

FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DAS DOENÇAS METABÓLICAS

Félix H. D. González

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Professor de bioquímica clínica

Faculdade de Veterinária

Porto Alegre, RS, Brasil

www.ufrgs.br/bioquimica

Introdução

Os transtornos metabólicos em bovinos atacam principalmente animais que são submetidos a desafios extremos. É o caso das vacas leiteiras de alta produção, que são acometidas por doenças relacionadas com excessiva despesa de energia e/ou de minerais.

A bioquímica clínica oferece uma importante ferramenta diagnóstica, pois desequilíbrios do metabolismo costumam ter repercussão na composição dos fluidos corporais, principalmente, sangue, urina e leite. Mais que detectar casos clínicos esta ferramenta, usada concomitantemente com dados de anamnese e de exame clínico, apresenta utilidade no diagnóstico de casos subclínicos, onde os sinais dos transtornos não resultam evidentes, bem como no monitoramento de pacientes em tratamento ou sob observação.

A composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (Cote e Hoff, 1991).

O estudo da composição bioquímica do sangue é de longa data, principalmente vinculada à patologia clínica em casos individuais. Na década de 1970, Payne e colaboradores em Compton (Inglaterra), ampliaram a utilização deste estudo mediante o conceito de perfil metabólico, isto é, a análise de 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 & Payne, 1987).

A interpretação do perfil bioquímico é complexa tanto quando aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, devido aos mecanismos que controlam a concentração sanguínea

de vários metabólitos e devido, também, à grande variação desses valores em função de fatores como raça, idade, estresse, dieta, nível de produção leiteira, manejo, clima e estado fisiológico, principalmente na lactação e a gestação (González, 1997). Também, para a correta interpretação dos perfis metabólicos é indispensável contar com valores de referência apropriados para a região e a população em particular. No caso de não contar com esses dados, os valores referenciais a serem usados devem ser de zonas climáticas ou de grupos de animais similares aos analisados (González, 2001).

A urina é o principal fluido de excreção de substâncias nocivas ou de produtos do catabolismo, sendo produzida por filtração do sangue nos rins. A taxa de filtração, reabsorção e excreção de nutrientes e catabólitos pelos rins permite a utilização deste fluido no diagnóstico de alguns transtornos metabólicos.

O leite é um importante fluido orgânico que, além de sua função como alimento, pode informar sobre distintos eventos metabólico-nutricionais que afetam a sua qualidade, principalmente no que concerne a fatores do meio ambiente, como a composição da dieta e o manejo e a fatores internos, como genética, sanidade, balanço metabólico-energético e período de lactação.

O presente trabalho tem por objetivo mencionar as causas de variação de alguns dos metabólitos mais usados no estudo do perfil bioquímico na clínica de bovinos aplicado ao diagnóstico de transtornos metabólicos.

Indicadores sanguíneos do metabolismo nitrogenado

Proteínas totais

As principais proteínas plasmáticas são a albumina, as globulinas e o fibrinogênio. Elas estão envolvidas em múltiplas funções, tais como a manutenção da pressão osmótica e da viscosidade do sangue, o transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção, a regulação do pH sanguíneo e a participação na coagulação sanguínea.

As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, e com a funcionalidade hepática. A hipoproteinemia pode ser indicadora de estados de subnutrição, bem como de insuficiência ou de lesão hepática e hemorragias. Animais jovens têm valores menores que os animais adultos (Payne e Payne, 1987). Hiperproteinemia pode ser

observada em casos de desidratação, infecções, tumores e, artificialmente, em amostras hemolisadas. Foram relatados valores de proteína total sérica em vacas da raça Holandesa no sul do Brasil de $84,5 \pm 18,8$ g/L (González et al., 1996).

Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, perfazendo cerca de 50% do total de proteínas. É sintetizada no fígado e contribui em 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo também uma importante reserva protéica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, atuando como ânion.

O valor de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente, considerando que a meia-vida desta proteína é em torno de 20 dias. Para a detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação (González et al., 2000).

Concentração de albumina diminuída, juntamente com diminuição de uréia, pode indicar deficiência protéica na alimentação. Níveis de albumina diminuídos com níveis de uréia normais ou elevados, acompanhados ou não de valores de enzimas altos, podem ser indicadores de falha e/ou de lesão hepática. Outras causas de baixa na albumina sanguínea podem ser parasitismos crônicos, doença renal que cursa com síndrome nefrótico ou glomerulonefrite crônica e hemorragias. Pode existir uma relação direta entre a capacidade de aumento da albuminemia das vacas leiteiras no pós-parto com o desempenho reprodutivo (Galimberti et al., 1997) e produtivo (González e Rocha, 1998), o que, afinal, está relacionado com a funcionalidade hepática.

A hipoalbuminemia pode afetar o metabolismo e as concentrações obtidas de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportador, principalmente de cálcio, fructosamina e ácidos graxos livres, além de causar queda da pressão osmótica do plasma com probabilidade de levar a ascite, o que ocorre quando a concentração de albumina cai para menos de 20 g/L.

Aumentos de albumina ficam praticamente restritos a situações de desidratação. González et al. (1996) encontraram valores de albumina em rebanhos da raça Holandesa no sul do Brasil de $32,6 \pm 5,8$ g/L. Os autores encontraram valores menores de albumina

em vacas no início da lactação e maiores durante o período de inverno, quando as pastagens são de melhor qualidade protéica (azevém).

Globulinas

A concentração sérica de globulinas pode ser obtida pela diferença de concentração entre as proteínas totais e a albumina. As globulinas podem ser divididas em três tipos, α , β e γ , identificadas mediante eletroforese. Elas têm funções no transporte de metais, lipídeos e bilirrubina, bem como papel na imunidade (fração gama). As globulinas são indicadores limitados do metabolismo protéico, tendo mais importância como indicadores de processos inflamatórios.

Altos níveis de globulinas estão associados a doenças infecciosas ou a vacinações recentes. As globulinas aumentam com a idade e durante a gestação. Existe uma correlação negativa entre a concentração de albumina e de globulinas; assim, um aumento nas globulinas devido a estados infecciosos, inibe a síntese de albumina no fígado como mecanismo compensatório para manter constante o nível protéico total e, portanto, a pressão osmótica sanguínea. Por outra parte, na disfunção hepática, o nível de albumina cai e o de globulinas aumenta.

Mudanças nos níveis das globulinas podem ser usadas para avaliar estados de adaptação ao estresse. Animais adaptados tendem a ter níveis normais, enquanto os não adaptados têm os níveis aumentados.

A concentração de globulinas diminui ao final da gestação devido à passagem de gamaglobulinas para o colostro. Em bezerros, a hipoglobulinemia é indicador de que a ingestão de colostro foi pouca, o que os predispõe a sofrer de doenças, principalmente infecciosas. A concentração de globulinas também diminui semanas antes do parto, recuperando seus valores até três semanas após o parto (Rossato et al., 2001). Em rebanhos do sul do Brasil os valores médios de globulina foram de $49,3 \pm 10,5$ g/L (González et al., 1996).

Uréia

A uréia é sintetizada no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia do rúmen. Os níveis de uréia são analisados em relação ao nível de proteína na dieta e ao funcionamento renal. A uréia é excretada principalmente pela urina e, em menor grau, pelo intestino e o leite. Na maioria dos

animais (exceto em aves, que excretam ácido úrico), o nível de uréia é indicador de funcionamento renal. No caso dos ruminantes, o teor de uréia não resulta um adequado indicador renal em função do alto grau de reciclagem deste metabólito entre o sangue e o rúmen.

O aumento plasmático da uréia pode ser por causas pré-renais, que diminuem o fluxo sanguíneo no rim, como na hipotensão, no choque hipovolêmico, na desidratação ou em falhas cardíacas. Aumento de uréia por causas renais ocorre por deficiência de filtração em doença renal aguda ou crônica, enquanto que as causas pós-renais de alta uremia incluem a obstrução urinária.

Os níveis de uréia sanguínea também estão afetados pelo nível nutricional, particularmente em ruminantes. De modo geral, a uréia é um indicador sensível, direto e imediato da ingestão de proteína, de forma que excedentes de proteína na dieta são refletidos por aumentos de uréia tanto no sangue quanto no leite, muitas vezes causando efeitos deletérios na reprodução (Rossato et al., 1999) ou na qualidade do leite (González et al., 2001; Wittwer et al., 1993b). Por outra parte, dieta baixa em energia pode também causar aumento da uremia em função do metabolismo ruminal que exige uma sincronia entre a disponibilidade de compostos precursores de proteína bacteriana e de glicídeos solúveis. Não havendo carboidratos disponíveis, aumenta a taxa de absorção ruminal de amônia, levando ao aumento da uréia sanguínea.

Na interpretação dos valores de uréia em ruminantes deve se considerar que na literatura muitas publicações oferecem o valor de Nitrogênio Uréico Sanguíneo (BUN pelas siglas em inglês) e que não corresponde aos valores reais de uréia. Para converter valor de BUN em valor de uréia deve se multiplicar pelo fator 2,14 (que corresponde ao peso de 2N na molécula de uréia= $60/28 = 2,14$). Em rebanhos leiteiros com diferentes níveis de produção no sul do Brasil, os valores médios de uréia sanguínea variaram entre 25 e 57 mg/dL (González e Rocha, 1998), mostrando uma ampla variação em função do manejo alimentar, o estado fisiológico e o nível de produção. No caso de bovinos de corte em pastagem nativa do sul do Brasil (González et al., 2000) a concentração sérica de uréia foi mais baixa e com menor variação ($24,7 \pm 1,7$ mg/dL).

Os valores de uréia no sangue devem ser vistos em conjunto com os valores de albumina e de creatinina, considerando o balanço protéico e energético da dieta de acordo com as exigências nutricionais dos diferentes grupos de animais (González e Campos, 2003).

Creatinina

A creatinina plasmática é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular. A creatina é um metabólito utilizado para armazenar energia no músculo, na forma de fosfocreatina, e sua degradação para creatinina ocorre de maneira constante, ao redor de 2% do total de creatina diariamente. A conversão de creatina em creatinina é uma reação não enzimática e irreversível, dependente de fatores estequiométricos (Figura 1).

A excreção de creatinina só se realiza por via renal, uma vez que ela não é reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo. Os níveis de creatinina podem ser interpretados de forma similar aos de uréia no tocante à taxa de filtração renal. Assim, aumentos podem ser observados em casos de fluxo renal reduzido por hipotensão, desidratação ou por doenças renais e obstrução urinária. Em bovinos, o valor máximo de creatinina plasmática é de 2,0 mg/dL (Wittwer et al., 1993a).

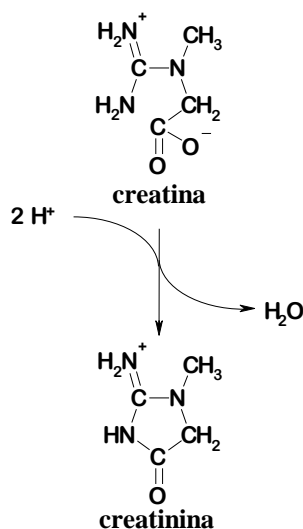


Figura 1. Formação de creatinina a partir da creatina no músculo.

Bilirrubina

A maior parte da bilirrubina no plasma deriva da degradação dos eritrócitos velhos pelo sistema retículo-endotelial, especialmente no baço. A bilirrubina restante provém da degradação da mioglobina, dos citocromos e de eritrócitos imaturos na medula óssea. A hemoglobina liberada dos eritrócitos se divide em porção globina e grupo heme. Após

a extração da molécula de ferro, mineral que fica armazenado ou é reutilizado, o grupo heme é convertido em bilirrubina. A bilirrubina assim formada é chamada de “bilirrubina livre”, que é transportada até o fígado ligada à albumina plasmática. Esta forma, também conhecida como “bilirrubina indireta” no laboratório clínico, não é solúvel em água. Sendo lipossolúvel, não é filtrada pelos glomérulos renais, e não é excretada pela urina.

No fígado, a bilirrubina é desligada da albumina e conjugada com o ácido glicurônico para formar a chamada “bilirrubina conjugada”, que corresponde à “bilirrubina direta” no laboratório. Esta é solúvel em água e secretada ativamente pelos canalículos biliares menores e posteriormente excretada pela bile. Alternativamente pode ser excretada pela urina.

A bilirrubina conjugada é convertida pelas enzimas bacterianas presentes no íleo e no cólon em urobilinogênio (estercobilinogênio), que é reabsorvido em torno de 10 a 15% pela circulação portal até o fígado. A maioria deste urobilinogênio é re-excretada pela bile e uma parte pode ser excretada pela urina. O urobilinogênio não reabsorvido no intestino é oxidado a estercobilina, pigmento responsável pela coloração das fezes.

Aumentos de bilirrubina podem ser causados por hemólise intravascular, hemorragia massiva, transfusão sanguínea inadequada, lesão hepato-celular e obstrução biliar. Os valores de bilirrubina total em bovinos não devem ultrapassar 0,5 mg/dL (Wittwer et al., 1993a).

Indicadores sanguíneos energéticos

Colesterol

O colesterol nos animais pode ser tanto de origem exógena, proveniente dos alimentos, como endógena, sendo sintetizado, a partir do acetil-CoA no fígado, nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. A biossíntese de colesterol no organismo é inibida com a ingestão de colesterol exógeno. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas (HDL, LDL e VLDL). Os níveis de colesterol plasmático são indicadores adequados do total de lipídeos no plasma, pois corresponde a aproximadamente 30% do total. O colesterol é necessário como precursor dos ácidos biliares, os quais fazem parte da bile, e dos hormônios esteróides (adrenais e gonadais). É excretado pela bile, na forma de ácidos biliares, ou na urina, na forma de hormônios esteróides.

Aumentos do colesterol sanguíneo podem ser observados em casos de hipotireoidismo, diabetes mellitus, obstrução biliar, síndrome nefrótica, dieta rica em gorduras, gestação e início da lactação. Os animais mais jovens, em geral, têm menor teor de colesterol que os mais velhos. Diminuição de colesterol sanguíneo pode ser observada em casos de insuficiência hepática, dieta baixa em energia, hipertireoidismo e no pré-parto.

Os valores de colesterol relatados em vacas leiteiras do sul do Brasil variam entre 106 e 149 mg/dL (González et al., 1996). Vacas em lactação têm valores de colesterol sanguíneo significativamente maiores que vacas secas (147 vs. 102 mg/dL; González e Rocha, 1998).

Corpos cetônicos

Os corpos cetônicos, produto do metabolismo dos ácidos graxos, são o β -hidroxibutirato (BHB), o acetoacetato e a acetona. Os métodos analíticos disponíveis dosam o BHB sanguíneo, que corresponde ao corpo cetônico produzido em maior quantidade. Em situações normais os corpos cetônicos estão em baixas quantidades no plasma (máximo 10 mg/dL), mas em situações onde há deficiência de energia somado à existência de uma boa reserva de lipídeos, ocorre o processo conhecido como lipomobilização que corresponde à hidrólise dos triglicerídeos nos depósitos de gordura endógenos. Este processo libera uma grande quantidade de ácidos graxos livres (AGL) para o sangue, que devem ser oxidados. Quando esta liberação ocorre em excesso, a oxidação dos AGL gera muitos corpos cetônicos, os quais acima de 15 mg/dL configuram a doença metabólica denominada cetose espontânea. Tipicamente ocorre acúmulo de corpos cetônicos na cetose das vacas leiteiras e em situações de diabetes mellitus, jejum prolongado, subnutrição e deficiência de cobalto em ruminantes, todas elas obedecendo à resposta metabólica de lipomobilização decorrente de um balanço energético negativo. Esta situação é normal de acontecer no início da lactação e a maioria das vacas consegue contornar esse desafio. Uma condição de cetose clínica pode ser diagnosticada quando coincidem sinais clínicos com os seguintes valores de indicadores bioquímicos: BHB > 12 mg/dL, glicose < 45 mg/dL e triglicerídeos < 10,6 mg/dL (Mutlu e Abdullah, 1998).

Glicose

Entre vários metabólitos usados como combustível para a oxidação respiratória, a glicose é considerada o mais importante, sendo vital para funções como o metabolismo do cérebro e na lactação. O nível de glicose sanguínea pode indicar falhas na homeostase, como ocorre em doenças tais como a cetose.

Na digestão dos ruminantes, praticamente nenhuma glicose proveniente do trato alimentar entra na corrente sanguínea, sendo oxidada pelas bactérias ruminais até a produção de ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico). O fígado é o órgão responsável pela síntese de glicose a partir de moléculas precursoras na via da gliconeogênese. No caso dos ruminantes, o ácido propiônico é substrato de 50% dos requerimentos de glicose, os aminoácidos gliconeogênicos contribuem com 25% e o ácido láctico com 15%. Outro precursor importante é o glicerol.

O teor de glicose sanguíneo tem poucas variações, em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes do organismo, os quais envolvem o controle endócrino por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticóides sobre a gliconeogênese. A dieta tampouco tem grande efeito sobre a glicemia dos ruminantes, em função desses mecanismos homeostáticos, exceto em animais com severa desnutrição. Sob condições de campo, em ocasiões ocorre hipoglicemia, e seja qual for a sua causa, ela indica um estado patológico com importantes implicações na saúde e na produção.

O nível de glicose nos ruminantes tende a ser menor no terço final da gestação do que nos períodos anteriores, isto é, os níveis tendem a diminuir à medida que a gestação avança. Sabe-se que o feto *in utero* demanda glicose como maior fonte de energia. Entretanto, no momento do parto, a glicemia tem um aumento agudo, devido ao estresse. No período posterior ao parto os níveis caem de novo, especialmente na primeira semana e em vacas de alta produção. A glicemia de vacas da raça Holandesa proposta para a região sul do Brasil é de $65,4 \pm 5,3$ mg/dL (González et al., 1996).

Lactato

O lactato é um produto intermediário do metabolismo dos glicídeos, sendo o produto final da glicose anaeróbica. Na presença suficiente de oxigênio, o ácido pirúvico produto da glicólise, entra no ciclo de Krebs, para a geração de energia. Em condições em que ocorre condição de anaerobiose (anoxia, hipoxia), o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico como mecanismo para não interromper a glicólise.

Em condições normais, a maioria do lactato é produzido pelos eritrócitos, mas durante exercício ou atividade física intensa, o músculo produz grandes quantidades de lactato, devido à condição de insuficiente oxigenação. Outras situações de baixa oxigenação aos tecidos causam aumento de lactato, como no caso de anemia, insuficiência cardíaca ou problemas respiratórios.

É frequente também em bovinos de alta produção a acidose láctica de origem ruminal como consequência de excesso de alimentação com concentrado que baixa o pH ruminal e favorece a produção de lactato. Recentemente tem sido dada importância à dosagem de D-lactato, característico do metabolismo bacteriano e sua relação com L-lactato, produzido pelos tecidos dos bovinos, para diferenciar a origem da lactacidemia (Russell e Roussel, 2007). O valor de referência relatado em bovinos para L-lactato está entre 5 a 20 mg/dL (Kaneko et al., 1997).

Triglicerídeos e ácidos graxos livres

Existem métodos disponíveis para dosar triglicerídeos (TG) e AGL. Contudo, o método para determinar AGL continua sem uso generalizado em razão do alto custo. A utilidade de dosar TG é questionada, o que não acontece com os AGL, os quais são os melhores indicadores de lipomobilização (Russell & Roussel, 2007).

Dokovic et al. (2005) mostraram que em vacas cetósicas a concentração sérica de TG é menor que em vacas saudáveis porque os TG podem estar se acumulando no tecido hepático e não saem para a circulação. González et al. (2009) relatam que 52% de vacas com alta lipomobilização no primeiro mês de lactação e 43% de vacas com baixa lipomobilização no terceiro mês de lactação, tiveram valores de TG <10,6 mg/dL. Os autores não acharam correlação significativa entre valores sanguíneos de TG e AGL nem entre TG e BHB, sugerindo que valores isolados de TG não podem ser considerados como indicadores de lipomobilização. Contudo, todas as vacas com cetose subclínica e 61% de vacas com alta lipomobilização (AGL > 400 µmol/L) tiveram valores de TG menores de 8,8 mg/dL. Esses resultados merecem ver com mais atenção o significado dos TG em vacas no início da lactação.

Indicadores sanguíneos minerais

Cálcio

No plasma, o cálcio (Ca) existe em duas formas, a forma livre ou ionizada (cerca de 45%) e a forma associada a moléculas orgânicas, tais como proteínas, principalmente albumina (cerca de 45%) ou ácidos orgânicos (cerca de 10%). O cálcio total, forma como é medido rotineiramente no sangue, contém a forma ionizada que é biologicamente ativa, e a forma não ionizada. Estas duas formas estão em equilíbrio e sua distribuição final depende do pH, da concentração de albumina e da relação ácido-base. Uma queda na concentração de albumina causa diminuição do valor de cálcio sanguíneo, o que não deve ser interpretado como hipocalcemia.

O sistema endócrino envolvendo a vitamina D₃, o paratormônio (PTH) e a calcitonina, responsáveis pela manutenção dos níveis sanguíneos de cálcio, atua de forma bastante eficiente para ajustar-se à quantidade de cálcio disponível no alimento e às perdas que acontecem, principalmente na gestação e na lactação. O firme controle endócrino do Ca faz com que seus níveis variem muito pouco (17%) comparado com o fósforo (variação de 40%) e o magnésio (variação de 57%). Portanto, o nível sanguíneo de cálcio não é um bom indicador do estado nutricional, enquanto que os níveis de fósforo e magnésio refletem diretamente o estado nutricional com relação a estes minerais. Os valores de referência da calcemia situam-se entre 8 a 12 mg/dL (Wittwer et al., 1993a).

Em vacas leiteiras é freqüente a hipocalcemia que pode causar febre do leite ou paresia do parto, principalmente nas primeiras semanas de lactação. A fonte primária de Ca nesses animais é o esqueleto e a taxa de reposição deve ser rápida o suficiente para cobrir a demanda e evitar a hipocalcemia. Considera-se que em concentrações séricas de Ca abaixo de 6 mg/L, já devem começar a aparecer sinais clínicos de febre do leite e abaixo de 5 mg/L deve ocorrer o decúbito, o qual deve ser evitado a qualquer custo.

Magnésio

Não existe um controle homeostático rigoroso do magnésio (Mg) e, portanto, sua concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta. O controle renal de Mg está mais direcionado para prevenir a hipermagnesemia, mediante a excreção do excesso de Mg pela urina. Diante de uma deficiência de Mg, seus níveis na urina caem a praticamente zero. Assim, os níveis de Mg na urina também podem ser indicadores da ingestão do mineral.

A hipomagnesemia tem sérias consequências para os ruminantes podendo levar

até a morte, enquanto que a hipermagneseemia não causa maior transtorno. A hipomagneseemia pode levar à tetania hipomagnesêmica, doença causada pela baixa ingestão de Mg na dieta ou pelo consumo aumentado de compostos que causam interferência com o Mg, tais como potássio e proteínas. A hipomagneseemia pode causar, além da tetania, retenção de placenta, anormalidade da digestão ruminal e diminuição da produção de leite. Também predispõe à apresentação de febre do leite em vacas após o parto, devido a que níveis baixos de Mg (< 2 mg/dL) reduzem drasticamente a capacidade de mobilização das reservas de Ca dos ossos.

O Mg está mais disponível em forragens secas e em concentrados do que em pastos frescos. Pastagens jovens com altos níveis de proteína e K inibem a absorção de Mg. O Mg é absorvido no intestino mediante um sistema de transporte ativo que pode ser interferido pela relação Na:K e ainda pela quantidade de energia, de Ca e de P presentes no alimento. A hipomagneseemia também pode ser consequência de uma excessiva lipólise em decorrência de uma deficiência de energia.

O nível de Mg no perfil metabólico pode indicar estados subclínicos antes de surgir o problema (nível normal 2,0-3,0 mg/dL), sendo especialmente útil antes do parto para evitar problemas de tetania no pós-parto, geralmente complicados com febre de leite (Wittwer et al., 1993a).

A hipomagneseemia em ruminantes configura-se com níveis de Mg abaixo de 1,75 mg/dL, aparecendo sinais clínicos de tetania com concentrações abaixo de 1,0 mg/dL. Os níveis de Mg na urina podem ser indicativos de deficiência quando estão abaixo de 0,5 mg/dL (valor de referência de Mg na urina: 10-15 mg/dL). É aconselhável fazer monitoramento dos níveis de Mg no sangue ou na urina ao longo do ano para prevenir a hipomagneseemia.

Fósforo

O fósforo (P) existe em combinações orgânicas dentro das células, mas o interesse principal no perfil metabólico reside no fósforo inorgânico presente no plasma. A manutenção do nível de P do sangue é governada pelos mesmos fatores que promovem a assimilação do Ca. Porém, na interpretação do perfil os dois minerais indicam diferentes problemas. Por outro lado, o controle da concentração de cálcio via endócrina é mais rigoroso e o nível de fósforo inorgânico no plasma sanguíneo dos bovinos geralmente oscila bem mais que o nível de cálcio.

Os níveis de P são particularmente variáveis no ruminante em função da grande quantidade que se recicla via saliva e sua absorção no rúmen e intestino. A interrupção do ciclo leva a hipofosfatemia. A perda de P nas secreções digestivas no bovino chega a 10 g/dia. Por outro lado, o P no rúmen é necessário para a normal atividade da microflora e, portanto para a normal digestão.

A disponibilidade de P alimentar diminui com a idade (90% em bezerros, 55% em vacas adultas). Daí que os níveis sanguíneos de P sejam menores em animais mais velhos. Deficiências no fósforo não têm efeitos imediatos, como é o caso do cálcio, porém no longo prazo podem causar crescimento retardado, osteoporose progressiva, infertilidade e baixa produção. A deficiência severa de fósforo manifestada por níveis sanguíneos menores de 3,0 mg/dL leva a depravação do apetite (alotrofia). A hipofosfatemia é observada em dietas deficientes em P, mais comumente em solos deficientes em fósforo, principalmente durante o outono/inverno (Valle et al., 2003) e em vacas de alta produção.

Geralmente, as pastagens são abundantes em Ca e deficientes em P, acontecendo uma relativa deficiência de P e um excesso de Ca (McDowell, 1999). Por outro lado, o excesso de suplementação com Ca e P pode causar diminuição da absorção intestinal de outros minerais, tais como Mg, Zn, Mn e Cu.

O P também é considerado um indicador da função renal, junto com uréia e creatinina, sendo encontrados aumentos significativos na insuficiência renal. Deve-se ter um especial cuidado no manejo pré-analítico, pois a hemólise extravascular é causa de resultados artificialmente elevados de P sanguíneo.

Indicadores enzimáticos

A enzimologia clínica é de grande ajuda diagnóstica, principalmente em relação às enzimas presentes na corrente sanguínea, várias das quais são incluídas no estudo do perfil metabólito sanguíneo (Tabela 1).

Tabela 1. Principais enzimas usadas na clínica veterinária e interpretação do aumento da atividade.

Enzima	Órgão	Interpretação do aumento
Alanina aminotransferase (ALT)	fígado e músculo	lesão hepática (<i>infecciosa e tóxica, trauma, neoplasia, amiloidose, esteatose</i>), indução por drogas (<i>anticonvulsivos, glicocorticóides, mebendazol, paracetamol</i>), miocardite, regeneração hepato-celular
Aspartato aminotransferase (AST)	fígado, músculo, eritrócitos, rins	cardiomiopatias (<i>isquemia cardíaca, necrose, neoplasia</i>), lesão muscular (<i>deficiência de vitamina E e selênio, injeção intramuscular, exercício excessivo</i>), lesão hepato-celular (<i>infecciosa e tóxica, cirrose, obstrução do ducto biliar, esteatose, icterícia</i>)
Amilase	pâncreas, intestino, glândula salivar	pancreatite aguda, lesões intestinais (<i>obstrução, úlceras, torção, traumas</i>), obstrução urinária, hiperadrenocorticismos, obstrução da glândula salivar, insuficiência renal
Creatina quinase (CK)	músculo	lesão muscular (<i>rabdomiólise, cirurgia, injeção intramuscular, necrose, toxoplasmose, deficiência de vitamina E e selênio, decúbito</i>), miocardiopatias
Fosfatase alcalina (FA)	ossos, fígado, intestino, placenta, rins	dano hepato-celular, indução por drogas (<i>barbitúricos e anticonvulsivos</i>) ou esteróides, animais em crescimento, doenças ósseas (<i>tumores, osteomalácia, consolidação de fraturas</i>), deficiência de vitamina D, caquexia, septicemia, endotoxemia, pancreatite, hiperparatireoidismo, hiperadrenocorticismos
Gama-glutamil transferase (GGT)	fígado, rins	dano hepático (<i>metástase, hepatite, obstrução biliar, aflatoxicose</i>), indução por glicocorticóides
Glutamato desidrogenase (GLDH)	fígado	doenças hepáticas (<i>necrose, obstrução biliar</i>)
Lactato desidrogenase (LDH)	Fígado, músculo, hemácias	desordens dos músculos esqueléticos (<i>rabdomiólise, miodegeneração nutricional</i>) e cardíaco (<i>isquemia devido à endocardite, dirofilariose, trombose aórtica, infarto, trauma, necrose, neoplasia</i>), moléstias renais e hepáticas (<i>necrose, lesão</i>)
Lipase	pâncreas, fígado	pancreatite aguda, falha renal, doenças hepáticas, indução por glicocorticóides e opióides, obstrução intestinal, insuficiência renal.
Tripsina	pâncreas	pancreatite aguda

A medição da atividade enzimática no plasma como ajuda diagnóstica esta fundamentada nos seguintes conceitos:

(a) 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. (b) 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.

(c) Aumentos da atividade enzimática no plasma permitem fazer inferência sobre o lugar e o grau do dano celular, uma vez que muitas enzimas são específicas de órgãos. O grau de alteração pode ser determinado pela atividade de enzimas associadas a diferentes compartimentos celulares. Assim, em danos tissulares severos, aparece maior atividade de enzimas mitocondriais e em danos menores aparece atividade de enzimas citoplasmáticas ou de membrana.

(d) Os níveis enzimáticos no plasma estão influenciados pela velocidade com que entram na corrente circulatória, o que por sua vez depende do dano celular e pela taxa de inativação enzimática (meia-vida da enzima).

(e) O evento que interessa na determinação enzimática é o aumento da atividade, não tendo geralmente importância a sua diminuição.

O sistema de medida mais usado da atividade enzimática é o de Unidades Internacionais (U ou UI) por litro. Uma UI equivalente à quantidade de enzima que catalisa a conversão de 1 μmol de substrato por minuto. A amostra utilizada para a análise de enzimas deve ser preferivelmente soro e, se usar plasma, deve evitar-se o uso de anticoagulantes com agentes quelantes de metais, tais como EDTA, citrato ou oxalato, para evitar a inativação das metaloenzimas. A heparina é uma boa alternativa. A estabilidade das enzimas é diferente para cada uma sendo conveniente separar o soro ou o plasma o mais rapidamente possível.

Indicadores urinários

Densidade específica urinária

A densidade específica urinária pode ser determinada de forma fácil e econômica mediante refratometria, sendo uma importante ferramenta da análise física da urina.

Na desidratação por perda ou falta de ingestão de água diminui a produção de urina, ficando mais concentrada e com menor valor de densidade, mas a restrição de consumo de água só afeta o volume urinário e, portanto a densidade, após o 2º dia de jejum hídrico, sendo compensado pela absorção de água presente no rúmen (Ortolani, 2002). Quanto maior for a ingestão de alimento, de proteína ou de nitrogênio não-protéico dietético, maior será a produção urinária, causada por uma maior ingestão de água. Por outro lado, quanto maior for a concentração de lactato plasmático, observado em estados de acidose láctica ruminal, menor será o volume urinário (Osbaldiston & Moore, 1971). Valores baixos de densidade urinária são observados em insuficiência renal crônica e na diabetes insípida.

pH urinário

O pH urinário pode refletir o estado de acidose ou alcalose do organismo, embora em ocasiões mecanismos compensatórios possam mascarar o desequilíbrio. O pH urinário dos ruminantes varia de 5,5 a 8,0 conforme a alimentação. Bovinos alimentados a pasto têm um pH urinário mais alcalino (7,5 a 8,0), enquanto que os alimentados com concentrado apresentam um pH mais ácido (6,0 a 7,0). O pH da urina varia durante o dia, sendo mais ácido após a alimentação. Assim recomenda-se que sua mediação seja feita cerca de 6 horas após a alimentação (Ortolani, 2002).

O pH urinário tem sido utilizado para avaliar a eficiência da administração de sais aniônicos, usados para prevenir a hipocalcemia em vacas leiteiras. Estes sais contêm cloreto de amônio e sulfato de cálcio (íons aniônicos), que acidificam o pH urinário. Vacas que estão recebendo sais aniônicos devem apresentar, cerca de 6 horas após a alimentação, um pH urinário entre 6,0 a 7,0 (Ortolani, 2002).

Corpos cetônicos urinários

Em condições normais, pequenas quantidades dos corpos cetônicos circulantes no sangue são excretados pela urina, mas na cetose podem ultrapassar o limiar renal, sendo excretados abundantemente. A detecção de acetona e de acetoacetato na urina é feita por meio da prova de Rothera, que utiliza o nitroprussiato de sódio como reativo e pode ser realizada com fitas ou tabletes comerciais. É uma prova considerada semi-quantitativa tendo resultado cruces de zero a 4 (Ortolani, 2002). A prova detecta apenas grupos ceto e, portanto, não detecta o BHB, principal corpo cetônico. Fitas urinárias mais recentes

incluem a enzima BHB oxidase que converte o BHB em acetoacetato, conferindo maior sensibilidade à prova.

Indicadores lácteos

Gordura do leite

Entre os fatores que influem na quantidade de gordura do leite, se destacam os genéticos, o nível de produção (aumento da produção diminui a gordura), os períodos de lactação e de gestação e a alimentação. É importante que a amostra coletada não seja do início nem do fim da ordenha.

A gordura é o composto mais afetado pela dieta e pelo equilíbrio energético imposto ao animal. Dessa forma, em caso de balanço energético negativo, como o que ocorre obrigatoriamente nas vacas de alta produção, a alta lipomobilização de gordura endógena causa um aumento no teor de gordura do leite. Esta situação em geral é concomitante com o aumento do teor de corpos cetônicos nos leite e perda da condição corporal do animal.

De qualquer forma, na interpretação da variação de gordura no leite devem ser considerados alguns elementos de decisão, tais como o conhecimento do valor de gordura no leite do rebanho, conforme o tipo racial e as condições sazonais, a composição da ração, principalmente a proporção de fibra, a condição corporal nos diferentes períodos de lactação e as variações na composição de sólidos totais do leite com relação à fase de lactação (Noro et al., 2006).

Por outra parte, alterações no pH ruminal como o que ocorre na acidose láctica por consumo aumentado de glicídeos de fermentação rápida, tem impacto sobre a composição do leite, diminuindo o valor de gordura. Isto ocorre pelos seguintes efeitos: aumento do ácido propiônico (C_3), efeito insulínico (favorece a lipogênese com relação à lipólise) e baixo aporte de ácido acético (C_2), precursor dos ácidos graxos. Essa diminuição da gordura do leite tem sido denominada síndrome de baixa gordura do leite (*low milk fat syndrome*).

É evidente que a determinação do percentual de gordura no leite deverá ser uma medição individualizada e se considera de utilidade nas primeiras seis semanas de lactação. Sempre que o leite apresente aumentos na gordura, haverá redução das proteínas nos sólidos totais ocasionando menor valor do produto.

Proteína no leite

É conveniente separar os diferentes compostos nitrogenados do leite denominados genericamente de proteínas. Esta composição inclui as caseínas chamadas de “proteínas verdadeiras”, mas também a albumina e as globulinas de origem láctea e sanguínea, bem como enzimas, aminoácidos, peptídeos e uréia. Para efeitos produtivos devem considerar-se diferencialmente os seguintes produtos nitrogenados: caseínas, proteínas do soro do leite e nitrogênio não protéico.

A regulação da secreção láctea permite que a composição das proteínas permaneça relativamente constante no leite, apesar de aumentos no consumo de proteínas pela dieta. O aumento da proteína total do leite em resposta ao aporte da dieta se dá fundamentalmente sobre a base do aumento de energia e de nitrogênio não protéico (uréia). O aporte de uréia como fonte de nitrogênio está limitado em sua absorção pelo aporte de energia para permitir a metabolização por parte dos microorganismos ruminais, podendo passar por via sanguínea para a glândula mamária e o leite, existindo uma forte correlação entre as concentrações de uréia no sangue e no leite.

A relação entre o conteúdo de gordura/proteína do leite é um indicador apropriado para as mudanças na composição do leite referidas com a resposta à dieta, uma vez que, em geral, as respostas do aumento de gordura e de proteína do leite vão em sentidos opostos quando a dieta muda. É conhecido um efeito de depressão das caseínas no leite pelo excesso de gordura na ração.

Diminuição na secreção de proteínas lácteas ocorre em carências alimentares severas, em afecções graves da integridade hepática, em parasitismos ou nas afecções inflamatórias da glândula mamária onde diminuem as caseínas e aumentam as proteínas do soro.

Uréia no leite

A uréia é o produto final do metabolismo protéico. Quantidades apreciáveis de uréia aparecem no sangue e no leite, fluidos nos quais pode medir-se de forma confiável, uma vez que a uréia sanguínea passa o epitélio alveolar da glândula mamária difundindo-se no leite. Assim, os níveis de uréia no leite têm uma alta correlação com a concentração sérica de uréia (Rajala-Schultz et al., 2001).

A uréia pode ser usada como uma ferramenta no monitoramento do manejo nutricional, especialmente quanto à eficiência de utilização de nitrogênio na dieta, como

indicador de excesso de amônia ruminal em relação à energia disponível para o crescimento bacteriano no rúmen.

Os níveis normalmente aceitos de uréia no leite estão num intervalo entre 21,4 a 34,2 mg/dL. Quando o valor está elevado em um animal ou um rebanho, é evidente que a proteína esta sendo utilizada de forma ineficiente e, uma vez que a proteína é um dos componentes mais caros da dieta, ocorrem perdas econômicas, que serão somadas às perdas por falhas reprodutivas. Butler et al. (1996) associam redução nas taxas de gestação com valores superiores a 40,7 mg/dL de uréia no leite. No Brasil, não existem estudos dessa dimensão que possam ser referência no tema.

Finalmente, quando os valores de uréia são baixos (menos de 19 mg/dL), a informação permite reconhecer que os níveis de proteína na dieta são inadequados, devendo portanto aumentar a oferta protéica.

Considerações finais

Os transtornos metabólicos em bovinos têm aumentado de forma progressiva nos últimos anos, acompanhando o avanço da genética no sentido de obter animais mais produtivos, uma vez que a fisiologia e o metabolismo não acompanham paralelamente a capacidade de maior produtividade. A utilização da bioquímica clínica em fluidos corporais, tais como sangue, urina e leite, pode ser mais explorada pelos clínicos buiatras como ferramenta concomitante com o exame clínico e a anamnese, não somente no diagnóstico de casos clínicos de transtornos metabólicos, mas especialmente dos casos subclínicos e no acompanhamento, monitoramento e prevenção de condições patológicas. Atualmente, a maioria dos laboratórios clínicos tem a sua disposição técnicas e equipamentos que fazem mais econômicas e acuradas as análises nesses fluidos, de forma que os veterinários devem possuir o conhecimento necessário para sua melhor utilidade.

Referências

1. BUTLER, W.R., CALAMAN, J.J., BEAM, S.W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science** v. 74, p. 858-865, 1996.
2. COTE, J.F., HOFF, B. Interpretation of blood profiles in problem dairy herds. **The Bovine Practitioner**, v. 26, p. 7-11, 1991.

3. ĐOKOVIĆ, R., ŠAMANC, H., BOŠKOVIĆ-BOGOSAVLJEVIĆ, S., RADOVIĆ, V. Changes of characteristic blood parameters in ketotic cows. **Veterinarski Glasnik**, v. 59, suppl. 1-2, p. 221-228, 2005.
4. GALIMBERTI A., BERTONI G., CAPP A V. La determinazione del profilo metabólico quale mezzo per evidenziare le cause alimentari di ipofertilità bovina. **Zoot. Nutriz. Anim.**, v. 3, p. 237-245, 1977.
5. GONZÁLEZ, F.H.D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 25, p. 13-33, 1997.
6. GONZÁLEZ F.H.D. Perfil metabólico en bovinos: alcance y utilidad. **Revista M V Z**, v. 3, p. 45-52, 2001.
7. GONZÁLEZ F.H.D., CONCEIÇÃO T.R., SIQUEIRA A.J.S., LA ROSA V.L. Variações sangüíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v. 20, p. 59-62, 2000.
8. GONZÁLEZ F.H.D., DÜRR, J.W., FONTANELI, R.S. (Eds.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2001. 77p.
9. GONZÁLEZ F.H.D., HAIDA K., ZANELLA R., FIGUR K. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 24, p. 11-24. 1996.
10. GONZÁLEZ F.H.D., ROCHA J.A. Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 26, p. 52-64, 1998.
11. GONZÁLEZ, F.H.D., CAMPOS, R. O leite como indicador metabólico-nutricional em vacas. **A Hora Veterinária**, v. 22, p. 36-38, 2003.
12. GONZÁLEZ, F.H.D., MUIÑO, R., PEREIRA, V. et al. Indicadores sanguíneos de lipomobilização e função hepática no início da lactação em vacas leiteiras de alta produção. VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA. Belo Horizonte, Brasil, 2009. **Anais**.
13. KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997, 932 p.
14. MCDOWELL L.R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais enfatizando o Brasil**. Gainesville: University of Florida. 1999.

15. MUTLU, S., ABDULLAH, B. The clinical-chemical parameters, serum lipoproteins and fatty infiltration of the liver in ketotic cows. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 22, p. 443–447, 1998.
16. NORO, G., GONZÁLEZ, F.H.D., CAMPOS, R., DÜRR, J.W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006.
17. ORTOLANI, E. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: **Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais**. 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Gramado, Brasil. 2002.
18. OSBALDISTON, G.W., MOORE, W.E. Renal function tests in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association** v. 159, p. 292-301, 1971.
19. PAYNE, J.M., DEW, S.M., MANSTON, R., FAULKES, M. The use of metabolic test in dairy herds. **Veterinary Record**, v. 87, p. 150-157, 1970.
20. PAYNE J.M., PAYNE S. **The Metabolic Profile Test**. Oxford University Press. 1987.
21. RAJAL-SCHULTZ, P.J., SAVILLE, J.A., FRAZER, G.S., WITTUM, T.E. Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. **Journal of Dairy Science** v. 84, p. 482-489, 2001.
22. ROSSATO W., GONZÁLEZ F.H.D., DIAS M.M., et al. Number of lactations affects metabolic profile of dairy cows. **Archives of Veterinary Science**, v. 6, p. 83-88, 2001.
23. ROSSATO W., GONZÁLEZ F.H.D., DIAS M.M., FARIA S.V., RICCÓ D. Condição metabólica e desempenho reprodutivo no pós-parto em vacas leiteiras do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.155-156, 1999.
24. RUSSELL, K.A.; ROUSSEL, A.J. Evaluation of the ruminal serum chemistry profile. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 23, p. 403-426, 2007.
25. VALLE, S.F., GONZÁLEZ, F.H.D., ROCHA, D. et al. Mineral deficiencies in beef cattle from southern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40 (supl.), p. 47-53, 2003.

26. WITTWER F., HEUER G., CONTRERAS P.A., BÖHMWALD T.M. Valores bioquímicos clínicos sanguíneos de vacas cursando con decúbito en el sur de Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 15, p. 83-88, 1993a.
27. WITTWER F., REYES J.M., OPITZ H. et al. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 25, p. 165-172, 1993b.