



## Alterações hemogasométricas e bioquímicas causadas por dietas com alto balanço cátion-aniônico negativo em vacas leiteiras

### Hemogasometric and biochemical changes caused by diets with high negative cation-anion balance in dairy cows

Josiane de Oliveira Feijó<sup>1</sup> , Uriel Secco Londero<sup>1</sup> , Camila Pizoni<sup>1</sup> , Joao Alveiro Alvarado-Rincón<sup>1</sup> , Antônio Amaral Barbosa<sup>1</sup> , Eduardo Schmitt , Rubens Alves Pereira<sup>1</sup> , Francisco Augusto Burkert Del Pino<sup>1</sup> , Marcio Nunes Corrêa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil

\*Correspondente: [marcio.nunescorreia@gmail.com](mailto:marcio.nunescorreia@gmail.com)

#### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar indicadores hemogasométricos e metabólicos nas primeiras horas pós-parto de vacas leiteiras, que receberam diferentes dietas cátion-aniônica no pré-parto. Vacas da raça Holandesa Preta e Branca (HPB) (n=14), múltiparas, foram divididas em dois grupos: dieta acidogênica (DA -27,13 mEq/100g de MS) (n=7) e dieta neutra (DN -3,25 mEq/100g de MS) (n=7), fornecidas a partir de 30 dias antes da previsão do parto. Amostras de urina foram coletadas a cada três dias após o início da suplementação até o dia do parto, para a verificação do pH. Amostras de sangue foram coletadas às 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas pós-parto, para análises hemogasométricas e bioquímicas. Os animais que receberam DA apresentaram pH urinário menor. A concentração sérica de cálcio total, cálcio ionizado e a incidência de hipocalcemia subclínica não diferiram entre os grupos. Animais que receberam DA apresentaram redução nos níveis sanguíneos de proteínas plasmáticas totais, globulinas, bicarbonato e pH sanguíneo, além de aumento na atividade de paraoxonase-1 (PON-1) e redução na concentração de haptoglobina em relação aos animais da DN. Como conclusão podemos inferir que, dietas acidogênicas podem alterar o pH sanguíneo, interferir na síntese de proteínas, e provavelmente melhorar a capacidade antioxidante.

**Palavras-Chave:** ácido-base, hipocalcemia subclínica, hemogasometria, vacas leiteiras.

#### Abstract

This study aimed to evaluate hemogasometric and metabolic indicators in the first postpartum hours of dairy cows that received different cation-anion diets in the prepartum period. Holstein cows (n=14), multiparous, were divided into two groups: ACIDOGENIC DIET (DA -27.13 mEq/100 g of DM) (n=7) and NEUTRAL DIET (DN -3.25 mEq/100 g of DM) (n=7), provided from 30 days before the expected calving. Urine samples were collected every three days from the beginning

Submetido  
21 de janeiro de 2021.  
Aceito  
22 de junho de 2021.  
Publicado  
23 de julho de 2021.

[www.revistas.ufg.br/vet](http://www.revistas.ufg.br/vet)  
Como citar - disponível no  
site, na página do artigo.

of supplementation until the day of delivery for pH verification. Blood samples were collected at 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60 and 72 h postpartum for hemogasometric and biochemical analyses. The animals that received DA presented lower urinary pH. The serum concentration of total calcium, ionized calcium and the incidence of subclinical hypocalcemia did not differ between groups. Animals that received DA presented reduction in blood levels of total plasma proteins, globulins, bicarbonate and blood pH, in addition to increased activity of paraoxone-1 and reduction in the concentration of haptoglobin from animals of DN. In conclusion we can infer that, anionic diets can alter blood pH, interfere with protein synthesis, and probably improve antioxidant capacity.

**Keywords:** acid-base, subclinical hypocalcemia, hemogasometry, dairy cows.

---

## Introdução

Dietas com balanço cátion-aniônico diferente (BCAD) são utilizadas em diferentes períodos durante a vida produtiva de vacas leiteiras, tais como período seco, no pré e no pós-parto<sup>(1, 2)</sup>. Atualmente, a dieta acidogênica fornecida antes do parto é utilizada para prevenção da hipocalcemia, caracterizada por  $Ca_t$  sérico  $< 8,0\text{mg/dL}$  e/ou  $Ca_i < 4,0\text{mg/dL}$ <sup>(3-5)</sup>. A sua ação é baseada no fornecimento de sais aniônicos com o objetivo de reduzir o BCAD<sup>(6, 7)</sup>.

O BCAD representa a diferença entre os cátions (sódio  $Na^+$ , potássio  $K^+$ ) e os ânions (Cloro  $Cl^-$  e enxofre  $SO_4^-$ ) presentes na dieta, em miliequivalentes (mEq) de  $(Na^++K^+) - (Cl^- + SO_4^-)$  por 100 g de matéria seca (MS). Para obter adequada dieta acidogênica é necessário que a soma dos seus ingredientes sejam de aproximadamente de -10 a -20 mEq/100g MS<sup>(8)</sup>. Sua principal ação é diminuir o pH sanguíneo e conseqüentemente, ativar o mecanismo homeostático do cálcio, que ocorre devido ao aumento da sensibilidade dos receptores de cálcio na paratireoide, que aumentam a secreção do paratormônio<sup>(9)</sup>.

A eficácia de acidificação do sangue pode ser confirmada pelo pH urinário, o qual pode ser verificado a partir de 48 horas após a mudança de dieta, sendo que valores abaixo de 6,8 é indicativo da administração correta dos sais aniônicos<sup>(10)</sup>. A utilização destes sais por 11 dias já promove a ativação homeostática do cálcio no pós-parto de vacas leiteiras<sup>(11)</sup>. Entretanto, nos sistemas produtivos a dieta acidogênica geralmente é indicada pelo período mínimo de 21 dias antes da previsão do parto<sup>(12, 13)</sup>, devido à incerteza da data do parto.

Durante o periparto da vaca leiteira, a necessidade de cálcio varia: no pré-parto são necessários cerca de 30 a 50g/dia, direcionados para o feto, glândula mamária (colostro no pré-parto e leite no pós-parto) e para sua manutenção; já no pós-parto imediato, as necessidades diárias podem chegar a 100g de cálcio/dia<sup>(6, 14, 15)</sup>. Conforme a produção de colostro e leite, a secreção de cálcio pode chegar até 2,3g/L somente no colostro, sendo que numa vaca que produz 40L de leite/dia, o cálcio secretado pode ser de 7 a 10

vezes superior aos níveis de cálcio ionizado ( $Ca_i$ ) disponível no organismo, predispondo à hipocalcemia<sup>(16, 17)</sup>. Para manter os níveis fisiológicos de cálcio total ( $Ca_t$ ) circulante é necessário que o organismo ative mecanismos homeostáticos, processo que pode demorar até 72h, predispondo o animal à hipocalcemia subclínica, que pode evoluir para quadros clínicos e até óbito<sup>(6, 16)</sup>.

A hipocalcemia subclínica, pode ocasionar uma cascata de eventos como a diminuição da ingestão de MS (IMS), retenção de placenta, prolapso de útero, deslocamento de abomaso, cetose, metrite e redução no desempenho reprodutivo<sup>(18-21)</sup>, o que prejudica a saúde e produtividade do animal. A diminuição dos níveis de cálcio no sangue, também pode causar redução de suas reservas celulares, o que prejudica de forma direta a resposta imune, contribuindo para um estado de imunossupressão<sup>(18, 22)</sup>. Por esse motivo, faz-se necessário a prevenção desse transtorno, sendo a dieta acidogênica a estratégia mais utilizada. Mesmo com o seu fornecimento a prevalência da hipocalcemia é alta, podendo chegar atingir mais da metade dos animais, dependendo do número de lactações e do nível de produção de leite<sup>(23-25)</sup>.

A PON-1 é uma proteína de fase aguda negativa produzida pelo fígado, com a capacidade de prevenir a oxidação do HDL e LDL, capacidade de hidrolisar organofosfatos xenobióticos, proteção à radicais livres por limitar a oxidação de fosfolipídios e inibição na produção de peróxidos<sup>(26)</sup>. A PON-1 é bastante estável em condições normais, porém durante eventos inflamatórios ou em doenças hepáticas crônicas, seus níveis diminuem<sup>(27)</sup>. Já a haptoglobina é uma das proteínas de fase aguda positiva mais sensíveis em bovinos, com propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras<sup>(28)</sup>, podendo aumentar mais de 100 vezes sua concentração plasmática durante infecções<sup>(29)</sup>, além de possuir propriedades antioxidantes, com capacidade de se ligar à hemoglobina, inibindo a atividade oxidativa do grupamento heme<sup>(30)</sup>.

Diante do exposto, a hipótese do estudo é que dietas altamente acidogênicas no pré-parto podem alterar parâmetros hemogasométricos e bioquímicos no pós-parto e o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de diferentes dietas sobre o perfil hemogasométrico, mineral, proteicos e energéticos de vacas leiteiras nas primeiras horas pós-parto que receberam diferentes dietas cátion-aniônicas no pré-parto.

## **Materiais e métodos**

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) registrado sob código 2563.

Este estudo foi realizado em uma propriedade leiteira no sul do Rio Grande do Sul, no município de Rio Grande (32 ° 16 'S, 52 ° 32' L). Foram selecionadas 14 vacas gestantes da raça holandesa preta e branca, múltíparas, entre terceira e quarta lactação, com escore de condição corporal (ECC) entre 3,0 e 3,5<sup>(31)</sup>. As vacas permaneciam em regime de manejo semiextensivo, com alimentação em cocho coletivo sendo oferecida a dieta após a ordenha e foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos: dieta acidogênica (DA, n=7) e dieta neutra (DN, n=7). No grupo DA a alimentação foi balanceada para -27,13mEq/100g MS, enquanto no grupo DN a alimentação foi balanceada para

-3mEq/100g MS. Ambas dietas foram fornecidas 30 dias antes do parto (Tabela 1).

**Tabela 1.** Ingredientes e composição nutricional das dietas acidogênica e neutra fornecidas para as vacas leiteiras durante o pré-parto

Ingredientes (%)	Palha de arroz	Pastagem	Concentrado*	Concentrado*	Silagem	BCAD <sup>1</sup> mEq/100 g MS
D. Acidogênica	33,4	25	41,6	-	-	-27,13
D. Neutra	16,8	8,3	-	41,6	33,3	-3,25
Composição Nutricional (%)						
Matéria Seca	82,59	94,23	94,67	93,72	33,22	
Proteína Bruta	7,84	19,98	22,65	22,78	6,35	
FDN <sup>2</sup>	74,32	47,41	28,05	16,60	31,95	
FDA <sup>3</sup>	54,16	31,02	18,59	9,70	3,91	
Lignina	-	2,95	-	-	7,76	
Lipídeos	1,72	1,90	2,95	7,55	3,78	
Cinzas	17,08	11,50	9,46	12,14	4,32	
Cálcio	-	0,69	1,46	1,73	0,18	
Fósforo	-	0,29	0,82	1,26	0,23	
Potássio	-	3,02	1,26	1,30	0,97	
Magnésio	-	0,18	0,61	0,73	0,18	
Enxofre	-	0,20	1,05	0,90	0,10	

\*Concentrado composto por 33,7% de Milho Moído, 28% de Farelo de Soja, 30% de Farelo de Arroz, 3,3% de Calcário, 4% de Sal Aniônico e 1% de Premix Vitaminico. <sup>1</sup> Diferença do Balanço Cátion-Aniônico. <sup>2</sup>Fibra Detergente Neutra. <sup>3</sup>Fibra Detergente Ácida.

O pH da urina foi analisado no pré-parto através de pHmetro de bancada (TecnoPON, PA-210- SP, Brasil), a cada três dias a partir do início da suplementação, antes da suplementação. A análise bromatológica e mineral da dieta (pastagem, silagem e concentrado) fornecida para os diferentes grupos foi realizada em laboratório comercial (3rLab - Minas Gerais, Brasil) através do método de NIRS (*Near Infrared spectroscopy*).

Amostras de sangue foram coletadas através da punção do complexo artério coccígea em tubos sem anticoagulante (BD Diagnostics, São Paulo, Brasil), aos 21 ± 6 dias antes do parto (coleta -1), e às 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60 e 72h após o parto. As amostras de sangue foram centrifugadas a 1800 x g por 15min para obtenção do soro, e congeladas a -80°C, para posteriores análises.

As concentrações séricas de cálcio total (Ca<sub>t</sub>), magnésio, albumina, ureia, proteínas plasmáticas totais (PPT) e creatinina foram analisadas utilizando kits comerciais (Labtest

Diagnóstica S.A., Brasil), em equipamento bioquímico automático (Lambax Plenno-Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). Os níveis de globulinas foram estimados através da fórmula (Globulinas = PPT – albumina).

Para verificar a concentração sérica de cálcio ionizado ( $Ca_i$ ), pH (potencial hidrogênio iônico), bicarbonato,  $pCO_2$  (pressão parcial de gás carbônico),  $pO_2$  (pressão de oxigênio),  $sO_2$  (saturação do oxigênio),  $TCO_2$  (teor de gás carbônico),  $Na^+$  (sódio),  $K^+$  (potássio), hemoglobina, hematócrito e glicose foi utilizado o medidor bioquímico portátil I-Stat (Abboot -EUA) utilizando cartuchos GC+8. Imediatamente após as colheitas de sangue pela veia coccigea em tubos vacutainer heparinizados (BD Diagnostics, São Paulo, Brasil), o cartucho CG8+ era preenchido com sangue e a leitura verificada no I-Stat. Animais com níveis de  $Ca_i \leq 4,0$  mg/dL em pelo menos três momentos no pós-parto, em qualquer momento de coleta, foram considerados com hipocalcemia subclínica<sup>(5, 6)</sup>.

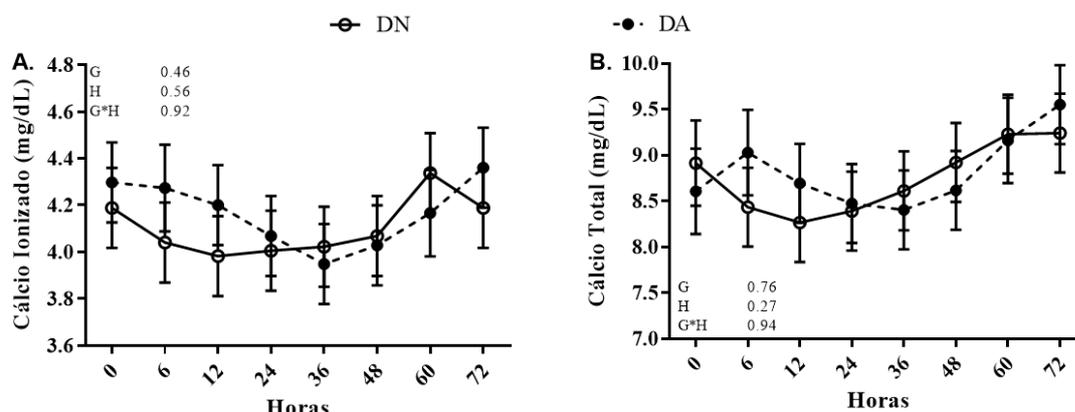
A concentração de haptoglobina foi analisada por técnica colorimétrica conforme descrito por Jones and Mould<sup>(32)</sup> e adaptada por Schneider, Corrêa<sup>(33)</sup> usando um leitor de microplacas (Thermo Plate® TP-Reader, São Paulo, Brasil). A atividade de paraoxonase-1 (PON-1) foi analisada por método cinético através de um protocolo previamente descrito por<sup>(34)</sup> e a leitura realizada no espectrofotômetro de luz ultravioleta (FEMTO Cirrus 80MB, FEMTO Indústria e Comércio de Instrumentos, São Paulo, Brasil).

A análise estatística foi realizada usando o software SAS versão 9.1 (SAS ® Institute Inc., Cary, NC, EUA, 2009). As concentrações sanguíneas de todos os metabólitos e índices hemogasométricos, foram analisados pelo método de variância (ANOVA) com o procedimento MIXED para avaliar o efeito do grupo e horas e suas interações, teste exato de Fisher para avaliação de frequência de hipocalcemia subclínica e estatística descritiva para analisar o pH urinário. Foi considerado diferença estatística  $p < 0,05$ . Todos os resultados são apresentados em Média  $\pm$  Erro Padrão da Média (EPM).

## Resultados

O pH urinário dos animais que receberam DA foi de  $5,9 \pm 0,13$ , enquanto os animais que receberam DN o pH foi de  $7,4 \pm 0,24$ .

Nenhum animal apresentou hipocalcemia clínica durante o estudo. Quando avaliada a incidência de hipocalcemia subclínica ( $Ca_i \leq 4,0$  mg/dL)<sup>(5)</sup>, 71,4% (5/7) dos animais que receberam DN e 42,9% (3/7) dos que receberam DA apresentaram o quadro subclínico, entretanto, as concentrações de  $Ca_i$  (figura 1A) e  $Ca_t$  (figura 1B) não diferiram entre os grupos ( $p=0,46$  e  $p=0,76$ , respectivamente, Tabela 2).



**Figura 1.** Médias  $\pm$  erro padrão da média da concentração de cálcio ionizado (A) e Cálculo total (B) de vacas leiteiras nas primeiras horas após o parto, submetidas a dietas neutras ou acidogênicas no pré-parto. DA – Dieta Acidogênica; DN – Dieta Neutra; G = Grupos; H = horas; G\*H = interação entre grupos e horas

**Tabela 2.** Parâmetros metabólicos e hemogasométricos (Média  $\pm$  EPM) de vacas leiteiras que receberam dieta acidogênica (DA -27,13mEq/100g de MS) ou dieta neutra (DN -3,25mEq/100g de MS) no pré-parto

Parâmetros	Grupos		Valores de p		
	DA	DN	Grupo	Hora	G*H
<b>Metabólicos</b>					
Cálcio total (mg/dL)	8,82 $\pm$ 0,15	8,75 $\pm$ 0,15	0,76	0,27	0,95
Cálcio ionizado (mg/dL)	4,17 $\pm$ 0,06	4,10 $\pm$ 0,06	0,46	0,56	0,93
Magnésio (mg/dL)	2,03 $\pm$ 0,05	2,12 $\pm$ 0,05	0,19	<0,01	0,99
Sódio (mmol/L)	144,76 $\pm$ 0,30	143,59 $\pm$ 0,30	0,01	<0,01	0,72
Potássio (mmol/L)	4,50 $\pm$ 0,06	4,39 $\pm$ 0,06	0,22	0,08	0,98
Glicose (mg/dL)	58,50 $\pm$ 1,37	62,14 $\pm$ 1,33	0,06	<0,01	0,52
PPT <sup>1</sup> (g/dL)	7,41 $\pm$ 0,06	7,74 $\pm$ 0,06	<0,01	0,87	0,96
Albumina (g/dL)	2,96 $\pm$ 0,04	3,08 $\pm$ 0,04	0,05	0,14	0,6
Globulinas (g/dL)	4,44 $\pm$ 0,07	4,66 $\pm$ 0,07	0,03	0,76	0,98
Paraoxonase-1 (U/mL)	83,14 $\pm$ 3,60	69,02 $\pm$ 3,34	<0,01	0,89	0,67
Haptoglobina (g/L)	0,32 $\pm$ 0,04	0,43 $\pm$ 0,04	0,07	<0,01	0,06
Ureia (mg/dL)	55,85 $\pm$ 0,30	52,90 $\pm$ 1,99	0,30	<0,01	0,57
Creatinina (mg/dL)	1,39 $\pm$ 0,04	1,40 $\pm$ 0,04	0,89	0,04	0,64
<b>Hemogasométricos</b>					
pH Sanguíneo	7,37 $\pm$ 0,01	7,41 $\pm$ 0,01	0,01	<0,01	0,94
Pressão de CO <sub>2</sub> (mmHg)	44,10 $\pm$ 1,09	44,27 $\pm$ 1,05	0,92	0,99	0,92
Bicarbonato (mmol/L)	26,92 $\pm$ 0,47	28,62 $\pm$ 0,46	0,02	<0,01	0,96
Total de CO <sub>2</sub> (mmol/L)	28,45 $\pm$ 0,52	29,81 $\pm$ 0,49	0,05	<0,01	0,99
Pressão de O <sub>2</sub> (mmHg)	51,71 $\pm$ 3,13	46,97 $\pm$ 3,25	0,29	0,75	0,63
Saturação de O <sub>2</sub> (%)	82,51 $\pm$ 2,28	82,36 $\pm$ 2,19	0,46	0,56	0,57
Hematócrito (%)	25,57 $\pm$ 0,28	25,21 $\pm$ 0,27	0,36	0,24	0,91
Hemoglobina (mg/dL)	8,70 $\pm$ 0,09	8,57 $\pm$ 0,09	0,33	0,26	0,91

<sup>1</sup> Proteínas Plasmáticas Totais.

Os níveis séricos de sódio foram maiores ( $144,76 \pm 0,30$  vs.  $143,59 \pm 0,30$ ;  $p=0,01$ ) e as concentrações de PPT foram menores ( $7,41 \pm 0,06$  vs.  $7,74 \pm 0,06$ ;  $p<0,01$ ) nos animais do grupo DA. Observou-se queda nas concentrações de GLOB ( $4,44 \pm 0,07$  vs.  $4,66 \pm 0,07$ ;  $p=0,01$ ), no pH sanguíneo ( $7,37 \pm 0,01$  vs.  $7,41 \pm 0,01$ ;  $p=0,01$ ) e na concentração de bicarbonato ( $26,92 \pm 0,47$  vs.  $28,62 \pm 0,46$ ;  $p=0,02$ ) nos animais do grupo DA. A atividade de PON-1 foi maior nos animais do grupo DA ( $83,14 \pm 3,60$  vs.  $69,02 \pm 3,34$   $p<0,01$ ), enquanto os níveis de haptoglobina tenderam a serem menores nestes animais ( $0,32 \pm 0,04$  vs.  $0,43 \pm 0,04$ ;  $p=0,07$ ).

## Discussão

O presente estudo apresentou variações metabólicas no pós-parto recente de vacas leiteiras que receberam dietas com diferentes BCAD no pré-parto. Santos, Lean<sup>(1)</sup> afirmaram que animais com pH urinário reduzido possuem menor risco de hipocalcemia, entretanto, Goff<sup>(6)</sup> afirmou que a redução no pH urinário abaixo de 6,2 em vacas da raça holandesa por tempo prolongado, poderia provocar acidose metabólica severa, reduzindo a IMS.

Mesmo que não se tenha encontrado diferença na incidência de hipocalcemia subclínica, o grupo DA apresentou altos índices similares ao reportado por Seely, Leno<sup>(35)</sup>, que apresentou mais da metade dos animais com o transtorno, mesmo com a administração de dieta acidogênica. Dentre os fatores que podem influenciar a prevalência da hipocalcemia subclínica estão o número de lactações<sup>(23)</sup>, produção leiteira, raça<sup>(36)</sup>, escore de condição corporal<sup>(37)</sup>, idade e problemas anteriores de hipocalcemia<sup>(38)</sup>, além da baixa palatabilidade dos sais utilizados que acabam reduzindo a IMS<sup>(39)</sup>. A diminuição na IMS pode agravar ainda mais a doença e também predispor a transtornos secundários<sup>(40)</sup>, sendo necessário que as dietas sejam adequadas durante o período, uma vez que quando desequilibradas, as dietas acidogênicas tendem a baixar demais o pH urinário e sanguíneo, causando acidose descompensada, comprometendo o organismo animal<sup>(6)</sup>.

O pH sanguíneo pode variar de 7,35 a 7,45, sendo que a concentração de bicarbonato, um dos principais reguladores do equilíbrio ácido-base, é de 19 a 24 mmol/L no soro de animais com o pH equilibrado. Quando o pH diminui, a concentração de bicarbonato tende a diminuir também, captando íons  $H^+$ , formando ácido carbônico, para que ocorra uma compensação respiratória, diminuindo a  $pCO_2$ <sup>(2)</sup>. No presente estudo, os animais do grupo DA, apresentaram redução no pH sanguíneo e também no pH urinário, devido às dietas acidogênicas possuírem elevada quantidade de cloro e enxofre, e esses elementos tenderem a diminuir o pH do sangue, e conseqüentemente da urina<sup>(41)</sup>. Além disso, durante o período avaliado, houve redução na concentração de PPT nesse grupo experimental, isso pode ser devido à redução do pH extracelular prolongado que os animais passaram, devido à alta carga de ânions presentes na dieta. Essa estratégia pode não ser uma boa opção, pois diminui a produção de proteínas de transporte de  $H^+$  dependente de bicarbonato, podendo ocasionar diminuição do pH intracelular<sup>(42)</sup>, e conseqüentemente redução na síntese de proteínas (no processo de

transcrição), conforme descrito em humanos<sup>(43)</sup>.

Quando o pH está diminuído a tendência é que o  $Ca_i$  aumente, na tentativa de auxiliar o sistema tampão do organismo. Esse  $Ca_i$  pode ser obtido pela reabsorção óssea, pela atuação do paratormônio ou até mesmo pelo desacoplamento do  $Ca_i$  das proteínas, principalmente da albumina<sup>(9, 44)</sup>. Apesar desse estudo não demonstrar redução no índice de hipocalcemia subclínica nos animais do grupo DA, nem alteração nas concentrações plasmáticas de  $Ca_i$  e  $Ca_t$ , a redução no pH sanguíneo pode auxiliar na melhor mobilização de cálcio para a homeostase do organismo do animal.

Neste estudo, os animais que receberam DA demonstraram redução nos níveis séricos de globulinas podendo estar associado à melhora da imunidade, uma vez que a maior parte das globulinas são as imunoglobulinas<sup>(45)</sup>. Além disso, a maior atividade de PON-1 e menor concentração de haptoglobina sugeriram que os animais do grupo DA apresentaram estado inflamatório menos acentuado do que o grupo da DN. Dado o potencial antioxidante da PON-1<sup>(27)</sup>, os animais que receberam DA podem ser menos susceptíveis aos efeitos deletérios de substâncias oxidantes, mantendo o equilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes. Correlacionando com o presente estudo, pode-se dizer que processos oxidativos têm danos diretos a todas as células, podendo ir desde danos a componentes do DNA, alteração na função de proteínas e processos metabólicos intracelulares<sup>(46)</sup>, deixando os animais mais susceptíveis às doenças. Isso é demonstrado por Schneider, Corrêa<sup>(33)</sup>, que observaram que essas proteínas podem ser marcadores precoces de doenças, uma vez que elas apresentam alterações ainda no pré-parto de animais, que desenvolveram metrite no pós-parto

Apesar de que os níveis de cálcio estarem reduzidos nos animais que receberam DN, não foi observada nenhuma alteração nos níveis plasmáticos de  $Ca_t$  ou  $Ca_i$  entre os grupos, foi encontrado menores níveis séricos de sódio no pós-parto de animais do grupo DN. O sódio é um importante regulador dos níveis de cálcio plasmático, que é realizado pelo sistema antiporte de sódio-cálcio, onde o cálcio reabsorvido nos túbulos distais dos rins e no trato gastrointestinal, são lançados para a corrente sanguínea por troca com moléculas de sódio<sup>(47)</sup>. Este mecanismo é capaz de lançar até cinco mil íons de cálcio por segundo<sup>(48)</sup>.

## Conclusões

Este estudo demonstrou que o uso de dieta com alto BCAD negativo não foi capaz reduzir a incidência de hipocalcemia subclínica, sendo que dietas com alto BCAD devem ser mais avaliadas, entretanto, houve uma melhor proteção antioxidante para o organismo. Mais estudos devem ser conduzidos com um maior número amostral, para melhor avaliação dos resultados.

## Agradecimentos

Os autores agradecem o Núcleo de Pesquisa, o Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC/UFPel) pela oportunidade; a Fazenda 4 Irmãos, localizada em Rio Grande-

RS pelo fornecimento dos animais; e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e o Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro deste estudo.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## Referências

1. Santos JEP, Lean IJ, Golder H, Block E. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *Journal of dairy science*. 2019;102(3):2134-54.
2. Hu W, Murphy MR. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of lactating dairy cows: A meta-analysis. *Journal of dairy research*. 2004;87(7):2222-9.
3. Oetzel GR. Effect of calcium chloride gel treatment in dairy cows on incidence of periparturient diseases. *J Am Vet Med Assoc*. 1996;209(5):958-61.
4. Goff JP. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*. 2008;176(1):50-7.
5. Martinez N, Sinedino L, Bisinotto R, Ribeiro E, Gomes G, Lima F, et al. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of dairy science*. 2014;97(2):874-87.
6. Goff JP. Calcium and magnesium disorders. *The veterinary clinics of North America: food animal practice*. 2014;30(2):359-81, vi.
7. Eklund M. The dietary cation-anion difference and its impact on the milk production in dairy cows. 2016.
8. Roche JR, Dalley DE, O'Mara FP. Effect of a metabolically created systemic acidosis on calcium homeostasis and the diurnal variation in urine pH in the non-lactating pregnant dairy cow. *Journal of dairy research*. 2007;74(1):34-9.
9. Champion KL, McCormick WD, Warwicker J, Khayat ME, Atkinson-Dell R, Steward MC, et al. Pathophysiologic Changes in Extracellular pH Modulate Parathyroid Calcium-Sensing Receptor Activity and Secretion via a Histidine-Independent Mechanism. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2015;26(9):2163-71.
10. Chan PS, West JW, Bernard JK. Effect of prepartum dietary calcium on intake and serum and urinary mineral concentrations of cows. *Journal of dairy science*. 2006;89(2):704-13.
11. Pizoni C, Feijó JO, Londero US, Pereira RA, Corrêa MN, Brauner CC, et al. Parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos de novilhas com hipocalcemia subclínica pré-parto suplementadas com dieta aniônica. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*. 2017;69(5):1130-8.
12. Oetzel GR. Meta-analysis of nutritional risk factors for milk fever in dairy cattle. *Journal of dairy science*. 1991;74(11):3900-12.
13. DeGaris PJ, Lean IJ. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The veterinary journal*. 2008;176(1):58-69.
14. Fox DG, Tylutki TP. Accounting for the effects of environment on the nutrient requirements of dairy

cattle. *Journal of dairy research*. 1998;81(11):3085-95.

15. DeGaris PJ, Lean IJ, Rabiee AR, Heuer C. Effects of increasing days of exposure to prepartum transition diets on reproduction and health in dairy cows. *Aust Vet J*. 2010;88(3):84-92.

16. Caixeta LS, Ospina PA, Capel MB, Nydam DV. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*. 2017;94:1-7.

17. Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Adapting to the transition between gestation and lactation: differences between rat, human and dairy cow. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*. 2005;10(2):141-56.

18. Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, et al. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of dairy science*. 2012;95(12):7158-72.

19. LeBlanc SJ. Relationships between metabolism and neutrophil function in dairy cows in the periparturient period. *Animal : an international journal of animal bioscience*. 2020;14(S1):s44-s54.

20. Brozos C, Mavrogianni VS, Fthenakis GC. Treatment and control of peri-parturient metabolic diseases: pregnancy toxemia, hypocalcemia, hypomagnesemia. *The veterinary clinics of North America: food animal practice*. 2011;27(1):105-13.

21. Lean IJ, Santos JEP, Block E, Golder HM. Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and health of dairy cows: A meta-analysis. *Journal of dairy science*. 2019;102(3):2103-33.

22. Clemens RA, Lowell CA. Store-operated calcium signaling in neutrophils. *Journal of leukocyte biology*. 2015;98(4):497-502.

23. Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, Goff JP, Horst RL. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*. 2011;188(1):122-4.

24. Silva DC, Fernandes BD, Santos Lima JM, Rodrigues GP, Dias DLB, Oliveira Souza EJ, et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy cows in the Sousa city micro-region, Paraíba state. *Tropical animal health and production*. 2019;51(1):221-7.

25. McArt J, Neves R. Association of transient, persistent, or delayed subclinical hypocalcemia with early lactation disease, removal, and milk yield in Holstein cows. *Journal of dairy science*. 2020;103(1):690-701.

26. Canales A, Sánchez-Muniz FJ. Paraoxonasa, ¿ algo más que una enzima? *Medicina Clínica*. 2003;121(14):537-48.

27. Ferré N, Camps J, Prats E, Vilella E, Paul A, Figuera L, et al. Serum paraoxonase activity: a new additional test for the improved evaluation of chronic liver damage. *Clinical chemistry*. 2002;48(2):261-8.

28. Jelena A, Mirjana M, Desanka B, Svetlana I-M, Aleksandra U, Goran P, et al. Haptoglobin and the inflammatory and oxidative status in experimental diabetic rats: antioxidant role of haptoglobin. *Journal of physiology and biochemistry*. 2013;69(1):45-58.

29. Eckersall PD, Young FJ, McComb C, Hogarth CJ, Safi S, Weber A, et al. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *The Veterinary record*. 2001;148(2):35-41.

30. Tseng CF, Lin CC, Huang HY, Liu HC, Mao SJT. Antioxidant role of human haptoglobin. *Proteomics*. 2004;4(8):2221-8.

31. Hady PJ, Domecq JJ, Kaneene JB. Frequency and precision of body condition scoring in dairy cattle. *Journal of dairy science*. 1994;77(6):1543-7.

32. Jones GE, Mould DL. Adaptation of the guaiacol (peroxidase) test for haptoglobins to a microtitration

plate system. *Research in veterinary science*. 1984;37(1):87.

33. Schneider A, Corrêa MN, Butler WR. Short communication: acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. *Research in veterinary science*. 2013;95(1):269-71.

34. Browne RW, Koury ST, Marion S, Wilding G, Muti P, Trevisan M. Accuracy and biological variation of human serum paraoxonase 1 activity and polymorphism (Q192R) by kinetic enzyme assay. *Clin Chem*. 2007;53(2):310-7.

35. Seely C, Leno B, Kerwin A, Overton T, McArt J. Association of subclinical hypocalcemia dynamics with dry matter intake, milk yield, and blood minerals during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*. 2021;104(4):4692-702.

36. González F, Corrêa M, Silva S. Transtornos metabólicos nos animais domésticos. Félix H Díaz Gonzalez, Marcio Nunes Corrêa (e) Sérgio Ceroni da Silva-2 Ed-Porto Alegre: UFRGS. 2014:344.

37. Roche JR, Friggens NC, Kay JK, Fisher MW, Stafford KJ, Berry DP. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of dairy science*. 2009;92(12):5769-801.

38. Hernández-Castellano LE, Hernandez LL, Weaver S, Bruckmaier RM. Increased serum serotonin improves parturient calcium homeostasis in dairy cows. *Journal of dairy science*. 2017;100(2):1580-7.

39. Moore SJ, VandeHaar MJ, Sharma BK, Pilbeam TE, Beede DK, Bucholtz HF, et al. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. *Journal of dairy research*. 2000;83(9):2095-104.

40. van Knegsel ATM, Van den Brand H, Dijkstra J, Tamminga S, Kemp B. Effect of dietary energy source on energy balance, production, metabolic disorders and reproduction in lactating dairy cattle. *Reproduction nutrition development*. 2005;45(6):665-88.

41. Goff JP. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *The veterinary clinics of North America: food animal practice*. 2000;16(2):319-37.

42. Schreiber R. Ca<sup>2+</sup> signaling, intracellular pH and cell volume in cell proliferation. *The Journal of membrane biology*. 2005;205(3):129.

43. Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *Journal of the American society of nephrology*. 2006;17(7):1807-19.

44. Jackson JA, Hemken RW. Calcium and Cation-Anion Balance Effects on Feed Intake, Body Weight Gain, and Humoral Response of Dairy Calves. *Journal of dairy science*. 1994;77(5):1430-6.

45. Russell KE, Roussel AJ. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2007;23(3):403-26.

46. Sordillo LM, Aitken SL. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary immunology and immunopathology*. 2009;128(1-3):104-9.

47. Eaton D, Pooler J. *Fisiologia renal de Vander*. Porto Alegre - RS - Brasil: Artmed Editora; 2015.

48. Carafoli E, Santella L, Branca D, Brini M. Generation, control, and processing of cellular calcium signals. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. 2001;36(2):107-260.