA, que podem gerar corpos cetônicos no fígado, onde são convertidos em acetoacetato, e então em acetona e  $\beta$ -hidroxibutirato. Esses são aminoácidos cetogênicos. Os aminoácidos que são degradados em piruvato,  $\alpha$ -cetoglutarato, succinil-CoA, fumarato e/ou oxaloacetato podem ser convertidos em glicose e glicogênio pela gliconeogênese e glicogênese, respectivamente. Esses são aminoácidos glicogênicos. Alguns aminoácidos são tanto

cetogênicos quanto glicogênicos, como o triptofano, fenilalanina, tirosina, treonina e isoleucina. A via de degradação ou catabolismo dos aminoácidos é especialmente crítica para a sobrevivência de animais em dietas ricas em proteína ou durante períodos de restrição alimentar, sendo esta última condição de maior ocorrência em situações práticas (NELSON e COX, 2011).

No organismo animal, as proteínas estão constantemente sendo degradadas e sintetizadas, sendo este processo contínuo de síntese e degradação denominado reciclagem proteica. O sistema digestivo e o fígado se destacam por possuírem uma alta taxa de renovação proteica, sendo responsáveis por, cerca de, 40% da síntese diária total de proteína do organismo (NEWSHOLME et al., 2003).

## **2.6. Metabolismo lipídico**

Os lipídios compreendem um grupo de substâncias que apresentam propriedades físicas e químicas semelhantes, sendo miscíveis entre si (GUYTON, 1986). Em razão da insolubilidade em água, os lipídios não exercem força osmótica no sistema biológico podendo ser estocados em grandes quantidades no tecido adiposo. Dentre os lipídios considerados importantes no organismo animal destacam-se os ácidos graxos não esterificados, os triglicerídeos, os fosfolipídios e o colesterol (KANEKO et al., 1997).

Dentre as diversas funções dos lipídios destacam-se: estoque de energia e isolamento térmico, exercida pelos triglicerídeos; controle da permeabilidade da membrana celular; constituição dos ácidos biliares e precursor de hormônios esteroides, como progesterona, estrógeno e testosterona (NELSON e COX, 2011).

Os primeiros estudos do metabolismo ruminal de lipídios evidenciaram que os ácidos graxos ingeridos na alimentação, durante os processos de fermentação pelos microorganismos ruminais, sofrem duas importantes transformações: lipólise e biohidrogenação (JENKINS, 1993).

Os lipídios constituem-se também em importante fonte energética no organismo. Os ácidos graxos necessários ao organismo podem ter origem na dieta alimentar, ou ter uma origem endógena, isto é, serem formados a partir dos carboidratos ou ainda a partir de alguns aminoácidos. Podem ser oxidados imediatamente após a absorção pelo intestino, ou serem armazenados como triglicerídeos no tecido adiposo e utilizados em situações de carência alimentar. Os lipídios são armazenados nos adipócitos na forma de gotículas lipídicas, com um centro de ésteres de esteróis e triacilgliceróis envoltos por uma monocamada de

fosfolípídeos. Os ácidos graxos constituem assim um importante combustível metabólico, em particular para o tecido muscular. As principais vias metabólicas dos lipídios são a oxidação dos ácidos graxos, lipogênese, lipólise e cetogênese, que serão descritas na sequência (DUCHARME e BICKEL, 2008).

### **2.6.1. Oxidação de ácidos graxos**

A oxidação mitocondrial ocorre em três etapas. Na primeira etapa,  $\beta$ -oxidação, os ácidos graxos sofrem remoção oxidativa de sucessivas unidades de dois carbonos na forma de acetil-CoA, começando pela extremidade carboxílica da cadeia de acil graxo. Por exemplo, o ácido palmítico de 16 carbonos passa sete vezes pela sequência oxidativa, perdendo dois carbonos como acetil-CoA em cada passagem. Ao final de sete ciclos, os dois últimos carbonos do palmitato permanecem como acetil-CoA. O resultado global deste processo é a conversão da cadeia de 16 carbonos do palmitato em oito grupos acetil de dois carbonos das moléculas de acetil-CoA (NELSON e COX, 2011).

Na segunda etapa, os grupos acetil da acetil-CoA são oxidados a  $\text{CO}_2$  no ciclo do ácido cítrico, que também ocorre na matriz mitocondrial. A acetil-CoA derivada dos ácidos graxos assim entra em uma via de oxidação final comum com a acetil-CoA derivada da glicose procedente da glicólise e da oxidação do piruvato. As duas primeiras etapas da oxidação dos ácidos graxos produzem os transportadores de elétrons reduzidos NADH e  $\text{FADH}_2$ , que na terceira etapa doam elétrons para a cadeia respiratória mitocondrial, tendo o oxigênio comoceptor final dos elétrons e a fosforilação concomitante de ADP a ATP, sendo esta a forma de conservação da energia liberada pela oxidação dos ácidos graxos (NELSON e COX, 2011).

### **2.6.2. Lipogênese**

A lipogênese é um processo extra-mitocondrial no qual o acetil-CoA é o principal substrato, sendo este processo mais ativo no fígado e no tecido adiposo. O primeiro passo da lipogênese é a conversão de acetil-CoA em malonil-CoA pela acetil-CoA carboxilase. Essa enzima é inativa na forma fosforilada e é ativada por defosforilação em resposta à insulina. Em ruminantes, o acetato para lipogênese origina-se no rúmen. Quando o *status* energético está em níveis adequados o excesso de precursores e substratos pode ser convertido primariamente em acetil-CoA, o qual sofre sucessivas reações até a formação de compostos

que sejam armazenados no tecido adiposo, como por exemplo os triacilgliceróis (DOOLITTLE et al., 1987).

### **2.6.3. Lipólise**

É o processo pelo qual ocorre a degradação das reservas energéticas lipídicas, sob a forma de triglicerídeos, para a produção de energia. Sob condições de aumento de demanda de energia, tal como estresse ou sobrecarga de trabalho, a lipólise é rapidamente aumentada pela ativação da lipase hormônio-sensível (LHS), mediada por vários hormônios metabólicos, por exemplo, adrenalina, noradrenalina, cortisol, hormônios tireoideos, glucagon e hormônio do crescimento (DUCHARME e BICKEL, 2008).

Durante a lipólise, no tecido adiposo, os triglicerídeos são hidrolisados havendo a produção de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e glicerol. Em pH sanguíneo com valores próximos a neutralidade, quase a totalidade dos AGNE ou ácidos graxos livres passam dos adipócitos ao sangue, e se ligam à proteína albumina para serem transportados ao fígado (DOOLITTLE et al., 1987).

Estes dois compostos atingem o fígado e, nos hepatócitos, o glicerol pode ser utilizado na produção de glicose, ou pode ser recombinado com os AGNE para a produção de triglicerídeos que ficam armazenados no órgão. Cerca de 95% da energia biologicamente disponível dos triacilgliceróis residem nas suas três cadeias longas de ácidos graxos, sendo que apenas 5% são fornecidos pela porção glicerol (BRUSS, 1997).

O destino normal dos ácidos graxos hepáticos é a sua incorporação nos triacilgliceróis e fosfolipídeos que são, então, exportados para o plasma como VLDL. Em situações de mobilização excessiva de tecido adiposo, devido à períodos de balanço energético negativo acentuado, a absorção hepática de ácidos graxos excede a capacidade de síntese e secreção de VLDL, fator este especialmente crítico em ruminantes que têm capacidade muito limitada para secretar VLDL. Sob tais condições, a deposição hepática de triacilgliceróis aumenta, podendo levar ao acúmulo destes no fígado, condição patológica denominada de esteatose hepática ou fígado gorduroso (KOSLOSKI, 2002).

### **2.6.4. Cetogênese**

Nos ruminantes a cetogênese ocorre no fígado com posterior liberação dos corpos cetônicos para a corrente sanguínea. Nestes, a produção de corpos cetônicos não é somente

devido ao metabolismo do ácido graxos, mas também produtos da digestão normal, e combustíveis metabólicos importantes que ocupam uma parte integral do esquema da homeostase de combustíveis energéticos (CUNNINGHAM, 2004).

No processo de digestão normal, os corpos cetônicos podem ser formados a partir de ácidos graxos voláteis, principalmente o butirato, que é convertido em  $\beta$ -hidroxibutirato no fígado ou no epitélio ruminal. Isso demonstra que o ruminante recebe suprimento constante de corpos cetônicos, mesmo não ocorrendo extensa mobilização de ácidos graxos (BAIRD, 1982).

Os principais corpos cetônicos são acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona, todos compostos de quatro carbonos que são formados dentro da mitocôndria. O acetoacetato é formado a partir do acetato, podendo ser convertido em  $\beta$ -hidroxibutirato no citosol da célula, processo este único no ruminante. Os corpos cetônicos são importantes fontes de energia, podendo entrar diretamente no ciclo do ácido cítrico via acetato ou serem oxidados diretamente nos rins, coração, tecido muscular e glândula mamária. O cérebro, que preferencialmente utiliza glicose como combustível, pode se adaptar ao uso do acetoacetato ou  $\beta$ -hidroxibutirato sob condições de jejum prolongado, quando a glicose está indisponível (BAIRD, 1982).

A cetogênese possui estreita relação com a gliconeogênese, sendo que na maioria das circunstâncias estas vias estão diretamente relacionadas e a compreensão dos mecanismos responsáveis por esta relação é importante no entendimento de transtornos metabólicos severos. A disponibilidade de oxaloacetato, composto de quatro carbonos, para o ciclo do ácido cítrico é proposta como o fator de regulação entre as duas vias (BROCKMAN, 1979).

Quando a demanda por glicose aumenta, os compostos de quatro carbonos são removidos da mitocôndria para produção de glicose. Com isso, reduzem-se as concentrações de compostos de quatro carbonos na mitocôndria, levando a deficiência destes para condensar com compostos de dois carbonos, formar compostos com seis carbonos e entrar no ciclo do ácido cítrico. Dessa forma, ocorre acúmulo de compostos de dois carbonos na mitocôndria que são removidos via produção de corpos cetônicos. Assim, quando ocorre aumento na demanda por compostos de quatro carbonos para a gliconeogênese, ocorre o aumento e promoção da cetogênese.

Outro fator importante na regulação da cetogênese refere-se à translocação dos ácidos graxos na mitocôndria. O sistema de transporte dos ácidos graxos na mitocôndria é regulado por fatores metabólicos e endócrinos, especialmente ligados à glicose. Os AGNE entram na mitocôndria combinados com uma molécula chamada carnitina, sendo este transporte

dependente da enzima carnitina palmitoiltransferase (CPT-1). A atividade desta é regulada por um intermediário da via da síntese de ácidos graxos, o Malonil - CoA. Este tem sua concentração aumentada quando as concentrações de glicose estão altas. Neste caso, a concentração da Malonil - CoA está elevada, havendo diminuição da atividade da CPT-1, menor transporte de AGNE para dentro das mitocôndrias e conseqüentemente menor produção de corpos cetônicos. Este mecanismo é particularmente importante para ácidos graxos de cadeia longa, uma vez que os ácidos graxos de cadeia média e curta entram diretamente sem ação da CPT-1 (KANEKO et al., 1997; HERDT, 2000).

Os níveis sanguíneos aumentados de acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato podem reduzir o pH sanguíneo, causando a condição conhecida como acidose. Corpos cetônicos no sangue em níveis muito elevados podem levar a condição conhecida como cetose (GONZÁLEZ et al., 2000).

Outros pontos de controle importantes da síntese de corpos cetônicos são exercidos por hormônios reguladores do metabolismo, dentre os quais destacam-se a insulina, o glucagon, o hormônio do crescimento (GH) e o cortisol, sendo que estes três últimos promovem estímulo à lipólise, direcionando mais AGNE para o fígado, ação inversa à da insulina (BROCKMAN, 1979).

## **2.7 Métodos de estudo do metabolismo energético e exigência nutricional**

A energia potencial oriunda do metabolismo dos alimentos (oxidação dos substratos) se armazena nos organismos vivos na forma de compostos de alta energia, sendo o ATP a principal forma de transferência de energia. Uma vez que os diversos substratos seguem rotas metabólicas diferentes, a energia produzida pelos carboidratos, gorduras e proteínas é convertida em ATP com diferentes eficiências, 75, 90 e 45%, respectivamente. À medida que a energia originada de um substrato tenha menor eficiência de utilização, uma maior produção de calor será gerada, o que significa que todos os processos metabólicos podem ser quantificados em função da produção de calor (CHWALIBOG, 2004).

### **2.7.1. Calorimetria**

A calorimetria é uma técnica que parte do princípio que a oxidação bruta de qualquer composto orgânico consome  $O_2$  e produz ATP,  $CO_2$  e  $H_2O$  (VAN SOEST, 1994; MILLA et al., 2008). Na calorimetria indireta, quantifica-se o intercâmbio gasoso (quantidade de  $O_2$



consumido e de CO<sub>2</sub> e metano produzidos) (RESENDE et al., 2006; MILLA et al., 2008) e a produção de calor é calculada através da estequiometria dos substrato oxidados (RODRÍGUEZ et al., 2007).

### **2.7.1.1. O quociente respiratório**

Denomina-se quociente respiratório (QR) a relação de mols CO<sub>2</sub> produzidos / mols de O<sub>2</sub> consumidos. Desta forma, o QR é definido como a relação entre o volume de dióxido de carbono produzido e de oxigênio consumido ( $QR = VCO_2/VO_2$ ).

O metabolismo dos carboidratos, gorduras e proteínas possuem um QR característico, portanto, o valor obtido é de grande utilidade na estimativa de quais substratos estão sendo catabolizados, servindo como indicador geral da normalidade do metabolismo animal (KLEIBER, 1972; MILLA et al., 2008). A oxidação completa da glicose produz um QR de 1 e a oxidação dos lipídios um QR de 0,7, com valores intermediários para as proteínas (0,83) (WALSBERG e WOLF, 1995).

Neste ponto, associado à avaliação do QR, demonstra-se a grande importância da análise do perfil metabólico e clínico de animais submetidos à técnica respirométrica, o qual associado ao perfil bioquímico torna possível determinar os substratos que estão sendo catabolizados, assim como averiguar se o animal encontra-se o mais próximo possível da homeostase, durante o período de mensuração, fato este que traduz em maior acurácia e confiabilidade nos dados obtidos da produção de calor.

## **2.8. Metabolismo intermediário em ruminantes**

O termo metabolismo intermediário frequentemente é aplicado às atividades combinadas de todas as vias metabólicas que interconvertem precursores, metabólitos e produtos de baixo peso molecular. Embora contínuo, o fluxo de matéria e energia varia em intensidade ao longo do tempo e entre os diferentes tecidos, dependendo, por exemplo, do nível de atividade ou da condição fisiológica do organismo. No entanto, em vez de contínua, a obtenção de substratos do meio ambiente ocorre de forma intermitente, durante a ingestão de alimentos (KOZLOSKI, 2002).

O efeito da restrição alimentar no metabolismo intermediário é há muito tempo alvo de diversos estudos. FEUERS et al., já em 1988, estudavam os efeitos da restrição calórica nas várias enzimas hepáticas intervenientes no metabolismo energético, utilizando ratos como

animal experimental. Entretanto, vários estudos têm sido desenvolvidos de forma a investigar os efeitos da restrição alimentar no metabolismo animal, como por exemplo, na capacidade de gliconeogênese hepática, atividade da via glicolítica, catabolismo proteico, etc. (TILLMAN et al., 1996; HAGOPIAN et al., 2003; VELEZ E DONKIN, 2005).

A regulação do metabolismo é fundamental para que um organismo possa responder de modo rápido e eficiente a variações das condições ambientais, alimentares ou patológicas. A regulação metabólica é feita pela ação de hormônios específicos e enzimas reguladoras de processos metabólicos chave. Esta regulação é essencial pois permite regular toda a atividade da via metabólica, possibilitando a célula a ajustar-se às suas necessidades energéticas (KOSLOSKI, 2002).

### **2.8.1. Metabolismo no estado alimentado**

O estado alimentado pode ser considerado também como o estado absorptivo, no qual existe uma entrada significativa na circulação de substratos provenientes do trato gastrointestinal após a ingestão de um alimento. Neste estado os nutrientes absorvidos podem ter três destinos: ser imediatamente utilizados como energia; entrar na síntese de componentes básicos necessários para o crescimento e manutenção de células e tecidos ou ser armazenados como glicogênio e gordura, garantindo energia para o período pós- absorptivo (PAULINO e SARTORI, 2006).

Nos ruminantes, esta condição é relativamente mais variável, menos aguda e mais demorada, comparada aos monogástricos, 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, no caso dos ruminantes, durar até cerca de 8 horas após a ingestão do alimento, ao passo que nos monogástricos manter-se-ia apenas durante as primeiras 4 horas (KOSLOSKI, 2002).

Logo que o organismo é alimentado, há um aumento no teor de glicose. A grande disponibilidade de glicose no sangue, proveniente da absorção intestinal, presente neste estado faz com que ela seja utilizada imediatamente como fonte de energia na maioria dos tecidos, pela glicólise (PAULINO e SARTORI, 2006). No entanto, no caso dos ruminantes, a glicose raramente é absorvida em quantidades significativas, sendo os ácidos graxos voláteis os principais nutrientes absorvidos. Deste modo, a gliconeogênese hepática é um processo constante nos ruminantes e, inclusive, mais intensa no estado alimentado que no jejum (KOSLOSKI, 2002). Após a ingestão de alimentos as substâncias nutritivas são absorvidas a

partir do intestino: os carboidratos e lipídios são oxidados nos tecidos periféricos, a fim de permitir as reações de síntese e manter as funções celulares. O metabolismo no estado alimentado é assim caracterizado por uma fase de armazenamento de combustíveis, ao mesmo tempo em que há grande utilização imediata da glicose como fonte de energia (PAULINO e SARTORI, 2006).

### **2.8.2. Metabolismo na restrição alimentar**

Como descrito anteriormente, a viabilidade do organismo depende da manutenção da homeostase, ou seja, de um equilíbrio dinâmico com o meio ambiente. Apesar de os animais não apresentarem uma ingestão contínua de alimento, os tecidos necessitam continuamente de energia. Há assim uma necessidade vital por um suprimento constante de nutrientes fornecedores de combustíveis para manter as funções metabólicas basais do organismo, garantindo a oferta contínua de energia e substratos para os processos oxidativos e sintéticos (PAULINO e SARTORI, 2006).

No período após a ingestão de alimentos, devido ao fluxo abundante de nutrientes, há predomínio dos processos anabólicos sobre os catabólicos. Porém na ausência de alimentos o catabolismo prevalece sobre o anabolismo. Deste modo, os animais desenvolveram a capacidade de adaptar o seu metabolismo, pelo menor, até certos limites, no sentido de resolver o problema do excesso ou da escassez de substratos, que ocorrem durante a ingestão de um alimento ou durante o jejum, respectivamente (GOTTSCHLICH, 2000).

Na situação metabólica de restrição alimentar, o animal passa a mobilizar e a utilizar fontes energéticas alternativas aos ácidos graxos voláteis para suprimir as necessidades energéticas (KOSLOSKI, 2002). Este período é caracterizado por alterações de curto prazo que mobilizam nutrientes armazenados para manter a disponibilidade de substratos energéticos para tecidos metabolicamente ativos. Estas alterações visam manter as concentrações plasmáticas de glicose numa faixa aceitável, para que o cérebro tenha quantidades adequadas de substrato (PAULINO e SARTORI, 2006). Em situações de carência energética prolongada o glicogênio armazenado no fígado esgota-se rapidamente e gliconeogênese passa a ser a única fonte de glicose do organismo a partir deste momento. Esta glicose vai servir sobretudo o cérebro e os tecidos que dependem essencialmente da sua energia, e tanto o fígado como o músculo passam a utilizar os ácidos graxos, em vez da glicose, como substrato energético (BOLLEN et al., 1998).

No tecido adiposo a lipólise é estimulada, aumentando a concentração de ácidos graxos livres no sangue. Os lipídios são mobilizados e constituem o principal substrato para oxidação nos tecidos periféricos, seja na forma de ácido graxos, ou após serem convertidos no fígado em corpos cetônicos e utilizados como substrato para a gliconeogênese (PAULINO e SARTORI, 2006), como visto anteriormente. Nestas situações, a síntese proteica está diminuída e as proteínas musculares estão sendo quebradas, liberando os aminoácidos para a corrente sanguínea (KOSLOSKI, 2002; PAULINO e SARTORI, 2006).

### **2.8.3. Fatores que afetam a composição do substrato oxidado**

#### **2.8.3.1. Concentração hormonal e de substratos**

A composição dos compostos combustíveis oxidáveis e o QR estão controlados primariamente pelas mudanças na concentração dos substratos e hormônios circulantes, os quais refletem o grau de reposição das reservas do organismo. As alterações na concentração dos substratos durante a fase pós-prandial e suas respectivas taxas de utilização são determinados principalmente devido a liberação de insulina (FLATT, 1995).

#### **2.8.3.2. Equilíbrio no balanço de nutrientes**

Embora a ingestão de nutrientes e os níveis de atividade física tenham variação durante o dia, a estabilidade do peso e composição corporal em longo prazo é possível devido alterações compensatórias na composição dos substratos oxidados. A habilidade do organismo para oxidar uma variedade de substratos é possível devido ao intercâmbio na utilização de intermediários metabólicos derivados dos carboidratos, gorduras e proteínas para produção de ATP, permitindo assim a adaptação ao aporte alimentar que é variável quanto a sua distribuição (FLATT, 1995).

A evolução conduziu ao desenvolvimento de respostas regulatórias metabólicas e endócrinas que dão prioridade a oxidação de aminoácidos e glicose, quando proteínas e carboidratos são consumidos. Grande consumo de carboidrato promove o incremento nas taxas de oxidação deste nutriente como o objetivo de manter as concentrações de glicogênio dentro dos valores de referência (FLATT, 1995).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Local de execução e período experimental**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal - LAMACA, localizado nas dependências do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, em Belo Horizonte (MG). A etapa de coleta de dados e amostras ocorreu do dia 10 de fevereiro de 2012 a 14 de junho de 2012, totalizando 126 dias de duração.

As análises bioquímicas foram realizadas durante os meses de junho e julho no Laboratório de Patologia Clínica, pertencente ao Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

As análises hormonais foram realizadas durante o mês de julho, no Instituto Gênese de Análises Científicas (IgAc), localizado na cidade de São Paulo, SP.

#### **3.2. Animais utilizados e instalações experimentais**

Foram utilizados 15 garrotes inteiros, pertencentes ao grupo genético F1 Holandês x Gir, provenientes de fazendas comerciais de leite do estado de Minas Gerais (MG). O peso vivo inicial médio dos animais foi de 304 kg e a idade aproximadamente de 18 meses.

Os animais foram mantidos em regime de confinamento, alojados em galpão de alvenaria, cuja cobertura ultrapassava os cochos em 2,5 m. Os cochos eram do tipo *tie-stall*, isto é, cada animal esteve restrito a um cocho e um bebedouro individuais durante todo o experimento. Para proporcionar maior conforto e evitar a formação de escaras de decúbito, cada baia foi equipada com estrados de borracha (dimensões 1,10; 0,90 e 0,1 m, respectivamente, para comprimento, largura e espessura).

A limpeza das instalações era realizada duas vezes por dia, havendo uma lavagem completa pela manhã e apenas remoção das fezes na parte da tarde.



Figura 1: Garrotes F1 Holandês x Gir alojados no Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal da Escola de Veterinária da UFMG (Fonte: Arquivo pessoal).

### 3.3. Dieta experimental

Os animais foram distribuídos ao acaso em três grupos, sendo cinco animais por grupo, que constituíam planos nutricionais com diferentes níveis de ingestão de energia metabolizável. As dietas eram compostas de silagem de milho e concentrado à base de milho, farelo de soja, núcleo mineral, óxido de magnésio, flor de enxofre, calcário e ureia, fornecido na proporção volumoso:concentrado de 58:42, com base na matéria seca (MS).

As dietas foram formuladas de acordo com o NRC (2000) para proporcionar ganhos leves de peso (0,100 kg/dia, grupo denominado Manutença), ganhos intermediários de peso (0,500 kg/dia, grupo denominado Ganho Médio) e ganhos livres de peso (0,900 kg/dia, grupo denominado Ganho Livre). Os animais do grupo de ganho livre receberam alimentação à vontade, permitindo sobras de 10 a 15%, enquanto os animais dos grupos baixo e médio ganhos receberam alimentação restrita de acordo com os ganhos formulados.

A dieta foi fornecida duas vezes ao dia, às 8 h e às 15 h, em quantidades diariamente ajustadas de forma a manter as sobras para os animais em torno de 10% do ofertado, somente para os animais do grupo de ganho livre.

**Tabela 1 - Formulação e composição química das dietas experimentais**

Item	Tratamento		
	Mantença	Ganho Médio	Ganho Livre
Ingrediente, g/kg			
Silagem de milho	580,1	580,1	580,1
Milho moído	247,2	247,2	285,3
Farelo de soja	130,5	130,5	115,3
Núcleo mineral	28,7	28,7	12,6
Ureia	3,8	3,8	2,9
Óxido de magnésio	6,3	6,3	0,6
Flor de enxofre	3,0	3,0	2,8
Calcário	0,4	0,4	0,4
Composição analisada			
		g/kg	
MS	507,9	507,9	506,2
PB	147,0	147,0	139,7
EE	24,9	24,9	24,0
FDN	367,5	367,5	370,8
FDA	192,3	192,3	192,4
CNF	390,7	390,7	414,2
		Mcal/kg MS	
EB	4,18	4,18	4,29
ME	2,72	2,56	2,53

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; CNF: carboidratos não fibrosos; EB: energia bruta; EM: energia metabolizável.

### **3.4. Avaliação do perfil metabólico e hormonal**

Ao longo do período experimental foram realizadas três avaliações distintas, como descritas a seguir:

#### **3.4.1. Avaliação da influência do plano nutricional no perfil metabólico e hormonal**

O objetivo foi avaliar as influências dos diferentes planos nutricionais impostos (manutenção, ganho de peso restrito e ganho de peso livre) sobre os perfis metabólico e hormonal. As amostras foram coletadas após 100 dias de fornecimento das diferentes dietas para os animais dos três grupos.

#### **3.4.2. Avaliação do perfil metabólico e hormonal em garrotes submetidos a período de jejum de 72 horas**

O objetivo foi avaliar as influências do jejum alimentar de 72 horas, utilizado para mensuração da energia líquida de manutenção pela técnica respirométrica, sobre os perfis metabólico e hormonal. Nesta etapa, o animal permanecia as primeiras 48 horas de jejum fora da câmara e o período de 48 - 72 horas de jejum dentro da câmara.

Neste período, de acordo com a metodologia preconizada para a técnica respirométrica, com o objetivo de minimizar os efeitos da desidratação, era oferecido soro oral aos animais a partir de 24 horas de jejum, sendo o mesmo retirado no tempo de 32 horas de jejum, sendo que 16 horas após o fornecimento do soro o animal era introduzido na câmara respirométrica para mensuração da produção de calor, na qual permanecia por 24 horas. Neste período foram realizadas quatro coletas de dados e amostras, nos seguintes tempos: início do jejum (0h), 24 horas de jejum (24h), 48 horas de jejum (48h) e 72 horas de jejum (72h).

#### **3.4.3. Avaliação do perfil metabólico e hormonal em garrotes submetidos a realimentação pós-jejum**

O objetivo foi determinar as influências da realimentação pós-jejum sobre o perfil metabólico e hormonal. Neste período foram realizadas quatro coletas de dados e amostras, nos seguintes tempos: início da realimentação (0 h), correspondente ao término do período de



jejum (72h), 24 horas pós-realimentação, 48 horas pós-realimentação e 72 horas pós-realimentação.

### **3.5. Coleta e processamento das amostras**

As amostras de sangue para dosagem dos componentes bioquímicos e hormonais foram coletadas por punção da veia/artéria coccígea utilizando-se sistema de coleta a vácuo.

Em cada momento pré-determinado, conforme descrito anteriormente, foram coletados: 5 mL de sangue em anticoagulante ácido etilenodiaminotertracético (EDTA), para a realização das análises de beta-hidroxiacetato (BHA), ácidos graxos não esterificados (AGNE) e todos exames hematológicos; 5 ml de sangue em anticoagulante fluoreto de sódio para a determinação da glicose plasmática; e 10 ml de sangue em tubos siliconizados, sem anticoagulante, para obtenção do soro, a partir do qual foram realizadas as análises de bioquímica clínica e as análises hormonais.

As coletas de sangue foram sempre realizadas no início da manhã, por volta das 6 horas, para não haver interferência do ciclo circadiano sobre os níveis sanguíneos de alguns componentes analisados, em especial o cortisol, conforme recomendação de GRAF e SEEN (1999). Após os procedimentos de coleta, os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 3000 RPM, em centrífuga Centerbio ®.

As alíquotas de plasma e soro foram pipetadas utilizando-se pipetas de precisão e transferidas para tubos plásticos de 0,5 mL (eppendorfs), os quais foram armazenados à - 20° C, até a realização das análises bioquímicas e hormonais. As análises bioquímicas foram realizadas em Analisador Bioquímico Cobas Mira Plus®. As análises hormonais foram realizadas através da técnica de radioimunoensaio de fase sólida, sendo este procedimento terceirizado à empresa Instituto Gênese de Análises Científicas (IgAC).

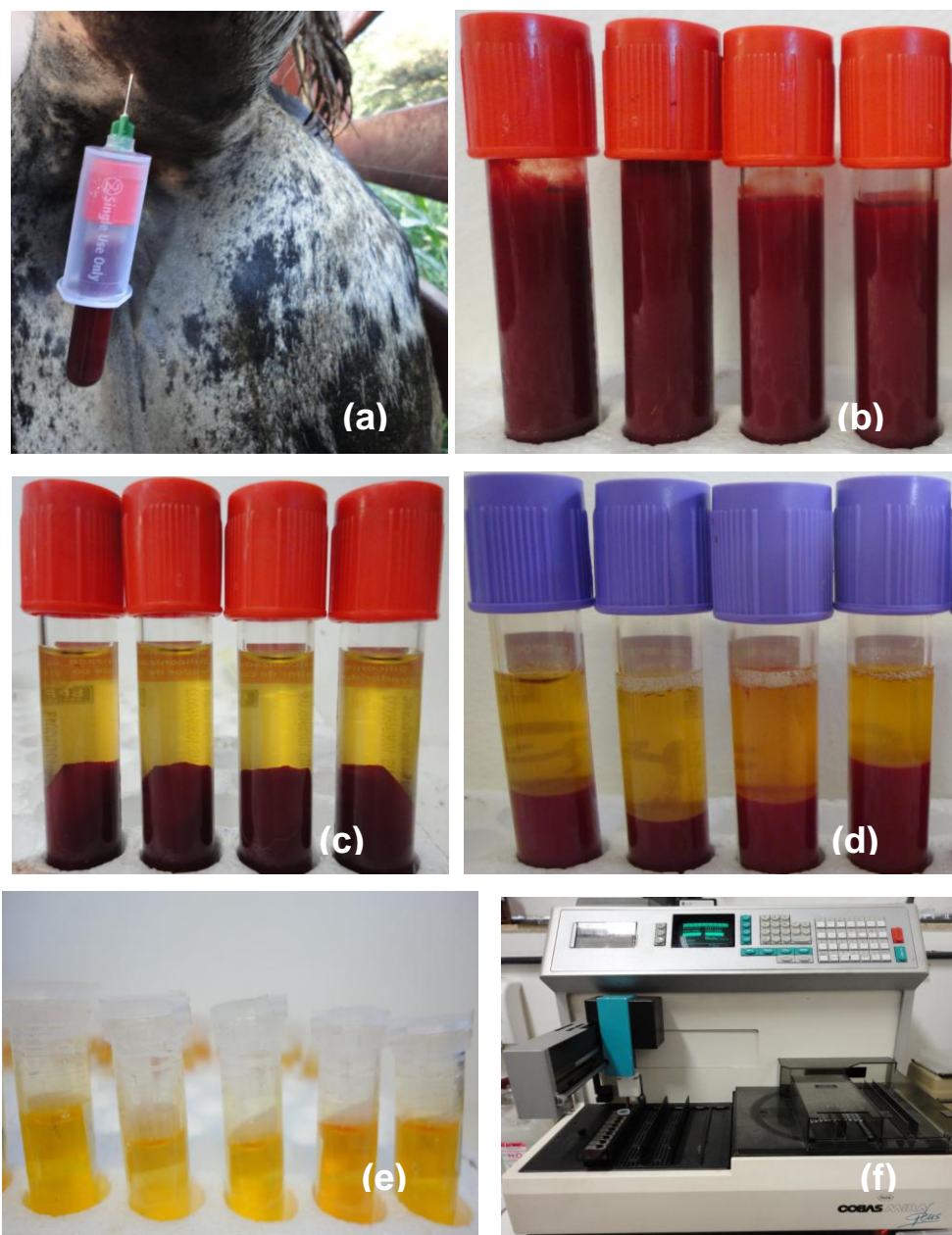


Figura 2: a) Procedimento de coleta de sangue por punção da veia/ artéria coccígea por sistema de coleta à vácuo; b) sangue coletado em tubo sem anticoagulante, para obtenção do soro; c) material após ser centrifugado, para obtenção do soro (sobrenadante); d) material após ser centrifugado, para obtenção do plasma (sobrenadante), em tubo com EDTA; e) soro/ plasma armazenado em eppendorfs; f) Analisador Bioquímico Cobas Mira Plus®, utilizado para as análises bioquímicas, pertencente ao Laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária da UFMG.

### **3.6. Avaliação do perfil metabólico**

#### **3.6.1. Concentração plasmática de glicose**

A concentração plasmática de glicose foi determinada utilizando-se kit comercial SYNERMED®, seguindo o método IR enzimático (N-sulfopropil) oxidase para determinação da glicose. O princípio do método está baseado na oxidação da glicose em ácido glicurônico e peróxido de hidrogênio pela enzima glicose-oxidase. Na presença de peroxidase o peróxido de hidrogênio formado na reação anterior reage com a 4-aminofenazona e com o 2,4-diclofenol, produzindo antipirilcloroquinonimina que desenvolve coloração rósea, cuja intensidade mantém relação direta com a quantidade de glicose presente na amostra.

#### **3.6.2. Concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE)**

A concentração plasmática de AGNE foi determinada utilizando-se kit comercial RANDOX®, seguindo método colorimétrico. O princípio da prova está baseado na ação da Acil-CoA sintetase, na presença de ATP e cofatores, sobre os ácidos graxos livres não esterificados (AGNE). Essa Acil-CoA sintetase é oxidada, produzindo peróxido de hidrogênio, que reage na condensação de uma hidroxianilina com a aminoantipirina, ambos presentes no reagente, havendo a formação de um complexo de coloração púrpura, cuja intensidade é diretamente proporcional à quantidade de AGNE presente na amostra (ELPHICK, 1968).

#### **3.6.3. Concentração plasmática de $\beta$ - hidroxibutirato ( $\beta$ -HBB)**

A concentração plasmática de  $\beta$ - hidroxibutirato foi determinada utilizando-se kit comercial RANDOX®, seguindo método cinético enzimático para dosagem. O princípio da prova está baseado na reação desencadeada pela  $\beta$ - hidroxibutirato desidrogenase presente no reagente e que catalisa o  $\beta$ -HBO formando o acetoacetato. Concomitantemente, o NAD presente é reduzido a NADH, sendo a absorbância do NADH em 340 nm diretamente proporcional à concentração de  $\beta$ -HBO presente na amostra (WILLIAMSON et al., 1962).

#### **3.6.4. Concentração sérica de colesterol**

A concentração sérica de colesterol foi determinada utilizando-se kit comercial SYNERMED®, seguindo o método IR enzimático (N-sulfopropil) para determinação do colesterol. Por este método, o colesterol sofre a ação da colesterol esterase e posteriormente da colesterol oxidase, originando um produto intermediário e água oxigenada. A água oxigenada formada reage, na presença de peroxidase, dando origem a um complexo colorido, cuja intensidade de cor é diretamente proporcional à concentração de colesterol presente na amostra (ALLAIN et al., 1974).

#### **3.6.5. Concentração sérica de triglicerídeos**

A concentração sérica de triglicerídeos foi determinada utilizando-se kit comercial SYNERMED®, seguindo o método IR enzimático (N-sulfopropil) para determinação dos triglicerídeos. Por este método, os triglicerídeos são hidrolisados pela lipase presente no reagente, liberando glicerol, que é catalisado pela glicerol quinase e glicerol fosfato oxidase, havendo geração de peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio sofre ação da peroxidase concomitantemente à produção de um complexo colorido, a quinolaimina, devido a um sistema reagente existente composto de clorofenol e antipirina. A coloração desenvolvida é proporcional à concentração de triglicerídeos da amostra (FOSSATI e PRENCIPE, 1982).

#### **3.6.6. Concentração sérica de ureia (BUN)**

A concentração sérica de ureia foi determinada utilizando-se kit comercial SYNERMED®, seguindo o método enzimático UV (GLDH) para determinação quantitativa de ureia (BUN). Neste método, a ureia da amostra é hidrolisada pela urease para formar amônia e dióxido de carbono. A amônia serve para combinar alfa cetoglutarato e glutamato com a oxidação concomitante do NADH em NAD. Essa reação é catalisada pela enzima glutamato desidrogenase (GLDH). A taxa de diminuição da absorbância a 340 nm consequente à oxidação de NADH em NAD é diretamente proporcional à concentração de ureia.

### **3.6.7. Concentração sérica de creatinina**

A concentração sérica de creatinina foi determinada utilizando-se kit comercial SYNERMED®, seguindo o método cinético (Jaffé Modificado) para determinação quantitativa de creatinina. Neste método, a creatinina reage com os íons picrato em uma solução alcalina para formar um tautômero vermelho de picrato de creatinina que pode ser quantificado espectrofotometricamente a 505-530 nm.

### **3.6.8. Concentração sérica de proteína total**

A concentração sérica de proteína total foi determinada utilizando-se kit comercial SYNERMED®, seguindo o método colorimétrico (Biureto) para determinação das proteínas totais. Neste método, em uma solução alcalina os íons cúpricos formam um complexo púrpuro com os grupos carbonil e amino das ligações dos lipídios com a proteína. A absorvância do complexo é quantificada a 546 nm sendo diretamente proporcional à concentração de proteínas totais da amostra.

### **3.6.9. Concentração sérica de albumina**

A concentração sérica de albumina foi determinada utilizando-se kit comercial SYNERMED®, seguindo o método fotométrico usando verde de bromocresol. Neste método, a albumina liga-se ao verde de bromocresol, para formar um complexo colorido. A absorvância deste complexo é quantificada a 600 nm, e é diretamente proporcional a concentração de albumina na amostra.

### **3.6.10. Concentração sérica de globulinas**

A concentração sérica de globulina foi determinada pela diferença entre as concentrações de proteína total e albumina.

### **3.6.11. Concentração sérica da aspartato aminotransferase (AST)**

A concentração sérica da aspartato aminotransferase (AST) foi determinada utilizando-se kit comercial SYNERMED®, seguindo o método enzimático UV (IFCC) para determinação

quantitativa de aspartato aminotransferase. O aspartato aminotransferase da amostra catalisa a transferência do grupo amino do aspartato para o alfa-cetoglutarato para formar oxaloacetato e glutamato. O oxaloacetato é reduzido a malato em presença de malato desidrogenase (MDH) com a concomitante oxidação de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) reduzida a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD). A taxa resultante da diminuição da absorvância a 30 nm é diretamente proporcional à atividade de AST na amostra.

### **3.6.12. Concentração sérica de gama-glutamiltransferase (GGT)**

A concentração sérica da enzima gama-glutamiltransferase (GGT) foi determinada utilizando-se kit comercial SYNERMED®, seguindo método enzimático (Szasz modificado) para determinação quantitativa de GGT. Este método utiliza uma modificação do método desenvolvido por Szasz em que a GGT cataliza a transferência do grupo gama-glutamil do substrato gama-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida para glicilglicina resultando em 5- amino-2-nitrobenzoato que absorve a 405- 410 nm. A alteração na absorvância a 405-410 devido à formação de 5- amino- 2- nitrobenzoato é diretamente proporcional à atividade de GGT na amostra.

## **3.7. Avaliação do perfil hormonal**

### **3.7.1. Concentração plasmática de insulina**

A concentração plasmática de insulina foi determinada utilizando-se o kit Cat. PI-12k (Millipore® Porcine Insulin Radioimmunoassay - RIA). Este é um procedimento de radioimunoensaio em fase sólida em que a insulina marcada com iodo I<sup>125</sup> compete, por um período fixo de tempo, com a insulina da amostra para os sítios específicos do anticorpo anti-insulina. Devido ao anticorpo estar imobilizado na parede de um tubo de polipropileno, a simples decantação do sobrenadante é suficiente para terminar a competição e isolar a fração de insulina radiomarcada ligada ao anticorpo. A leitura é realizada em contador GAMMA, que gera um número, o qual ao ser convertido pela curva de calibração determina a concentração de insulina na amostra.

### **3.7.2. Concentração plasmática de cortisol**

A concentração plasmática de cortisol foi determinada utilizando-se o kit comercial TKCO1 CORTISOL COAT-A-COUNT. O procedimento é por radioimunoensaio de fase sólida, no qual o cortisol marcado com  $I^{125}$  compete, por um período fixo de tempo, com os sítios específicos do anticorpo. Devido ao anticorpo estar imobilizado na parede de um tubo de polipropileno, a simples decantação é suficiente para encerrar a competição e isolar a fração de cortisol radiomarcado ligado ao anticorpo. A leitura é realizada em contador GAMMA, que gera um número, o qual ao ser convertido pela curva de calibração determina a concentração de cortisol presente na amostra.

### **3.8. Volume globular**

O hematócrito foi determinado utilizando-se equipamento hematológico Abacus®, sendo o resultado expresso em %.

### **3.9. Análises Estatísticas**

#### **3.9.1. Avaliação da influência do plano nutricional no perfil metabólico e hormonal**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cada animal representando uma parcela experimental. Foram utilizados três tratamentos (grupo de ganho livre, ganho restrito e manutenção) com cinco repetições. Os parâmetros analisados, antes de serem submetidos à análise de variância, foram submetidos ao teste de normalidade de Kolgomorov & Smirnov. As variáveis que não apresentaram normalidade foram transformadas em logaritmo ( $\text{Log } x+1$ ) (SAMPAIO, 1998).

As análises de variância foram realizadas utilizando-se o procedimento GLM do pacote estatístico SAS. Verificada significância pelo teste F, as médias dos planos nutricionais foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

### **3.9.2. Avaliação do perfil metabólico e hormonal em garrotes submetidos a período de jejum de 72 horas, durante avaliação das exigências nutricionais pela técnica respirométrica**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema em parcelas subdivididas, uma vez que dois fatores foram avaliados, tratamento (fator da parcela) e tempo de jejum (fator da subparcela). Os parâmetros analisados, antes de serem submetidos à análise de variância, foram submetidos ao teste de normalidade de Kolgomorov & Smirnov. As variáveis que não apresentaram normalidade foram transformadas em logaritmo ( $\text{Log } x+1$ ).

As análises de variância foram realizadas utilizando-se o procedimento GLM do pacote estatístico SAS. Verificado significância pelo teste F, para interação significativa ou não, as médias dos planos nutricionais foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, e os tempos foram avaliados por regressão linear por meio da opção solution do mesmo procedimento estatístico GLM/SAS, considerando nível de significância de 5% de probabilidade.

### **3.9.3. Avaliação do perfil metabólico e hormonal em garrotes submetidos à realimentação pós-jejum**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema em parcelas subdivididas, uma vez que dois fatores foram avaliados, tratamento (fator da parcela) e tempo pós-jejum (fator da subparcela). Os parâmetros analisados, antes de serem submetidos à análise de variância, foram submetidos ao teste de normalidade de Kolgomorov & Smirnov. As variáveis que não apresentaram normalidade foram transformadas em logaritmo ( $\text{Log } x+1$ ).

As análises de variância foram realizadas utilizando-se o procedimento GLM do pacote estatístico SAS. Verificado significância pelo teste F, para interação significativa ou não, as médias dos planos nutricionais foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, e os tempos foram avaliados por regressão linear por meio da opção solution do mesmo procedimento estatístico GLM/SAS, considerando nível de significância de 5% de probabilidade.



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Avaliação da influência do plano nutricional no perfil metabólico e hormonal

Na tabela 2 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de glicose, expressas em mg/ dL e mmol/L, nos animais dos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 2** - Concentrações plasmáticas médias de glicose (mg/dL e mmol/L), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

<b>Grupo</b>	<b>Glicose ( mmol / L)</b>	<b>Glicose (mg/ dL)</b>
Ganho Livre	82,33 a	4,57 a
Ganho Médio	74,11 a	4,11 a
Mantença	61,83 b	3,43 b
CV (%)	7,13	7,13

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os animais do grupo de ganho livre (82,338 mg/ dL; 4,57 mmol/L) e ganho médio (74,112 mg/ dL ; 4,1173 mmol/L) tiveram concentrações plasmáticas de glicose semelhantes entre si e superiores (p<0,05) aos animais do grupo manutenção (61,836 mg/ dL; 3,4353 mmol/L).

LIMA (2005), avaliando a influência da carência energética prolongada no perfil hormonal de garrotes, obteve resultados semelhantes. Ou seja, os animais do grupo que recebeu dieta balanceada para ganho de 900g/dia apresentaram valores médios de glicose de  $4,3 \pm 0,39$  mmol/L, valor bem próximo ao obtido no presente trabalho para os animais do grupo de ganho livre. Ainda no trabalho deste autor, os animais que receberam dieta formulada para manutenção obtiveram valor médio de glicose de  $3,5 \pm 0,59$  mmol/L, também semelhante aos valores obtidos neste estudo para os animais do grupo manutenção.

Neste ponto destaca-se a escassez de valores de referência adequados para as diferentes raças bovinas. De acordo com compêndios clássicos de referência, PAYNE e PAYNE (1997) propõem que os valores de referência para glicose plasmática situam-se entre 2 - 3 mmol/L. Entretanto, estes autores não especificaram a origem dos dados, uma vez que os mesmos foram obtidos em vacas leiteiras, cujos teores são reconhecidamente mais baixos que os bovinos mais jovens ou de corte (ROWLAND, 1980; OTTO et al., 1992; SUCUPIRA, 2003).

Os valores obtidos no presente experimento estão dentro da faixa de normalidade proposta por KANEKO et al. (1997), que propõem valores de glicose entre 2,5 - 4,6 mmol/ L e por KANEKO (2008) que propõe 45-75 mg / dL para bovinos adultos. OTTO et al. (1992), utilizando bovinos de corte em crescimento, obtiveram valores de glicose entre 3,6 - 5,0 mmol/L. Estes dados demonstram a necessidade de se trabalhar com dois ou mais valores de referência para as concentrações plasmáticas de glicose obtidas em ruminantes, uma vez que a aptidão funcional, raça, sexo e estado fisiológico têm capacidade para alterar os valores de referência deste metabólito.

De acordo com os dados obtidos neste experimento, observa-se que os animais do grupo manutenção obtiveram menores concentrações plasmáticas de glicose, quando comparados com os animais dos demais grupos de ganho livre e médio. Os valores de glicemia podem ser influenciados por diversas variáveis. Em ruminantes, a glicose sistêmica é predominantemente originada da gliconeogênese hepática. Em outras palavras, ela é gerada indiretamente pela conversão de outros substratos energéticos (ácidos graxos voláteis, aminoácidos, glicerol). Dentre estes, destaca-se o propionato de origem ruminal (BERGMAN, 1973).

Embora neste estudo não tenha sido feita análise do fluido ruminal e determinação da produção e proporção dos ácidos graxos voláteis no rúmen, a dieta formulada para manutenção possivelmente proporcionou menor disponibilidade desse substrato gliconeogênico, o que resultou em menores concentrações circulantes de glicose plasmática, embora dentro dos valores de referência da literatura. Este ponto merece destaque pois evidencia que, embora em condições nutricionais distintas, os animais no presente estudo estavam em condições fisiológicas. Ou seja, os diferentes planos nutricionais impostos não levaram a um quadro de carência energética ou subnutrição, especialmente nos animais do grupo manutenção, e sim somente a um ganho de peso inferior. Isso provavelmente ocorreu porque animais com dietas mais ricas em carboidratos solúveis de fácil digestão tem aumento na proporção de ácido propiônico produzido no ambiente ruminal, por estas dietas favorecerem o maior desenvolvimento de bactérias amilolíticas, produtoras deste AGV.

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. Neste ponto destaca-se que a maioria dos trabalhos foi realizada com vacas leiteiras de raças especializadas, sendo praticamente inexistentes informações a respeito de machos zebuínos e seus cruzamentos.

Na tabela 3 estão expressos os valores médios da concentração plasmática de insulina nos animais dos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 3:** Valores médios da concentração plasmática de insulina (uU/ml) e transformados em  $\log(x+1)$ , de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

<b>Grupo</b>	<b>Insulina (uU/mL)</b>	<b>Log. Insulina</b>
Ganho Livre	21,659 a	1,355 a
Ganho Médio	13,611 ab	1,165 ab
Manutença	8,276 b	0,967 b
CV	41,87	15,55

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os animais do grupo de ganho livre (1,355) tiveram maior ( $p < 0,05$ ) concentração plasmática de insulina que os animais do grupo manutenção (0,967), sendo obtidos valores intermediários para animais do grupo de ganho médio (1,165). Estes resultados são semelhantes aos obtidos por LIMA (2005), no qual os animais do grupo de alto ganho (900 g/dia) tiveram concentrações plasmáticas de insulina superiores ( $1,00 \pm 0,22$ ) em relação aos animais submetidos à dieta para manutenção ( $0,78 \pm 0,16$ ) e também para animais submetidos à carência energética prolongada ( $0,68 \pm 0,26$ ).

A concentração plasmática de insulina está diretamente associada com os níveis plasmáticos de glicose, ou seja, quanto maior a glicemia, maior a insulinemia.

Diante da importância da insulina em toda a regulação do metabolismo animal, é importante destacar suas ações e os fatores que influenciam na sua produção e secreção. A insulina possui diversos modos de ação no metabolismo, destacando-se como hormônio regulador do metabolismo energético. Quando as concentrações plasmáticas de glicose estão elevadas, há maior estímulo para produção deste hormônio. Por outro lado, a carência energética, jejum prolongado e quadros clínicos que gerem hipoglicemia, promovem menor estímulo para a produção e secreção da mesma (SAGA et al., 1966; BERGMAN, 1973; HORNICK et al., 1998). No metabolismo energético, a insulina diminui a produção de glicose hepática através da gliconeogênese, ao mesmo tempo que aumenta a utilização de glicose no fígado, estimulando seu armazenamento na forma de glicogênio e sua utilização como substrato para a lipogênese.

Em outras palavras, a insulinemia reflete diretamente o *status* energético em ruminantes. Segundo BERNE e LEVY (2004), em monogástricos as concentrações séricas de glicose abaixo de 2,8 mmol/ L deixam de estimular o pâncreas para a secreção de insulina. Contudo, usualmente, diante a 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. Em animais recebendo dietas que atendam no mínimo suas exigências nutricionais para manutenção, como neste experimento, é esperado que predomine no metabolismo destes o estado anabólico em detrimento ao estado catabólico, com maiores concentrações plasmáticas de insulina circulantes.

Fazendo-se uma analogia dos três planos nutricionais executados neste experimento com situações práticas observadas na maioria dos sistemas de produção de pecuária de corte, alguns pontos merecem a devida reflexão. Nestes sistemas, tradicionalmente observa-se uma distribuição sazonal dos alimentos, qualitativa e quantitativamente. Ou seja, os animais durante uma parte do ano têm acesso à pastagens que suprem suas exigências energéticas e proteicas, garantindo assim o ganho de peso, e em outro período estão submetidos a pastagens deficientes, tanto em energia quanto em proteína.

Neste ponto, visto a interferência da dieta no perfil hormonal dos animais, notadamente na insulina, principal hormônio regulador do metabolismo, seria importante avaliar os efeitos desta restrição temporária no perfil hormonal e seus impactos no longo prazo, principalmente quanto à regulação do consumo e do peso vivo em ruminantes. Isto porque no sistema nervoso central (SNC) a insulina se acopla a receptores específicos, sendo que os neurônios com maior concentração de receptores de insulina são encontrados nas áreas mais importantes para o controle do consumo e do metabolismo energético no cérebro (INGVARTSEN e ANDERSEN, 2000).

Quanto a outros hormônios reguladores do metabolismo, sabe-se que os mesmos variam conforme o nível nutricional a que o animal está submetido. Segundo CHILLIARD et al. (1988), o organismo desencadeia uma série de reações para se adaptar ao déficit energético. Nas situações de carência nutricional, os ruminantes se adaptam através da redução das necessidades de manutenção por meio da diminuição da taxa de metabolismo basal, efeito este mediado pela menor concentração de hormônios tireoidianos (OETZEL et al., 1988; CHILLIARD et al., 1998).

Após período de subnutrição ou carência energética, quando o animal é submetido a dietas que permitem seu máximo desempenho, algumas alterações fisiológicas importantes

ocorrem no organismo animal, principalmente quanto às mudanças nas concentrações hormonais de insulina, hormônio do crescimento (GH), IGF-1 e hormônios tireoidianos. Dentre estas alterações destacam-se o aumento no consumo voluntário (SAINZ et al., 1995) e melhora na eficiência metabólica (BAKER et al., 1985; RYAN, 1990). Neste ponto destaca-se a extrema importância do estudo detalhado do perfil hormonal de machos submetidos a períodos de subnutrição e como isto afeta o ganho de peso do animal no médio e longo prazo.

Medidas de manejo alimentar mais eficientes passam, necessariamente, pelo correto conhecimento dos alimentos utilizados, assim como da fisiologia e do metabolismo animal. Neste ponto, sabe-se a grande influência que o *status* nutricional prévio promove. Em situações nas quais qualquer melhoria nos índices de eficiência alimentar pode incrementar os resultados obtidos, como por exemplo, em confinamentos, esse conhecimento pode ser utilizado visando a otimização do desempenho dos animais.

Nestes sistemas intensivo de engorda, na maioria dos casos, os animais que são utilizados são provenientes de sistemas de produção mais extensivos, de diferentes fazendas, tendo estes sido submetidos, portanto, a períodos de restrição alimentar variados em intensidade e duração. Animais que sofreram restrição alimentar durante certo período tem, na maioria dos casos, durante período de alimentação à vontade, desempenho e eficiência alimentar melhor que animais que não sofreram restrição.

Esta condição inclusive já está incorporada no mercado americano de confinamentos, onde animais com condição corporal melhor tem desconto em relação a animais mais magros, pois os confinadores sabem que o segundo terá um desempenho superior (SAINZ et al., 1995). Dessa forma, o conhecimento do perfil metabólico e hormonal de animais de diferentes raças e cruzamentos terminados em confinamento está relacionado ao entendimento das relações entre as concentrações de metabólitos e o ganho de peso dos animais.

Os três principais componentes do animal adulto são ossos, músculos esqueléticos e gordura, sendo este último o tecido mais variável com a taxa de crescimento. O crescimento do tecido adiposo depende de um aumento coordenado na hipertrofia e hiperplasia do mesmo. O sistema endócrino afeta o balanço entre os processos anabólicos e catabólicos no adipócito e influencia a partição da energia excedente à manutenção entre deposição de músculo, tecido adiposo, e produção de calor. Muitas pesquisas têm sido direcionadas no sentido de compreender o sistema de controle endócrino da partição de nutrientes a fim de se manipular mais eficazmente a deposição de tecido muscular e a produção de carne (WEEKES et al., 1983).

O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) é a chave para a síntese de proteína, sendo sua secreção dependente do hormônio do crescimento (GH) (HORNICK et al., 1998). A principal ação deste no metabolismo da proteína é anabólica (BUTERRY, 1983), portanto, quanto maior a concentração de GH, maior a concentração de IGF-1 e maior a síntese de proteína. O crescimento é um processo complexo e integrado que envolve a formação e aumento de muitas unidades metabólicas. Obviamente, a deposição máxima de proteína no animal, e seu consequente ganho de peso, ocorrem quando todo o metabolismo do animal favorece o anabolismo (BUTERRY, 1983).

Além destes hormônios citados, outros parâmetros sanguíneos também são indicativos do perfil e *status* metabólico em animais submetidos a diferentes planos nutricionais.

Na tabela 4 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de beta-hidroxiacetato (BHA), ácidos graxos não esterificados (AGNE), colesterol e triglicerídeos nos animais dos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 4-** Concentrações plasmáticas médias de beta-hidroxiacetato ( $\beta$ -HBA), ácidos graxos não esterificados (AGNE), expresso em mmol/ L, colesterol (Col) e triglicerídeos (Trig), expresso em mg/ dL, de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

<b>Grupo</b>	<b><math>\beta</math>-HBA (mmol / L)</b>	<b>AGNE (mmol/ L)</b>	<b>Col (mg/dL)</b>	<b>Trig (mg/dL)</b>
Ganho Livre	0,264 a	0,072 a	100,54 a	37,15 a
Ganho Médio	0,432 a	0,123 a	105,92 a	33,79 a
Manutença	0,378 a	0,113 a	100,40 a	28,64 a
CV	53,05	44,91	9,98	27,58

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) quanto às concentrações plasmáticas de beta-hidroxiacetato ( $\beta$ -HBA), ácidos graxos não esterificados (AGNE), colesterol e triglicerídeos entre os diferentes tratamentos.

Os ácidos graxos não esterificados (AGNE) e o  $\beta$ -HBA são utilizados no perfil metabólico de ruminantes como indicadores do *status* energético, estando principalmente relacionados com a taxa de mobilização de reservas lipídicas em momentos de déficit energético, sendo os indicadores mais utilizados para aferir este balanço (GONZÁLEZ, 2000). No presente experimento, visto que os animais estavam recebendo dietas que no

mínimo atendiam aos requerimentos de manutença, não era esperada a ocorrência de mobilização lipídica acentuada, o que de fato não ocorreu.

Além disso, as concentrações plasmáticas de insulina dentro dos valores de referência, indicam, conforme descrito anteriormente, que os animais estavam em estado anabólico constante. Dessa forma, não era esperado a ocorrência da mobilização de reservas lipídicas, o que seria detectado através do monitoramento dos níveis circulantes de  $\beta$ -HBO e AGNE.

Estudos conduzidos por HOCQUETTE e BAUCHART (1999) indicaram 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. Portanto, neste ponto justificam-se os baixos valores de AGNE encontrados nos diferentes tratamentos.

O beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -HBO), além de estar relacionado com a taxa de mobilização lipídica, pode também ser originado do butirato produzido na fermentação ruminal. 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  $\beta$ -HBO e o restante em acetoacetato. Por este motivo, o ruminante normalmente mantém os valores de  $\beta$ -HBO em níveis medianos.

Em relação aos componentes citados na tabela 4, existem grandes variações nos valores de referência. A literatura sobre os valores de referência do lipidograma de bovinos pode ser considerada escassa, sendo a maior parte destes trabalhos realizados em fêmeas.

Os valores obtidos de beta-hidroxibutirato encontram-se dentro do valor de referência proposto por KANEKO et al. (2008), de  $< 0,55 \text{ mmol/L} \pm 0,04$ . Os valores obtidos de ácidos graxos não esterificados (AGNE) também encontram-se dentro do valor proposto por estes autores, sendo  $< 0,4 \text{ mmol/L}$ .

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 ( $\beta$ -HBO), sendo que, de acordo com o tipo de dieta fornecida, foram estabelecidos os seguintes valores: dietas com altos teores de energia - AGNE igual a  $150,9 \pm 40,54 \text{ } \mu\text{M/L}$  e  $\beta$ -HBO igual a  $4,4 \pm 0,83 \text{ mg / dL}$ ; dietas com teores moderados de energia - AGNE igual a  $255,7 \pm 142,47 \text{ } \mu\text{M/L}$  e  $\beta$ -HBO igual a  $2,19 \pm 0,73 \text{ mg / dL}$ ; dietas com baixos teores de energia - AGNE igual a  $58,6 \pm 151,83 \text{ } \mu\text{M/L}$  e  $\beta$ -HBO igual a  $1,7 \pm 0,73 \text{ mg / dL}$ .

MARUTA (2005), ao estudar o perfil metabólico de garrotes submetidos a condições de alimentação normal, jejum e realimentação, sendo o período de jejum inferior ao imposto no

presente experimento, determinou valores plasmáticos de AGNE,  $\beta$ -HBO e glicose. Os resultados obtidos para os animais do grupo em condições normais de alimentação foram: AGNE - entre  $108 \pm 33$  e  $124 \pm 50$   $\mu\text{M/L}$ ,  $\beta$ -HBO - entre  $4,68 \pm 0,93$  e  $5,93 \pm 1,04$  mg/dL e glicose - entre 70,16 a 77,35 mg / dL.

Nos estudos que avaliam as alterações do lipidograma em bovinos submetidos a diferentes planos nutricionais, como no caso do presente trabalho, raramente encontram-se alterações nas concentrações plasmáticas de colesterol total e outros componentes. Quando os estudos envolvem a suplementação de animais, especialmente vacas leiteiras, com diferentes fontes de gordura, protegida ou não, os resultados são bastante variáveis. Nestes casos, as variações na concentração de colesterol ocorrem principalmente com a utilização de fontes de gordura protegida, levando a respostas hipercolesterolêmicas (WEST e HILL, 1990; ELLIOTT et al., 1993), chegando a concentrações de colesterol no plasma de até 230 - 250 mg /dL. Não existe consenso na literatura a respeito do valor de referência para este componente, que varia entre 80 e 120 mg/ dL, segundo KANEKO et al. (1997) e 74 a 90,2 mg/ dL, segundo POGLIANI (2006). Este último foi um estudo nacional realizado com o objetivo de se determinarem os valores de referência para o lipidograma de bovinos.

Segundo NESTEL et al. (1978), o aumento da concentração de colesterol no sangue em bovinos consumindo dietas com suplementação lipídica deve-se a um aumento na síntese intestinal de colesterol necessário para a absorção e transporte de elevados teores de lipídeos circulantes provenientes da dieta.

Assim como o colesterol, a elevação dos níveis de triglicerídeos sanguíneos tem sido frequentemente observada em trabalhos onde também foram estudados os efeitos da suplementação lipídica à dieta (SMITH et al., 1978; CHOW et al., 1990), provavelmente refletindo o aumento na digestão e captura de ácidos graxos a partir da gordura fornecida (AVILA et al., 2000). No entanto, segundo GAGLIOSTRO e CHILLIARD (1992), o aumento na concentração deste metabólito é fraco e não sistemático devido a sua alta taxa de troca e interconversão com o tecido adiposo.

Conforme descrito anteriormente, no presente trabalho não era esperada a ocorrência de mobilização de reservas corporais. Além disso, as dietas continham valores baixos de extrato etéreo e não havia suplementação de lipídios. Dessa forma, não era esperada alteração nas concentrações plasmáticas de colesterol e triglicerídeos, o que de fato não ocorreu.

A avaliação do *status* proteico pode ser abordada mediante a dosagem de diversos componentes plasmáticos. Geralmente, com o objetivo de se avaliar o metabolismo proteico,



os metabólitos mais utilizados são: proteína total, albumina, globulinas, ureia, creatinina e em alguns casos particulares, a hemoglobina.

Na tabela 5 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de ureia e creatinina.

**Tabela 5-** Concentrações plasmáticas de ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dl) de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

<b>Grupo</b>	<b>Ureia (mg/ dL)</b>	<b>Creatinina (mg/dL)</b>
Ganho Livre	37,49 a	1,96 a
Ganho Médio	33,84 a	2,37 a
Mantença	36,52 a	2,46 a
CV	19,46	14,72

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não foram observadas diferenças nos valores das concentrações plasmáticas de ureia e creatinina entre os diferentes tratamentos. Para que a bioquímica clínica seja convenientemente utilizada na avaliação e monitoramento do *status* nutricional, há a necessidade de que se conheça o que é padrão para as diferentes espécies, raças, sexos e idades de animais criados em diferentes regiões, e mantidos sob diferentes manejos de criação, uma vez que estes componentes sofrem a influência de diversos fatores. NICOLETTI et al. (1981) relataram valores entre 19,84 e 36,25 mg/dL de uréia e 1,30 a 1,74 mg/dL de creatinina no soro sanguíneo de 60 fêmeas bovinas de diversas raças. Em outro trabalho nacional com o objetivo de determinar os valores de referência dos teores séricos de ureia e creatinina, GREGORY et al. (2004) estabeleceram os valores de  $28,35 \pm 10,94$  mg/dL para ureia e  $1,35 \pm 0,21$  mg/ dL para creatinina.

BERGLUND & OLTNER (1983) salientaram que os fatores relacionados à idade e às condições individuais influenciariam mais significativamente os valores séricos de ureia e creatinina do que os referentes à dieta e às raças, pois em bovinos com idade entre três e 24 meses evidenciaram valores séricos de uréia variando entre 21,6 e 28,2 mg/dL e de creatinina entre 0,9 e 1,5 mg/dL.

JENKINS et al. (1982) também demonstraram a influência da idade sobre os valores séricos de uréia em bovinos, quando verificaram que bezerros com quatro a oito semanas de vida apresentavam valor sérico médio de uréia igual a 25,7 mg/dL; animais com três a quatro

meses, 24,3 mg/dL; animais de 21 e 24 meses de idade apresentaram, respectivamente 25,8 mg/dL  $\pm$  5,4 mg/dL e 28,2  $\pm$  6,0 mg/dL. Para o nível sérico de creatinina, os valores encontrados em bezerros de três meses, 0,9  $\pm$  0,2 mg/dL; de seis meses, 0,9  $\pm$  0,1 mg/dL; de 18 meses 1,3  $\pm$  0,2 mg/dL; 21 meses 1,3  $\pm$  0,2 mg/dL e 24 meses 1,5  $\pm$  0,2 mg/dL.

De acordo com os trabalhos citados, os valores de ureia encontrados no presente experimento são mais próximos aos valores obtidos por NICOLETTI et al. (1981), embora estes autores tenham trabalhado com fêmeas. Entretanto, os valores obtidos para as concentrações plasmáticas de creatinina encontram-se fora da faixa de normalidade proposta pelos autores acima citados.

MARUTA (2005) também não encontrou diferenças para os valores de ureia e creatinina avaliando garrotes em diferentes planos nutricionais, com diferentes faixas de ganho de peso. Neste ponto, conforme descrito anteriormente, destaca-se a avaliação da concentração sanguínea de ureia principalmente como um indicador do *status* proteico em curto prazo.

Conforme descrito anteriormente, as concentrações plasmáticas de ureia evidenciam principalmente o *status* proteico no curto prazo, mais relacionado a alterações na dieta e no ambiente ruminal. Outros metabólitos podem ser avaliados com o objetivo de se avaliar o *status* proteico em médio e longo prazo, como por exemplo as proteínas totais e seu principal componente, a albumina.

Na tabela 6 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de proteína total, albumina e globulinas.

**Tabela 6** - Concentrações plasmáticas de proteína total (P. Total), albumina (Alb) e globulinas (Glob), expressas em mg/ dL, de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

<b>Grupo</b>	<b>P. Total (g/dL)</b>	<b>Alb (g/dL)</b>	<b>Glob (g/dL)</b>
Ganho Livre	7,97 a	4,80 a	3,17 a
Ganho Médio	8,17 a	4,94 a	3,23 a
Mantença	7,36 a	4,95 a	2,40 a
CV	6,82	10,80	10,12

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não houve diferenças entre as concentrações plasmáticas de proteína total e albumina entre os diferentes tratamentos. Os animais dos grupos de ganho livre (3,17 mg/dL) e ganho

médio (3,23 mg/dL) apresentaram maior valor ( $p < 0,05$ ) de globulinas, em relação aos animais do grupo manutenção (2,41 mg/dL).

Nota-se que a maioria dos trabalhos que avaliaram as concentrações plasmáticas de proteínas totais, albumina e globulinas foi realizada com um enfoque clínico, correlacionar estes componentes à ocorrência de doenças e enfermidades. Os trabalhos abordando o *status* nutricional dos animais normalmente utilizam apenas as concentrações plasmáticas de ureia e creatinina. Segundo LUCA e REIS (2001), a determinação plasmática de proteínas totais é utilizada como parâmetro no controle da saúde e nutrição animal. Níveis mais baixos são encontrados em casos de deficiência de proteína na dieta, aproveitamento inadequado da proteína e insuficiência hepática.

Avaliando a implantação de um programa de manejo nutricional e sanitário em sete fazendas de leite localizadas no norte do Estado do Paraná, BALARIN e KUBOTA (2002) encontraram resultados interessantes. Os valores médios e respectivos desvios padrão foram  $8,18 \pm 1,09$  g/dl e  $7,68 \pm 0,711$ g/dl para proteínas totais;  $3,49 \pm 0,49$ g/dl e  $3,25 \pm 0,35$  g/dl para albumina;  $4,68 \pm 1,04$  g/dl e  $4,43 \pm 0,75$ g/dl para globulinas, antes e após a implementação das medidas de manejo, respectivamente, ou seja, evidenciando a resposta destes componentes ao melhor aporte nutricional implementado.

Em estudo trabalhando com diferentes fontes energéticas, MENDES et al. (2005) não observaram influência dos alimentos ou do aporte energético sobre as concentrações de proteína total em novilhos, semelhante ao que foi encontrado no presente experimento. FAGLIARI et al. (1998), trabalhando com bovinos machos da raça Nelore, mantidos em pastagem com suplementação mineral, encontraram valor de  $3,33 \pm 0,25$  para a albumina sérica. GONÇALVES et al. (2001), trabalhando com bovinos machos da raça Guzerá criados a pasto encontraram valor de  $2,92 \pm 0,3$ .

Os valores propostos por autores clássicos, como ROSENBERGER (1993) e KANEKO (2008) variam entre 3,03 - 3,55 g/ dL. De acordo com MEYER e HARVEY (2004), a concentração plasmática da albumina varia entre as espécies ruminantes, mas seu valor sérico ou plasmático pode variar entre 2,5 g/dL a 4,5 g/dL.

De acordo com CARDOSO (2000) os bovinos confinados recebem ração balanceada para atender suas necessidades metabólicas e assim favorecer e potencializar o ganho de peso. Portanto, em animais confinados, por ser um bom indicador do *status* proteico em médio e longo prazo, os níveis plasmáticos de albumina são mais elevados, quando comparados aos criados a pasto, conforme enfatizado por JAIN (1993) e GARCÉS et al. (2001).

Neste experimento os animais estavam em sistema de confinamento, recebendo dietas que no mínimo atendiam suas exigências de manutenção (grupo manutenção). Portanto, os maiores valores de albumina sérica encontrados neste estudo, quando comparados com os valores de referência e com outros autores, podem ser devidos ao melhor aporte nutricional a que estes animais estavam submetidos. Mais uma vez destaca-se neste ponto que os diferentes planos nutricionais impostos ao longo do período experimental (ganho de peso leve, ganho médio e ganho livre) não foram capazes de promover alterações na fisiologia dos animais, especialmente quanto ao *status* proteico, visto à elevada concentração de albumina encontrada, e considerando-se ser este um importante indicador do *status* proteico.

A concentração plasmática de globulinas é determinada através da concentração plasmática de proteína total menos a concentração plasmática de albumina. Embora os valores encontrados para a concentração plasmática de proteína total tenham sido semelhantes entre os diferentes tratamentos, assim como os valores da concentração plasmática de albumina, observa-se menor valor numérico nas concentrações plasmáticas de proteína total para os animais do grupo manutenção, ao passo que estes apresentam valores numericamente maiores de albumina, quando comparados com os grupos de ganho livre e médio. Sendo as globulinas a diferença entre estes dois componentes, pode ter sido esta a causa da menor ( $p < 0,05$ ) concentração de globulinas nos animais do grupo manutenção.

As globulinas podem ser definidas como um grupo de proteínas globulares, de massas moleculares elevadas e muito diversas. Entre as globulinas mais importantes encontradas no plasma sanguíneo destacam-se as três frações, que podem ser separadas por eletroforese: alfa, beta e gama. As possíveis causas que influenciam nas concentrações de globulinas estão relacionadas com fatores fisiológicos, estresse, inflamações, infecções, toxidez, dentre outros. Infere-se, portanto, que provavelmente os animais utilizados neste experimento não estavam sujeitos a essas situações. Segundo PAYNE e PAYNE (1987) as globulinas estão relacionadas com as condições imunológicas do organismo. Concentrações elevadas de globulinas também podem ser observadas logo após o desencadeamento de uma infecção

Avaliando o perfil proteico de bovinos machos da raça Nelore terminados em confinamento ou a pasto, SILVA et al. (2008) encontraram maiores valores de globulinas para os animais terminados a pasto ( $3,29 \text{ g/dL} \pm 0,76$ ) que os terminados em confinamento ( $2,99 \text{ g/dL} \pm 0,60$ ). CHORFI (2004), também trabalhando com bovinos em confinamento, encontraram valores de  $2,35 \text{ g/dL}$ . Em bovinos terminados a pasto, FAGLIARI et al. (1998) encontraram valor de  $3,80 \pm 0,48$  para animais da raça Nelore.

Além destes metabólitos que são utilizados no monitoramento do *status* energético e proteico, o perfil enzimático também tem grande validade, uma vez que indica de maneira precisa a ocorrência de eventuais distúrbios e ou alterações no funcionamento de órgãos vitais importantes, especialmente o metabolismo hepático, sendo este de extrema importância para todo o metabolismo dos ruminantes. Na tabela 7 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamyltransferase (GGT).

**Tabela 7** - Concentrações plasmáticas das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

<b>Grupo</b>	<b>AST (U/L)</b>	<b>GGT (U/L)</b>
Ganho Livre	33,74 a	25,62 a
Ganho Médio	37,81 a	27,86 a
Manutença	36,37 a	27,60 a
CV	21,83	14,81

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não foram observadas diferenças entre as concentrações plasmáticas das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamyltransferase (GGT) nos animais dos diferentes tratamentos. Estas enzimas, por serem específicas de alguns órgãos, quando estão em concentrações elevadas no plasma sanguíneo, podem indicar lesão celular e a intensidade da mesma.

Particularmente na avaliação do *status* nutricional, são importantes como sinalizadoras da ocorrência de alterações hepáticas, muitas vezes causadas por excessiva mobilização de reservas lipídicas. Quando isto ocorre, o fígado não consegue exportar na forma de VLDL a grande quantidade de ácidos graxos não esterificados (AGNE) que chegam neste órgão, levando ao acúmulo deste na forma de triglicerídeos e a ocorrência do quadro clínico de esteatose hepática, muito comum especialmente em vacas leiteiras no pós-parto. Neste caso, observa-se aumento na concentração plasmática das enzimas, principalmente AST. Como vimos anteriormente, no presente experimento os animais estavam recebendo dietas que atendiam no mínimo suas exigências de manutenção, atentando-se ao fato de não promover situação de déficit energético ao longo do mesmo. Portanto, não era esperado a mobilização de reservas lipídicas, o que de fato não ocorreu, e foi comprovado pelos baixos valores de AGNE e  $\beta$ -HBO circulantes encontrados.

Segundo KANEKO et al. (1997) o valor de referência para AST encontra-se entre 20 e 34 U/L. Por sua vez, o valor de referência para GGT encontra-se entre 20 - 52 U/L. Em trabalhos nacionais realizados com animais mestiços, COSTA et al. (1974) obtiveram valores médios de AST de  $38,3 \pm 5,7$  U/L para garrotes, enquanto JARDIM e FICHTNER (1981) obtiveram valores um pouco maiores, de  $39,3 \pm 13,6$  U/L, trabalhando também com animais adultos.

Observa-se, portanto, que os valores encontrados de AST e GGT no presente experimento, estão dentro dos valores de referência propostos por estes autores, evidenciando mais uma vez a condição fisiológica na qual os animais se encontravam.

MARUTA (2005), avaliando o perfil metabólico de garrotes submetidos a condições de alimentação normal, jejum e realimentação, determinou valor médio de AST de 31,8 U/L para os animais em condições normais de alimentação, valor este próximo aos obtidos no presente trabalho.

Avaliando-se o perfil metabólico completo – energético, proteico e enzimático - obtido entre os diferentes tratamentos, nota-se que os regimes alimentares impostos causaram pequena influência no *status* metabólico dos animais. Neste aspecto merece destaque as diferenças encontradas nas concentrações plasmáticas de glicose e insulina, que foram significativamente inferiores nos animais do grupo manutenção. Este fato é de extrema relevância, pois permite inferir que os animais estavam em condições fisiológicas, somente em faixas de ganho de peso diferentes, devido às diferenças no aporte energético-proteico que os mesmos recebiam pela dieta.

#### **4.2. Avaliação do perfil metabólico e hormonal em garrotes submetidos a período de jejum de 72 horas, durante avaliação das exigências nutricionais pela técnica respirométrica**

Comparando-se o peso vivo no início do jejum (0h) com o peso vivo no final do jejum (72h), houve uma perda de 25,4 kg ou 6,03% do PV para os animais do grupo de ganho livre, 32,6 kg ou 8,41% do PV para os animais do grupo de ganho médio e 28,4 kg ou 8,48% do PV para os animais do grupo manutenção.

Nas primeiras 24 horas de jejum a perda de peso é devida principalmente ao conteúdo do trato gastrointestinal. ROHR e DAENICKE (1984) relataram que o conteúdo do TGI representa cerca de 5 a 25% do PV, com valor médio de 15%. Esta variação é atribuída a fatores como raça, peso e estado fisiológico do animal, tipo de dieta e número de horas em jejum a que os animais foram submetidos. ROBELIN e GEAY (1984) relataram que a concentração do conteúdo do TGI no peso vivo, logo após o nascimento, representa menos que 50 g/kgPV (5% do PV), aumentando rapidamente para 200g/kg de PV (20% do PV) em animais pesando entre 200 e 250 kg e, posteriormente, decrescendo para 120 g/kg (12% do PV) em animais com PV de 350 kg.

Se a perda de peso no primeiro dia de jejum é atribuída principalmente à perda de conteúdo do trato digestivo, no decorrer do jejum ocorrem maiores alterações no metabolismo do animal.

Objetivando-se determinar as influências do jejum de 72 horas sobre o organismo animal, a composição bioquímica do sangue é de grande valia, pois reflete o *status* nutricional, mobilização de tecidos, etc., a que os animais podem estar expostos.

Na tabela 8 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de glicose ao longo do período de jejum, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 8-** Concentrações plasmáticas médias de glicose, expressas em mg/dL e mmol/L, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0h	24 h	48 h	72h	
Glicose (mg/dL)	Ganho Livre	77,84 a	71,36 a	69,44 a	69,09 a	71,93 a
	Ganho Médio	73,94 a	68,84 ab	58,85 ab	66,91 a	67,14 b
	Mantença	65,09 a	52,60 b	52,02 b	64,45 a	58,54 c
	Média	72,29	64,27	60,10	66,82	CV = 9,75
Glicose (mmol/L)	Ganho Livre	4,32 a	3,96 a	3,86 a	3,84 a	4,00 a
	Ganho Médio	4,11 a	3,82 ab	3,27 ab	3,72 a	3,73 b
	Mantença	3,62 a	2,92 b	2,89 b	3,58 a	3,25 c
	Média	4,02	3,57	3,34	3,71	CV = 9,75

Média seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Observando-se a coluna de médias da tabela 8 verificou-se que animais do grupo de ganho livre apresentaram maior ( $p<0,05$ ) concentração média plasmática de glicose (71,93 mg/dL e 4,00 mmol/L) no decorrer do período de jejum, quando comparados com animais do grupo de ganho médio (67,14 mg/dL e 3,73 mmol/L) e animais do grupo manutenção (58,54 mg/dL e 3,25 mmol/L), que obtiveram os menores valores de glicemia.

Entre os diferentes tempos de jejum, verificou-se que mesmo nos períodos mais prolongados de privação alimentar (48h e 72 h), nos diferentes tratamentos, os valores de glicemia mantiveram-se dentro dos valores de referência propostos por KANEKO et al. (1997) e KANEKO et al. (2008), entre 2,5 mmol/L - 4,6 mmol/L e 45-75 mg/dL. Isto demonstra a eficiência dos mecanismos de compensação do ruminante para manter as concentrações plasmáticas de glicose dentro dos valores de normalidade, ou seja, manter a homeostase energética. Embora este animal não utilize a glicose como combustível universal para todas as suas células, este substrato é de fundamental importância na manutenção energética das células nervosas e da musculatura, dentre outros (LENG, 1962).

No trabalho de SUCUPIRA (2003) foi observado que a subalimentação energética severa e prolongada provocou marcante hipoglicemia no término do período experimental, porém os valores ainda se encontravam dentro do intervalo considerado normal pelos autores clássicos, semelhante aos resultados obtidos neste experimento.

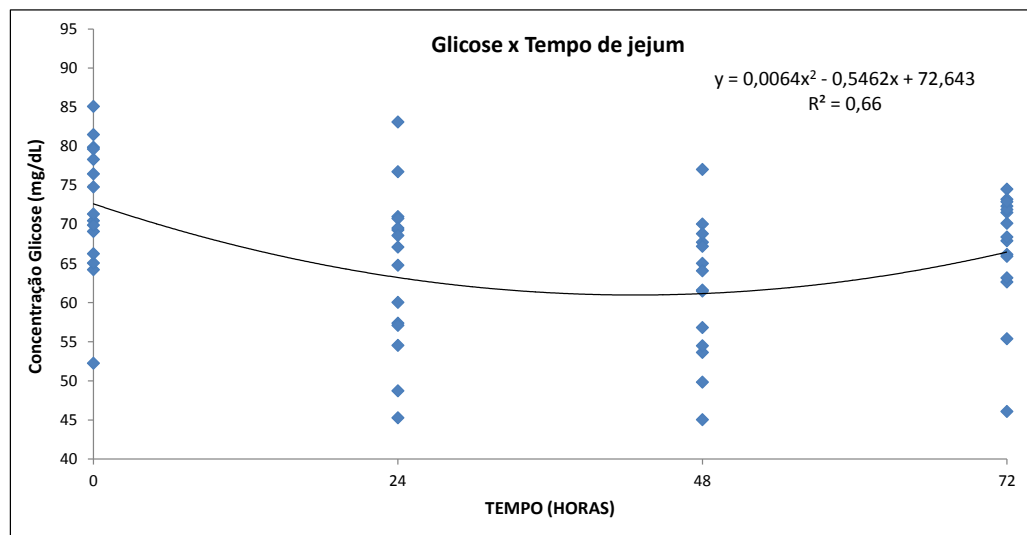


MARUTA (2005), avaliando o perfil metabólico de garrotes submetidos às condições de jejum e realimentação, encontrou os menores valores de glicose com 48 horas de jejum,  $3,5 \pm 0,3$  mmol/L, valor próximo ao encontrado neste estudo (3,34 mmol/L).

Alguns trabalhos (BOUCHAT et al., 1981; RULE et al., 1985; NDIBUALONJI et al., 1997) avaliando o comportamento da glicose frente à diversos períodos de jejum, demonstraram significativa diminuição da glicemia ao longo do jejum, sendo esta queda mais intensa quanto mais prolongado foi o tempo de abstenção alimentar.

Os resultados deste experimento divergem um pouco quanto aos trabalhos destes últimos autores, uma vez que as menores concentrações plasmáticas de glicose foram observadas no tempo de 48 horas de jejum. Os resultados demonstram que no tempo máximo de jejum, 72 horas, os valores de glicemia tiveram um aumento em relação a 48 horas de jejum, conforme evidenciado no gráfico 1. Isso evidencia que o organismo animal conseguiu responder mantendo a homeostase energética, principalmente através da mobilização de reservas corporais, por meio da lipólise e da proteólise.

**Gráfico 1** - Relação entre a concentração plasmática de glicose (mg/dL) e tempo de jejum (0, 24, 48 e 72 horas), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção



Conforme visto anteriormente, os ruminantes têm a capacidade de se adaptarem a períodos de subnutrição, de médio e longo prazo, pois reduzem as necessidades de manutenção por meio da diminuição da taxa de metabolismo basal, efeito este mediado pela menor concentração dos hormônios tireoidianos (OETZEL et al., 1988; CHILLIARD et al., 1998).

Porém, quando a privação da ingestão de alimentos se dá subitamente, como no caso do jejum imposto neste experimento, antes mesmo de ocorrer a diminuição no metabolismo basal, o organismo mobiliza, com presteza, substratos de suas reservas corporais para suprir o déficit energético recém instalado (OETZEL et al., 1988). A primeira captação de substrato vem dos estoques de glicogênio hepático e em menor grau da musculatura estriada e cardíaca, contudo estas reservas são bastante reduzidas nos ruminantes, se comparadas com os monogástricos (HERDT, 1988, 2000). De acordo com KANEKO (2008) e KRONFELD et al. (1968), o conteúdo de glicogênio hepático é variável, sendo em torno de 1 a 3% do peso total do fígado, dados estes obtidos com vacas em lactação e secas, respectivamente.

Nestas situações de carência energética e subalimentação, observa-se grande modificação no perfil metabólico e hormonal dos animais, na tentativa de contrabalancear o déficit energético. Os resultados obtidos neste experimento, que serão descritos na sequência, demonstram a tentativa do organismo animal em manter a homeostase energética.

Na tabela 9 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de insulina e cortisol ao longo do período de jejum, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 9-** Concentrações plasmáticas médias de insulina (uU/ml) e cortisol (mmol/L), e transformadas em log (x+1), durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0h	24 h	48 h	72h	
Insulina (uU/ml)	Ganho Livre	14,88 a	8,78 a	6,78 a	6,31 a	9,19 a
	Ganho Médio	17,12 a	11,02 a	6,64 a	7,76 a	10,64 a
	Mantença	13,06 a	4,16 a	4,88 a	6,48 a	7,15 b
	Média	15,02	7,99	6,10	6,85	CV = 48,17
Log. Insulina	Ganho Livre	1,20 a	0,99 a	0,89 a	0,86 a	0,99 a
	Ganho Médio	1,26 a	1,08 a	0,88 a	0,94 a	1,04 a
	Mantença	1,15 a	0,71 a	0,77 a	0,87 a	0,88 b
	Média	1,20	0,93	0,85	0,89	CV = 18,21
Cortisol (mmol/L)	Ganho Livre	17,59 a	22,73 a	12,54 a	8,16 a	15,25 a
	Ganho Médio	41,31 a	16,63 a	14,49 a	10,05 a	20,62 a
	Mantença	27,45 a	27,10 a	24,21 a	13,41 a	23,04 a
	Média	28,78	22,16	17,08	10,54	CV = 82,55
Log. Cortisol	Ganho Livre	1,27 a	1,38 a	1,13 a	0,96 a	1,18 a
	Ganho Médio	1,63 a	1,25 a	1,19 a	1,04 a	1,28 a
	Mantença	1,45 a	1,45 a	1,40 a	1,16 a	1,37 a
	Média	1,45	1,36	1,24	1,05	CV = 29,87

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Animais do grupo de ganho livre (0,99) e ganho médio (1,04) obtiveram maiores (p<0,05) concentrações plasmáticas de insulina quando comparado aos animais do grupo manutenção (0,88). A insulinemia reflete diretamente a glicemia dos animais, portanto, de acordo com os resultados da tabela 8, observa-se coerência entre o comportamento da glicose e da insulina. Animais do grupo de ganho livre e ganho médio, que obtiveram maiores concentrações plasmáticas de glicose, também obtiveram maiores concentrações plasmáticas de insulina, em relação aos animais do grupo manutenção.

Não houve diferenças quanto às concentrações plasmáticas de cortisol entre os diferentes tratamentos, assim como não houve interações entre os tratamentos e tempos de jejum. Embora este hormônio atue na regulação de todos os aspectos do metabolismo e seja um importante mediador do metabolismo intermediário, sendo um dos principais estimuladores da gliconeogênese hepática, principalmente a partir de aminoácidos, não foram observadas diferenças na sua concentração no decorrer do jejum entre os diferentes tratamentos. Pelo efeito do jejum no metabolismo do animal, espera-se que os níveis

circulantes deste hormônio catabólico estejam aumentados durante período de privação alimentar em relação a período de alimentação normal.

Na tabela 10 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE) ao longo do período de jejum, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 10-** Concentrações plasmáticas médias de beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE), expressos em mmol/ L, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0h	24 h	48 h	72h	
BHB (mmol /L)	Ganho Livre	0,391 a	0,419 a	0,681 a	0,915 a	0,602 a
	Ganho Médio	0,267 a	0,375 a	0,554 a	0,923 a	0,530 a
	Manutença	0,398 a	0,422 a	0,704 a	0,930 a	0,614 a
	Média	0,352	0,406	0,646	0,923	CV = 29,20
AGNE (mmol / L)	Ganho Livre	0,181 a	0,449 a	0,764 a	1,026 a	0,605 a
	Ganho Médio	0,121 a	0,288 a	0,764 a	0,942 a	0,529 ab
	Manutença	0,101 a	0,209 a	0,676 a	0,861 a	0,462 b
	Média	0,134	0,315	0,734	0,943	CV = 25,43

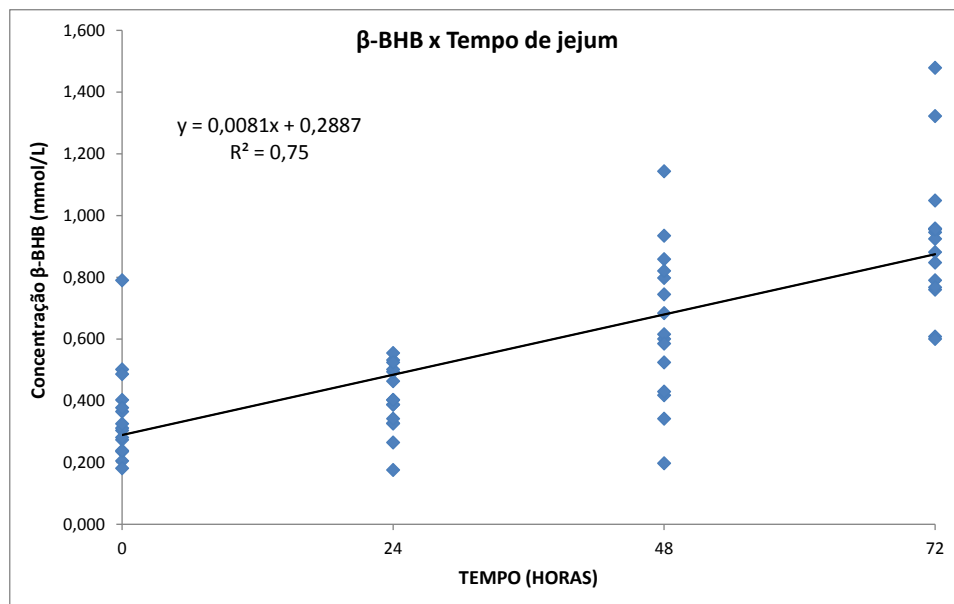
Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Não houve diferenças quanto às concentrações plasmáticas de beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB) entre os diferentes tratamentos, assim como não houve interação entre os tratamentos e os tempos de jejum. Observa-se que no decorrer do jejum houve aumento nas concentrações plasmáticas de  $\beta$ -BHB, conforme demonstrado no gráfico 2, principalmente nas 48h e 72 h de jejum, sendo os valores obtidos nestes períodos superiores ao valor de referência proposto por KANEKO et al. (2008),  $\beta$ -BHB  $< 0,55$  mmol/L  $\pm 0,04$ . Entretanto, os máximos valores encontrados, nas 72 horas de jejum, encontram-se abaixo do valor de 1,00 mmol/ L proposto por BERTONI et al. (2008), quadro caracterizado por estes últimos autores como de cetose clínica. Neste ponto destaca-se que os animais, mesmo submetidos a um período de 72 horas de jejum, realizaram mobilização de reservas lipídicas, porém sem ultrapassar o limiar que determinasse um quadro clínico.

Analisando a frequência da ocorrência de valores maiores que os propostos por KANEKO et al. (2008), observa-se que nas primeiras 24 horas de jejum apenas um animal

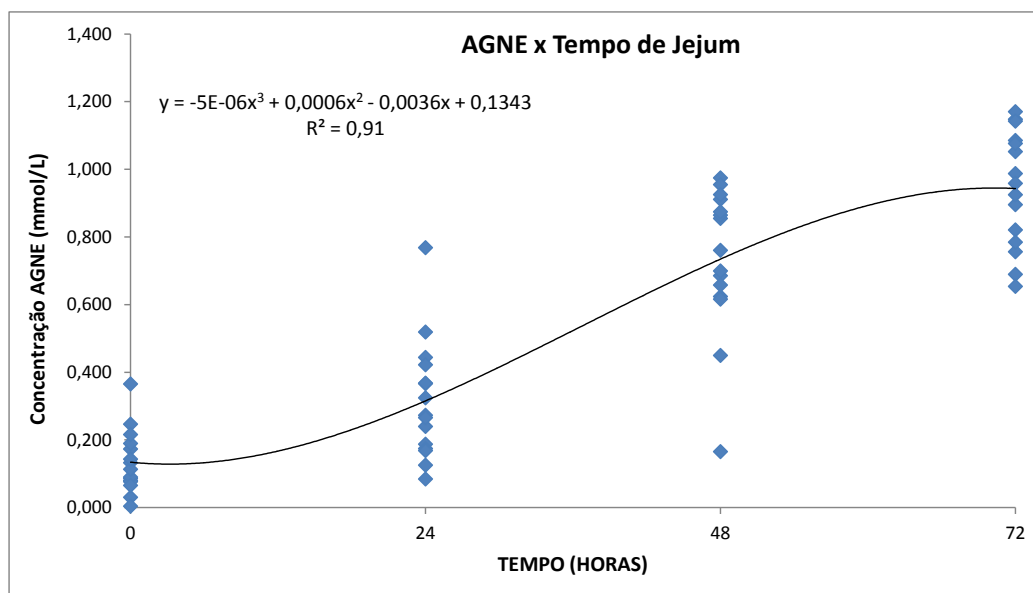
apresentou valor de  $\beta$ -BHB superior a 0,55 mmol/L. Com o avançar do tempo de jejum, no tempo de 48 horas, 2/3 dos animais apresentaram valores deste componente superior ao valor de referência. No tempo máximo de jejum, 72 horas, todos os animais apresentaram valores de  $\beta$ -BHB superiores a 0,55 mmol/L, sendo que neste tempo inclusive três animais apresentaram valor superior a 1,00 mmol/L, proposto por BERTONI et al. (2008) como valor mínimo para ocorrência de cetose clínica.

**Gráfico 2** - Relação entre as concentrações plasmáticas de  $\beta$ -BHB e o tempo de jejum (0, 24, 48 e 72 horas), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.



Animais do grupo de ganho livre apresentaram maior (0,605 mmol/L) ( $p < 0,05$ ) concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE) em relação aos animais do grupo manutenção (0,462 mmol/L), sendo os valores intermediários encontrados para os animais do grupo de ganho médio (0,529 mmol/L). Para este metabólito, os valores obtidos nos três grupos foram superiores ao valor de referência proposto por KANEKO et al. (2008), de AGNE  $< 0,4$  mmol/L, indicando a ocorrência de lipólise, fato este que era esperado frente ao jejum alimentar imposto. Os valores de AGNE obtidos no tempo máximo de jejum, 72 horas, foram sete vezes maior que os valores obtidos no início do jejum, conforme demonstrado no gráfico 3.

**Gráfico 3** - Concentrações plasmáticas de AGNE (mmol/L) e o tempo de jejum (0, 24, 48 e 72 horas), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.



MARUTA (2005), ao promover jejum alimentar de 48 horas em garrotes também observou aumento significativo nas concentrações de  $\beta$ -BHB ao longo do período, assim como de AGNE, alcançando valor máximo de  $1,11 \pm 0,27$  mmol/L no tempo de 48 horas de jejum. O valor máximo obtido no presente estudo foi de 1,02 mmol/L para os animais do grupo de ganho livre, no tempo de 72 horas de jejum.

Para a manutenção da homeostase energética é fundamental a lipólise dos depósitos de gordura, que representam a principal fonte de energia para um ruminante sadio. A lipólise é estimulada quando as concentrações de insulina declinam em relação à concentração de glucagon, resultando na mobilização de ácidos graxos livres (AGLs) ou AGNE que são originados da gordura mobilizada. Neste quadro prevalece o estado catabólico, uma vez que o hormônio chave da manutenção do anabolismo em ruminantes, a insulina, está em menores concentrações ao longo do jejum, como demonstrado anteriormente. Segundo RULE et al., (1985), essa condição hormonal é altamente estimulante para a maior atividade da lipase.

Os produtos da mobilização das reservas lipídicas podem contribuir no restabelecimento da homeostase energética de diferentes formas. O glicerol, um composto de três átomos de carbono, ao chegar no fígado, tem a capacidade de entrar na via glicolítica, pela ação da enzima glicerol quinase, levando à formação de intermediários da via glicolítica e

posteriormente glicose, sendo esta rota muito utilizada no decorrer do jejum (LOMAX e BAIRD, 1983). Por sua vez, os ácidos graxos não esterificados (AGNE), ao caírem na corrente circulatória, se ligam à proteína albumina e são transportados ao fígado, onde podem seguir diferentes vias metabólicas. Em casos de geração de grandes quantidades de AGNE há uma diminuição nos teores de oxaloacetato, composto de quatro carbonos intermediário do ciclo do ácido cítrico. Na falta do oxaloacetato, cuja disponibilidade é proposta como fator de regulação entre a cetogênese e gliconeogênese, os compostos de dois carbonos se acumulam na mitocôndria, devido à falta de compostos de quatro carbonos em quantidades suficientes para sofrer condensação e entrar no ciclo do ácido cítrico. Neste caso, eles são removidos via produção de corpos cetônicos. Isto ficou bem evidenciado no presente trabalho, uma vez que no decorrer do jejum, observa-se aumento tanto nas concentrações de  $\beta$ -BHB quanto de AGNE.

Segundo HERDT (1988), o principal corpo cetônico produzido é o  $\beta$ -BHB, correspondendo a até 70% do total. Como citado anteriormente, o  $\beta$ -BHB pode ser originado também do butirato advindo da fermentação ruminal. Em um estudo bem interessante, LOMAX e BAIRD (1983) determinaram a concentração de butirato na veia porta de bovinos submetidos a dois dias de jejum e verificaram que a concentração era zero, demonstrando que no jejum o butirato ruminal nada contribuía para a formação de  $\beta$ -BHB presente no plasma.

De acordo com os maiores valores de AGNE obtidos para os animais dos grupos de ganho livre, em relação aos animais do grupo manutenção, alguns pontos merecem destaque. Este resultado indica que, devido aos AGNE serem uma variável bastante sensível para o monitoramento do déficit energético, os animais do grupo de ganho livre possivelmente estavam em maior déficit energético relativo, quando comparados aos animais do grupo manutenção.

Dentre as possíveis causas desta observação, destaca-se a provável exigência de energia para manutenção (ELm) nos animais do grupo de ganho livre. Dentre os vários fatores que influenciam na ELm dos animais, podemos destacar o peso vivo, condição nutricional e tamanho de órgãos vitais (SMITH e BALDWIN, 1974).

Os órgãos vitais apresentam elevadas taxas metabólicas e, principalmente, o fígado e o trato gastrintestinal respondem a alterações na ingestão de alimentos (FERRELL e JENKINS, 1998), respondendo assim pela maior exigência energética (FOX et al., 1992). CATTON e DHUYVETTER (1997) relataram que os tecidos viscerais, embora em menor proporção no corpo dos animais, são de considerável importância para os requisitos energéticos de manutenção, pois consomem cerca de 50% do total desta energia.

Em um trabalho clássico, PERON et al. (1993) compararam bovinos abatidos ao início do experimento (mais leves) com animais submetidos à restrição alimentar ou alimentados à vontade (mais pesados), de forma semelhante aos planos nutricionais impostos durante este experimento, e concluíram que o regime alimentar influenciou o peso do TGI, que foi menor em animais submetidos à restrição alimentar. JORGE et al. (1997) também observaram redução nos pesos dos compartimentos do TGI e do fígado de bovinos submetidos à restrição alimentar.

Portanto, podemos sugerir que os animais do grupo de ganho livre estão mais sujeitos aos efeitos do jejum, em vista de sua provável maior exigência de energia para manutenção, ou seja, nas situações de privação alimentar, provavelmente estes tem maior déficit energético, sinalizando ao organismo a necessidade de mobilizar em maiores proporções as reservas corporais. Além disso, destaca-se o fato de que animais com melhor condição corporal, ou seja, maior escore de condição corporal, realizam lipólise mais rapidamente que animais com menor escore corporal. Este fato é bastante evidente especialmente em vacas de leite, caracteristicamente no período de transição.

Na tabela 11 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT) ao longo do período de jejum, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 11-** Concentrações plasmáticas médias de AST e GGT durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0h	24 h	48 h	72h	
AST (U/L)	Ganho Livre	35,11 a	52,04 a	46,24 a	42,84 a	44,06 a
	Ganho Médio	37,03 a	34,93 ab	43,93 a	40,60 a	39,12 ab
	Mantença	27,83 a	30,83 b	34,14 a	40,30 a	33,28 b
	Média	33,32	39,27	41,44	41,25	CV = 23,93
GGT (U/L)	Ganho Livre	30,49 a	30,98 a	30,26 a	27,47 a	29,80 a
	Ganho Médio	25,69 a	23,01 a	31,69 a	26,11 a	26,63 a
	Mantença	26,8 a	25,55 a	30,94 a	31,85 a	28,79 a
	Média	27,66	26,51	30,96	28,48	CV = 17,99

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).



Animais do grupo de ganho livre tiveram maior ( $p < 0,01$ ) concentração plasmática de AST, quando comparados com animais do grupo manutenção. Os animais do grupo de ganho médio obtiveram valores intermediários. Os resultados encontrados para os animais dos grupos de ganho livre e ganho médio estão um pouco acima do valor de referência proposto por KANEKO et al. (1997), que estão entre 20 e 34 U/L.

MARUTA (2005) também observou elevação das concentrações plasmáticas de AST no decorrer do jejum, obtendo o valor máximo de  $36,6 \pm 6,5$  U/L no tempo de 48 horas de jejum, sendo este o período de restrição alimentar máximo utilizado pelo autor.

Essa elevação dos valores plasmáticos da enzima AST está coerente com os resultados obtidos da concentração plasmática de AGNE, demonstrados na tabela 10. Quando ocorre mobilização excessiva e os AGNE chegam ao fígado, devido à limitada capacidade do ruminante em sintetizar fosfolípidos e colesterol, para formar as lipoproteínas que serão exportadas por este órgão, os triglicerídeos se condensam e ficam armazenados dentro dos hepatócitos. Quando este acúmulo de triglicerídeos no fígado é intenso, pode-se chegar ao quadro de lipidose ou esteatose hepática, aumentando dessa forma a atividade da enzima aspartato aminotransferase (HERDT, 1988; RADOSTITS et al., 2000). Outro fator que também pode promover aumento na concentração desta enzima é a hiperatividade do órgão. Embora tenha ocorrido aumento desta enzima no presente estudo, o quadro resultante da mobilização lipídica provavelmente não alterou o metabolismo hepático, uma vez que nestes quadros de esteatose hepática os valores de AST chegam a estar até duas a três vezes maiores que os valores de referência.

Sugere-se que mesmo que a mobilização de reservas lipídicas tenha ocorrido com certo grau de severidade, de acordo com os resultados obtidos para as concentrações plasmáticas de colesterol, que serão discutidos adiante, o quadro sugere que não houve alteração no metabolismo hepático.

Além da diferença obtida entre os tratamentos, observa-se que no tempo de 24 horas de jejum, o valor de AST para os animais do grupo de ganho livre foi maior ( $p < 0,03$ ) em relação ao valor obtido para os animais do grupo manutenção. Isto sugere que o organismo dos animais do grupo de ganho livre mobiliza com mais presteza suas reservas lipídicas, visto que a intensidade do déficit energético nestes é maior, quando comparado com os animais do grupo manutenção, conforme descrito anteriormente.

Na tabela 12 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol ao longo do período de jejum, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 12-** Concentrações plasmáticas médias de triglicerídeos e colesterol, expressas em mg/dL, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0h	24 h	48 h	72h	
Triglicerídeos (mg/dL)	Ganho Livre	34,68 a	44,66 a	38,54 a	40,95 a	39,71 a
	Ganho Médio	42,12 a	41,42 a	42,24 a	42,26 a	42,01 a
	Manutença	43,39 a	43,40 a	41,73 a	33,93 a	40,61 a
	Média	40,06	43,16	40,84	39,05	CV = 17,45
Colesterol (mg/dL)	Ganho Livre	100,65 a	107,79 a	109,45 a	103,18 a	105,27 a
	Ganho Médio	99,63 a	96,87 a	113,49 a	90,27 a	100,07 a
	Manutença	104,92 a	107,52 a	110,34 a	111,23 a	108,50 a
	Média	101,73	104,06	111,09	101,56	CV = 12,47

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol entre os diferentes grupos, assim como não houve interação entre os tratamentos e os tempos de jejum.

Os valores médios encontrados para a concentração plasmática de triglicerídeos estão acima do valor proposto para machos adultos por POGLIANI (2006), entre 16,3 - 36,4 mg/dL. Isto era esperado, pois em situações de déficit energético, como o provocado neste experimento por meio do jejum alimentar, ocorre um aumento na produção deste componente, sendo ele um produto da mobilização lipídica que está ocorrendo, conforme descrito anteriormente.

MARUTA (2005) também não encontrou alteração nos valores de colesterol plasmático ao longo do período de 48 horas de jejum imposto. Os valores médios encontrados para a concentração plasmática de colesterol estão dentro do valor de referência proposto por KANEKO (1997), entre 80 - 120 mg/dL e um pouco acima do valor proposto por POGLIANI (2006), entre 74 - 90,2 mg/dL, uma vez que não há consenso na literatura a respeito do valor de referência deste componente para ruminantes.

Retomando a discussão sobre a mobilização lipídica evidenciada neste experimento, de acordo com os resultados da tabela 10, e o aumento na concentração da enzima AST nos animais do grupo de ganho livre, conforme demonstrado na tabela 11, os resultados obtidos do colesterol permitem maior discussão. Segundo HERDT (1988), existe uma correlação negativa entre a concentração sérica de colesterol total e o acúmulo de gordura no fígado,

quadro este caracterizado como esteatose. Neste quadro, há uma diminuição do colesterol total determinado no soro, pois parte deste metabólito analisado é proveniente das lipoproteínas exportadas pelo fígado. Ou seja, quanto maior for a formação de lipoproteínas originadas do metabolismo dos AGNE no fígado, pode-se encontrar uma redução nos valores séricos de colesterol, uma vez que o mesmo é utilizado para formar estas lipoproteínas. No presente estudo não foram obtidas diferenças quanto aos valores séricos de colesterol entre os diferentes tratamentos durante o período de jejum. Portanto, sugere-se que mesmo que tenha ocorrido lipólise acentuada, a mesma não foi suficiente para causar lipidose ou esteatose hepática, conforme discutido anteriormente, uma vez que neste caso as concentrações plasmáticas de colesterol poderiam estar diminuídas, o que não ocorreu no presente experimento.

Na tabela 13 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de ureia e creatinina e os valores de hematócrito ao longo do período de jejum, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 13** - Concentrações plasmáticas médias de ureia e creatinina, expresso em mg/dL, e valor do hematócrito, expresso em %, durante o período de jejum (0h, 24h, 48h, 72h), nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0h	24 h	48 h	72h	
Ureia (mg/ dL)	Ganho Livre	35,66 a	40,60 a	51,07 a	40,43 a	41,94 a
	Ganho Médio	33,03 a	34,98 a	42,22 ab	32,51 a	35,69 b
	Mantença	33,37 a	28,68 a	31,15 b	36,63 a	32,46 b
	Média	34,02	34,75	41,48	36,52	CV = 15,83
Creatinina (mg/dL)	Ganho Livre	2,31 a	2,41 a	2,85 a	2,61 a	2,54 a
	Ganho Médio	2,47 a	2,33 a	2,78 a	2,73 a	2,58 a
	Mantença	1,98 a	1,94 a	2,11 a	2,51 a	2,13 b
	Média	2,25	2,23	2,58	2,61	CV = 19,10
Hematócrito (%)	Ganho Livre	39,8 a	40,8 a	41,0 a	40,6 a	40,6 a
	Ganho Médio	38,6 a	39,6 a	42,0 a	41,4 a	40,4 a
	Mantença	37,6 a	39,8 a	40,0 a	38,4 a	39,0 a
	Média	38,7	40,1	41,0	40,1	CV = 5,89

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não foram observadas diferenças nos valores de hematócrito para os diferentes grupos, assim como não houve interação entre os grupos e os tempos de jejum. Este resultado é de

grande relevância na discussão de todo o perfil metabólico durante as 72 horas de jejum, pois evidencia que as alterações nos valores dos metabólitos analisados são devidas às modificações no metabolismo dos animais dentro de uma condição fisiológica, e não à desidratação e hemoconcentração que isto provoca.

No presente experimento, os animais estavam submetidos somente ao jejum alimentar, porém, segundo BOND et al. (1976), o jejum pode provocar, em garrotes, significativa diminuição na ingestão de água. No estudo destes autores, garrotes de 300 kg foram submetidos a jejum alimentar e tiveram a ingestão de água diária avaliada. No período controle a ingestão média de água foi de 41 litros, enquanto que ao término de 48 horas de jejum o consumo foi de apenas 8,5 litros. Neste ponto destaca-se a importância do fornecimento voluntário de soro oral aos animais durante o jejum, garantindo assim que os animais não apresentavam desidratação, de acordo com os valores encontrados para o hematócrito. Além disso, este resultado endossa a importância do fornecimento de soro oral aos animais durante avaliação das exigências nutricionais pela técnica respirométrica, minimizando assim alterações na fisiologia destes. O menor consumo de água pode levar à desidratação e ao quadro de hipovolemia, que caso ocorra com maior intensidade, pode diminuir o fluxo sanguíneo renal e, conseqüentemente, diminuir a produção de urina e a excreção de muitos catabólitos, aumentando a concentração destes no plasma e gerando um confundimento na interpretação do perfil. Pelos dados obtidos nos valores de hematócrito e de proteína total no decorrer do período de jejum, isto não ocorreu. Os valores médios obtidos no hematócrito encontram-se dentro do valor de referência proposto por ROSENBERGER (1993), entre 24-46%, evidenciando mais uma vez que os animais estavam em condição fisiológica adequada no decorrer do jejum.

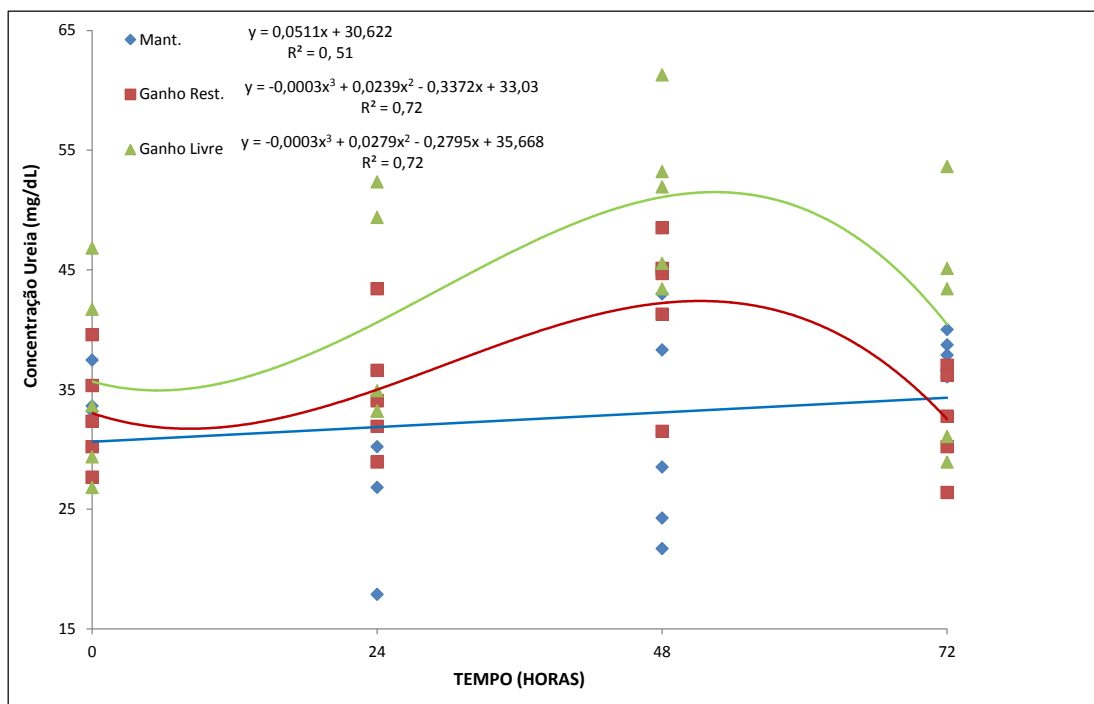
Em trabalho avaliando o perfil metabólico de garrotes submetidos a período de 48 horas de jejum, MARUTA (2005) encontrou moderada hipovolemia durante o período de restrição alimentar, diferente do que foi observado no presente experimento.

Maiores concentrações plasmáticas de ureia foram observadas nos animais do grupo de ganho livre (41,94 mg/dL), em relação aos animais dos grupos de ganho médio (35,69 mg/dL) e manutenção (32,46 mg/dL). Estes últimos também apresentaram menor valor ( $p < 0,05$ ) de creatinina, quando comparado aos demais grupos. Considerando os valores de referência da ureia propostos por JENKINS et al. (1982), para machos com 21 meses de idade, entre 25,8 mg/dL  $\pm$  5,4 mg/dL, e machos com 24 meses de idade, entre 28,2  $\pm$  6,0 mg/dL, semelhantes aos utilizados neste experimento, observa-se que os valores obtidos para os animais dos grupos de ganho livre e ganho médio encontram-se acima dos valores propostos por estes

autores. Os valores obtidos para as concentrações plasmáticas de creatinina também encontram-se acima do valor de referência proposto por KANEKO et al. (2008), entre 1-2 mg/dL.

Observa-se também que houve um aumento nos valores plasmáticos de ureia no decorrer do jejum, sendo o valor médio máximo obtido no tempo de 48 horas (41,48 mg/dL), conforme demonstrado no gráfico 4. Como ressaltado no início desta discussão sobre o período de jejum, os bovinos nesta condição tentam manter a homeostase energética por meio da mobilização e uso de lipídeos e de aminoácidos de suas reservas corporais, através da lipólise e proteólise, respectivamente.

**Gráfico 4** - Concentrações plasmáticas de ureia (mg/dL) e o tempo de jejum (0, 24, 48 e 72 horas), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.



GALYEAN et al. (1981) constataram queda contínua e expressiva nos teores de amônia no fluido ruminal de garrotes submetidos a jejum. Este fato era esperado pois os animais estavam em situação de privação e sendo a concentração de ureia plasmática diretamente proporcional a concentração de amônia no rúmen, era esperada a queda na formação da ureia a partir da amônia ruminal. No presente experimento, como a amônia de origem alimentar foi

provavelmente pequena ou nula, embora não tenha sido feita análise do fluido ruminal, este aumento da concentração de ureia pode ser explicado pela mobilização proteica e uso de aminoácidos para geração de energia, o que também foi constatado por RULE et al. (1985). No trabalho destes autores, de forma semelhante ao que foi observado no presente experimento, os valores máximos de ureia foram obtidos no 2º dia de jejum (48 horas).

Segundo NDIBUALONJI et al. (1997) e RULE et al. (1985), além de favorecer a lipólise, quando ocorre queda na razão dos teores de insulina:hormônio do crescimento ou aumento do glucagon, perfil hormonal este comumente encontrado no jejum, há também o estímulo da mobilização de aminoácidos e proteínas da musculatura para geração de energia. Os aminoácidos, em especial a alanina, aspartato, glutamina, glicina e serina, têm a capacidade tanto de entrar no ciclo de Krebs, em diferentes pontos, como também no sentido oposto à via glicolítica, gerando glicose (NELSON e COX, 2011).

Observa-se que houve interação entre tratamento e os tempos de jejum. Semelhante à superioridade nos valores de ureia encontrados para os animais do grupo de ganho livre em relação aos animais do grupo manutenção, no tempo de 48 horas de jejum, os animais do grupo de ganho livre (51,07 mg/dL) tiveram maior ( $p < 0,05$ ) valor que os animais do grupo manutenção (31,17 mg/dL).

Possivelmente isto ocorreu devido à maior exigência energética dos animais do grupo de ganho livre, quando comparados aos animais do grupo manutenção, conforme já discutido anteriormente. Neste caso, por estarem em situação de déficit energético mais intenso, os animais mais pesados (grupo de ganho livre) mobilizam com mais presteza e severidade tanto as reservas lipídicas quanto as reservas proteicas. Neste ponto, é importante destacar ainda a eficiência dos mecanismos para manter a homeostase energética, visto que os animais do grupo de ganho livre conseguem manter os valores plasmáticos de glicose superiores, quando comparados aos animais dos grupos de ganho médio e manutenção, no decorrer do jejum, conforme evidenciado pelos resultados da tabela 8.

Na tabela 14 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de proteína total, albumina e globulinas ao longo do período de jejum, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 14** - Concentrações plasmáticas médias de proteína total, albumina e globulinas, expressos em mg/dL, durante o período de jejum (0, 24, 48 e 72 horas), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0h	24 h	48 h	72h	
Proteína Total (g/dL)	Ganho Livre	7,14 a	8,34 a	8,11 a	7,56 a	7,78 a
	Ganho Médio	7,61 a	7,02 a	8,66 a	7,64 a	7,73 a
	Mantença	7,35 a	7,61 a	8,31 a	9,04 a	8,07 a
	Média	7,37	7,65	8,36	8,08	CV = 13,58
Albumina (g/dL)	Ganho Livre	4,45 a	4,62 a	4,62 a	4,38 a	4,52 a
	Ganho Médio	4,61 a	4,27 a	5,07 a	4,57 a	4,63 a
	Mantença	4,27 a	4,51 a	4,89 a	5,32 a	4,75 a
	Média	4,44	4,47	4,86	4,76	CV = 12,54
Globulinas (g/dL)	Ganho Livre	2,69 a	3,72 a	3,38 a	3,18 a	3,24 a
	Ganho Médio	3,01 a	2,75 a	3,59 a	3,07 a	3,10 a
	Mantença	3,08 a	3,09 a	3,41 a	3,72 a	3,32 a
	Média	2,93	3,19	3,46	3,32	CV = 9,07

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não foram observadas diferenças para as concentrações plasmáticas de proteína total, albumina e globulinas entre os diferentes grupos. Não houve interação entre os tratamentos e os tempos de jejum.

MARUTA (2005) obteve elevação nos valores de proteína total, albumina e globulinas ao longo do jejum de 48 horas imposto em garrotes. Entretanto, no trabalho deste autor ficou evidenciada a ocorrência de desidratação e hipovolemia nos animais, o que pode justificar o aumento nos valores plasmáticos destes componentes. No presente estudo, conforme demonstrado nos valores de hematócrito da tabela 13, não foi observada a ocorrência de desidratação. Além disso, conforme discutido anteriormente, a albumina, que corresponde a cerca de 60% das proteínas totais, é mais utilizada como um indicador do *status* proteico no médio e longo prazo.

Em situações de jejum alimentar rápido não é, portanto, esperado alteração no seu valor, excluindo-se as variações devidas à desidratação. Nos períodos de privação alimentar aguda, como imposto durante este experimento, a quebra de tecido muscular, com o objetivo de disponibilizar aminoácidos para a gliconeogênese hepática, geralmente promove efeitos de

curto prazo no *status* energético. A albumina comumente não sofre influências destas alterações em curto prazo do catabolismo proteico.



### 4.3. Avaliação do perfil metabólico e hormonal em garrotes submetidos a realimentação pós-jejum

Comparando-se os valores médios de peso vivo que os animais dos diferentes tratamentos apresentavam no início do jejum, 421,4 kg, 387,6 kg e 334,6 kg, respectivamente para os animais dos grupos de ganho livre, médio e manutenção, com o peso vivo médio após 72 horas de realimentação, 417,4 kg, 378,6 kg e 329,3 kg, respectivamente para os animais dos grupos de ganho livre, médio e manutenção observa-se que houve quase a recuperação completa do peso vivo, principalmente devido ao conteúdo do trato gastrointestinal.

Quanto ao *status* energético e proteico dos animais, observa-se que significativas diferenças ocorreram já nas primeiras 24 horas pós-realimentação, conforme será descrito a seguir.

Na tabela 15 estão expressos os valores médios da concentração plasmática de glicose durante o período de realimentação, dos animais dos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 15-** Concentrações plasmáticas médias de glicose (mg/dL e mmol/L), durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0 h	24 h	48 h	72h	
Glicose (mg/dL)	Ganho Livre	69,09 a	80,31 a	77,81 a	79,34 a	76,64 a
	Ganho Médio	66,91 a	81,97 a	75,09 a	76,57 a	75,13 a
	Manutença	64,45 a	71,70 a	69,47 a	69,03 a	68,66 b
	Média	66,82	77,99	74,12	74,98	CV = 11,87
Glicose (mmolL)	Ganho Livre	3,84 a	4,46 a	4,32 a	4,41 a	4,26 a
	Ganho Médio	3,72 a	4,55 a	4,17 a	4,25 a	4,17 a
	Manutença	3,58 a	3,98 a	3,86 a	3,84 a	3,81 b
	Média	3,71	4,33	4,12	4,17	CV = 11,87

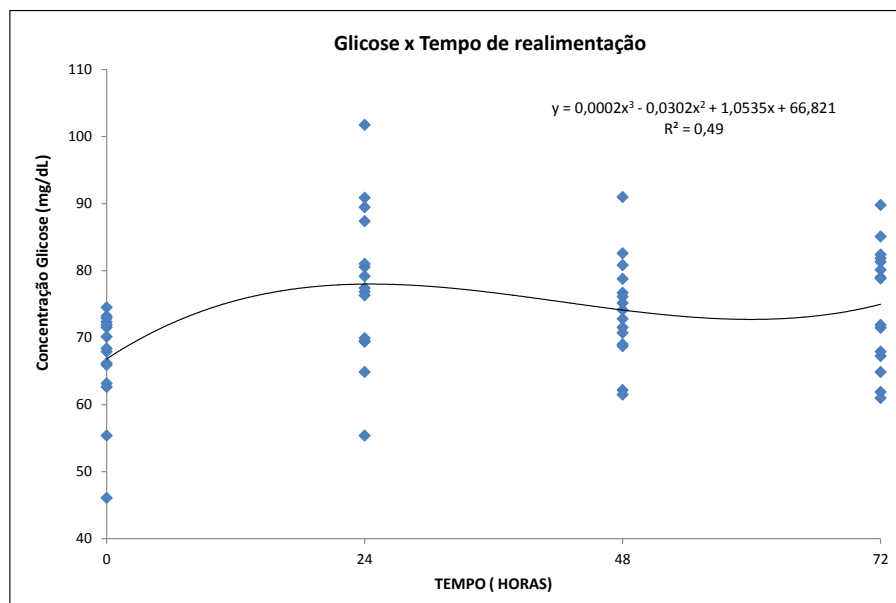
Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Maiores concentrações de glicose plasmática foram obtidas nos animais do grupo de ganho livre (76,64 mg/dL) e médio (75,13 mg/dL), em relação aos animais do grupo manutenção (68,66 mg/dL). Os valores obtidos para os animais dos grupos de ganho livre e

médio encontram-se um pouco acima do valor de referência proposto por KANEKO et al. (1997) e KANEKO et al. (2008), entre 2,5 mmol/L - 4,6 mmol/L e entre 45-75 mg/dL.

Observa-se que logo nas primeiras 24 horas de realimentação pós-jejum houve restabelecimento das concentrações plasmáticas de glicose nos animais dos três grupos, conforme demonstrado no gráfico 5. Se por um lado ficou evidenciado que o jejum provocou uma alteração no metabolismo energético em curto prazo, a realimentação promoveu uma recuperação imediata do *status* energético, principalmente se observamos a curva glicêmica, em associação com outras variáveis, como as concentrações plasmáticas de AGNE,  $\beta$ -BHB e ureia, que serão discutidas na sequência.

**Gráfico 5** - Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL) e tempo de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.



Os valores médios obtidos da concentração plasmática de glicose no decorrer da realimentação foram maiores que os valores glicêmicos obtidos antes do início do jejum. Resultado semelhante foi encontrado por MARUTA (2005) que, ao avaliar o perfil metabólico de garrotes durante o período pós-prandial normal, o jejum e a realimentação, obtiveram maiores valores de glicemia no período de realimentação, quando comparado com o período pós-prandial normal. Sugere-se que isto ocorra devido ainda a alguma contribuição dos produtos da mobilização das reservas corporais durante o jejum. Ou seja, mesmo que a

mobilização tenha cessado, alguns substratos gliconeogênicos ainda circulantes no organismo animal podem ter contribuído para os maiores valores de glicose plasmática.

No complexo trabalho de LOMAX e BAIRD (1983) demonstrou-se que no primeiro dia de realimentação, após longo período de jejum, a quantidade de propionato ruminal absorvido para a veia porta era 68,5% inferior que em condições normais de alimentação em bovinos. Ou seja, a intensa gliconeogênese gerada no 1º dia de realimentação não foi determinada basicamente pelo propionato ruminal que em condições normais é o principal substrato gliconeogênico. GALYEAN et al. (1981) encontraram teores de propionato ruminal 79% menores nas primeiras horas de realimentação, após período de jejum, em relação ao grupo controle.

Embora não tenha sido avaliada neste experimento a parte de fermentação ruminal, vários trabalhos da literatura (BOND et al., 1976; GALYEAN et al., 1981) indicam que após a ocorrência do jejum há uma lenta recuperação na microbiota ruminal, indicando assim que a fermentação ruminal está abaixo do padrão normal. Isto também foi evidenciado no estudo de MARUTA (2005), que encontrou menores quantidades de protozoários (unidades  $\times 10^6$ / ml) durante as 48 horas de realimentação, assim como maior tempo de redução do azul de metileno (minutos) nas primeiras horas de realimentação, evidenciando que a recuperação da população microbiana não ocorre de forma imediata.

No trabalho de GALYEAN et al. (1981) a quantidade de protozoários voltou ao normal somente após 72 horas de realimentação pós-jejum. Já a população bacteriana se elevou de maneira marcante já nas primeiras horas de realimentação. Segundo estes autores, as bactérias tendem a se multiplicar com maior rapidez em ambiente ruminal defaunado que faunado, além disso não diminuem tão drasticamente seu número durante o jejum, pois apresentam grandes depósitos de grânulos de polissacarídeos no seu citoplasma, sendo portanto capazes de suportar por mais tempo a ausência de substrato (HOBSON, 1988).

Na tabela 16 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de insulina e cortisol durante o período de realimentação, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 16-** Concentrações plasmáticas médias de insulina (uU/ml) e cortisol (mmol/L), e transformados em log (x+1), durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0h	24 h	48 h	72h	
Insulina (uU/ml)	Ganho Livre	6,31 a	13,34 a	15,12 a	21,12 a	13,97 a
	Ganho Médio	7,76 a	17,02 a	14,08 a	20,13 a	14,75 a
	Mantença	6,48 a	11,89 a	10,48 a	12,29 a	10,29 b
	Média	6,85	14,08	13,23	17,85	CV = 139,09
Log. Insulina	Ganho Livre	0,86 a	1,16 a	1,21 a	1,34 a	1,14 a
	Ganho Médio	0,94 a	1,26 a	1,18 a	1,32 a	1,18 a
	Mantença	0,87 a	1,11 a	1,06 a	1,12 a	1,04 b
	Média	0,89	1,17	1,15	1,26	CV = 20,35
Cortisol (mmol/L)	Ganho Livre	8,16 a	27,33 a	6,77 a	7,20 a	12,36 a
	Ganho Médio	10,05 a	7,97 a	11,53 a	6,62 a	9,04 a
	Mantença	13,41 a	17,69 a	11,14 a	10,93 a	13,29 a
	Média	10,54	17,66	9,81	8,25	CV = 92,10
Log. Cortisol	Ganho Livre	0,96 a	1,45 a	0,89 a	0,91 a	1,05 a
	Ganho Médio	1,04 a	0,95 a	1,10 a	0,88 a	0,99 a
	Mantença	1,16 a	1,27 a	1,08 a	1,08 a	1,15 a
	Média	1,05	1,23	1,02	0,96	CV = 32,42

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Observando-se os dados médios de insulina, verificou-se que animais do grupo de ganho livre (1,14) e médio (1,18) apresentaram maiores ( $p < 0,05$ ) concentrações plasmáticas deste hormônio quando comparados aos animais do grupo manutenção (1,04). Não foram observadas interações entre os diferentes tratamentos e tempos de realimentação. Conforme discutido anteriormente, a insulinemia reflete diretamente a glicemia dos animais, portanto, com a elevação dos valores de glicose ao longo do período de realimentação, conforme demonstrado na tabela 15, houve coerência entre o comportamento deste metabólito e deste hormônio. Visto os elevados valores destes logo nas primeiras 24 horas de realimentação, observa-se a rápida recuperação do *status* energético dos animais. Não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de cortisol entre os diferentes grupos, assim como não ocorreu interação entre tratamento e tempo de realimentação. Entretanto, ao comparar os valores de cortisol obtidos durante o jejum, 15,25 mmol/L, 20,62 mmol/L e 23,04 mmol/L para os animais dos grupos de ganho livre, médio e manutenção, respectivamente, com os

valores de cortisol obtidos no decorrer da realimentação, 12,36 mmol/L, 9,04 mmol/L e 13,29 mmol/L para os animais dos grupos de ganho livre, médio e manutenção, respectivamente, observa-se que durante o jejum houve uma tendência de superioridade dos valores deste hormônio, principalmente em vista da destacada ação catabólica que o cortisol promove em situações de déficit energético.

Na tabela 17 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE) durante o período de realimentação, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 17-** Concentrações plasmáticas médias de beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE), expressos em mmol/L, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0 h	24 h	48 h	72h	
BHB (mmol /L)	Ganho Livre	0,915 a	0,680 a	0,739 a	0,522 a	0,714 a
	Ganho Médio	0,923 a	0,566 a	0,553 a	0,374 a	0,604 ab
	Mantença	0,930 a	0,571 a	0,371 a	0,185 a	0,514 b
	Média	0,923	0,605	0,554	0,360	CV = 29,41
AGNE (mmol / L)	Ganho Livre	1,026 a	0,725 a	0,487 a	0,170 a	0,602 a
	Ganho Médio	0,942 a	0,596 a	0,337 a	0,128 a	0,501 b
	Mantença	0,861 a	0,457 a	0,266 a	0,174 a	0,440 b
	Média	0,943	0,592	0,363	0,158	CV = 28,05

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

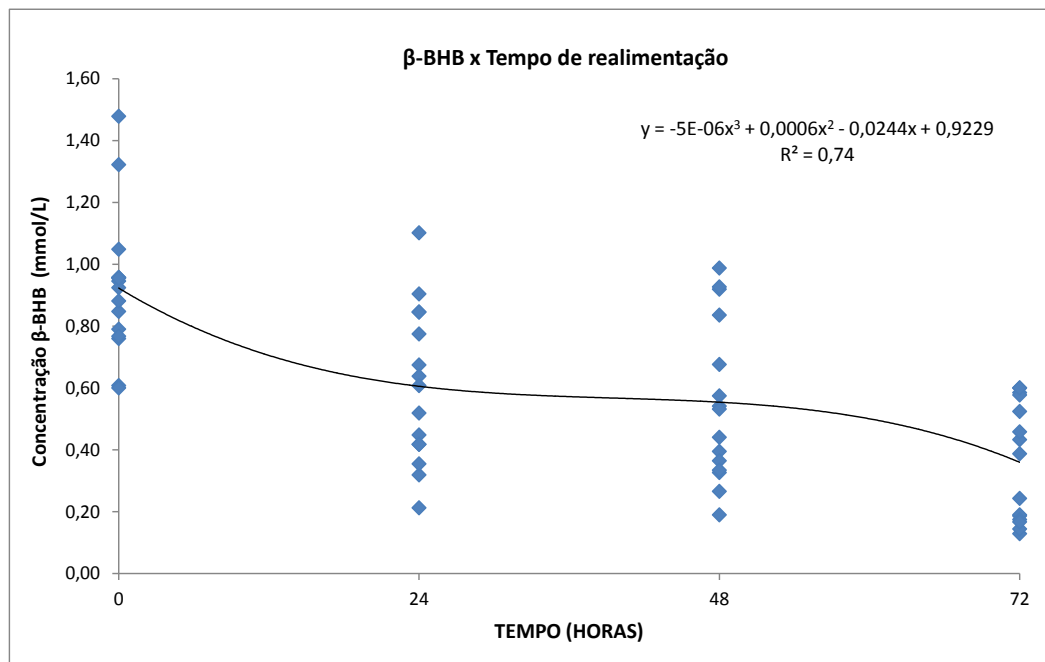
Animais do grupo de ganho livre (0,714 mmol/L) apresentaram maiores concentrações plasmáticas de beta-hidroxibutirato ( $\beta$ -BHB), em relação aos animais do grupo manutenção (0,514 mmol/L) no decorrer do período de realimentação, sendo os valores intermediários obtidos para os animais do grupo de ganho médio. Os valores obtidos nos animais do grupo de ganho livre e ganho médio encontram-se um pouco acima do valor de referência proposto por KANEKO et al. (2008), de  $< 0,55 \text{ mmol/L} \pm 0,04$ , ainda reflexo da alta mobilização de reservas lipídicas que ocorreu nestes no decorrer do jejum.

Provavelmente ainda como resultado desta maior mobilização os animais do grupo de ganho livre (0,602 mmol/L) apresentaram maiores ( $p<0,05$ ) concentrações plasmáticas de

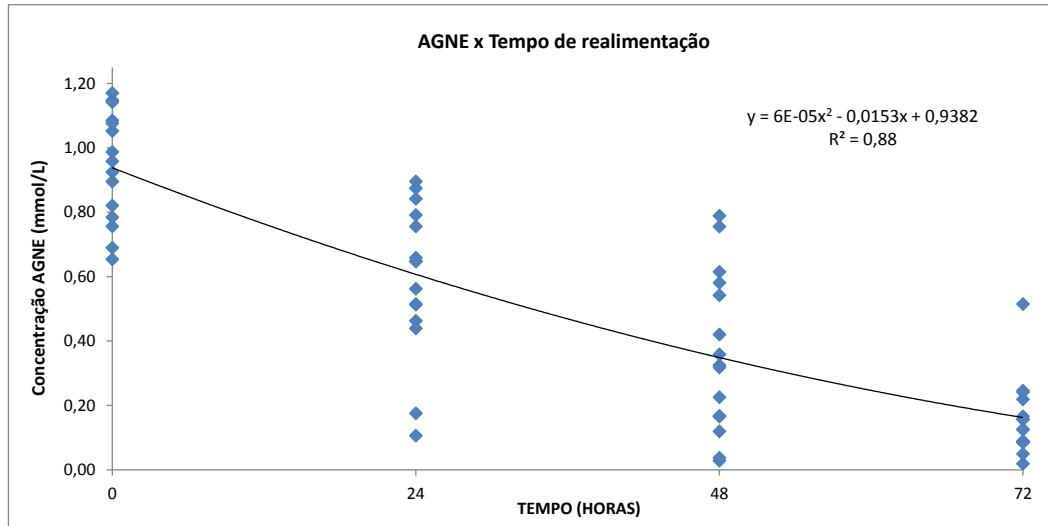
AGNE, comparados aos animais dos grupos de ganho médio (0,501 mmol/L) e manutenção (0,440 mmol/L).

Observa-se uma marcante redução nos valores plasmáticos de  $\beta$ -BHB e AGNE ao longo do período de realimentação, evidenciando assim queda drástica na ocorrência da lipólise, conforme demonstrado nos gráficos 6 e 7. Resultado semelhante foi obtido por MARUTA (2005) que já no tempo de 12 horas de realimentação encontrou concentrações plasmáticas de AGNE três vezes menor ao valor máximo encontrado, no tempo de 48 horas de jejum.

**Gráfico 6-** Concentrações plasmáticas de  $\beta$ -BHB (mmol/L) e o tempo de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.



**Gráfico 7-** Concentrações plasmáticas de AGNE (mmol/L) e o tempo de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.



Com a elevação dos valores de glicose e insulina, demonstrada anteriormente, cessam o estado catabólico e as mobilizações de reserva corporal resultante deste. A glicemia elevada, em associação aos efeitos anabólicos da insulina, estimula a lipogênese diminuindo consequentemente a lipólise que concomitantemente reduz a cetogênese (HERDT, 2000). Os resultados deste estudo suportam esta teoria, sendo os valores de AGNE obtidos no tempo de 72 horas de realimentação bem reduzido e próximo aos valores obtidos deste componente no período de alimentação normal, descrito anteriormente.

Na tabela 18 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT) durante o período de realimentação, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 18-** Concentrações plasmáticas médias de AST e GGT durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0 h	24 h	48 h	72h	
AST (U/L)	Ganho Livre	42,84 a	38,91 a	28,05 a	31,97 a	35,44 a
	Ganho Médio	40,60 a	32,93 a	33,82 a	33,38 a	35,18 a
	Mantença	40,30 a	35,03 a	30,66 a	27,45 a	33,36 a
	Média	41,25	35,62	30,84	30,93	CV = 21,32
GGT (U/L)	Ganho Livre	27,47 a	26,00 a	23,11 a	23,47 a	25,01 a
	Ganho Médio	26,11 a	26,96 a	28,89 a	26,85 a	27,20 a
	Mantença	31,85 a	24,71 a	24,22 a	23,55 a	26,08 a
	Média	28,48	25,89	25,41	24,62	CV = 16,59

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas das enzimas AST e GGT nos diferentes grupos, assim como não houve interação entre os tratamentos e tempos de realimentação. Os valores médios das concentrações plasmáticas de AST dos animais dos grupos de ganho livre e médio, embora próximos, encontram-se um pouco acima dos valores de referência propostos por KANEKO et al. (2008), entre 20 e 34 U/L. Os valores das concentrações plasmáticas de GGT encontram-se dentro dos valores de referência propostos também por estes autores, entre 20-52 U/L para GGT.

A proximidade dos valores encontrados para as concentrações plasmáticas de AST suportam a hipótese discutida no período de jejum, que embora tenha ocorrido significativa lipólise, a mesma não foi suficiente para causar disfunção hepática. Caso isto tivesse ocorrido, mesmo depois de cessado o jejum, as concentrações plasmáticas de AST poderiam estar elevadas, o que não ocorreu no presente experimento. Isto evidencia que o organismo animal responde e adapta sua fisiologia à restrição alimentar imposta sem maiores prejuízos à sua saúde e que causem alterações no seu metabolismo.

Na tabela 19 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol durante o período de realimentação, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.



**Tabela 19-** Concentrações plasmáticas médias de triglicerídeos e colesterol, expressas em mg/dL, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0 h	24 h	48 h	72h	
Triglicerídeos (mg/dL)	Ganho Livre	40,95 a	39,51 a	39,67 a	41,38 a	40,38 a
	Ganho Médio	44,26 a	41,03 a	37,02 a	34,06 a	39,09 a
	Mantença	33,93 a	33,64 a	38,23 a	38,30 a	36,03 a
	Média	39,71	38,06	38,30	37,91	CV = 21,30
Colesterol (mg/dL)	Ganho Livre	105,27 a	95,95 a	83,62 a	89,61 a	93,61 a
	Ganho Médio	100,07 a	94,58 a	103,31 a	94,74 a	98,18 a
	Mantença	108,50 a	95,64 a	90,35 a	88,51 a	95,75 a
	Média	104,61	95,39	92,43	90,95	CV = 19,92

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol nos diferentes grupos, assim como não houve interação entre os tratamentos e tempos de realimentação. MARUTA (2005) obteve resultados semelhantes no decorrer do período de realimentação de 48 horas.

Com a redução do estado catabólico a que os animais estavam submetidos durante o período de jejum, é esperado que ocorresse uma redução nas concentrações plasmáticas de triglicerídeos. Sendo este um produto da mobilização de AGNE nos períodos de restrição alimentar, quando o animal está frente a condições normais de alimentação, não se espera que ocorra formação de grandes quantidades deste componente.

Na tabela 20 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de ureia e creatinina e os valores de hematócrito durante o período de realimentação, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 20-** Concentrações plasmáticas médias de ureia e creatinina, expressas em mg/dL, e valor do hematócrito, expresso em %, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0 h	24 h	48 h	72h	
Ureia (mg/ dL)	Ganho Livre	40,43 a	32,60 a	19,92 a	24,18 a	29,28 a
	Ganho Médio	32,51 a	32,09 a	26,73 a	27,58 a	29,73 a
	Mantença	36,63 a	24,52 a	21,88 a	20,94 a	25,99 a
	Média	36,52	29,74	22,84	24,23	CV = 28,06
Creatinina (mg/dL)	Ganho Livre	2,61 a	2,67 a	2,36 a	2,27 a	2,48 a
	Ganho Médio	2,73 a	2,77 a	2,92 a	2,66 a	2,77 b
	Mantença	2,50 a	2,29 a	2,58 a	2,07 a	2,36 a
	Média	2,61	2,58	2,62	2,33	CV = 12,89
Hematócrito (%)	Ganho Livre	40,6 a	41,6 a	40,6 a	39,4 a	40,55 a
	Ganho Médio	41,4 a	41,8 a	40,4 a	38,6 a	40,55 a
	Mantença	38,4 a	37,4 a	38,6 a	36,0 a	37,60 b
	Média	40,1	40,3	39,9	38,0	CV = 5,34

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

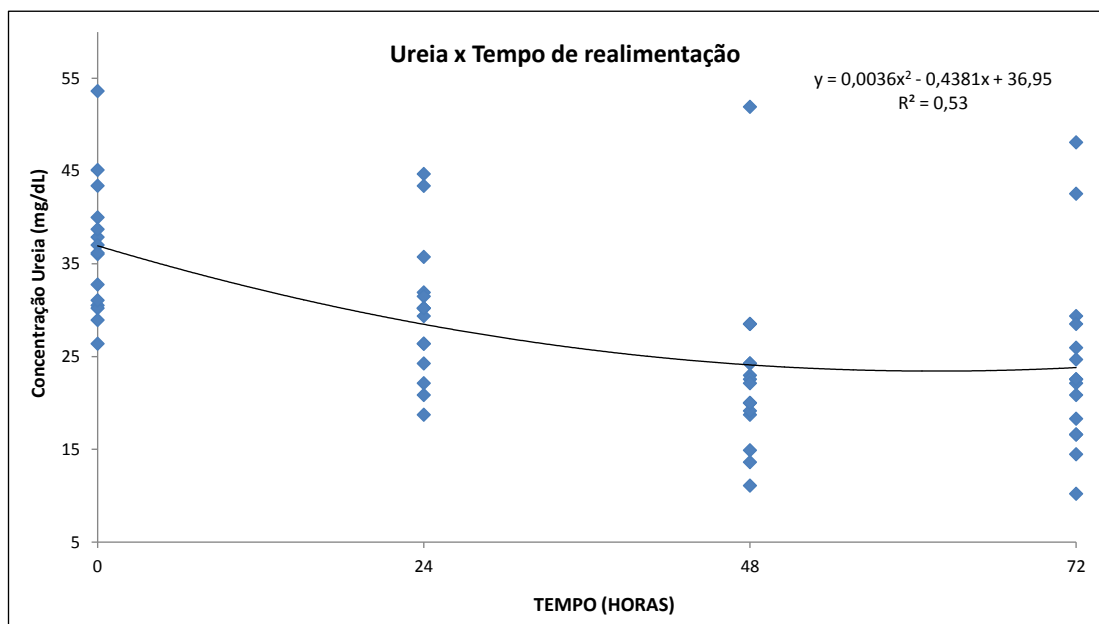
Não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de ureia nos diferentes grupos, assim como não houve interação entre os tratamentos e tempos de realimentação. Maiores ( $p < 0,05$ ) concentrações plasmáticas de creatinina foram obtidas nos animais do grupo de ganho médio, quando comparados aos grupos de ganho livre (2,48 mg/dL) e manutenção (2,36 mg/dL). Uma explicação plausível para esta superioridade dos valores de creatinina para os animais do grupo de ganho médio reside no fato deste componente estar diretamente relacionado à quantidade de massa muscular esquelética. Apesar de não ter sido avaliado no presente experimento, sugere-se que os animais do grupo de ganho médio apresentavam maior proporção de músculo em relação ao peso total que os animais do grupo de ganho livre. Estes, por sua vez, têm maior quantidade de gordura e proporcionalmente menor quantidade de massa muscular, quando comparados aos animais do grupo de ganho médio, o que justificaria assim a maior concentração de creatinina nestes.

De acordo com os valores de referência da ureia propostos por JENKINS et al. (1982) para machos com idade entre 21 e 24 meses, semelhante aos utilizados neste experimento (entre 25,8 mg/dL  $\pm$  5,4 mg/dL e 28,2  $\pm$  6,0 mg/dL, respectivamente) observa-se que os valores obtidos durante o período de realimentação estão dentro da normalidade, diferente do

que foi obtido no período de jejum. Semelhante aos valores de creatinina encontrados no período de jejum, os valores encontrados no período de realimentação encontram-se acima do valor de referência proposto por KANEKO et al. (2008), que está entre 1-2 mg/dL.

Em relação ao período de jejum, observa-se que houve redução nas concentrações de ureia. Os valores superiores de ureia nas primeiras 24 horas de realimentação, em relação às 24 horas posteriores, conforme demonstrado no gráfico 8, evidencia que mesmo após os animais terem encerrado o período de jejum, os aminoácidos ainda participaram da gliconeogênese hepática.

**Gráfico 8-** Concentrações plasmáticas de ureia (mg/dL) e o tempo de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção.



Resultado semelhante foi obtido por MARUTA (2005), que encontrou valores elevados de ureia nas primeiras 12 horas de realimentação, sendo estes valores inclusive superiores aos obtidos no período de jejum. Este ponto merece uma discussão mais detalhada devido a alguns autores atribuírem aos aminoácidos uma grande importância na produção de glicose no pós-jejum.

No trabalho de LOMAX e BAIRD (1983), levando em consideração a quantidade de propionato, lactato,  $\beta$ -BHB, glicerol e alguns aminoácidos que foram determinados na artéria hepática, os autores teorizaram que o principal substrato precursor da glicose durante a

realimentação seria o lactato (54,4%), seguido pelo propionato (16,9%) e os aminoácidos (4,4%), sendo este último valor contestado por alguns autores que o consideram subestimado.

Esta hipótese é contestada de acordo com os resultados encontrados no trabalho de BOND et al. (1976). Segundo estes autores, bovinos realimentados com dieta contendo concentrados energéticos podem até dobrar a quantidade de ácido láctico produzido no rúmen e sua absorção, porém este substrato não seria suficiente para gerar a maioria da glicose neoformada, conforme descrito por LOMAX e BAIRD (1983).

Os valores de hematócrito apresentaram pequena variação durante o período de realimentação, sendo superiores nos animais dos grupos de ganho livre e restrito, quando comparados com o grupo manutenção, embora os valores encontrados para os três grupos encontrem-se dentro do valor de referência proposto por ROSENBERGER (1993), que está entre 24 e 46%. Comparando-os com os valores obtidos no período de jejum, observa-se que os mesmos foram bastante semelhantes, suportando assim a hipótese de que durante o jejum alimentar os animais não estavam desidratados, evidenciando a importância do fornecimento do soro oral com o objetivo de minimizar as interferências na fisiologia do animal, conforme discutido no período de jejum.

Na tabela 21 estão expressos os valores médios das concentrações plasmáticas de proteínas totais, albumina e globulinas durante o período de realimentação, nos grupos de ganho livre, ganho médio e manutenção.

**Tabela 21-** Concentrações plasmáticas médias de proteína total, albumina e globulinas, expressas em mg/dL, durante o período de realimentação (0h, 24h, 48h e 72h), de garrotes submetidos a três diferentes planos nutricionais: ganho livre, ganho médio e manutenção

Variável	Grupo	Tempo				Média
		0 h	24 h	48 h	72h	
Proteína Total (g/dL)	Ganho Livre	7,56 a	7,69 a	7,13 a	7,58 a	7,49 a
	Ganho Médio	7,64 a	8,06 a	8,09 a	7,68 a	7,87 a
	Mantença	8,54 a	8,19 a	7,26 a	7,08 a	7,76 a
	Média	7,91	7,98	7,49	7,45	CV = 14,82
Albumina (g/dL)	Ganho Livre	4,38 a	4,44 a	3,92 a	4,33 a	4,27 a
	Ganho Médio	4,57 a	4,76 a	4,95 a	4,71 a	4,75 a
	Mantença	5,32 a	4,84 a	4,52 a	4,35 a	4,76 a
	Média	4,76	4,68	4,46	4,46	CV = 13,51
Globulinas (g/dL)	Ganho Livre	3,18 a	3,25 a	3,21 a	3,26 a	3,23 a
	Ganho Médio	3,07 a	3,30 a	3,14 a	2,97 a	3,12 a
	Mantença	3,22 a	3,35 a	2,75 a	2,73 a	3,00 a
	Média	3,15	3,30	3,03	2,98	CV = 11,20

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de proteína total, albumina e globulinas nos diferentes grupos. Não houve interação entre os tratamentos e tempos de realimentação.

Nota-se na literatura uma escassez de trabalhos avaliando o perfil metabólico e hormonal de bovinos em diferentes planos nutricionais, assim como avaliando os efeitos de jejum e realimentação. A maioria dos trabalhos com este enfoque no metabolismo dos animais foi feita em vacas leiteiras especializadas, notadamente com ênfase ao período de transição. Os poucos estudos realizados foram especialmente avaliando as consequências do jejum no metabolismo animal, em detrimento a estudos avaliando o período de realimentação. Neste ponto, destaca-se o complexo entendimento dos mecanismos hormonais regulatórios do perfil metabólico durante a realimentação, principalmente em relação à ordem cronológica dos eventos, notadamente a disponibilidade de substratos e variações no perfil hormonal ao longo deste período.

## 5. CONCLUSÕES

Os diferentes planos alimentares impostos causaram pequena influência no *status* metabólico dos animais, entre os grupos experimentais, estando os animais em condições fisiológicas.

A resposta dos animais ao jejum alimentar imposto evidencia a eficiência dos mecanismos de manutenção da homeostase energética nestes, dentro do período avaliado.

O período de realimentação promoveu significativa recuperação do *status* energético nas primeiras 24 horas.

A metodologia da respirometria adotada no Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal (LAMACA) do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG, para avaliação das exigências nutricionais dos bovinos respeita às condições fisiológicas dos animais.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAIN, C. C.; POON, L. S.; CHAN, C. S. G.; RICHMOND, W.; FU, P. C.; Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry*, v. 20, n.4, 1974, p. 470-475.
- AVILA, C.D., E.J.DE PETERS, H. PEREZ-MONTI, S.J. TAYLOR, and R.A. ZINN. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:1505. 2000.
- BAIRD, G. D. 1982. Primary Ketosis in the High-Producing Dairy Cow: Clinical and Subclinical Disorders, Treatment, Prevention, and Outlook. *J. Dairy Sci.*, 65(1), 1-10.
- BAKER, R.D.; YOUNG, N.E.; LAWS, J.A. Changes in the body composition of cattle exhibiting compensatory growth and the modifying effects of grazing management. *Anim. Produc.*, v. 41, p. 309-319, 1985.
- BALARIN, M. R.S.; KUBOTA, M. M. Impacto do manejo em alguns valores séricos bovinos. Anais do XI Encontro Anual de Iniciação Científica - Universidade Estadual de Maringá/ Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, 2002.
- BARINI, A. C. Bioquímica sérica de bovinos (*Bos taurus*) sadios da raça Curraleiro de diferentes idades. 2007. 104f. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- BERGLUND, B. & OLTNER, R. Blood levels of leukocytes, glucose, urea, creatinine, calcium, inorganic phosphorus and magnesium in dairy heifers from three months of age to calving. *Zentralbl. Veterinaermed.*, v.30, n.1, p.59-71, 1983.
- BERGMAN, E. N. Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycemia and ketosis. *Cornell Veterinary*, v. 63, n.3, p.342-382, 1973.
- BERGMAN, E.N.; ROE, W.E.; KON, W. Quantitative aspects of propionate metabolism and gluconeogenesis in sheep. *Am. J. Physiol.*, v.211, p.793-799, 1970.
- BERNE, R. M.; LEVY, M, N.; *Fisiologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 1082 p.
- BERTONI, G.; TREVISI, E.; HAN, X. et al. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows, *J. Dairy Sci.*, v.91, n.9, p.3300–3310, 2008.
- BOLLEN, M., KEPPENS, S., STALMANS, W. (1998). Specific features of glycogen metabolism in the liver. *Biochem. J.* 336: 19 - 31. 1998.
- BOND, J; RUMSEY, T. S; WEINLAND, B. T. Effect of deprivation and reintroduction of feed and water on the feed and water intake behavior of beef cattle. *J. Anim. Sci.*, v.43, n.4, p.873-878, 1976.
- BOUCHAT, J. C.; DOIZE, F.; PAQUAY, R.; 1981. Influence of diet and prolonged fasting on blood lipids, ketone bodies, glucose and insulin in adult sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 21:69.

BROCKMAN, R.P., 1979. Roles for Insulin and Glucagon in the Development of Ruminant Ketosis — A Review. *The Canadian Veter. J.*, 20(5), 121-126.

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

BUTERRY, P. J. Hormonal control of protein deposition in animals. *Proceedings of the Nutrition Society / Volume 42 / Issue 02 / June 1983*, pp 137 - 148.  
DOI: 10.1079/PNS19830020, Published online: 28 February 2007.

CARDOSO, E.G. Confinamento de bovinos, 2000. Capturado em 14 de jun. 2012. Online.Disponívelhttp://cnpqg.embrapa.br/publicações/cursosuplementacao

CATTON, J.S.; DHUYVETTER, D.V. 1997. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. *J. Anim. Sci.*, 75(2):533-542.

CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREALL, M.; Digestive and metabolic adaptation of ruminants to undernutrition and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.*, v. 38, n.2, p. 131-152, 1998.

CHORFI, Y. Evaluation of variation n serum globulin concentrations in dairy cattle. *Veterinary Clinical Pathology*, Davis, v.33, n.3, p.122-127, 2004.

CHOW, J. M; E.J. DE PETERS, BALDWIN, R.L. Effect of rumen-protected methionine and lysine on casein in milk when diets high in fat or concentrate are fed. *J. Dairy Sci.*73:1051. 1990.

CHWALIBOG, A. Physiological basis of heat production – The fire of life. *Res. School of Nut. and Phys.*, 2004.

COOGINS, C. R. E. E.; FIELD, A. C. Diurnal variation in the chemical composition of plasma from lactating beef cows on three energy intakes. *J. Agric. Sci.* v. 86, p.595-602, 1976.

COSTA, R.R.; VIANA, E.S.; CAMPOS, J.M. et al. Dosagem de algumas enzimas no soro e o teste de retenção da bromosulfaleína em bezerros normais. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais*, v.26, p.85-88, 1974.

CUNNINGHAM J.G, 2004. *Tratado de Fisiologia Veterinária – Terceira Edição*, Guanabara Koogan.

DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: DIRKSEN, G.; GRUNDER, H. D.; STÖBER, M.; *Exame clínico dos bovinos*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, p. 166-288

DOOLITTLE, M., WONG, H.; DAVIS, R; SCHOTZ, M. (1987). Synthesis of hepatic lipase in liver and extrahepatic tissues. *J. Lipid Res.* 28(11): 1326-1334. 1987.

DRACKLEY, J. K.; VEENHUIZEN, J. J.; RICHARD, M. J.; YOUNG, J. W.; Metabolic changes in blood and liver of dairy cows during either feed restriction or administration of 1,3-butanediol. *J. Dairy Sci.*, v. 74, p.4254-4254, 1991.



DUCHARME, N. A.; BICKEL, P. E.; (2008). Minireview: Lipid Droplets in Lipogenesis and Lipolysis. *Endocrinology* 149(3): 942-949. 2008.

ELLIOTT, J. P; DRACKLEY, J. K; SCHAUFF, D. J; JASTER, E. H. Diets containing high oil corn and tallow for dairy cows during early lactation. *J. Dairy Sci.* 76:775. 1993.

ELPHICK, M. C. Modified colorimetric ultramicro method for estimating NEFA in serum. *J. Clin. Pathol.*, v. 21, n.5, p.567-570, 1968.

FAGLIARI, J.J. Constituintes sanguíneos de bovinos lactentes, desmamados e adultos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bos bubalis*) da raça Murrah. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, v.50, n.3, p.263-271, 1998.

FERRELL, C.L., JENKINS, T.G. Body composition and energy utilization by steers of diverse genotypes fed a highconcentrate diet during the finishing period: I. Angus, Belgian Blue, Hereford, and Piedmontese Sires. *J. Anim. Sci.*, 76:647-657. 1998.

FEUERS, R. J., DUFFY, P. H.; LAEKEY, J. A.; TURTURRO, A.; MITTELSTAEDT, M. A.; HART, R. W. Effect of chronic caloric restriction on hepatic enzymes of intermediary metabolism in the male Fisher 344 rat. *Mechanisms of Ageing Development* 48: 179-189. 1988.

FLATT, W. P.; MOE, P. W.; MUNSON, A. W.; COOPER, T. Energy utilization by high producing dairy cows. II. Summary of energy balance experiments with lactating Holstein cows. *Energy Metabolism of Farm Animals*, EAAP Publ. 12, Warsaw, Poland. 1995.

FOSSATI, P.; PRENCIPE, L.; Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*, v. 28, n.10, p. 2077-2080, 1982.

FOX, D.G., SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J. D. et al. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. *J. Anim. Sci.*, 70(11):3578-3596.

GAGLIOSTRO, G. A. & CHILLIARD, Y. Utilización de lípidos protegidos en la nutrición de vacas lecheras. II. Efectos sobre la concentración plasmática de metabolitos y hormonas, movilización de lípidos corporales y actividad metabólica del tejido adiposo. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 12:17. 1992.

GALYEAN, M. L., LEE, R. W.; HUBBERT, M. E.; 1981. Influence of fasting and transit on ruminal and blood metabolites in beef steers. *J. Anim. Sci.* 53:7-18.

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

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

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: I SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2003, Porto Alegre. *Anais.....*Porto Alegre:UFRGS, 73-87, 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D.; Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L. A. O.; Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. p. 63-74.

GOTTSCHLICH, M. M. (2000). The science and practice of nutrition support: a case-based core curriculum, *Kendall Hunt Pub Co.* 17: 17-29.

GRAF, B. SENN, M. 1999. Behavioural and physiological responses of calves to dehorning by heat cauterization with or without local anaesthesia. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 62:153-171.

GRAHAM, M. J.; KENT, J.E.; MOLONY, V. 1997. Effects of four analgesic treatments on the behavioural and cortisol responses of 3-week-old lambs to tail docking. *Vet. J.* 153:87-97.

GREGORY, L.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; D'ANGELINO, F. J.; BENESI, F. J. ; BIRGEL, E. H. Valores de referência dos teores séricos da ureia e creatinina em bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. Influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v. 71, n. 3, p. 339-345, 2004.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Tratado de fisiologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 973 p. 1986.

HAGOPIAN, K., RAMSEY, J. J.; WEINDRUCH, R. (2003). Caloric restriction increases gluconeogenic and transaminase enzyme activities in mouse liver. *Experimental Gerontology* 38(3): 267-278. 2003.

HERDT, T.H. Fuel homeostasis in the ruminant. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim.*, v.4, p.213-231, 1988.

HERDT, H. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.16. n.2, p.215-229, 2000.

HOBSON, P. N. *The rumen microbial ecosystem*. New York, USA: Elsevier Science Publishers, 1988. 527 p.

HOBSON, P. N. e STEWART, C. S. *The rumen microbial ecosystem* (Second Edition). London, Blackie Academic& Professional. 1997.

HOCQUETTE, J. F.; BAUCHART, D. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in pre-ruminant and ruminant animals. *Reprod. Nutr. Dev.* v.39, n.1, p.27-48. 1999.

HORNICK, J.L.; VAN EENAEME, C.; DIEZ, M.; MINET, V.; ISTASSE, L. Different periods of feed restriction before compensatory growth in Belgian Blue bull: Plasma metabolites and hormones. *J. Anim. Sci.*, v.76, p.206-271, 1988.

INGVARTSEN, K.L., ANDERSEN, J.B. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.*, v.83, p.1573-1597, 2000.

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

JARDIM, E.C.; FICHTNER, S.S. Níveis séricos de transaminase glutâmica-oxalacética (GOT) e transaminase glutâmica-pirúvica (GPT) em bovinos do Estado de Goiás. *Anais Esc. Agron. Vet.*, v.11, p.19-28, 1981.

JENKINS, S. J.; GREEN, S. A.; CLARK, P. A. *Clinical chemistry reference values of normal domestic animals in various age groups – ASDetermined on the ABA-100*. Cornell Veterinarian, Ithaca, v. 72, n. 4, p. 403-415, 1982.

JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, v.76, n.12, p.3851-3863, 1993.

JORGE, A.M., FONTES, C.A.A., PAULINO, M.F. Efeito da raça e do nível nutricional sobre o tamanho de órgãos internos em zebuínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, Juiz de Fora, MG, 1997. *Anais ...* Juiz de Fora: SBZ, 1997, p. 466-468.

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

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; & BRUSS, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6º ed. Academic Press, San Diego. 916p. 2008.

KLEIBER, M. *The Fire of Life: an introduction to animal energetics*. 2 ed. Huntington: Robert E. Krieger Publishing Company., INC., 1972. 453p.

KOSLOSKI, G.V. *Bioquímica dos ruminantes*. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002.

KRONFELD, D. S.; RAGGI, F.; RAMBERG, C. F. Mammary flow and ketone metabolism in normal, fasted and ketotic cows. *Am. J. Phy.*, v.215, p.218, 1968.

LENG, R. A.; ANNISON, E. F.; Metabolic activities of sheep erythrocytes. *Austr. J. Agric. Res.*, v. 13, n.1, p. 31-44. 1962.

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

LOMAX, M. A.; BAIRD, G. D. Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cow: effects of lactation and fasting. *Brit. J. Nutri.*, v.49, n.1, p.481-496. 1983.

LUCA, G. C.; REIS, B. F. Espectrofotometria de proteínas totais em plasma de sangue bovino por análise em fluxo. *Scientia Agrícola*, Piracicaba: v. 59, n.2, p.251-256, 2001.

MARTHA JR., Jr., G.B., ALVES, E.; MUELLER, C.C., VILELA, L. Análise econômica e de risco da pecuária extensiva no Cerrado. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, SOCIOLOGIA E ADMINISTRAÇÃO RURAL, 48., 2010. *Anais.....*Campo Grande.

MARUTA, C.A. Perfil metabólico e ruminal de garrotes submetidos às condições de alimentação normal, jejum e realimentação. 2005. 93f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MAUGHAN, R. (2005). *Basic metabolism II: carbohydrate*. Surgery (Oxford) 23(5): 154-158.

MENDES, A.R.; EZEQUIEL, J. M. B.; GALATI, R. L.; FEITOSA, J. V.; Desempenho, parâmetros plasmáticos e características de carcaça de novilhos alimentados com farelo de girassol e diferentes fontes energéticas, em confinamento. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa: v.34, n.2, p.692-702, 2005.

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

MILLA, P. M.; POCH, M. D.; PUIGDEVALL, J. M. R. *Calorimetría: aplicaciones y manejo*. 2008; 2(3): 155-166.

N.R.C. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient requirements of beef cattle*. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2000. 242p.

NDIBUALONJU, B. B. Response of milk yield, plasma cortisol, amino acids, urea and glucose to a single low-dose administration of adrenocorticotrophic hormone in lactating cows. *Veterinary Research*, v.26, p.32-42, 1995.

NDIBUALONJI, B. B.; DEHARENG, D.; GODEAU, J. M. Influence de la mise à jeun sur l'amidoacidémie libre, l'urémie et la glycémie chez la vache laitière. *Ann. Zootech.* n.46: 163-174. 1997.

NELSON, D.L.; COX, M.M. *Lehninger principles of biochemistry*. 5.ed. New York: W.H. Freeman, 2011. 976p.

NESTEL, P.J., POYSER, R.L.; HOOD, S.C.; MILLS, M.R.; WILLIS, L.J.; COOK, J. E.; Scott, T.W. 1978. The effect of dietary fat supplements on cholesterol metabolism in ruminants. *J. Lipid Res.* 19:899.

NEWSHOLME, P., et. al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 36: 153-163, 2003.

NICOLETTI, J. L. M.; GANDOLFI, W.; KOHAYAGAWA, A.; IAMAGUTI, P.; PINTO, A. M. N. Alguns teores de constituintes séricos e hemograma em vacas da raça Gir, Holandês preto e branco e mestiças (Girolando), na região de Botucatu, SP. Arquivo da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, v. 30, n. 1, p. 19-30, 1981.

NORDLIE, R. C.; FOSTER, J. D.; LANGE, A. J.; Regulation of Glucose Production by the Liver. *An. Rev. Nut.* 19(1): 379-406. 1999.

OETZEL, G. R.; OLSON, J. D.; CURTIS, C. R.; Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 71, n.7, p. 3302-3309, 1988.

OTTO, F.; IBANEZ, A.; CABALLERO, B.; BOGIN, E. Blood profile of paraguayan cattle in relation to nutrition, metabolic stage, management and race. *Israel J. Vet. Med.*, v.47, n.3, p.91-99, 1992.

PAULINO, M. D. L. SARTORI, R. D. S. Eds. (2006). *Metabolismo e Transporte de Nutrientes 2006 (Capítulo 3). Agronomia - Bases da Fisiologia Animal.* 2006.

PAYNE, J. M. SALLY, M. DEW, R.; MANSTON, R. ; FAULKS, R.; The use of the metabolic profiles test in dairy herds. *Veterinary Research.* 87: 150-158. 1970.

PAYNE, J. M.; PAYNE, S. *The metabolic profile.* 1 ed. Oxford: Oxford University Press, 1987. p.179.

PERON, A.J., FONTES, C.A.A., LANA, R.P. et al. 1993. Rendimento de carcaça e de seus cortes básicos e área corporal de bovinos de cinco grupos genéticos submetidos à alimentação restrita e “ad libitum”. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 22(2):239-247.

POGLIANI, F. C. Valores de Referência e Influência dos Fatores Etários, Sexuais e da Gestação no Lipidograma de Bovinos da Raça Holandesa, Criados no Estado de São Paulo. 2006. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

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

PRIOR, R. L.; SMITH, S. B. Hormonal effects on partitioning of nutrients for tissue growth: role of insulin. *Federation Proc.* V.40, p. 2545-2549. 1982.

RADOSTITS, O. M.; ARUNDEL, J. H. *Veterinary Medicine.* 9th ed. London; New York: Saunders, 1877p. 2000.

RENAVILLE, R.; HAMMADI, M.; PORTETELLE, D. Role of the somatotropic axis in the mammalian metabolism. Domestic West, J.W., and G.M. Hill. Effect of a protected fat product on productivity of lactating Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 73:3200. 2002.

RESENDE, K. T.; TEIXEIRA, I. A.; FERNANDES, M. H. Metabolismo de energia. Em: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. ed. *Nutrição de Ruminantes.* São Paulo: FUNEP, 2006. 583 p.

ROBELIN, J., GEAY, Y. 1984. Body composition of cattle as affected by physiological status, breed, sex and diet. In: GILCHRIST, F.M.C., MACKIE, R.I (Eds.). *Herbage nutrition in the subtropics and tropics.* Johannesburg: Science Press. p.525-547.

ROBERTS, C. J.; REID, I. M. Fat cow syndrome and subclinical fatty liver. In: HOWARD, J.L. Current Veterinary Therapy 3 - Food Animal Practice. Saunders. Philadelphia, p.315-318, 1993.

RODRÍGUEZ, N.M; CAMPOS, W.E.; LACHICA, M.L. et al. A calorimetry system for metabolism trials. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.2, p.495-500, 2007.

ROHR, K.R., DAENICKE, R. 1984. Nutritional effects on the distribution of live weight as gastrointestinal tract fill and tissue components in growing cattle. *J. Anim. Sci.*, 38(3):753-765.

ROSA, J. L., BARTRONS, R., TAULER, A. Gene expression of regulatory enzymes of glycolysis/gluconeogenesis in regenerating rat liver. *Biochem J.* 287 ( Pt 1): 113-6. 1992.

ROSENBERGER, G. *Exame clínico dos bovinos*. 3 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1993. C. 8, p. 229 – 240.

ROWLAND, G. J. A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology, nutrition and disease, with particular reference to the interpretation of metabolic profiles. *W. Re. Nut. Diet*, v.35, n.1, p.172-235, 1980.

RULE, D. C.; BEITZ, D. C.; BOER, G.; LYLE, R. R.; TRENKLE, A. H.; YOUNG, J. W. Changes in hormone metabolite concentrations in plasma of steers during a prolonged fast. *J. Anim. Sci.*, v. 61, n. 4. p. 868-875, 1985.

RUSSEL, A. J. F.; WRIGTH, I. A.; The use of blood metabolites in the determination of energy status in beef cows. *Ani. Produc.*, v.37, p.335-343, 1983.

RYAN, W.J. Compensatory growth in cattle and sheep. *Nutrition Abstracts and reviews*. v. 60, p. 653-664, 1990.

SAGA, N.; BURNS, K. N.; CUNNINGHAM, N. F.; HEBERT, C. N.; PATTERSON, D. S. P. Some biochemical and hormonal aspects of experimental ovine pregnancy. *J. Agric. Sci. Camb*, n.67, p.129-138. 1966.

SAINZ, R.D.; TORRE DE LA, F.; OLTJEN, J.W. Compensatory growth and carcass quality in growth restricted and refeed beef steers. *J. Ani. Sci.*, v. 73, p. 2971-2976, 1995.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SANTOS, C. A. J; RIET-CORREA, F; DANTAS, A. F. M; BARROS, S. S; MOLYNEUX, R. J.; MEDEIROS, R. M .T. Toxic hepatopathy in sheep associated with the ingestion of the legume *Tephrosia cinerea* . *J. Vet. Diagnosis Investigation*. p.690-694. 2007.

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

SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C. *Análise de alimentos*. 3 ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.

SILVA, E. B.; FIORAVANTI, M. C. S.; SILVA, L. A. F.; ARAÚJO, E. G.; MENEZES, L. B.; MIGUEL, M. P.; VIEIRA, D. Característica leucocitária, relação albumina/globulina, proteína plasmática e fibrinogênio de bovinos da raça Nelore, confinados e terminados a pasto. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.8, p.2191-2196, Nov, 2008.

SILVA, R.R. Respirometria e determinação das exigências de energia e produção de metano de fêmeas bovinas leiteiras de diferentes genótipos. 2011. 59p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) – Escola De Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SMITH, N.E, BALDWIN, R.L. Effects of breed, pregnancy and lactation on weight of organs and tissues in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.57, n.9, p. 1055-1060, 1974.

SMITH, N.E., DUNKLEY, W.L. FRANKE, A. A. Effects of feeding protected tallow to dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.*, 61:747. 1978.

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.

TILLMAN, J. B., J. M. Dhabbi, P. L. Mote, R. L. Walford e S. R. Spindler (1996). Dietary Calorie Restriction in Mice Induces Carbamyl Phosphate Synthetase I Gene Transcription Tissue Specifically. *J. Biol. Chem.* 271:: 3500-3506.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. *SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas* Viçosa, MG: UFV. (Apostila), 1999.

VAN SCHAFTINGEN, E.; GERIN, I.; The glucose-6-phosphatase system. *Biochem J.* 2002 March 15; 362(Pt 3): 513–532. 2002.

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

VELEZ, J. C., DONKIN, S. S. Feed Restriction Induces Pyruvate Carboxylase but not Phosphoenolpyruvate Carboxykinase in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 88(8): 2938-2948. 2005.

WALSBERG, G. E. AND WOLF, B. O. (1995). Variation in the respiratory quotient of birds and implications for indirect calorimetry using measurements of carbon dioxide production. *J. Exp. Biol.* 198, 213–219.

WEEKES. T. E. C., SASAKI, Y. and TSUDA, T. 1983. Enhanced responsiveness to insulin in sheep exposed to cold. *Am. J. Physiol.* 244: E335-8345.

WEST, J. W.; HILL, G. M. 1990. Effect of a protected fat product on productivity of lactating Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 73:3200

WILLIAMSON, D. H.; MELLAMBY, J.; KREBS, H. A. Enzymatic determination of  $\beta$ -hydroxybutyric acid and acetoacetic in blood. *Bioch. J.*, v. 82, p. 90,1962.

WITTWER, F. Empleo de los perfiles metabólicos en el diagnóstico de desbalances metabólicos nutricionales en el ganado. *Anales de Buiatria*. v. 2, p. 16-20, 1995.

WITTWER, F.; OPITZ, H.; REYES, J.; CONTRERAS, P. C. BOHMWALD, H.; Diagnóstico de desbalance nutricional mediante la determinacion de urea en muestras de leche de rebanos bovinos. *Arch. Med. Vet.* 25: 165-172. 1993.

YAMBAYAMBA, E. S. K.; PRICE, M. A.; FOXCROFT, G. R. Hormonal status, metabolic changes, and resting metabolic rate in beef heifers undergoing compensatory growth. *J. Ani. Scie.*, v. 74, p.57-69, 1996.

ZIMERMAN, H. J; HENRY, J. B; *Diagnóstico clínico e conduta terapêutica para exames laboratoriais*. 16 ed. São Paulo. 1982.