

MICHELINE OZANA DA SILVA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL EM ÉGUAS MANGALARGA
MARCHADOR DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO MANTIDAS À
PASTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

A586s
2018
Silva, Micheline Ozana da, 1975-
Avaliação clínica e laboratorial em éguas Mangalarga
Marchador durante o período de transição mantidas à pasto /
Micheline Ozana da Silva. – Viçosa, MG, 2018.
xvi, 99f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: José Dantas Ribeiro Filho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Éguas - Reprodução. 2. Égua - Diagnóstico.
3. Hematologia veterinária. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Veterinária. Programa de Pós-graduação em
Medicina Veterinária. II. Título.

CDD 22 ed.636.1

MICHELINE OZANA DA SILVA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL EM ÉGUAS MANGALARGA
MARCHADOR DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO MANTIDAS
À PASTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 26 de fevereiro de 2018.

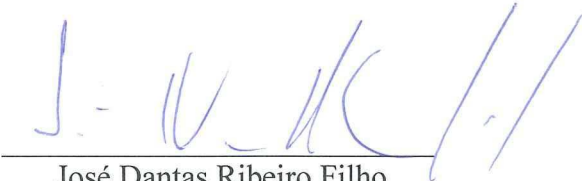

Marcel Ferreira Bastos Avanza


Fabrício Luciani Valente


Waleska de Melo Ferreira Dantas


Luíz Carlos Fontes Baptista Filho


Hélio Cordeiro Manso Filho
(Coorientador)


José Dantas Ribeiro Filho
(Orientador)

Às minhas filhas e meu marido, pela compreensão e amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar e nunca me desamparar. Deus me ensinou a seguir em frente com tranquilidade e não desistir dos meus objetivos diante das dificuldades. Sempre me orientando no caminho do bem com humildade e prudência.

A minha família, Ricardo que sempre me motivou e me mostrou o quanto era importante estudar, e as minhas filhas Maria Julia e Maria Cecilia por toda dedicação e amor incondicional. Obrigada por entenderem os momentos de ausência.

Ao meu orientador, José Dantas Ribeiro Filho, pelo apoio, compreensão e ensinamentos. Serei eternamente grata pela oportunidade.

Aos meus grandes amigos e colegas da Pós-graduação *Bruna Maria Ribeiro, Pedro Ancelmo Ermita, Lorena C. Monteiro, Caio C. Monteiro, Samuel P. Simonato, Samuel Rodrigues Alves, Glaucia M. Matos, Daniele Estanislau, Laice Alves*, pela ajuda durante todo o experimento. Sem vocês não existiria tese. A tese é nossa.

Aos professores (a) Hélio Cordeiro Manso Filho, Waleska Ferreira de Melo Dantas, Fabricio Luciani Valente e Luis Augusto Nero pela colaboração e ensinamentos.

Aos funcionários do Departamento de Veterinária, em especial ao Cláudio Roberto Fialho “Claudinho”, por toda ajuda e atenção. A Edilene e Sr Lonarde (pais da Lorena) por toda ajuda, hospedagem e carinho durante o experimento.

Rosineia Cunha você é uma mãe que Deus colocou no meu caminho. Muito obrigada por estar sempre ao meu lado durante toda essa jornada.

A professora Emily e ao professor Evandro por colaborar durante o experimento.

A todos os membros da banca por aceitarem participar e colaborar com a tese.

Aos demais professores do programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária.

A Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade em ampliar meus conhecimentos. A Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa que contribuiu para minha formação acadêmico-profissional e auxiliou durante a realização da pesquisa.

Ao Laboratórios de Patologia Clínica do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, pela cooperação durante a realização das análises.

A fazenda Salgada e ao Gilberto “Guará”, pela disponibilização dos animais e apoio durante a realização do experimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais - Fapemig, pela concessão de bolsa de estudos de doutorado.

Finalmente, faço questão de agradecer de coração a todas as pessoas que torceram ou intercederam por mim, mesmo que de forma anônima ou discreta.

A todos esses amigos e amigas meu muito obrigado de coração. Sem a ajuda de todos vocês eu não conseguiria chegar até aqui!

Muito obrigada a todos!

BIOGRAFIA

MICHELINE OZANA DA SILVA, filha de Agenor José da Silva e Senhorinha Ozana da Silva, nasceu em 01 de novembro de 1975, em Recife, PE.

Em Julho de 2010, graduou-se em Fisioterapia pela Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde – Univiçosa, em Viçosa, MG. Em agosto de 2011, ingressou no Mestrado em Medicina Veterinária, concentrando seus estudos na Área de Clínica Médica e Cirurgia de Equídeos, incluída na linha de pesquisa intitulada Biotecnologia, Diagnóstico e Controle de Doenças dos Animais. Em 2013 defendeu sua dissertação de mestrado “Efeitos da laserterapia de baixa potência associada ou não a exercício excêntrico no tratamento de tendinopatia induzida do tendão calcâneo comum de ratos (*Rattus norvegicus*)”. Ingressou no doutorado em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Viçosa em março de 2014, na linha de pesquisa intitulada Biotecnologia, Diagnóstico e Controle de Doenças dos Animais. Em 2017.2 foi aprovada para professora substituta na Universidade Federal de Viçosa, no Departamento de Biologia Animal para a disciplina de Anatomia Humana.

SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. CAPÍTULOS	03
2. CAPÍTULO I: Biomarcadores fisiológicos em éguas no período de transição: o que eles expressam	03
2.1. Resumo	03
2.2. Abstract	04
2.3. Introdução	05
2.4. Período de Transição em Éguas	06
2.5. Avaliação Clínica	08
2.6. Análises Laboratoriais	09
2.7. Hematologia Clínica	09
2.8. Bioquímica Clínica	12
2.9. Considerações Finais	14
2.10. Referências Bibliográficas	15
3. CAPÍTULO II: O período de transição produz mudanças no sangue e na composição corporal em éguas	21
3.1. Resumo	21
3.2. Abstract	23
3.3. Introdução	25
3.4. Material e Métodos	26
3.5. Resultados	29
3.6. Discussão	37
3.7. Conclusão	42
3.8. Referências Bibliográficas	42

4. CAPÍTULO III: Valores hematológicos e bioquímicos em éguas Mangalarga Marchador no período de transição mantidas a pasto	46
4.1. Resumo	46
4.2. Abstract	48
4.3. Introdução	50
4.4. Material e Métodos	51
4.5. Resultados	54
4.6. Discussão	62
4.7. Conclusão	66
4.8. Referências Bibliográficas	66
5. CAPÍTULO IV: Bioquímica clínica de éguas Mangalarga Marchador no período de transição	70
5.1. Resumo	70
5.2. Abstract	71
5.3. Introdução	72
5.4. Material e Métodos	73
5.5. Resultados	75
5.6. Discussão	83
5.7. Conclusão	87
5.8. Referências Bibliográficas	87
6. Conclusões Gerais	92
7. Anexos	93

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

- Figura 1:** Peso corporal das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....30
- Figura 2:** Massa livre de gordura das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....30
- Figura 3:** Porcentagem de gordura corporal das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....31
- Figura 4:** Colesterol sérico das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....33
- Figura 5:** Triglicerídeos sérico das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....34
- Figura 6:** Ácidos graxos não-esterificados (AGNE) das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....35

Capítulo III

- Figura 1:** Hemácias das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....54
- Figura 2:** Hematócrito das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....55
- Figura 3:** Hemoglobina das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....56
- Figura 4:** Volume Corpuscular Médio em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....56
- Figura 5:** Proteína sérica das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....58

Capítulo IV

- Figura 1:** Cálcio das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....76

Figura 2: Magnésio das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....77

Figura 3: Sódio das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....78

Figura 4: Potássio das éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.....78

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

- Tabela 1:** Valores médios e desvios padrões das variáveis: peso corporal (kg), porcentagem de gordura corporal (%), massa livre de gordura (kg) e temperatura retal (° C), avaliadas no grupo de transição (GT) e no grupo de manutenção (%) (GM).....32
- Tabela 2:** Valores médios e desvio padrão das concentrações de colesterol (mmol/L), triglicerídeos (mmol/L), ácidos graxos não esterificados - AGNE (mmol/L), glicose (mmol/L) e lactato (mmol/L), avaliadas no grupo de transição (GT) e no grupo de manutenção (%) (GM).....36

Capítulo III

- Tabela 1:** Valores médios e desvios padrões das concentrações de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}^3$), hematócrito (%), hemoglobina (g/dL), volume corpuscular médio (fL) e concentração de hemoglobina corpuscular média (%) e RDWcv (%).....59
- Tabela 2:** Valores médios e desvios padrões das concentrações de leucócitos totais ($/\mu\text{L}$), monócitos ($/\mu\text{L}$), eosinófilos ($/\mu\text{L}$), neutrófilos bastonetes ($/\mu\text{L}$), neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L}$), linfócitos ($/\mu\text{L}$) e plaquetas ($\times 10^6$) de éguas no período de transição (GT) e éguas em manutenção (GM).....60
- Tabela 3:** Valores médios e desvios padrões das concentrações de ferro ($\mu\text{g/dL}$), proteína (g/dL), albumina (g/dL), globulina (g/dL) e fibrinogênio (mg/dL) de éguas no período de transição (GT) e éguas em manutenção (GM).....61

Capítulo IV

- Tabela 1:** Valores médios e desvios padrões das concentrações de macro-minerais: cálcio total (mmol/L), cloreto (mmol/L), magnésio (mmol/L), fosforo (mmol/L), sódio (mmol/L), potássio (mmol/L), em éguas no período de transição (GT) e em manutenção (GM).....79
- Tabela 2:** Valores médios e desvios padrões das concentrações de ácido úrico (mg/dL), creatinina (mg/dL) e ureia (mmol/L) em éguas no período de transição (GT) e em manutenção (GM).....81
- Tabela 3:** Valores médios e desvios padrões das concentrações séricas de enzimas: aspartatoaminotransferase – AST (U/L), gamaglutamiltransferase – GGT (U/L), fosfatase alcalina – FA (U/L) e cretina quinase – CK (U/L) em éguas no grupo de transição (GT) e no grupo em manutenção (GM).....82

RESUMO

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Avaliação clínica e laboratorial em éguas Mangalarga Marchador durante o período de transição mantidas à pasto.** Orientador: José Dantas Ribeiro Filho. Coorientadores: Hélio Cordeiro Manso Filho e Luis Augusto Nero.

O período de transição em éguas compreende o final da gestação, parto e início da lactação. Nesta fase as adaptações no organismo da égua são intensas e estão associadas com um estado metabólico alterado quando comparado com o período não-gestacional. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do período de transição sobre parâmetros clínicos e laboratoriais em éguas da raça Mangalarga Marchador. Foram utilizadas 48 éguas, distribuídas em dois grupos: O grupo em manutenção (GM), formado por éguas não prenhes, e um grupo experimental, chamado de grupo de transição (GT), composto por éguas gestantes e que após o parto passaram a ser lactantes. As avaliações foram realizadas nos seguintes tempos: T-60 (sessenta dias antes do parto), T-30 (trinta dias antes do parto), T-15 (quinze dias antes do parto), T0 (primeiras seis horas após o parto), T+15 (quinze dias após o parto), T+30 (trinta dias após o parto) e T+60 (sessenta dias após o parto). As éguas do GM foram avaliadas apenas no T-60. Todos os animais foram submetidos a avaliações clínicas: peso corporal, temperatura retal, coloração da mucosa, tempo de enchimento capilar, porcentagem de gordura e massa livre de gordura, exceto durante o parto; análises hematológicas: eritrograma, leucograma (total e diferencial) e contagem de plaquetas; e as análises bioquímicas: proteína sérica, albumina, globulina, ferro, fibrinogênio, colesterol total, triglicerídeos, ácidos graxos não-esterificados, glicose, lactato, cálcio total, fósforo, magnésio, sódio, potássio, cloreto, ácido úrico, creatinina, ureia, gamaglutamiltransferase, aspartatoamiltransferase, fosfatase alcalina e creatina quinase. Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico que demonstrou maior temperatura retal nos tempos T+15, T+30 e T+60 do que nos T-60, T-30 e T-15. O peso corporal e a massa livre de gordura diferiu ($P < 0,05$) entre as éguas em manutenção e as do período de transição. No GT houve uma redução progressiva de ambas as variáveis ($P < 0,05$). A porcentagem de gordura foi menor nas éguas em manutenção. Houve diferença entre os grupos ($P < 0,05$) na quantidade de colesterol, triglicerídeos, ácidos graxos não-esterificados, glicose e lactato. O GT apresentou menor ($P < 0,05$) concentração de hemácias, hematócritos e hemoglobina do que no GM. O GM apresentou menores valores de volume corpuscular médio e de distribuição do diâmetro das hemácias com coeficiente de variação e maiores valores da

concentração de hemoglobina corpuscular média. Não ocorreu diferença ($P > 0,05$) nos valores de hemoglobina corpuscular média, leucócitos global, neutrófilos segmentados e bastonetes, e ferro. As plaquetas diferiram apenas no GT (T-60) e as globulinas no GT (T0 e T+15). Houve diferença entre grupos ($P < 0,05$) nos valores de monócitos, eosinófilos, linfócitos, proteínas totais, fibrinogênio e albumina. Houve diferença ($P < 0,05$) entre os grupos GM e GT e entre os tempos avaliados nas quantidades de cálcio, magnésio, sódio, potássio, creatinina, ureia, fosfatase alcalina e creatina quinase. Já o cloreto e o fósforo não diferiram ($P > 0,05$) entre as éguas em manutenção e as em transição, assim como as concentrações enzimáticas de gamaglutamiltransferase e aspartatoaminotransferase. O ácido úrico também diferiu entre os grupos ($P > 0,05$), e GT apresentou diferença ao longo dos tempos. O período de transição exerce forte influência na condição corporal e nos elementos presentes no sangue das éguas evidenciando a demanda metabólica da égua e do feto. Muitas das adaptações são fisiológicas e decorrem de mecanismos de proteção do organismo materno para garantir que esta possa suprir as necessidades impostas pelo período. É possível monitorar a saúde da égua bem como a do feto a partir do conhecimento e avaliação do perfil metabólico de éguas submetidas ao mesmo manejo.

ABSTRACT

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Clinical and laboratory evaluation in mares Mangalarga Marchador during the transition period kept on pasture.** Advisor: José Dantas Ribeiro Filho. Co-Advisors: Hélio Cordeiro Manso Filho and Luis Augusto Nero.

The transition period in mares comprises the end of gestation, delivery and initiation of lactation. At this stage the adaptations in the mare organism are intense and are associated with an altered metabolic state when compared to the non-gestational period. The present study aimed to evaluate the effects of the transition period on clinical and laboratory parameters in Mangalarga Marchador mares. A total of 48 mares were used, distributed into two groups: the maintenance group (MG), formed by non-pregnant mares, and an experimental group, called the transition group (TG), composed of pregnant mares and after delivery infants. T-60 (sixty days before delivery), T-30 (thirty days before delivery), T-15 (fifteen days before delivery), T0 (first six hours after delivery), T+15 (fifteen days after delivery), T+30 (thirty days after delivery) and T+60 (sixty days after delivery). GM mares were evaluated only on the T-60. All animals were submitted to clinical evaluations: body weight, rectal temperature, mucosal staining, capillary filling time, percentage of fat and fat free mass, except during delivery; hematological analyzes: erythrogram, leukogram (total and differential) and platelet count; and biochemical analyzes: serum protein, albumin, globulin, iron, fibrinogen, total cholesterol, triglycerides, non-esterified fatty acids, glucose, lactate, total calcium, phosphorus, magnesium, sodium, potassium, chloride, uric acid, creatinine, urea, gammaglutamyltransferase, aspartate amyltransferase, alkaline phosphatase and creatine kinase. The results were submitted to statistical treatment that showed a higher rectal temperature at T+15, T+30 and T+60 times than in the T-60, T-30 and T-15 times. Body weight and fat free mass differed ($P < 0.05$) between the maintenance mares and those of the transition period. In TG there was a progressive reduction of both variables ($P < 0.05$). The percentage of fat was lower in maintenance mares. There was a difference between groups ($P < 0.05$) in the amount of cholesterol, triglycerides, non-esterified fatty acids, glucose and lactate. The TG presented lower ($P < 0.05$) concentration of red blood cells, hematocrits and hemoglobin than in MG. The MG presented lower values of mean corpuscular volume and distribution of red blood cell diameter with coefficient of variation and higher values of mean corpuscular hemoglobin concentration. There was no difference ($P > 0.05$) in mean corpuscular hemoglobin, global leukocytes, segmented

neutrophils and rods, and iron. Platelets differed only in TG (T-60) and TG globulins (T0 and T+15). There were differences between groups ($P < 0.05$) in the values of monocytes, eosinophils, lymphocytes, total proteins, fibrinogen and albumin. There was a difference ($P < 0.05$) between the MG and TG groups and between the times evaluated in the amounts of calcium, magnesium, sodium, potassium, creatinine, urea, alkaline phosphatase and creatine kinase. Chloride and phosphorus did not differ ($P > 0.05$) between maintenance and transitional mares, as did the enzymatic concentrations of gammaglutamyltransferase and aspartate aminotransferase. Uric acid also differed between groups ($P > 0.05$), and TG presented a difference over time. The transition period exerts a strong influence on the body condition and the elements present in the blood of the mares evidencing the metabolic demand of the mare and the fetus. Many of the adaptations are physiological and stem from mechanisms of protection of the maternal organism to ensure that it can meet the needs imposed by the period. It is possible to monitor the health of the mare as well as the health of the fetus from the knowledge and evaluation of the metabolic profile of mares submitted to the same management.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui o maior rebanho de equinos da América Latina e o terceiro mundial, com a maior criação de animais localizada na região sudeste. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) estimaram em 2013 um rebanho formado por 5.312.076 de equinos no Brasil. O estado de Minas Gerais é considerado o centro criador da raça Mangalarga Marchador, sendo a raça mais numerosa no país, com bastante utilização no trabalho em fazendas de gado e em diversas modalidades atléticas.

A criação de cavalos desta raça com a finalidade de reprodução e revenda, tem se destacado no mercado equestre. Este fato contribui para o desenvolvimento de estudos que visem um melhor entendimento das mudanças que ocorrem nas éguas durante as fases de reprodução e lactação, e para a instalação de um manejo adequado às necessidades do rebanho.

A gestação representa um sério desafio para todos os sistemas do corpo. Contínuas variações fisiológicas que ocorrem são fundamentais para desenvolver, sustentar e proteger o feto, e também para preparar a égua para o parto e lactação. As adaptações fisiológicas e anatômicas ocasionam marcantes mudanças no organismo materno, incluindo a composição dos elementos figurados e humorais do sangue circulante.

Apesar de diversas pesquisas relacionadas com a biotecnologia aplicada a reprodução animal em diferentes raças equestres, tais como indução e sincronização de estro, inseminação artificial, transferência e produção *in vitro* de embriões, no Brasil há uma escassez de estudos que investiguem os perfis hematológico e metabólico em éguas prenhas da raça Mangalarga Marchador, contudo, na literatura internacional o tema vem sendo estudado com interesse em diferentes raças, já que as desordens hematológicas e bioquímicas podem acarretar sérios problemas para o rebanho de éguas.

O período gestacional e de lactação influenciam expressivamente no metabolismo, promovendo alterações em diferentes sistemas do organismo, aumentando a demanda de minerais, proteínas e outros componentes, o que em alguns casos pode ocasionar um desequilíbrio e até levar ao desenvolvimento de doenças.

O intervalo de tempo entre o final da gestação, parto e início da lactação, é chamando de período de transição, nesta fase as éguas passam por ajustes fisiológicos, os valores dos elementos presentes no sangue (ex. hemácias, hemoglobina, leucócitos, eletrólitos e outros constituintes bioquímicos) mudam, tanto em condições fisiológicas para atender as demandas materna e fetal, quanto em condições patológicas. Para um

atendimento adequado, os médicos veterinários sentem a necessidade da obtenção de valores de referência apropriados para cada espécie, raça, sexo, manejo e condição reprodutiva do animal, pois os componentes da bioquímica clínica podem variar seus valores em função destas características.

As análises hematológicas e bioquímicas são comumente solicitadas por possibilitar a mensuração de diferentes elementos presentes no sangue, relacionados a funções distintas no organismo. Atualmente, equipamentos com tecnologias avançadas possibilitam a realização de estudos mais detalhados, permitindo um diagnóstico precoce e preciso, e até mesmo auxiliando no manejo do rebanho.

Dada a importância das análises laboratoriais, observa-se a necessidade do desenvolvimento de pesquisas que descrevam os perfis hematológico e metabólico de éguas da raça Mangalarga Marchador, no período de transição, já que no último trimestre de gestação e início da lactação ocorre um aumento nas demandas nutricionais da égua, deixando-a mais susceptível a doenças. É importante conhecer a intensidade dessas mudanças, contribuindo para um melhor entendimento das alterações fisiológicas, que desembocam em alterações hematológicas e bioquímicas em todos os sistemas do organismo destes animais.

Tendo em vista a importância da raça para o estado de Minas Gerais, a hipótese do estudo é que éguas prenhes e lactantes da raça Mangalarga Marchador apresentam parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos diferentes de éguas da mesma raça não prenhes nem lactantes.

Para uma melhor compreensão, esta tese foi dividida em quatro capítulos, onde o primeiro capítulo é intitulado “Biomarcadores fisiológicos em éguas no período de transição: o que eles expressam”, o segundo capítulo “O período de transição produz mudanças no sangue e na composição corporal em éguas”, o terceiro capítulo “Valores hematológicos e bioquímicos em éguas Mangalarga Marchador no período de transição mantidas a pasto” e o quarto capítulo “Bioquímica clínica de éguas Mangalarga Marchador no período de transição”.

O estudo teve como objetivo geral avaliar os efeitos do período de transição sobre parâmetros clínicos e laboratoriais em éguas da raça Mangalarga Marchador. Especificamente pretendeu-se determinar as possíveis variações clínicas em éguas da raça Mangalarga Marchador no período de transição; avaliar os efeitos do período de transição sobre o perfil hematológico em éguas da raça Mangalarga Marchador; e identificar e avaliar o perfil bioquímico de éguas Mangalarga Marchador no período de transição.

2. CAPÍTULO I

Biomarcadores fisiológicos em éguas no período de transição: o que eles expressam

2.1. RESUMO

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Avaliação clínica e laboratorial em éguas Mangalarga Marchador durante o período de transição mantidas à pasto.** Orientador: José Dantas Ribeiro Filho. Coorientadores: Hélio Cordeiro Manso Filho e Luis Augusto Nero.

Avaliações clínicas, hematológicas e bioquímicas são usadas em todas as classes de animais com a mesma finalidade, avaliação da saúde animal, além de monitorar e auxiliar no diagnóstico de doenças ou síndromes. As adaptações metabólicas que ocorrem durante o período de transição nas éguas são complexas e generalizadas, e estão associadas a um estado metabólico alterado quando comparado ao período não gestacional e não lactacional. Durante a prenhez as necessidades nutricionais aumentam com a proximidade do parto, tornando-se mais acentuada após o parto devido a lactação. Diferentes estudos são realizados em éguas gestantes e lactantes avaliando as variações hormonais, contudo, a análise dos perfis hematológico e metabólico no período de transição faz-se necessário para que se possa identificar possíveis problemas na saúde do animal. O presente estudo buscou descrever as principais alterações clínicas e laboratoriais em éguas no período de transição.

Palavras-chave: Equinos, hemograma, parâmetros metabólicos, prenhez.

Physiological biomarkers in mares in the transition period: what they express

2.2. ABSTRACT

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Clinical and laboratory evaluation in mares Mangalarga Marchador during the transition period kept on pasture.** Advisor: José Dantas Ribeiro Filho. Co-Advisors: Hélio Cordeiro Manso Filho and Luis Augusto Nero.

Clinical, hematological, and biochemical assessments are used in all classes of animals for the same purpose, animal health assessment, and to monitor and assist in the diagnosis of diseases or syndromes. The metabolic adaptations that occur during the transitional period in mares are complex and generalized, and are associated with an altered metabolic state when compared to the non-gestational and non-lactational period. During pregnancy the nutritional needs increase with the proximity of the childbirth, becoming more pronounced after childbirth due to lactation. Different studies are carried out in pregnant and lactating mares evaluating the hormonal variations, however, the analysis of the hematological and metabolic profiles in the transition period is necessary in order to identify possible problems in the health of the animal. The present study aimed to describe the main clinical and laboratory changes in mares in the transition period.

Key words: Equine, hemogram, metabolic parameters, pregnancy.

2.3. Introdução

O estudo dos componentes sanguíneos é importante na avaliação da condição de saúde de éguas prenhes e lactantes. O período gestacional e de lactação é um desafio para o organismo materno, já que a manutenção da nutrição materna e fetal requer uma série de eventos biológicos, muitas vezes ainda inexplicados. Diferentes fases da gestação expressam características e demandas distintas, sendo assim, perfis hematológicos e bioquímicos devem ser definidos para diferentes raças e ciclo reprodutivo, visando uma melhor compreensão das alterações que ocorrem no período de transição, assim como a avaliação dos parâmetros clínicos.

Algumas pesquisas em diferentes raças têm sido realizadas com objetivo de identificar alterações hematológicas e/ou bioquímicas de éguas no período de transição (Manso Filho et al., 2008), também chamado de periparto (Bazzano et al., 2014a; 2014b; Mariella et al., 2014; Fonteque et al., 2016). Apesar disto, esse tema ainda é pouco estudado (Aoki e Ishii, 2012) na medicina equina, sobretudo em éguas da raça Mangalarga Marchador, que possuem grande importância para a equideocultura do Brasil, especificamente, para o estado de Minas Gerais, as atividades envolvendo a equinocultura demonstram expressivas dimensões social e econômica.

As concentrações dos biomarcadores sanguíneos mudam dinamicamente, tanto em condições fisiológicas quanto patológicas (Vincze et al., 2015). O período gestacional e de aleitamento influenciam expressivamente no metabolismo, promovendo alterações em diferentes sistemas do organismo, aumentando a demanda de minerais, proteínas e outros componentes, o que em alguns casos podem ocasionar um desequilíbrio no organismo materno (Filipovic et al., 2010).

Apesar dos mecanismos homeostáticos manterem as concentrações de substâncias no sangue relativamente constantes, algumas alterações podem ocorrer (Harvey et al., 2005) representando o estado reprodutivo da égua (gestação, parto ou lactação), ou mudanças na sua condição de saúde. Os sistemas circulatório (hemodinâmico) e hidroeletrólítico (água e eletrólitos), renal e neuro-hormonal (neuroendócrino) exercem esta função e atuam de maneira interdependente durante o período de transição. O conhecimento da dinâmica hematológica e bioquímica de éguas nesta fase é fundamental não apenas para identificar doenças que podem levar ao risco de morte da égua e do potro, mas também para monitorar os tratamentos (Bazzano et al., 2014b).

Nos últimos anos, a criação de equinos tem conseguido maior destaque na sociedade brasileira, e recentemente tem se evidenciado como uma parte do agronegócio brasileiro. Devido à importância da equideocultura para o país, o presente estudo visa descrever as principais alterações clínicas e laboratoriais descritas na literatura, durante o período de transição em éguas prenhes.

2.4. Período de Transição em Éguas

Na criação de equinos uma das etapas fisiológicas mais importante é a gestação, que nesta espécie pode ter início no "cio do potro", ocorrendo em no máximo 15 dias pós-parto (Unanian et al., 1999). O período de desenvolvimento embrionário e fetal é denominado de prenhez ou gestação e, inicialmente, corresponde à nutrição fetal e adaptações maternas (Jainudeen e Hafez, 2003). A prenhez na espécie equina tem duração média de 337,5 dias (Hafez et al., 2003), de modo que, para uma melhor compreensão das variações fisiológicas que ocorrem, diversas pesquisas são realizadas em diferentes etapas a fim de um melhor entendimento das mudanças no organismo materno, bem como no feto (Aoki et al., 2013; Piccione et al., 2015).

Diferentes estudos definem o período que envolve o final da gestação, parto e início da lactação em éguas, com nomenclaturas distintas. Manso Filho et al. (2008) descreveram o intervalo de tempo entre o final da gestação, parto e início da lactação, chamando-o de período de transição. Aleixo (2015) definiu a etapa que compreende as duas últimas semanas de gestação até as quatro semanas após o parto da égua, como periparto.

Embora existam definições distintas, alguns estudos utilizam o termo periparto para avaliar diferentes fases gestacionais e pós-parto em éguas. Aoki e Ishii (2012) empregaram o termo periparto quando examinaram as alterações nos perfis hematológico e bioquímico de éguas durante quatro semanas antes do parto, primeiras 24 horas após o nascimento do potro e até a quarta semana após o parto. Bazzano et al. (2016) também utilizaram o termo para avaliar a influência do período na concentração sérica de macrominerais em éguas prenhes. Os autores coletaram amostras de sangue em éguas por aproximadamente dois meses antes até 21 dias após o nascimento do potro. Mariella et al. (2014) objetivaram determinar as mudanças fisiológicas que ocorrem nos perfis bioquímico e hematológico de éguas no periparto, para isso os animais foram avaliados 30 dias antes do parto até sete dias após o parto, a cada 72 horas. Hura et al. (2017) usou

o termo período de transição para determinar mudanças nas concentrações de elementos bioquímicos do sangue e peso corporal em éguas saudáveis no intervalo de tempo de duas semanas antes e duas semanas após o parto. Do mesmo modo, outros estudos utilizaram o termo pós-parto quando avaliaram diferentes etapas após o término da gestação de éguas (Taylor-Macallister et al., 1997; Bazzano et al., 2014a; Meliani et al., 2014).

Como observado, não existe consenso na literatura nacional e internacional sobre o termo exato que compreenda o terço final da gestação e início da lactação, o que decorre em uma ausência de definição mais precisa. Por ser uma terminologia comumente utilizada na Clínica Médica de Grandes Animais no Brasil, este estudo irá adotar o termo período de transição, que irá compreender as oito semanas que antecedem o parto, o parto e as primeiras oito semanas de lactação.

A gestação e a lactação resultam no aumento de demandas metabólicas, apesar de processos regulatórios no organismo funcionarem para manter o equilíbrio das substâncias do sangue. Algumas alterações podem ocorrer nas quantidades dos componentes do exame bioquímico de rotina. Contudo, em éguas, estas mudanças ainda não estão bem esclarecidas (Harvey et al., 2005). As adaptações que ocorrem durante a fase gestacional acometem diferentes sistemas, estando associadas com um estado metabólico alterado quando comparado ao período não gestacional (Bazzano et al., 2014c). A prenhez e lactação possuem grande impacto sobre a magnitude do metabolismo e seus parâmetros sanguíneos (Milinković-Tur et al., 2005). Ocorrem variações nas concentrações hormonais que levam a uma expansão no volume plasmático, na quantidade de hemácias circulantes e aumento na síntese de proteínas plasmáticas (Satué e Montesinos, 2013). Sendo assim, valores de referência das características hematológicas devem ser definidas para raça e idade específicas, visando maior precisão no diagnóstico (Meliani et al., 2015) de possíveis doenças.

Nas três semanas que antecedem o parto e nas primeiras três semanas de lactação, os mecanismos de defesa maternos estão menos efetivos, ficando as éguas mais susceptíveis ao desenvolvimento de doenças, pois neste período há um aumento da necessidade energética, associado ao balanço energético negativo, ou seja, as éguas não conseguem consumir a quantidade de alimento necessário para suprir suas exigências nutricionais. Tudo isto é agravado pelas necessidades fetais e pela produção de secreção pela glândula mamária, já que após o sétimo mês de gestação o feto adquire 45% de seu peso ao nascer. Diferentes causas podem desencadear a ocorrência de doenças durante o período de transição, contudo, uma nutrição inadequada, estresse, a obesidade geram

desequilíbrios em diferentes sistemas do corpo que podem levar a maior susceptibilidade dos organismos materno e fetal.

Essas avaliações são importantes em todas as espécies. O estudo dos componentes hematológicos e bioquímicos são usados no auxílio diagnóstico de doenças parasitárias, infecciosas (Gurgoze e Icen, 2010; Meliani et al., 2014), e metabólicas como, por exemplo, hiperlipidemia e hepatopatia subclínica, enfermidades decorrentes de desnutrição, intercorrências durante o período, tais como, paresia puerperal e metrite (Mariella et al., 2014). Além disso, são relatados problemas reprodutivos no período de transição, que podem ter consequências negativas para a fertilidade da égua, como a torção do útero, retenção dos anexos fetais, metrite, hemorragias e outros tipos de lesões (Leblanc, 2008). As análises também são utilizadas para avaliar a ocorrência de outras condições, como a dor abdominal pós-parto (Taylor-Macallister et al., 1997) e, inclusive, possíveis doenças gastrointestinais em éguas (Hillyer et al., 2008).

Um estudo realizado por Aoki e Ishii (2012) revelou variações na dinâmica hematológica e bioquímica em éguas durante e após a gestação e em potros neonatos. As principais alterações observadas pelos autores em éguas foram a desidratação no parto, o estresse físico e a lesão muscular decorrente do parto, além de alteração no metabolismo energético associado ao início da lactação.

2.5. Avaliação Clínica

Para a concepção e o desenvolvimento normal da gestação é indispensável que o animal esteja em boa condição corporal (Unanian et al., 1999). Mediante exame físico é possível avaliar a condição de saúde da égua. Alguns fatores podem afetar a capacidade de se adaptar à demanda gestacional, considerando a idade materna e múltiplas gestações (Carlin e Alfirevic, 2008). A manutenção dos animais em condição corporal adequada é importante para uma eficiência reprodutiva em éguas, pois exerce efeitos sobre a duração do anestro estacional e período interovulatório, número de ciclos e concepção, taxa de prenhez, secreção de proteínas como, por exemplo, a leptina, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), perda embrionária precoce e aborto (Bender et al., 2014).

O exame físico é fundamental para a avaliação da saúde destes animais e identificação de possíveis intercorrências durante o período de transição, entretanto, são raros os estudos que descrevem o exame físico neste período, sendo o exame ginecológico

o comumente utilizado. A avaliação clínica pode revelar o comprometimento de diferentes sistemas ou estruturas ainda não examinadas, por isso, deve ser realizada previamente a demais avaliações. Entretanto, deve-se ressaltar que a temperatura corporal pode sofrer mudanças que dependem de fatores como dieta, temperatura ambiental, esforço físico (Oliveira et al., 2013). Também devem ser examinados o tempo de enchimento capilar, a coloração das mucosas, peso e composição corporal.

2.6. Análises Laboratoriais

Informações a respeito das análises dos perfis hematológico e bioquímico em éguas durante o período de transição divergem na literatura. Aoki e Ishii (2012) citaram que essas características são pouco estudadas em éguas. Por sua vez, Andreazzi et al. (2015) relataram que estas mensurações são comumente utilizadas neste período, e que fornecem informações importantes a respeito da saúde destes animais.

Apesar da escassez de estudos no Brasil avaliando os componentes sanguíneos em éguas gestantes, detectou-se na literatura um estudo publicado em 1971, em que os autores aferiram os níveis sanguíneos de cálcio, fósforo e magnésio, e verificaram a correlação entre calcemia e fosfatase alcalina em éguas durante a prenhez (Oliveira et al., 1971). Além deste estudo, foram encontrados outros poucos publicados em periódicos científicos nacionais, avaliando especificamente as características hematológicas e/ou bioquímicas em éguas hípidas durante o período de gestação e/ou lactação (Unanian et al., 1999; Orozco et al., 2007; Andreazzi et al., 2015; Hunka et al., 2015; Marchiori et al., 2015).

2.7. Hematologia Clínica

O sistema hematológico é acometido por mudanças durante a gestação para atender às necessidades de desenvolvimento do feto e da placenta, com grandes variações no volume sanguíneo, componentes celulares e fatores de coagulação (Carlin e Alfirevic, 2008). Em humanos, alterações fisiológicas durante a gestação, aumentam em torno de 15% o volume do plasma no primeiro trimestre e 50% no segundo (Campbell, 2000). De acordo com Souza et al. (2002) ocorre um aumento de 40 a 50% no volume sanguíneo da gestante. Ou seja, incide um aumento no volume plasmático, no número de eritrócitos e leucócitos circulantes, os quais são produzidos devido a adaptações fisiológicas do

sistemas renal e endócrino para suprir uma maior demanda uterina durante a gestação (Orozco et al., 2007).

Em éguas no período de transição estes valores ainda não estão bem estabelecidos. Sabe-se que nos primeiros oito meses de gestação as demandas nutricionais maternas podem se assemelhar as de éguas não prenhes. Contudo, nos últimos 90 dias da gestação, ocorre uma “fuga” de nutrientes da égua para o feto (Frape, 2004), que pode representar um breve estado catabólico devido à mobilização de proteína muscular materna para atender às necessidades do feto, assim como no período de lactação, no qual a redução das concentrações de α -aminoácido livre, como, por exemplo, a glutamina, pode afetar a disponibilidade deste para outros tecidos do organismo, tais como intestino e sistema imunitário (Manso Filho et al., 2008).

Pesquisas realizadas em éguas prenhes de diferentes raças em períodos gestacionais distintos, apresentam variações nas características hematológicas. Em estudo realizado com éguas da raça Campeiros, os autores observaram que as animais gestantes apresentaram maiores concentrações de eosinófilos e proteínas totais, em relação às não prenhes (Fonteque et al., 2016). Já Meliani et al. (2014) em estudo realizado com éguas da raça Árabe durante o pós-parto, observaram diferenças significativas em algumas características hematológicas (hemácias, hemoglobina e hematócrito) em animais com diferentes idades. Enquanto Orozco et al. (2007) relataram aumento no número de hemácias, volume globular e valores de hemoglobina durante o segundo terço gestacional (111 a 210 dias de prenhez) e decréscimo no último terço (211 a 340 dias de prenhez), em éguas prenhes de diferentes raças (Brasileira de Hipismo e Bretão) quando comparado a éguas vazias.

Em ensaio realizado com éguas prenhes, Aoki et al. (2013) observaram aumento no número total de leucócitos e neutrófilos uma hora após o parto, quando comparado aos demais tempos (um mês antes do parto, 24 a 48 horas, 1, 2, 3 e 4 semanas após o parto). Segundo os referidos autores, as alterações na população de leucócitos e redução na resposta dos linfócitos aos mitógenos podem ter sido geradas pelo estresse físico associado ao parto.

A hemostasia é um processo fisiológico que evita a perda sanguínea excessiva e age como um mecanismo de proteção no momento do parto. Hemorragia no período de transição (periparto) é uma condição perigosa para a saúde da égua (Bazzano et al., 2014a). Contudo, nestes animais não ocorre sangramento endometrial por possuírem uma

placenta do tipo não cotiledonária, de modo que os sangramentos pós-parto geralmente ocorrem devido a lesão uterina, cervical ou vaginal (Mariella et al., 2014).

Apesar da maioria das espécies apresentar anemia durante ou após a gestação, em éguas esta condição não é comumente relatada. Em estudo realizado com éguas Standardbred durante o período de transição, Mariella et al. (2014) relataram menor valor de hematócrito e hemoglobina sete dias após o parto, sugerindo uma aparente anemia, entretanto, os autores atribuem este fato à maior ingestão de água no início da lactação. Bazzano et al. (2014a) observaram variações significativas na contagem de plaquetas, fibrinogênio e no tempo de protrombina em éguas uma semana antes e nas três primeiras semanas após o parto. Maior quantidade de plaquetas ocorreu durante o parto, retornando aos valores basais na terceira semana posterior ao parto. Para os autores esta variação pode ser uma resposta adaptativa à hemorragia ocorrida no momento do parto.

Logo após o parto, o estresse físico pode promover aumento na quantidade de neutrófilos e redução no número de linfócitos (Aoki et al., 2013). Sabe-se que a ação hormonal, principalmente dos hormônios relacionados com o estresse, como, por exemplo o cortisol, exerce efeito nas concentrações de leucócitos de acordo com o período gestacional e o estado de saúde materna. Meliani et al. (2015) encontraram menores valores de leucócitos em éguas com idade entre 10 e 15 anos quando comparadas a éguas gestantes de diferentes idades.

De modo geral, pode-se dizer que durante a gestação as mudanças nas concentrações de líquidos e eletrólitos variam sua intensidade de acordo com a fase reprodutiva. Há um aumento do volume sanguíneo, com um pico ocorrendo na 32ª semana gestacional, aproximadamente. Essa expansão está diretamente relacionada com a saúde do feto e peso ao nascer, e tem a função de proteger a mãe e o feto em casos de hemorragia durante a gestação. O aumento na eritropoiese provavelmente ocorre devido à ação da prolactina, progesterona e somatomotropina crônica. Contudo, o tempo de vida destas células não sofrem alterações. Este acréscimo na produção de células vermelhas gera uma maior demanda de íons de ferro, e com isto, aumento na concentração do 2,3-difosfoglicerato, um composto químico presente nas hemácias em mesmas proporções que na hemoglobina e que tem a função de facilitar a liberação de oxigênio nos tecidos. Apesar do acréscimo na produção do número de eritrócitos, como citado por Chandra et al. (2012) as concentrações de hemoglobina e o valor hematócrito diminuem, respectivamente. Isso ocorre porque a expansão da parte líquida do sangue sobrepõe a elevação no número de eritrócitos.

Adicionalmente, uma resposta fisiológica devido ao estresse promovido pelo parto, pode ser investigada mediante a análise de determinadas proteínas, como o fibrinogênio, por apresentar um aumento significativo na circulação materna durante e imediatamente após o parto (Gentry et al.,1991).

2.8. Bioquímica Clínica

A bioquímica clínica é fundamental para o conhecimento de todos os processos fisiológicos que ocorrem no organismo. Durante a gestação e lactação, várias alterações em diferentes constituintes bioquímicos são descritas na literatura. Na fase reprodutiva, é importante a manutenção nas concentrações de minerais no organismo a fim de preservar a saúde da mãe e do feto. Ao final da gestação e no pós-parto, grandes quantidades de minerais são perdidas através da produção de leite, o que faz com que ocorram desequilíbrios na égua.

Os minerais atuam na estrutura dos tecidos e biomoléculas, no metabolismo animal, além de agirem como cofatores enzimáticos e ativadores de ação hormonal, também são responsáveis pela manutenção da pressão osmótica e estabilização ácido base (González e Silva, 2006). Mudanças no sistema endócrino e maior demanda de minerais durante o período em torno do parto podem levar a condições patológicas (Filipovic et al., 2010), promovendo alteração no equilíbrio eletrolítico de éguas. Por isso, a importância de se avaliar as concentrações de minerais como, por exemplo, cálcio, sódio, potássio, cloreto, magnésio e fósforo durante este período.

Segundo Ali et al. (2013), deficiências de minerais, como, cobre, manganês, zinco, ferro e selênio podem ser as possíveis causas de infertilidade em éguas. Ao longo da gestação, cálcio, fósforo e ferro estão envolvidos no aumento do peso corporal do feto, sendo o ferro utilizado para a síntese de hemoglobina (Jainudeen e Hafez, 2003). Bazzano et al. (2016) observaram significativas mudanças nas quantidades de eletrólitos mensurados no soro, por um período de doze semanas antes a três semanas após o parto, promovendo alterações no perfil de macrominerais. Os autores explicaram que essas variações podem indicar a necessidade de suplementação adicional de minerais em éguas nesta fase. Holcombe et al. (2016) relataram alteração na homeostase do cálcio após o parto. Segundo os autores, a redução do cálcio ionizado nesta fase pode ocasionar mudanças na motilidade gastrointestinal e depressão imunológica.

Oliveira et al. (1971) esclareceram que, existe uma tendência à hipocalcemia no final da gestação, que pode ser decorrente de maior atividade osteogênica no feto ao final da gestação, quando comparado aos demais períodos gestacionais. Esta hipocalcemia pode ser observada até os primeiros trinta dias de lactação. Também foi descrito pelos autores uma correlação do cálcio com a fosfatase alcalina, justificada pela atividade osteogênica.

O triglicerídeo é um nutriente importante nesta fase, uma vez que é o principal componente do tecido adiposo e do leite (Aoki e Ishii, 2012). No último trimestre de gestação são observadas maiores concentrações plasmáticas deste lipídeo devido ao aumento na atividade anabólica e incremento no metabolismo de gordura, necessário para o crescimento fetal e materno (Vincze et al., 2015). Mensurações nas concentrações de leptina e insulina também têm sido utilizadas como índices de estado metabólico em éguas prenhes (Vick et al., 2006). Em estudo realizado por Harvey et al. (2005) foram observadas diferenças significativas em diferentes variáveis em éguas quando compararam a prenhez com o período de lactação. As concentrações séricas de triglicerídeos, potássio, cálcio, creatinina e bilirrubina foram menores durante a lactação.

Animais monogástricos como as éguas utilizam a glicose como fonte de energia, de modo que uma alteração na sua concentração pode ser decorrente de um desequilíbrio no hormônio regulador ou ingestão excessiva de fontes de energia. O aumento na concentração de glicose de éguas durante o nascimento do potro pode estar associado ao estresse físico (Aoki e Ishii, 2012). Vincze et al. (2015) explicaram que alterações na regulação da glicose durante a gestação podem estar relacionadas ao desenvolvimento de resistência à insulina e aumento secundário nas concentrações de triglicerídeos no plasma. Em estudo realizado com éguas em diferentes fases gestacionais, foi observado que houve aumento significativo nas concentrações de glicose apenas nos três últimos meses de gestação.

Éguas são capazes de adaptações consideráveis para uma variedade de condições, contudo em situações extremas, os excessos ou carências energéticas diminuem sua capacidade reprodutiva (Frape, 2004). Sendo assim, a manutenção das concentrações fisiológicas de proteína total, glicose, cálcio e fósforo inorgânico é necessária para uma boa fertilidade e sucesso reprodutivo destes animais (Ali et al., 2004).

Os ácidos graxos não esterificados (AGNE) são utilizados como indicador de degradação lipídica do tecido adiposo. Quando o animal entra em um balanço energético negativo, ou seja, precisa mobilizar energia armazenada no tecido adiposo, as

concentrações de AGNE aumentam no sangue (Aoki e Ishii, 2012), ou seja, durante um consumo energético inadequado, a secreção de epinefrina promove aumento na mobilização de gordura a partir de reservas corpóreas, levando ao acréscimo das concentrações de AGNE (Frape, 2004). Do mesmo modo que outros constituintes metabólicos sofrem alterações durante o período, a elevação nas concentrações de AGNE no soro pode representar um maior risco de cólica no pós-parto (Holcombe et al., 2016). Marchiori et al. (2015) observaram aumento nas concentrações de AGNE em éguas prenhes da raça Crioulas, no 8º e 9º meses de gestação.

As concentrações enzimáticas também são avaliadas durante o período de transição devido à sua importância fisiológica. Vários estudos em éguas penhes investigam as possíveis mudanças na atividade de diferentes enzimas (Harvey et al., 2005; Satué e Montesinos, 2013; Vincze et al., 2015). Um exemplo é a gamaglutamiltransferase (GGT) que é vastamente utilizada no diagnóstico de doenças hepáticas em animais e, em cavalos, quando em concentrações elevadas no soro, pode estar associada a uma variedade de distúrbios, tais como insuficiência hepática tóxica e hepatopatia subclínica, hiperlipidemia e colestase (Mariella et al., 2014), entretanto não se sabe se estas condições podem acometer éguas prenhes comumente.

2.9. Considerações Finais

Embora o período de transição seja uma fase de vulnerabilidade materna, os estudos demonstraram que as variações no metabolismo de éguas são processos fisiológicos, e quando exacerbados, podem ocasionar danos à saúde materna ou do feto. Apesar de relatos na literatura das variações nas mensurações de vários elementos presentes no soro e plasma de éguas no período de transição, alguns estudos não observam mudanças que extrapolem os valores de referência dos diferentes parâmetros sanguíneos na espécie. Estes resultados divergem em função das diferentes metodologias aplicadas em diferentes raças, idades, fatores ambientais e manejo.

Apesar dos diversos estudos hematológicos e bioquímicos realizados em éguas no período de transição, em animais da raça Mangalarga Marchador não foram encontradas pesquisas abordando o tema durante o período avaliado. O conhecimento das variações que ocorrem é fundamental para identificar e prevenir possíveis problemas de saúde na égua, além de ser um prognóstico para o desenvolvimento do potro. Dessa forma, tornam-se necessário mais estudos analisando as características hematológicas e bioquímicas, de

éguas Mangalarga Marchador, com diferentes idades, manejo, condições ambientais e fases reprodutivas a fim de compreender as possíveis variações que ocorrem nesta raça durante o período de transição.

2.10. Referências bibliográficas

Aleixo, V.M.C. Maneio da égua e do poldro no periparto. 2015. 43p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica – Produção Animal). Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, POR.

Ali, F., Lodhi, L.A., Qureshi, Z.I., Samad, H.A., Shahid, R.U. Some serum biochemical constituents of mares during different phases of reproductive cycle. *Pakistan Veterinary Journal*, v.24, n.3, p.147-151, 2004.

Ali, F., Lodhi, L.A., Qureshi, Z.I., Ahmad, I., Hussain, R. Serum mineral profile in various reproductive phases of mares. *Pakistan Veterinary Journal*, v.33, n.3, p.296-299, 2013.

Andreazzi, M.A., Cavalieri, F.B., Emanuelli, I.P., et al. Avaliação da bioquímica sanguínea em éguas gestantes. *Archives of Veterinary Science*, v.20, n.2, p.147-155, 2015.

Aoki, T., Ishii, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). *Journal Equine Veterinary Science*, v.32, n.3, p.170-176, 2012.

Aoki, T., Honda, H., Ishii, M. Immunologic profiles of peripheral blood leukocytes and serum immunoglobulin G concentrations in perinatal mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). *Journal Equine Veterinary Science*, v.33, n.11, p.989-995, 2013.

Bazzano, M., Giannetto, C., Fazio, F., Marafioti, S., Giudice, E., Piccione, G. Hemostatic profile during late pregnancy and early postpartum period in mares. *Theriogenology*, v.81, n.4, p.639-643, 2014a.

Bazzano, M., Giannetto, C., Fazio, F., Rizzo, M., Giudice, E., Piccione, G. Physiological adjustments of haematological profile during the last trimester of pregnancy and the early post partum period in mares. *Animal Reproduction Science*, v.149, n.3-4, p.199-203, 2014b.

Bazzano, M., Giannetto, C., Arfuso, F., Giudice, E., Piccione, G. Metabolic profile of broodmares during late pregnancy and early post-partum. *Reproduction in Domestic Animal*, v.49, n.6, p.947-953, 2014c.

Bazzano, M., Giudice, E., Giannetto, C., Fazio, F., Scollo, C., Piccione, G. The peripartum period influenced the serum macromineral profile in mares. *Archives Animal Breeding*, v.59, p.65-70, 2016.

Bender, E.S.C., Sampaio, B.F.B., Nogueira, B.G., Costa-e-Silva, E.V., Zúccari, C.E.S.N. Condição corporal e atividade reprodutiva de éguas. *Archivos de Zootecnia*, v.63, n.R, p.55-67, 2014.

Campbell, D.C. Physiological changes of pregnancy. *Seminars in Anesthesia, Perioperative Medicine and Pain*, v.19, n.3, p.149-156, 2000.

Carlin, A., Alfirevic, Z. Physiological changes of pregnancy and monitoring. *Best Practice e Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, v.22, n.5, p.801-823, 2008.

Chandra, S., Tripathi, A.K., Mishra, S., Vaish, A.K. Physiological changes in hematological parameters during pregnancy. *Indian J Hematol Blood Transfus*, v.28, n.3, p.144-146, 2012.

Filipovic, N., Sotojevic, Z., Prvanovic, N., Tucek Z. The influence of late pregnancy and lactation on bone metabolism in mares. *Research in Veterinary Science*, v.88, n.3, p.405-410, 2010.

Fonteque, J.H., Ceccatto, M.L., Bagio, R.M., Schaden, J., Saito, M.E., Martins, V.V., Fonteque, G.V., Martins, E., Ramos, A.F., Albuquerque, M.S.M., Costa, D.

Hematological profile, total plasma protein and fibrinogen concentrations of clinically healthy adult Campeiro horses. *Ciência Rural*, v.46, n.1, p.144-149, 2016.

Frape, D.L. Estimating Nutrient Requirements. In:_____. Equine Nutrition e Feeding. 3 ed. Ed. Blackwell Publishing, Oxford. 2004, p.186-243.

Gentry, P.A., Feldman, B.F., Liptrap, R.M. Haemostasis and parturition revisited: comparative profiles in mammals. *Comparative Haematology International*, v.1, n.3, p.150-154, 1991.

Gonzáles, F.H.D., Silva, S.C. Bioquímica clínica de minerais. IN: _____. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2 ed. Ed. UFRGS, Porto Alegre. 2006. p.211-219.

Gurgoze, S.Y., Icen, H. The Influence of Age on Clinical Biochemical Parameters in Pure-bred Arabian Mares. *Journal Equine Veterinary Science*, v.30, n.10, p.569-574, 2010.

Hafez, E.S.E., Hafez, B. Equinos. In:_____. Reprodução Animal. São Paulo: Manole, 2003. p.193-218.

Harvey, J.W. Pate, M.G., Kivipelto, J., Asquith, R.L. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. *Veterinary Clinic Pathology*, v.34, n.3, p.248-254, 2005.

Hillyer, M.H., Smith, M.R.W., Milligan, P.J.P. Gastric and small intestinal ileus as a cause of acute colic in the post parturient mare. *Equine Veterinary Journal*, v.40, n.4, p.368-372, 2008.

Holcombe, S.J., Emberston, R.M., Kurtz, K.A., Roessner, H.A., Wismer, S.E., Geor, R.J., Kaneene, J.B. Increased serum nonesterified fatty acid and low ionised calcium concentrations are associated with *post partum* colic in mares. *Equine Veterinary Journal*, v.48, n.1, p.39-44, 2016.

Hunka, M.M., Silva, E.R.R., Vaz, S.G., Ferreira, L.M.C., Manso, H.E.C.C.C., Manso Filho, H.C. Avaliação Hematológica de éguas em lactação mantidas a pasto. *Revista Ciência Veterinária nos Trópicos*, v.18, n.2, p.323-325, 2015.

Hura, V., Novotný, F., Valocký, I., Boldizar, M., Bílek, J., Hornáková, P., Vilhanová, Z., Hornák, S., Petrovic, V. Changes of biochemical environment and body weight in healthy periparturient Lipizzan mares. *Acta Veterinaria Brno*, v.86, n.1, p.67-74, 2017.

Jainudeen, M.R., Hafez, E.S.E. Gestação, fisiologia pré-natal e parto. In: Hafez, E. S. E., Hafez, B. Reprodução Animal. São Paulo: Manole, 2003, p.141-155.

Leblanc, M.M. Common Peripartum Problems in the Mare. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.28, n.11, p.709-715, 2008.

Manso Filho, H.C., Mckeever, K.H., Gordon, M.E., Costa, H.E.C., Lagakos, W.S., Watford, M. Changes in glutamine metabolismo indicate a mild catabolism state in the transition mare. *Journal of Animal Science*, v.86, n.12, p.3424-3431, 2008.

Marchiori, M.O., Kasinger, S., Silva, K.R., Souza, L.S., Amaral, L.A., Nogueira, C.E.W., Roll, V.F.B. Medidas comparativas do padrão morfométrico e perfil energético de éguas Crioulas no terço final da gestação, com diferentes escores corporais. *Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.67, n.3, p.707-715, 2015.

Mariella, J., Pirrone, A., Gentilini, F., Castagnetti, C. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. *Theriogenology*, v.81, n.4, p.526-534, 2014.

Meliani, S., Benallou, B., Hamdi, A., Bouabdelli, S. Influence of Age on Haematological Parameters in Post-Partum Pure Bred Arabian Mares Raised in Tiaret Algeria. *Microbial e Biochemical Technology*, v.7, n.1, p.8-10, 2014.

Meliani, S., Benallou, B., Abdelhadi, S.A., et al. Influence of the Reproductive Status on Different Haematological Parameters in Pure Bred Arabian Mares Raised in Tiaret Algeria. *Global Veterinaria*, v.14, n.1, p.34-38, 2015.

Milinković-Tur, S., Perić, V., Stojević, Z., Zdelar-Tuk, M., Piršljin, J. Concentrations of total proteins and albumins, and AST, ALT and GGT activities in the blood plasma of mares during pregnancy and early lactation. *Veterinarski Arhiv*, v.75, n.3, p.195-202, 2005.

Oliveira, M.E.M., Tabarelli Neto, J.F., Bizutti, O. Níveis sanguíneos do cálcio, fosforo, magnésio e correlação entre calcemia e fosfatase alcalina, durante a prenhez da égua Puro Sangue Inglês (P.S.I.). *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária de São Paulo*, v.8, n.3, p.675-690, 1971.

Oliveira, D.P. Biomarcadores fisiológicos do parto de cabras. 2013. 58f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG.

Orozco, C.A.G., Martins, C.B., Angelis, F.H.F.D., Oliveira, J.V., Lacerda-Neto, J.C. Hematological values and total protein of Brasileiro de Hipismo and Breton mares during pregnancy. *Ciência Rural*, v.37, n.6, p.1695-1700, 2007.

Piccione, G., Rizzo, M., Arfuso, F., Giannetto, C., Di Pietro, S., Bazzano, M., Quartuccio, M. Leukocyte modifications during the first month after foaling in mares and their newborn foals. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v.18, n.3, p.621-625, 2015.

Satué, K., Montesinos, P. Plasma biochemistry in pregnant Spanish purebred broodmares. *Comparative Clinic Pathology*, v.22, n.1, p.113-117, 2013.

Souza, A.I., Filho, M.B., Ferreira, L.O.C. Alterações hematológicas e grávidas. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v.24, n.1, p.29-36, 2002.

Taylor-Macallister, C., Macallister, C.G., Walker, D., Aalseth, D. Haematology and serum biochemistry evaluation in normal postpartum mares. *Equine Veterinary Journal*, v.29, n.3, p.234-235, 1997.

Unanian, M.M., Silva, A.E.D.F., Manzano, A. Estudo de parâmetros bioquímicos de éguas gestantes, Puro Sangue Árabe. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.42, n.1, p.1-7, 1999.

Vick, M.M., Sessions, D.R., Murphy, B.A., Kennedy, E.L., Reedy, S.E., Fitzgerald, B.P. Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicity. *Reproduction Fertility and Development*, v.18, n.6, p.609-617, 2006.

Vincze, B., Kutasi, O., Baska, F., Szenci, O. Pregnancy-associated changes of sérum biochemical values in Lipizzaner Broodmares. *Acta Veterinaria Hungarica*, v.63, n.3, p.303-316, 2015.

3. CAPÍTULO II

O período de transição produz mudanças no sangue e na composição corporal em éguas

3.1. RESUMO

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Avaliação clínica e laboratorial em éguas Mangalarga Marchador durante o período de transição mantidas à pasto.** Orientador: José Dantas Ribeiro Filho. Coorientadores: Hélio Cordeiro Manso Filho e Luis Augusto Nero.

A avaliação clínica e metabólica são necessárias para o acompanhamento de éguas gestantes e lactantes, pois refletem a saúde do animal. Muitas vezes, a condição corporal da égua pode ser um indicador de eficiência reprodutiva. O estudo teve como objetivo determinar as possíveis variações na condição corporal e metabólica em éguas da raça Mangalarga Marchador durante o período de transição. Foram utilizadas 48 éguas da raça distribuídas em dois grupos: éguas em manutenção (GM) composto por éguas não gestantes e não lactantes; éguas em transição (GT) formado por éguas gestantes e que após o parto passaram a ser lactantes. Foram avaliadas a temperatura retal, coloração das mucosas, tempo de enchimento capilar, peso corporal, porcentagem de gordura corporal, massa livre de gordura, concentração de colesterol total, triglicerídeos, ácidos graxos não esterificados, glicose e lactato. As análises foram realizadas aos sessenta dias antes do parto (T-60), trinta dias antes do parto (T-30), quinze dias antes do parto (T-15), primeiras seis horas após o parto (T0), quinze dias após o parto (T+15), trinta dias após o parto (T+30) e sessenta dias após o parto (T+60). A temperatura retal foi maior nos tempos T+15, T+30 e T+60 do que nos tempos T-60, T-30 e T-15. O peso corporal e a massa livre de gordura diferiu ($P < 0,05$) entre as éguas em manutenção e as do período de transição. No grupo em transição, houve uma redução progressiva de ambas as variáveis, com menor valor observado no T60 ($P < 0,05$). A porcentagem de gordura foi menor nas éguas em manutenção. Durante o período de transição (T-60 e T-30), as éguas apresentaram maior porcentagem de gordura que os demais tempos avaliados. Houve diferença ($P < 0,05$) na quantidade de colesterol entre GM e GT (T0, T+15 e T+30), com maior valor médio no T0. A concentração de triglicerídeos se manteve dentro dos valores de referência para a espécie, embora tenha ocorrido diferença entre as éguas em manutenção e as em transição. As éguas gestantes (GT) apresentaram maior concentração de ácido graxos não esterificados do que na lactação (GT), sendo maior quantidade

observada no parto (T0) ($P < 0,05$). Também houve maior quantidade de glicose e lactato nas éguas em transição (parto e lactação), quando comparado as éguas do grupo em manutenção. Ocorreram mudanças na condição corporal e constituintes metabólicos nos animais decorrentes de adaptações fisiológicas do período de transição.

Palavras-chave: Avaliação clínica, equinos, Mangalarga Marchador, gestação, porcentagem de gordura.

Transition period produce changes in blood and body composition in mares

3.2. ABSTRACT

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Clinical and laboratory evaluation in mares Mangalarga Marchador during the transition period kept on pasture.** Advisor: José Dantas Ribeiro Filho. Co-Advisors: Hélio Cordeiro Manso Filho and Luis Augusto Nero.

Clinical and metabolic evaluation are necessary for the monitoring of pregnant and lactating mares, as they reflect the health of the animal. Often, the body condition of the mare can be an indicator of reproductive efficiency. The study aimed to determine the possible variations in body and metabolic condition in Mangalarga Marchador mares during the transition period. We used 48 mares of the breed distributed in two groups: maintenance mares (MG) composed of non-pregnant and non-lactating mares; transitional mares (TG) formed by pregnant mares and who, after childbirth, became infants. Rectal temperature, mucosal staining, capillary filling time, body weight, body fat percentage, fat free mass, total cholesterol concentration, triglycerides, non-esterified fatty acids, glucose and lactate were evaluated. The analyzes were performed sixty days before delivery (T-60), thirty days before delivery (T-30), fifteen days before delivery (T-15), first six hours after delivery (T0), 15 days after delivery (T+15), 30 days after delivery (T+30) and 60 days after delivery (T+60). Rectal temperature was higher at T+15, T+30 and T+60 times than at T-60, T-30 and T-15 times. Body weight and fat free mass differed ($P < 0.05$) between the maintenance mares and those of the transition period. In the transition group, there was a progressive reduction of both variables, with a lower value observed in T+60 ($P < 0.05$). The percentage of fat was lower in maintenance mares. During the transitional period (T-60 and T-30), the mares had a higher percentage of fat than the other evaluated times. There was a difference ($P < 0.05$) in the amount of cholesterol between MG and TG (T0, T+15 and T+30), with a higher mean value at T0. The concentration of triglycerides remained within the reference values for the species, although there was a difference between the mares in maintenance and those in transition. Pregnant mares (TG) had higher concentrations of non-esterified fatty acids than lactation (TG), with a higher amount observed at delivery (T0) ($P < 0.05$). There was also a higher amount of glucose and lactate in transition mares (calving and lactation) when compared to mares in the maintenance group. Changes in body condition

and metabolic constituents occurred in the animals resulting from physiological adaptations of the transition period.

Keywords: Clinical evaluation, Equines, Mangalarga Marchador, Pregnancy, Percentage of fat.

3.3. Introdução

O intervalo de tempo entre o final da gestação, parto e início da lactação é chamado de período de transição (Manso Filho et al., 2008), quando ocorrem importantes modificações metabólicas que visam a sobrevivência dos fetos, recém-nascidos e das reprodutoras (Berg et al., 2007) em diferentes espécies. Durante a prenhez, ocorrem sucessivas adaptações no organismo materno, tipicamente anabólicas, a fim de preparar a égua para o final da gestação, parto e início da lactação, que se caracteriza por ser uma fase catabólica (Hura et al., 2017). Sabe-se que os eventos metabólicos são mecanismos adaptativos do organismo na transição da fase de gestação para a de lactação (Hura et al., 2017). Esses ajustes contínuos, ou o ciclo anabolismo-catabolismo nas reprodutoras, são dependentes do sistema de criação e afetam o metabolismo de todos os nutrientes nas reprodutoras para garantir as exigências nutricionais destinadas ao feto e dos recém-nascidos, nestes momentos importantes para o futuro atleta equino.

O acompanhamento dos animais por meio dos parâmetros clínicos é imprescindível para a assistência a estes animais, pois muitas das variações fisiológicas dessa fase ocorrem no sistema cardiovascular (Carlin e Alfirevic, 2008; Vincze et al., 2015) e na temperatura corporal, que, dependendo de fatores como dieta, temperatura ambiental, esforço físico e condição corporal, podem sofrer variações de diferentes intensidades (Oliveira, 2013). Sendo assim, a avaliação da condição corporal tem sido utilizada como um indicador de eficiência reprodutiva em éguas (Rodrigues et al., 2011), e, quando associada aos exames complementares, favorecem a melhor eficiência reprodutiva das éguas e também a sobrevivência dos fetos e recém-nascidos.

O entendimento da relação entre gordura corporal e eficiência reprodutiva de éguas doadoras de embriões durante fases estratégicas da fisiologia equina possibilita a criação de um programa nutricional apropriado às suas condições corporais. A deposição de tecido adiposo difere entre fêmeas prenhes e vazias, devido a mudanças na conformação anatômica. Nas éguas prenhes, a camada de gordura é reduzida na região do dorso, costelas e base da cauda, sendo mais proeminente na região da escápula e da cernelha (Henneke et al., 1983). Durante a gestação, a égua deve manter uma condição corporal boa, ou seja, não deve ficar nem muito gorda, nem muito magra (Aleixo, 2015).

Diferentes métodos podem ser utilizado para avaliar a condição corporal das reprodutoras e outros animais nos haras, como a aplicação do índice de escore corporal, que apesar do seu largo uso, é uma escala corporal subjetiva (Henneke et al., 1983),

baseada na observação e palpação de determinadas regiões do animal. Entretanto, recentemente passou-se a utilizar a determinação da porcentagem de gordura corporal (Manso Filho et al., 2009), realizada mediante a utilização de aparelho ultrassonográfico fornecendo assim uma medida objetiva e capaz de ser replicada pelos Médicos Veterinários de forma eficiente. O conhecimento da porcentagem de gordura corporal pode colaborar para avaliar práticas de manejo nutricional e de treinamento (Manso Filho et al., 2009), já que o peso corporal é uma variável influenciada diretamente pela alimentação (Dantas et al., 2010).

As modificações corporais estão associadas a alterações em diferentes biomarcadores sanguíneos, sendo as principais relacionadas ao metabolismo energético, tanto dos carboidratos como os das gorduras. Um exemplo é a perda de massa corporal magra durante a lactação, que pode indicar a ocorrência de mobilização de proteína do músculo esquelético para oferecer precursores de aminoácidos para o leite, e gliconeogênese necessária para a síntese de lactose. Contudo, esta perda pode trazer danos para o desempenho futuro da égua (Manso Filho et al., 2008).

Devido à importância das relações metabólicas entre as reprodutoras e seus fetos/recém nascidos e ainda pela escassez de estudos abordando o tema, o presente estudo teve como objetivo determinar as possíveis variações corporais, clínicas e metabólicas em éguas da raça Mangalarga Marchador durante o período de transição.

3.4. Material e Métodos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV (protocolo nº 95/2015), e conduzido de acordo com as Normas de Condutas no Uso de Animais em Ensino, Pesquisa e Extensão, do Código de Ética Profissional do Médico Veterinário e princípios éticos para pesquisa animal, estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e a Legislação brasileira vigente. A pesquisa foi conduzida na Fazenda Salgada, localizada no município de Itaperuna, no estado do Rio de Janeiro, Brasil. O estudo ocorreu entre os meses de julho a novembro de 2016.

Foram utilizadas 48 éguas da raça Mangalarga Marchador, sendo 22 éguas em manutenção e 26 éguas gestantes, com idade entre cinco e quinze anos, todas híbridas, selecionadas de um rebanho contendo 180 animais. Os animais do grupo em transição foram selecionados de acordo com o controle de cobertura da propriedade, de modo a se

obter um conjunto de éguas, cuja data provável de parição se concentrasse nos 30 dias de maior frequência de parto. Na propriedade, os animais foram mantidos em regime extensivo durante toda gestação, parto e lactação. Todas as éguas que participaram do estudo permaneceram em piquetes (com aproximadamente 300 m²) com capim Tifton (*Cynodon spp.*), água e sal mineral comercial (Coequi Plus, Tortuga) *ad libitum*, a pasto. Duas semanas antes do parto, as éguas foram transferidas para piquetes maternidade, sem haver nenhuma alteração na dieta. Após a parição as éguas eram transferidas para um piquete com capim Tifton, contendo apenas éguas paridas, nas mesmas condições do manejo inicial. Todas as éguas participaram do programa de vacinação e controle de endo e ectoparasitas estabelecidos pela fazenda. Para a realização das avaliações as éguas percorriam uma distância de aproximadamente 2 km entre o piquete e uma área de manejo com tronco. Neste local para manejo, os animais eram contidos em tronco e só a partir daí eram realizadas as avaliações clínicas e coletas de sangue.

As éguas foram divididas em dois grupos: grupo em manutenção (GM), formado por éguas não prenhes e não lactantes (n = 22) e grupo experimental (n = 26) denominado de grupo de transição (GT), composto por éguas gestantes e que após o parto passaram a ser lactantes. Todos os animais foram submetidos a avaliação clínica e determinação do percentual de gordura corporal.

Para avaliação dos parâmetros fisiológicos de cada animal, foram realizados os seguintes procedimentos: 1. Temperatura retal: mensurada em graus Celsius (°C) mediante a utilização de um termômetro de mercúrio mantido intrarretal durante três minutos; 2. Coloração das mucosas (conjuntival): avaliadas e classificadas em: hipocoradas (0); normocoradas (1); hiperacoradas (2); cianóticas (3); 3. Tempo de enchimento capilar (TEC): foi realizada uma pressão digital na mucosa gengival acima dos dentes incisivos superiores, em seguida, observado o enchimento total da mesma; 4. Peso corporal dos animais: todas as éguas foram pesadas em balança calibrada com capacidade de mensuração para até 1.000 kg.

Os parâmetros fisiológicos das éguas do GT foram aferidos nos seguintes tempos: T-60 (sessenta dias antes do parto); T-30 (trinta dias antes do parto); T-15 (quinze dias antes do parto); T+15 (quinze dias após o parto); T+30 (trinta dias após o parto); T+60 (sessenta dias após o parto). As éguas do GM foram avaliadas apenas em um único tempo (primeira coleta de todos os animais “T-60”).

A porcentagem de gordura corporal (PG) foi determinada a partir da mensuração da espessura da camada de gordura (CG) na garupa, conforme descrito por Manso Filho

et al. (2009). Para isso, foi utilizado um aparelho ultrassonográfico (SonoSite 180 PLUS, Sonosite FujiFilm, São Paulo, SP, Brasil) com transdutor de 10-5MHz linear. Uma linha média foi traçada entre a ponta do útero e do feto, aproximadamente a 10 cm da linha média do corpo, e neste ponto foi mensurado a CG. A mensuração ocorreu sempre no mesmo lado e pelo mesmo avaliador. A PG foi obtida conforme fórmula: $[PG = 8,64 + (4,7 \times CG)]$. Assim, a massa livre de gordura (MLG) foi determinada mediante o cálculo da diferença do peso corporal pela porcentagem de gordura corporal de cada égua, e os resultados obtidos em quilograma (kg).

As amostras do sangue para obtenção de soro e plasma foram colhidas em sete tempos: T-60 (sessenta dias antes do parto); T-30 (trinta dias antes do parto); T-15 (quinze dias antes do parto); T0 (primeiras seis horas após o parto); T+15 (quinze dias após o parto); T+30 (trinta dias após o parto); T+60 (sessenta dias após o parto). As coletas de sangue foram realizadas sem prévio jejum, após antisepsia, por venopunção da jugular, utilizando agulhas descartáveis e frascos a vácuo. Para a obtenção do plasma foram utilizados frascos a vácuo contendo fluoreto de sódio (4 mL) (Labor Import, Osasco, SP, Brasil) e para o soro frascos a vácuo siliconizados sem anticoagulante (10 mL) (Labor Import, Osasco, SP, Brasil). Após as coletas de sangue, os frascos contendo fluoreto de sódio foram mantidos refrigerados por no máximo 15 minutos e na sequência foram centrifugados a 1500 x g (Centrífuga Excelsai 2206, Fanem, Guarulhos, SP, Brasil), durante cinco minutos, e aliqüotados em microtubos. Os frascos siliconizados sem anticoagulante foram mantidos em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) até a retração do coágulo, em seguida foram centrifugados a 1500 x g, durante cinco minutos, na sequência o soro foi aliqüotado em microtubos e imediatamente congelados a -20 °C. As análises bioquímicas foram processadas em aparelho automático HumaStar 300 (Human, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), no Laboratório de Patologia Clínica do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

No soro, foram mensurados colesterol total (Método Enzimático Colorimétrico com Fator Clareante de Lípidos, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), triglicerídeos (Método Enzimático Colorimétrico com Fator Clareante de Lípidos, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil) e ácidos graxos não esterificados – AGNE (Método Colorimétrico, Randox, Centerkit, Ribeirão Preto, SP, Brasil). No plasma, foram mensuradas as concentrações de glicose (Método Enzimático Colorimétrico sem desproteinização, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil) e lactato (Método Enzimático, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil).

Para a análise dos dados, foi utilizado o *Statistical Analysis System* (SAS, 2002). Os dados foram avaliados pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Bartlett para verificação de normalidade dos erros e homogeneidade de variâncias, respectivamente, e as variáveis que não atenderam as premissas da ANOVA foram submetidas a transformação raiz quadrada ($y' = \sqrt{y + 0,5}$).

Os dados referentes às éguas gestantes foram analisados em modelos mistos lineares com parcelas repetidas no tempo utilizando o PROC MIXED (SAS, 2002), com estrutura de covariâncias autorregressiva e animal como efeito aleatório (Littell et al., 2006), de acordo com o modelo matemático: $Y_{ij} = X_{ijk}\beta_k + Z_{ijk}b_{ik} + e_{ij}$

Para a comparação de médias (*Least square means*) foi utilizado o teste *t* com ajuste de Tukey-Kramer para as variáveis pouco instáveis (CV < 15%) e ajuste pelo teste *t* para variáveis instáveis (CV > 15%). Adicionalmente, as médias dos tempos foram comparadas ao grupo manutenção pelo teste de Dunnett. O nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$. Para a análise de correlação foi calculado o coeficiente de correlação simples de Pearson.

3.5. Resultados

Durante todo o período experimental as média das temperaturas (mínima e máxima) foram de 17,4°C e 28,6°C, respectivamente, e a média de umidade relativa do ar foi de 49%. As avaliações foram realizadas sempre no horário da manhã (entre nove e onze horas) e pelos mesmos avaliadores. Não houve nenhuma intercorrência na saúde das éguas (abortamento, inflamações, infecções ou doenças parasitárias) durante o período experimental.

O peso corporal das éguas e a massa livre de gordura apresentaram comportamento semelhante durante o estudo (Figuras 1 e 2). Houve diferença em ambas as variáveis do GM ($P < 0,05$) quando comparado com o GT nos tempos T-60, T-30 e T-15 (éguas gestantes). Ao longo dos tempos, o peso corporal e a massa livre de gordura reduziram progressivamente ($P < 0,05$) (Tabela 1). No GT, os tempos T-60 e T-15 apresentaram valores médios maiores do que T+15 e T+30, e após este último tempo voltou a reduzir, sendo o menor peso corporal observado no T+60 ($P < 0,05$).

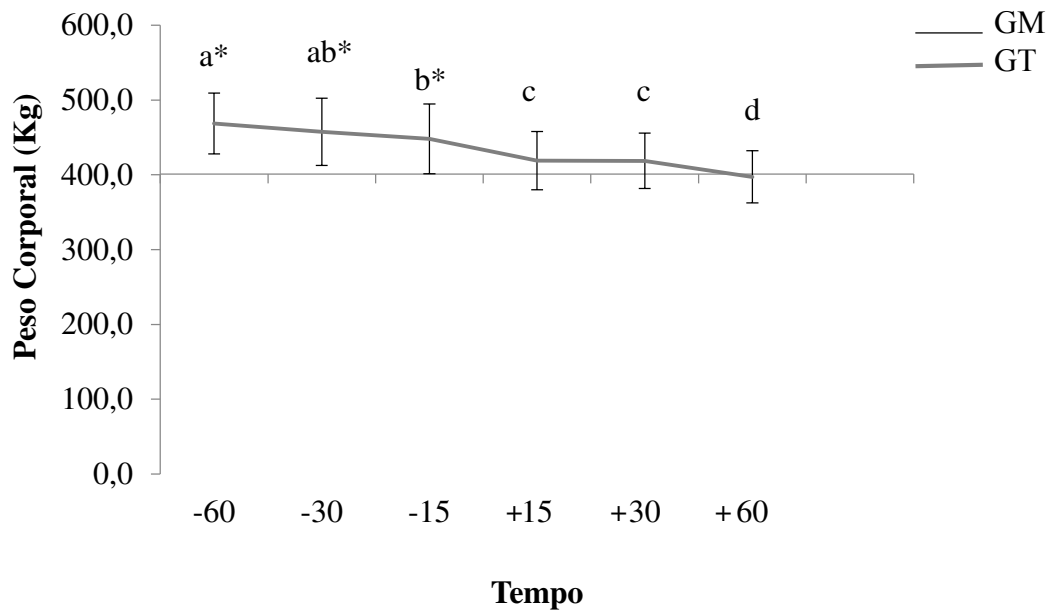


Figura 1. Peso corporal de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

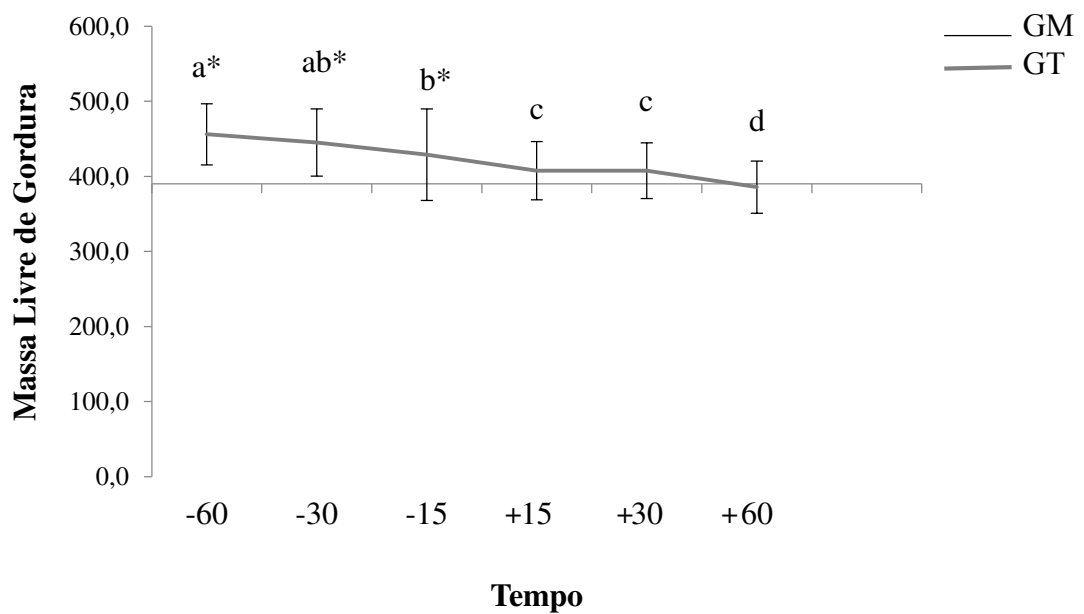


Figura 2. Massa livre de gordura de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

A porcentagem de gordura corporal (PG) foi menor nas éguas do GM. Houve diferença entre o GM ($P < 0,05$) e o GT nos tempos T-60 e T-30. No GT, na avaliação ao longo do tempo ($P < 0,05$), os animais do T-60 e T-30 apresentaram maior porcentagem de gordura, do que os animais dos tempos T-15, T+15, T+30 e T+60, que mantiveram a porcentagem de gordura sem alteração, conforme pode ser observado (Figura 3).

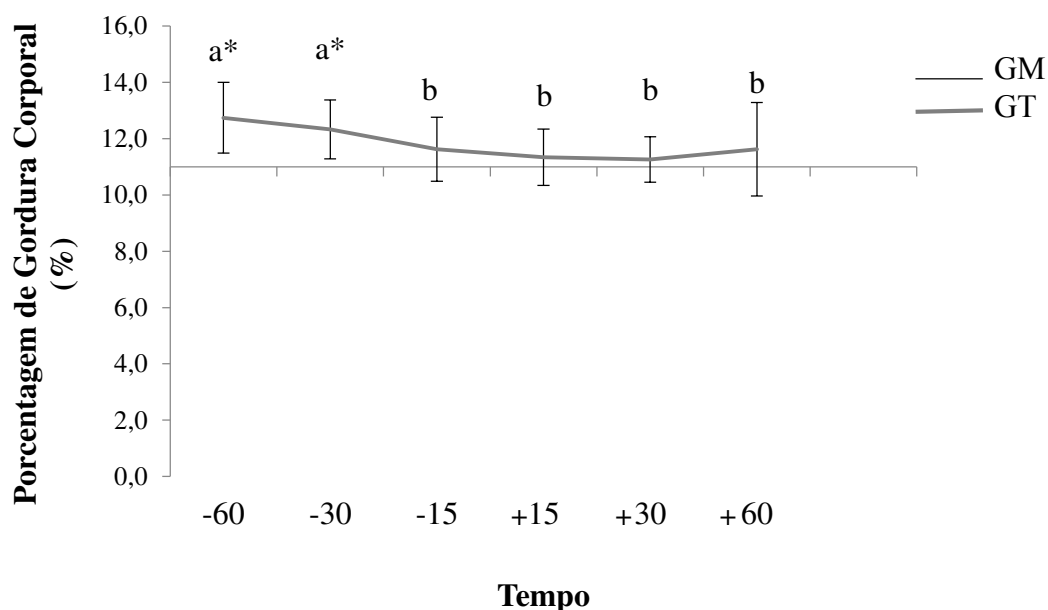


Figura 3. Porcentagem de gordura corporal de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnett.

A temperatura retal ($^{\circ}\text{C}$) obtida nos animais durante o estudo se manteve dentro dos valores normais para a espécie equina, com o valor médio $38,05 \pm 0,35$. Na comparação entre os grupos, houve diferença ($P < 0,05$) entre às éguas em manutenção e às em transição nos tempos T-15, T+15, T+30 e T+60. O GT diferiu ($P < 0,05$) entre os tempos T-60, T-30, T-15 e os tempos T+15, T+30 e T+60 (Tabela 1).

Tabela 1 Valores médios e desvios padrões das variáveis: peso corporal (kg), porcentagem de gordura corporal (%), massa livre de gordura (kg) e temperatura retal (° C), avaliadas no grupo de transição (GT) e no grupo de manutenção (%) (GM)

Tratamentos	Avaliações			
	Peso Corporal (kg)	Porcentagem de Gordura Corporal (%)	Massa Livre de Gordura (kg)	Temperatura Retal ° C
Grupo Manutenção	401,18 ± 41,01	10,96 ± 1,51	390,23 ± 40,91	37,77 ± 0,37
GT 60 dias antes do parto	468,77 ± 40,75aA	12,74 ± 1,26aA	456,01 ± 40,85aA	37,91 ± 0,24b
GT 30 dias antes do parto	457,73 ± 44,96abA	12,32 ± 1,05aA	445,21 ± 44,83abA	38,00 ± 0,32b
GT 15 dias antes do parto	448,15 ± 46,50bA	11,62 ± 1,14b	428,83 ± 60,94bA	38,02 ± 0,36bA
GT 15 dias após o parto	419,00 ± 39,00c	11,34 ± 1,00b	407,65 ± 38,86c	38,27 ± 0,34aA
GT 30 dias após o parto	418,77 ± 37,19c	11,26 ± 0,81b	407,50 ± 37,06c	38,27 ± 0,31aA
GT 60 dias após o parto	397,35 ± 34,92d	11,62 ± 1,66b	385,72 ± 34,69d	38,04 ± 0,27bA

Médias seguidas por letras minúsculas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas por letras maiúsculas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

A concentração sérica de colesterol foi diferente ($P < 0,05$) entre o GM e GT nos tempos T0, T+15 e T+30, sendo maior valor médio observado nas primeiras seis horas após o parto (T0) (Figura 4). Houve diferença ($P < 0,05$) nos animais do GT entre os tempos T-60, T-30 e T-15, e os tempos T+15, T+30 e T+60. O T0 foi diferente ($P < 0,05$) de todos os tempos no GT (Tabela 2).

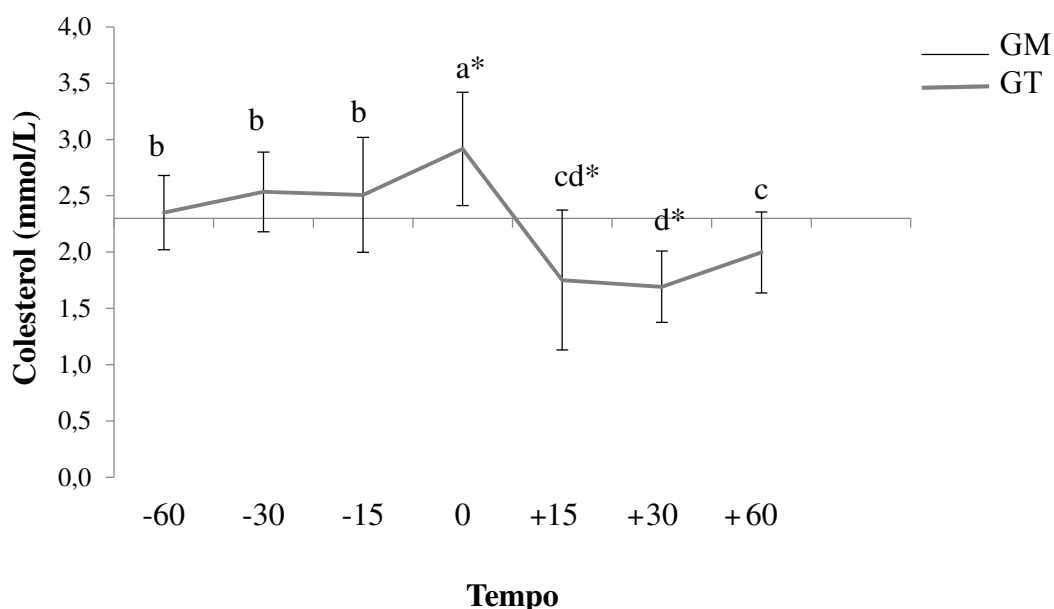


Figura 4. Colesterol sérico de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

A concentração de triglicerídeos apresentou diferença ($P < 0,05$) entre as éguas do GM e GT (T-30, T-15 e T0). Na avaliação ao longo do tempo, as éguas do GT apresentaram um aumento progressivo ($P < 0,05$) na quantidade de triglicerídeos nos T-60, T-30 e T-15, com maior valor observado no momento T-15, quando comparados com os demais tempos avaliados. Nas primeiras seis horas após o parto ($P < 0,05$), houve uma redução de triglicerídeos, onde os menores valores foram observados no T+15, T+30 e T+60 (Tabela 2).

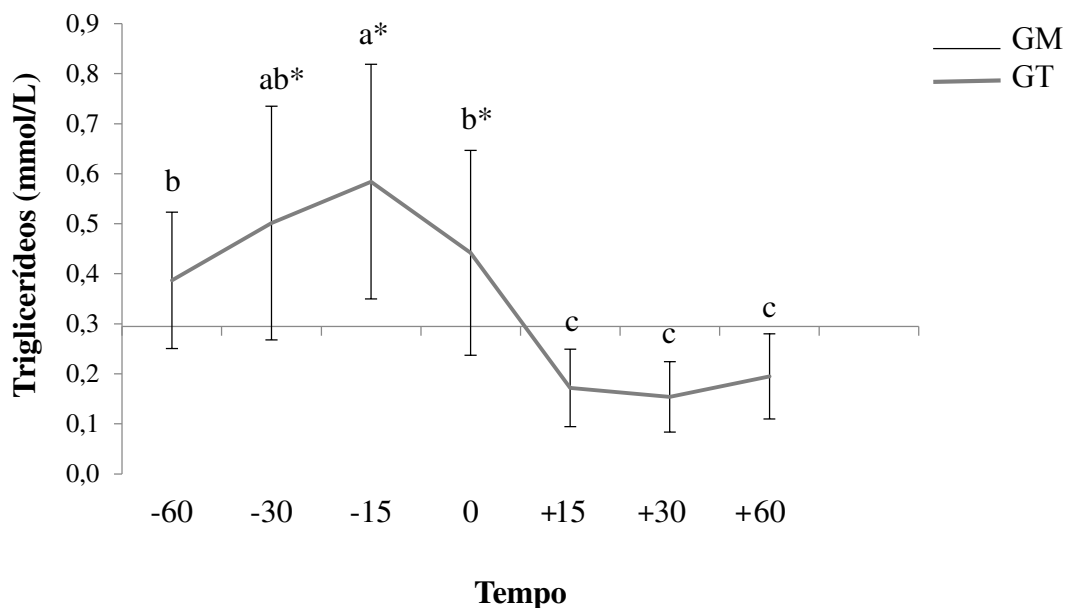


Figura 5. Triglicerídeos sérico de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnett.

Menor concentração sérica de ácidos graxos não esterificados (AGNE) ($P < 0,05$) foi obtido nas éguas em manutenção quando comparado as do grupo em transição (Figura 6). Houve diferença ($P < 0,05$) nos animais do GT em todos os tempos avaliados, com maior quantidade no T0. Ao final do período de transição (T+15, T+30 e T+60) houve uma redução progressiva dos valores (Tabela 2).

Houve diferença ($P < 0,05$) na concentração plasmática de glicose e lactato entre os grupos GM e GT nos tempos T0, T+15, T+30 e T+60. Maior quantidade de glicose foi observada no T0. Ao longo do tempo houve diferença ($P < 0,05$) no GT (Tabela 2). As éguas avaliadas nos T-60, T-30, T-15 e T0 apresentaram maiores valores médios de glicose do que os obtidos nos tempos T+15, T+30 e T+60.

Maior concentração de lactato foi observada no GT (T+60). O grupo de éguas em transição apresentou diferença ($P < 0,05$) ao longo dos tempos avaliados. Os animais avaliados nos T-60, T-30 e T-15 apresentaram menores valores médios de lactato do que valores obtidos nos tempos T+30 e T+60.

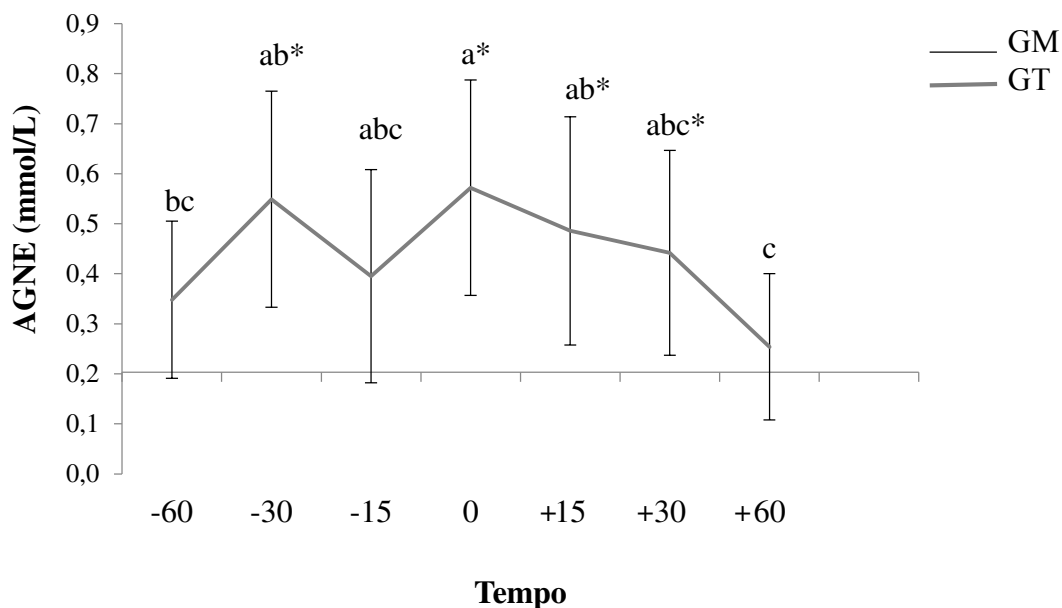


Figura 6. Ácidos graxos não-esterificados (AGNE) de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

Houve uma moderada correlação positiva ($r = 0,44127$) no GM entre a concentração de triglicerídeos e colesterol, e também entre os triglicerídeos e peso corporal ($r = 0,44466$). As éguas do GT apresentaram moderada correlação positiva entre o triglicerídeos e colesterol nos tempos T-15 ($r = 0,57022$) e T+30 ($r = 0,43166$), e baixa correlação positiva no T+15 ($r = 0,39113$). Entre AGNE e a porcentagem de gordura corporal ocorreu alta correlação positiva ($r = 0,64777$) no T+15. No tempo T+30 houve alta correlação negativa entre AGNE e peso corporal ($r = -0,63593$), e entre AGNE e massa livre de gordura ($r = -0,63317$).

Tabela 2 Valores médios e desvio padrão das concentrações de colesterol (mmol/L), triglicerídeos (mmol/L), ácidos graxos não esterificados - AGNE (mmol/L), glicose (mmol/L) e lactato (mmol/L), avaliadas no grupo de transição (GT) e no grupo de manutenção (%) (GM)

Tratamentos	Avaliações				
	Colesterol	Triglicerídeos	AGNE	Glicose	Lactato
GM	2,30 ± 0,33	0,29 ± 0,20	0,20 ± 0,15	5,15 ± 0,41	0,79 ± 0,19
GT 60 dias antes do parto	2,35 ± 0,35b	0,38 ± 0,14b	0,34 ± 0,16bc	5,33 ± 0,40ab	0,86 ± 0,23c
GT 30 dias antes do parto	2,53 ± 0,51b	0,50 ± 0,23abA	0,54 ± 0,22abA	5,51 ± 0,46ab	0,72 ± 0,14c
GT 15 dias antes do parto	2,50 ± 0,50b	0,58 ± 0,23aA	0,39 ± 0,21abc	5,06 ± 0,43b	1,13 ± 0,45bc
GT primeiras 6 horas após parto	2,91 ± 0,62aA	0,44 ± 0,20bA	0,57 ± 0,22aA	5,68 ± 1,18aA	1,45 ± 0,71abA
GT 15 dias após o parto	1,75 ± 0,32cdA	0,17 ± 0,08c	0,48 ± 0,23abA	4,10 ± 0,46cA	1,42 ± 0,94abA
GT 30 dias após o parto	1,69 ± 0,36dA	0,15 ± 0,07c	0,44 ± 0,20abcA	3,99 ± 0,45cA	1,72 ± 1,00aA
GT 60 dias após o parto	1,99 ± 0,38c	0,19 ± 0,09c	0,25 ± 0,15c	4,10 ± 0,59cA	1,82 ± 0,60aA

Médias seguidas por letras minúsculas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas por letras maiúsculas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

3.6. Discussão

No período de transição, significativas mudanças ocorreram na condição corporal e nos constituintes metabólicos das éguas, que foram compatíveis com outras pesquisas (Harvey et al., 2005; Bazzano et al., 2014c; Mariella et al., 2014). Os resultados demonstraram que o terço final da gestação, parto e início da lactação promovem adaptações no organismo materno. O conhecimento destas mudanças é fundamental para a identificação de doenças que podem comprometer a saúde da égua, do feto e o desenvolvimento do potro.

A boa saúde das éguas durante o período experimental possibilitou uma avaliação mais precisa da condição corporal e metabólica dos animais. O presente estudo é inédito em éguas da raça Mangalarga Marchador durante o período de transição, embora vários ensaios foram realizados com a mesma finalidade em éguas de raças distintas, durante diferentes fases da gestação, parto e lactação (Harvey et al., 2005; Bazzano et al., 2014c).

A fim de se obter animais com grande valor para alguns criadores, são realizadas mudanças no manejo do animal, como por exemplo, alimentação com alto valor nutricional (Hunka et al., 2015), predispondo o animal em reprodução a desenvolver distúrbios metabólicos e obesidade (Bazzano et al., 2014c). Sendo assim, a avaliação do peso corporal, porcentagem de gordura e da massa livre de gordura durante o período de transição em éguas é importante para que medidas adequadas no manejo dos animais sejam adotadas na propriedade.

O ganho de peso em éguas durante a gestação não se deve apenas ao fato do desenvolvimento e crescimento fetal e anexos placentários, mas também à necessidade de uma reserva nutricional que irá suprir as demandas ao final da gestação e durante a lactação. Contudo, no período de transição a perda progressiva do peso corporal, assim como a porcentagem de gordura corporal em torno do parto se deve ao balanço energético negativo durante o período.

A redução da ingestão alimentar, acompanhada pelo aumento das demandas metabólicas do feto, do parto e da produção de leite para fornecer as necessidades nutricionais do potro (Hura et al., 2017) pode ser um dos principais motivos da perda de peso e gordura corporal. Animais submetidos a maiores demandas metabólicas apresentam menores porcentagens de gordura (Manso Filho et al., 2009). O primeiro estudo identificando mudanças na composição corporal em éguas durante o período de transição foi realizado por Manso Filho et al. (2008). Os autores perceberam que durante

a lactação, as éguas perdiam massa corporal magra, à medida que mantinham a massa gordurosa (gordura corporal) e que este fato pode ser explicado, pois o final da gestação pode representar um leve estado catabólico, acompanhado da perda de massa magra. Achados semelhantes foram observados no presente estudo.

Marchioi et al. (2015) revelaram um aumento linear no peso corporal de éguas da raça Crioula, gestantes do 8^o ao 11^o mês. Os autores sugeriram que ocorre um ganho de peso em éguas prenhas no terço final da gestação, o que leva a uma reserva de energia que deverá ser utilizada durante a lactação, o que não ocorreu no presente estudo, em que observou-se uma redução progressiva dos valores médios de peso corporal dos sessenta dias antes do parto (T-60) até os sessenta dias após o parto (T+60).

A partir de outros estudos, Lawrence et al. (1992) sugeriram que éguas gestantes podem aumentar sua reserva de gordura corporal durante o meio da gestação e em seguida, mobilizar esta reserva até o parto. Do mesmo modo que a pesquisa realizada por estes autores não avaliou a ingestão dos animais, no presente estudo não foi mensurada a ingestão alimentar antes e durante a gestação. Por este motivo, não pode ser afirmado que o ganho de peso seja uma consequência do aumento da ingestão alimentar ou uma alteração na eficiência metabólica das éguas. Contudo, está claro que no último trimestre da gestação e início da lactação, ocorre uma perda progressiva do peso corporal, que pode ser devido a mobilização de reserva energética em decorrência de maior demanda fetal e lactação.

Apesar de ocorrer aumento da temperatura retal nas éguas durante o período de transição, os valores médios permaneceram dentro da referência encontrada na literatura para a espécie equina (Feitosa et al., 2008). Este fato pode estar relacionado com o acréscimo do metabolismo das éguas durante o período de transição, bem como as variações nas temperaturas ambientais durante o experimento, visto que o estudo foi realizado entre os meses de julho a novembro, havendo uma variação na temperatura de aproximadamente 11 °C.

A gestação e lactação resultam em maiores exigências metabólicas. Apesar dos mecanismos homeostáticos atuarem para manter a concentração dos elementos no sangue relativamente constantes, é provável que algumas variações ocorram como, por exemplo, aumento na concentração de triglicérides no terço médio da gestação e maior concentração de ureia na lactação (Harvey et al., 2005). De acordo com Hunka et al. (2015) o período de alactamento constitui um desafio para as éguas, visto que a

quantidade de nutrientes disponíveis no leite materno deve atender as demandas nutricionais dos potros.

O colesterol é um importante esterol em mamíferos, atuando em diversas etapas fisiológicas como a formação de membranas celulares e regulação da transdução de sinal nas células (Vasilenko, 2016). A concentração de colesterol no sangue, pode ser definida a partir de fatores, como por exemplo a quantidade de alimentos que são ingeridos e absorvidos, bem como pela porção sintetizada no fígado e pela quantidade que é reabsorvida (Aoki e Ishii, 2012).

Assim como todas as frações lipídicas, o colesterol reduz um pouco no início da gestação e em seguida aumenta progressivamente. Sua concentração ao final da gravidez eleva aproximadamente 50% quando comparado com o estado não gravídico, contudo, estes valores retornam lentamente (15 a 20%) até a segunda semana pós-parto (Hadden e Mclaughlin, 2009).

Inicialmente, a redução na quantidade do colesterol durante a gestação pode ser resultado de alguns fatores, tais como a hemodiluição plasmática, a diminuição da secreção de lipoproteínas do fígado e outros órgãos que as produzem, ao acúmulo de colesterol nos tecidos do corpo, ao transporte de colesterol do corpo materno para o feto e a maior utilização deste para a biossíntese de hormônios esteroides (Vasilenko, 2016).

Maior concentração sérica de colesterol nas primeiras seis horas após o parto e sua progressiva redução nos primeiros 30 dias após a lactação demonstram o aumento da demanda energética das éguas. É provável, segundo Vasilenko (2016), que o aumento da concentração de colesterol seja necessário para maior síntese de hormônios na gravidez, além disto, o colesterol elevado observado, durante a gestação, também pode ser secundário ao aumento dos hormônios associados ao período.

O triglicerídeo é um nutriente fundamental nesta fase, visto que é o principal componente do tecido adiposo e do leite (Aoki e Ishii, 2012) após a água. No último trimestre de gestação, são observadas maiores concentrações deste lipídeo, devido à maior atividade anabólica e incremento no metabolismo de gordura, necessário para o crescimento fetal (Vincze et al., 2015). Apesar dos valores de triglicerídeos terem permanecido dentro do padrão de referência para a espécie, foi observado aumento na quantidade deste lipídeo no período gestacional, seguido por uma redução imediatamente após o parto e lactação.

Em estudo realizado por Harvey et al. (2005), foram observadas diferenças significativas em diferentes variáveis em éguas quando compararam a prenhez com o

período de lactação. A concentração total de triglicerídeos foi menor durante a lactação. Bazzano et al. (2014c) também observaram redução significativa nos níveis de triglicerídeos após o parto. Apesar dos estudos citados diferirem quanto a raças, tempos avaliados e manejo, o comportamento na concentração do triglicerídeos foi semelhante ao obtido neste estudo. Hadden e Maclaughlin (2009) explicam que o triglicerídeo reduz gradualmente após o parto, retornando aos valores não gestacionais logo na segunda semana após a parição, como observado no presente estudo.

Os ácidos graxos não esterificados (AGNE) são utilizados como indicador de degradação lipídica no tecido adiposo (Aoki et al., 2016) e refletem o status do balanço energético no corpo (Hura et al., 2017). Quando os animais entram em balanço energético negativo, precisando mobilizar energia armazenada, ocorre a secreção de epinefrina, que irá agir sobre o tecido adiposo, potencializando a quebra de gordura, e como consequência observa-se aumento nos valores do AGNE (Frape, 2004; Aoki e Ishii, 2012). Adicionalmente, dentro de aproximadamente três dias após a parição, os valores de ácidos graxos livres caem para valores não gravídicos. Já na concentração de triglicerídeos a redução ocorre por duas semanas pós-parto, dependendo do tempo de lactação materna (Hadden e Mclaughlin, 2009).

Baseados em outros estudos, Hura et al. (2017) explicaram que o acréscimo na concentração de AGNE e redução de triglicerídeo no parto pode comprovar que as éguas compensam o balanço energético negativo com a mobilização das reservas de gordura. Os valores na concentração de AGNE nos tempos T-30, T0 e T+15 ficaram acima dos valores citados por Dugdale et al. (2011), retornando aos valores iniciais nos tempos T+30 e T+60.

A glicose é o principal componente para o crescimento fetal, contudo, durante o final da gestação sua distribuição se mantém constante, de modo que o feto começa a necessitar de energia de outros substratos como lactato e aminoácidos (Manso Filho et al., 2008). A concentração de glicose no feto é 15 a 20% mais baixa que na mãe, sendo a glicose materna regulada pela produção de insulina (Hadden e Mclaughlin, 2009).

As éguas utilizam a glicose como fonte de energia, de modo que uma alteração na sua concentração pode ser decorrente de um desequilíbrio no hormônio regulador (ex. insulina) ou ingestão excessiva de fontes de energia. As éguas apresentaram concentração plasmática de glicose nos últimos dois meses de gestação significativamente maior que as observadas após o parto, entretanto estes valores permaneceram dentro da referência para a espécie equina (4,16 a 6,38 mmol/L) (Kaneko et al., 2008). Mariella et al. (2014)

explicam que maior concentração de glicose ocorre no parto e que alterações na regulação desta variável durante a gestação pode levar ao desenvolvimento progressivo de resistência à insulina, o que irá favorecer a transferência da glicose para o feto via placenta.

Um aumento na concentração de glicose de éguas pode estar associado com o estresse físico ao qual os animais são submetidos durante o parto (Aoki e Ishii, 2012). O estresse aumenta a quantidade de cortisol, que promove a gliconeogênese. Em um estudo realizado por Vincze et al. (2015) com éguas em diferentes fases gestacionais, foi observado que houve um acréscimo significativo nas quantidades de glicose apenas nos três últimos meses de gestação.

De acordo com Vincze et al. (2015), mudanças na regulação da glicose durante a gestação podem estar associadas ao desenvolvimento de resistência à insulina, bem como ao aumento secundário nas concentrações de triglicerídeos no plasma. Já um decréscimo na concentração de glicose a partir da lactação é devido à maior demanda pela glândula mamária para obtenção de energia e síntese de lactose (Mundim et al., 2007).

Apesar de diferentes estudos em éguas no período de transição avaliarem constituintes metabólicos distintos, grande parte das pesquisas não avaliam o lactato plasmático. Durante a gestação, em situação de normalidade, o lactato sanguíneo se mantém inalterado. Em égua, durante o parto, a produção de lactato é proveniente do músculo esquelético (Mariella et al., 2014). Pirrone et al. (2012) explicam que estudos realizados em diferentes espécies de animais têm demonstrado que a placenta mobiliza rapidamente a glicose, produzindo grandes quantidades de lactato como subproduto. As concentrações de lactato em éguas poderiam ser avaliadas para monitorar o período pós-parto, assim como para indicar a necessidade de intervenções rapidamente. Segundo Lockitch (1997), este elemento seria um bom indicador em casos de gravidade e recuperação da saúde do animal.

Embora tenha ocorrido aumento na concentração de lactato durante o parto e lactação, os valores obtidos permaneceram dentro da referência para a espécie equina (1,11 a 1,78 mmol/L) (Kaneko et al., 2008). A concentração de lactato em éguas com um parto não distócico é igual àquelas encontradas nos valores de referência para cavalos adultos (Pirrone et al., 2012). Mariella et al. (2014) também observaram aumento na concentração de lactato em éguas durante o parto. A atividade do lactato durante a gravidez permanece inalterado, aumentando durante o trabalho de parto (Lockitch, 1997).

Como mencionado anteriormente, este foi um estudo inédito com éguas da raça Mangalarga Marchador no período de transição, realizado durante 6 meses em uma propriedade particular. Os animais eram submetidos a um regime de criação extensivo, o que impossibilitou a mensuração da quantidade de alimento ingerido pelas éguas, manter um jejum alimentar antes das coletas de sangue, bem como realizar qualquer procedimento que alterasse o manejo da propriedade. Apesar destas condições, os autores não acreditam que estes fatores possam ter interferido nos resultados obtidos.

3.7. Conclusão

Ocorrem mudanças na condição corporal e nos constituintes metabólicos dos animais decorrentes de adaptações fisiológicas do período de transição. As éguas entram em um balanço energético negativo e com isto passam a mobilizar reserva de gordura para suprir as necessidades impostas pelo período no atual sistema de criação estudado. Sendo assim, avaliações clínica e laboratoriais são necessárias a espécie, pois reflete a condição de saúde nos animais, possibilitando possíveis intervenções em casos não fisiológicos.

3.8. Referencias Bibliográficas

Aleixo, V.M.C. (2015). Maneio da égua e do poldro no periparto. Dissertation, Master in Zootechnical Engineering - Animal Production. University of Lisbon Faculty of Veterinary Medicine Higher Institute of Agronomy, Lisbon, POR.

Aoki, T., Ishii, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). *Journal Equine Veterinary Science*, v.32, n.3, p.170-176, 2012.

Aoki, T., Kimura, Y., Oya, A., Chiba, A., Ishii, M., Nambo, Y. Hematological and biochemical features of postpartum fever in the heavy draft mare. *Journal of Equine Science*, v.27, p.13-6, 2016.

Bazzano, M., Giannetto, C., Arfuso, F., Giudice, E., Piccione, G. Metabolic profile of broodmares during late pregnancy and early post-partum. *Reproduction in Domestic Animal*, v.49, n.6, p.947-953, 2014c.

Berg, E.L., McNamara, D.L., Keisler, D.H. Endocrine profiles of periparturient mares and their foals. *Journal of Animal Science*, v.85, p.1660-1668, 2007.

Carlin, A., Alfirevic, Z. Physiological changes of pregnancy and monitoring. *Best Practice e Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, v.22, n.5, p.801-823, 2008.

Dantas, W.F.M., Ribeiro Filho, J.D., Guimarães, J.D., Farias, S.K., Guimarães, S.E.F., Saraiva, A., Oliveira, T.T. Perfil eletrolítico e peso corporal em suínos submetidos a dietas com diferentes teores de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.45, p.1205-10, 2010.

Dugdale, A.H.A., Curtis, G.C., Cripps, P.J., Harris, P.A., Argo, C.Mc.G. Effects of season and body condition on appetite, body mass and body composition in ad libitum fed pony mares. *The Veterinary Journal*, v.190, p.329-337, 2011.

Feitosa, F.L.F. *Semiologia Veterinária. A arte do diagnóstico*. (3ª ed.). Roca, São Paulo, 2008.

Frape, D.L. *Equine Nutrition e Feeding*. (3ª ed.). Blackwell Publishing, Oxford, 2004.

Hadden, D.R., Mclaughlin, C. Normal and abnormal maternal metabolism during pregnancy. *Seminars in Fetal e Neonatal Medicine*, v.14, p.66-71, 2009.

Harvey, J.W. Pate, M.G., Kivipelto, J., Asquith, R.L. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. *Veterinary Clinic Pathology*, v.34, n.3, p.248-254, 2005.

Henneke, D.R., Polter, G.D., Kreider, J.L., Yeates, B.F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal*, v.5, n.4, p.371-72, 1983.

Hunka, M.M., Silva, E.R.R., Vaz, S.G., Ferreira, L.M.C., Manso, H.E.C.C.C., Manso Filho, H.C. Avaliação Hematológica de éguas em lactação mantidas a pasto. *Revista Ciência Veterinária nos Trópicos*, v.18, n.2, p.323-325, 2015.

Hura, V., Novotný, F., Valocký, I., Boldizar, M., Bílek, J., Hornáková, P., Vilhanová, Z., Hornák, S., Petrovic, V. Changes of biochemical environment and body weight in healthy periparturient Lipizzan mares. *Acta Veterinaria Brno*, v.86, n.1, p.67-74, 2017.

Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. *Clinical biochemistry domestic animals*. (6^a ed.). London, Elsevier, 2008.

Lawrence, L.M., Dipietro, J., Ewert, K., Parrett, D., Moser, L., Powell, D. Changes in body weight and condition of gestating mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.12, n.6, p.355-58, 1992.

Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D., Schabenberger, O. *AS[®] for mixed models*, 2 ed. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2006.

Lockitch, G. Clinical Biochemistry of Pregnancy. *Criticals Review Clinical Laboratory Science*, v.34, n.1, p.67-139, 1997.

Manso Filho, H.C., Mckeever, K.H., Gordon, M.E., Costa, H.E.C., Lagakos, W.S., Watford, M. Changes in glutamine metabolism indicate a mild catabolism state in the transition mare. *Journal of Animal Science*, v.86, n.12, p.3424-3431, 2008.

Manso Filho, H.C., Manso, H.E.C.C., Ferreira, L.M.C., Santiago, T.A., Wanderley, E.K., Abreu, J.M.G. Percentagem de gordura de cavalos criados em região tropical. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.37, n.3, p.239-43, 2009.

Mariella, J., Pirrone, A., Gentilini, F., Castagnetti, C. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. *Theriogenology*, v.81, n.4, p.526-534, 2014.

Marchiori, M.O., Kasinger, S., Silva, K.R., Souza, L.S., Amaral, L.A., Nogueira, C.E.W., Roll, V.F.B. Medidas comparativas do padrão morfométrico e perfil energético de éguas Crioulas no terço final da gestação, com diferentes escores corporais. *Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.67, n.3, p.707-715, 2015.

Mundim, A.V., Costa, A.S., Mundim, S.A.P., Guimarães, E.C., Espindola, F.S. Influência da ordem e estádios da lactação no perfil bioquímico sanguíneo de cabras da raça Saanen. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.2, p.306-312, 2007.

Oliveira, D.P. Biomarcadores fisiológicos do periparto de cabras. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. Brasil, 2013.

Paz, C.F.R., Paganela, J.C., Santos, C.A., Nogueira, C.E.W., Faleiros, R.R. Relação entre obesidade, insulina plasmática e posicionamento da falange distal em equinos da raça Crioula. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.65, n.6, p.1699-1705, 2013.

Pirrone, A., Mariella, J., Gentilini, F., Castagnetti, C. Amniotic fluid and blood lactate concentrations in mares and foals in the early postpartum period. *Theriogenology*, v.78, n.6, p.1182-1189, 2012.

Rodrigues, P.G., Raymundo, C.M., Souza, J.C., Miranda, M.C.M.G., Rezende, A.S.C. Gordura corporal e eficiência reprodutiva em éguas doadoras de embrião Mangalarga Marchador. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, n.5, p.1002-08, 2011.

SAS Institute Inc: SAS/STAT[®] 9.0 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc, 2002.

Vasilenko, T.F. Multidirectional changes in the blood cholesterol in mammals of different species during pregnancy and lactation. *International Journal of Science: Basic and Applied Research*, v.30, n.2, p.59-70, 2016.

Vincze, B., Kutasi, O., Baska, F., Szenci, O. Pregnancy-associated changes of serum biochemical values in Lipizzaner Broodmares. *Acta Veterinaria Hungarica*, v.63, n.3, p.303-316, 2015.

4. CAPÍTULO III

Valores hematológicos e bioquímicos em éguas Mangalarga Marchador no período de transição mantidas a pasto

4.1. RESUMO

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Avaliação clínica e laboratorial em éguas Mangalarga Marchador durante o período de transição mantidas à pasto.** Orientador: José Dantas Ribeiro Filho. Coorientadores: Hélio Cordeiro Manso Filho e Luis Augusto Nero.

Na criação de éguas uma das etapas fisiológicas mais importantes é a prenhez, que possui influência em diversos sistemas do organismo materno. Os constituintes do sangue sofrem variações e podem indicar o estado de saúde da égua e do feto. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do período de transição sobre os constituintes hematológicos e bioquímicos em éguas da raça Mangalarga Marchador. Foram utilizadas 48 éguas que formaram um grupo em manutenção (GM), composto por éguas não prenhes e não lactantes, e um grupo experimental, chamado de grupo de transição (GT) constituído por éguas gestantes e que, após o parto, passaram a ser lactantes. As amostras de sangue foram coletadas nos seguintes tempos: T-60 (sessenta dias antes do parto), T-30 (trinta dias antes do parto), T-15 (quinze antes do parto), T0 (primeiras seis horas após o parto), T+15 (quinze dias após o parto), T+30 (trinta dias após o parto) e T+60 (sessenta dias após o parto). Foram mensurados os valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, distribuição do diâmetro das hemácias com coeficiente de variação, plaquetas, leucócitos global e diferencial. Também foram mensuradas as concentrações de proteínas séricas totais, albumina, globulina, fibrinogênio e ferro. O GT apresentou menores valores ($P < 0,05$) de hemácias, hematócrito e hemoglobina nos tempos T0, T+15, T+30 e T+60, do que o GM. O volume corpuscular médio foi menor no GM ($P < 0,05$) em relação ao GT (T0, T+15, T+30, T+60) e a concentração de hemoglobina corpuscular média foi maior ($P < 0,05$) no GM do que no GT (T+15, T+30, T+60). Já a distribuição do diâmetro das hemácias com coeficiente de variação apresentou menor valor ($P < 0,05$) no GM do que no GT (T+15 e T+30). Não houve diferença ($P > 0,05$) nos valores de hemoglobina corpuscular média, leucócitos global, neutrófilos (segmentados e bastonetes) e ferro. As plaquetas diferiram apenas no GT (T-60) e a globulina no GT entre os tempos T0 e T+15. Houve diferença entre grupos ($P < 0,05$) nos

valores de monócitos, eosinófilos, linfócitos, proteínas totais, fibrinogênio e albumina. Apesar das variações os valores se mantiveram dentro do intervalo de referência para a espécie equina. Estas mudanças podem ser decorrentes de ajustes fisiológicos no organismo materno a fim de garantir as necessidades nutricionais impostas pelo período de transição.

Palavras-chave: Equinos, hemograma, lactação, prenhez, periparto.

Hematological and biochemical values in mares Mangalarga Marchador in the transition period kept on pasture

4.2. ABSTRACT

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Clinical and laboratory evaluation in mares Mangalarga Marchador during the transition period kept on pasture.** Advisor: José Dantas Ribeiro Filho. Co-Advisors: Hélio Cordeiro Manso Filho and Luis Augusto Nero.

In the creation of mares one of the most important physiological stages is pregnancy, which has influence in several systems of the maternal organism. The constituents of the blood suffer variations and may indicate the state of health of the mare and the fetus. The present study aimed to evaluate the effects of the transition period on hematological and biochemical constituents in Mangalarga Marchador mares. A total of 48 mares were used to form a maintenance group (MG), composed of non-pregnant and non-lactating mares, and an experimental group, called the transition group (TG), formed by pregnant mares and, after delivery, infants. Blood samples were collected at the following times: T-60 (sixty days before delivery), T-30 (thirty days before delivery), T-15 (fifteen before delivery), T0 (first six days after delivery), T+15 (fifteen days after delivery), T+30 (thirty days after delivery) and T+60 (sixty days after delivery). Hemocytes, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration, red blood cell diameter distribution with coefficient of variation, platelets, global and differential leukocytes were measured. Concentrations of total serum proteins, albumin, globulin, fibrinogen and iron were also measured. The GT had lower values ($P < 0.05$) of red blood cells, hematocrit and hemoglobin at T0, T+15, T+30 and T+60 times than MG. The mean corpuscular volume was lower in GM ($P < 0.05$) than in GT (T0, T+15, T+30, T+60) and mean corpuscular hemoglobin concentration was higher ($P < 0.05$) in MG than in TG (T+15, T+30, T+60). On the other hand, the diameter distribution of red blood cells with a coefficient of variation presented a lower value ($P < 0.05$) in MG than in TG (T+15 and T+30). There was no difference ($P > 0.05$) in mean corpuscular hemoglobin, total leukocytes, neutrophils (segmented and rods) and iron. Platelets differed only in TG (T-60) and TG globulin between T0 and T+15 times. There were differences between groups ($P < 0.05$) in the values of monocytes, eosinophils, lymphocytes, total proteins, fibrinogen and albumin. Despite variations, the values remained within the reference range for the equine species. These

changes may be due to physiological adjustments in the maternal organism in order to guarantee the nutritional needs imposed by the transition period.

Key words: Equine, blood count, lactation, pregnancy, peripartum.

4.3. Introdução

O terço final da prenhez, parto e início da lactação compreende o período de transição (Manso Filho et al., 2008), também chamado de periparto (Aoki e Ishii, 2012; Mariella et al., 2014). Neste período são observadas adaptações generalizadas nos constituintes hematológicos (Hadden e Mclaughlin, 2009). No último trimestre antes do parto ocorre um aumento na demanda nutricional da égua, deixando-a mais vulnerável ao desenvolvimento de doenças (Bazzano et al., 2014c). Na gestação, mudanças metabólicas são essenciais para suprir as demandas maternas, assegurar o desenvolvimento e crescimento adequado do feto, bem como proporcionar uma reserva energética e de substratos necessárias após o nascimento (Hadden e Mclaughlin, 2009). Esta fase pode ser caracterizada por uma intensa atividade anabólica, já durante o parto e lactação há maior em atividade catabólica, com grande parte do metabolismo direcionado para a lactação.

Os períodos de gestação e lactação atuam nos constituintes sanguíneos (Milinković-Tur et al., 2005). Estudos em diferentes raças equestres têm sido realizados a fim de descrever as principais características hematológicas de éguas neste período (Bazzano et al., 2014c; Mariella et al., 2014; Fonteque et al., 2016). Contudo, no Brasil ainda são poucas as pesquisas abordando o tema, sobretudo na raça Mangalarga Marchador que possui grande importância para equideocultura do Brasil, especificamente, para o estado de Minas Gerais, onde as atividades envolvendo a equinocultura demonstram expressivas dimensões social e econômica.

Durante a gestação é relatada maior atividade do sistema renina-angiotensina, que promove a secreção de aldosterona, resultando no aumento de líquido corporal e volume plasmático, como consequência, ocorre redução no valor do hematócrito decorrente da diluição da massa de glóbulos vermelhos (Talbot e MacLennan, 2016). Os referidos autores também descreveram acréscimo em aproximadamente 30% na eritropoiese. Menores valores de hematócrito e hemoglobina também foram registrados no sétimo dia após o parto por Mariella et al. (2014).

Embora os valores de referência para éguas durante o período de transição não estejam bem estabelecidos, sabe-se que muitas alterações são fisiológicas, entretanto estas mudanças ainda não estão devidamente elucidadas na espécie equina. Por isso, existe a necessidade de conhecermos os intervalos de referência das características hematológicas baseados na raça e idade como citou Meliani et al. (2015), além do manejo e estado reprodutivo dos animais.

Desta forma, o conhecimento das variações que ocorrem nos constituintes hematológicos e bioquímicos de éguas nesta fase é fundamental não apenas para auxiliar na identificação das doenças, mas também para estabelecer prognóstico, definir e monitorar o tratamento (Bazzano et al., 2014b). O presente estudo objetivou avaliar os efeitos do período de transição sobre o perfil hematológico e bioquímico em éguas da raça Mangalarga Marchador criadas a pasto. A hipótese do estudo é que éguas da raça Mangalarga Marchador, durante a gestação, parto e lactação, apresentam perfil hematológico e bioquímico associado a fase reprodutiva em que se encontram.

4.4. Material e Métodos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV (protocolo nº 95/2015), e conduzido de acordo com as Normas de Condutas no Uso de Animais em Ensino, Pesquisa e Extensão, do Código de Ética Profissional do Médico Veterinário e princípios éticos para pesquisa animal, estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e a Legislação brasileira vigente. A pesquisa foi conduzida na Fazenda Salgada, localizada no município de Itaperuna, no estado do Rio de Janeiro, Brasil. O experimento ocorreu no período de julho a novembro de 2016.

Foram utilizadas 48 éguas da raça Mangalarga Marchador, 22 éguas em manutenção e 26 éguas gestantes, com idade entre cinco e quinze anos, todas híbridas, selecionadas de um rebanho contendo 180 animais, criadas na Fazenda Salgada. Os animais do grupo em transição foram selecionados de acordo com o controle de cobertura da propriedade, de modo a se obter um conjunto de éguas, cuja data provável de parição se concentrasse nos 30 dias de maior frequência de parto. Na propriedade, as éguas eram mantidas em regime extensivo, permanecendo em piquetes (com aproximadamente 300 m²) contendo capim Tifton (*Cynodon spp.*), água e sal mineral comercial (Coequi Plus, Tortuga) *ad libitum*, matidas a pasto. Durante o estudo as éguas participaram do programa de vacinação e controle de endo e ectoparasitas estabelecidos pela fazenda. Duas semanas antes do parto, as éguas foram transferidas para piquetes maternidade, sem haver nenhuma alteração na dieta. Após a parição as éguas eram transferidas para um piquete com capim Tifton, contendo apenas éguas paridas, nas mesmas condições do manejo inicial. Para a realização das avaliações as éguas percorriam uma distância de aproximadamente 2 km entre o piquete e uma área de manejo com tronco. Neste local

para manejo os animais eram contidos em tronco e só a partir daí eram realizadas as avaliações clínicas e coletas de sangue.

Os animais foram divididos em dois grupos: grupo em manutenção (GM), formado por éguas não prenhes e não lactantes (n = 22) e grupo experimental (n = 26) chamado de grupo de transição (GT), composto por éguas gestantes e que após o parto passaram a ser lactantes.

As coletas de sangue eram realizadas sempre no horário da manhã (entre as 8 e 11 horas). As éguas do GM foram avaliadas apenas em um único tempo: T-60 (primeira coleta de todos os animais). As éguas do GT foram avaliadas em sete momentos distintos, conforme descrito: T-60 (sessenta dias antes do parto); T-30 (trinta dias antes do parto); T-15 (quinze dias antes do parto); T0 (primeiras seis horas após o parto); T+15 (quinze dias após o parto); T+30 (trinta dias após o parto) e T+60 (sessenta dias após o parto).

Para a realização do hemograma as coletas de sangue foram realizadas sem prévio jejum, após antissepsia, por venopunção da jugular, utilizando agulhas descartáveis e frascos a vácuo contendo anticoagulante, Ácido Etileno Diamino Tetracético - EDTA/4 mL (Labor Import, Osasco, SP, Brasil). Os frascos foram mantidos em água gelada a uma temperatura aproximada de 2 a 8 °C, conforme Oliveira et al. (2010). A análise hematológica foi subdividida em eritrograma, no qual foram avaliados o número de eritrócitos (Hem), hematócrito (Hct), a concentração da hemoglobina (Hb) e o cálculo dos índices hematimétricos absolutos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e distribuição do diâmetro dos eritrócitos (RDWcv). O hematócrito (Hct) foi mensurado pelo método do micro-hematócrito (Microcentrífuga Digital Benfer DHM_6, Benfer Produtos de Laboratório, São Paulo, SP, Brasil), utilizando tubos capilares de 75 mm, centrifugados a 700g durante cinco minutos.

No leucograma, aferiram-se o número global de leucócitos e a contagem diferencial de leucócitos. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada mediante a confecção de esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro e corados com corante rápido panótico (Kit Rápido, RenyLab, Barbacena, MG, Brasil). Na sequência as lâminas foram observadas em microscópio com objetiva de 100x, na qual foi realizada a identificação de 100 células, de acordo com as características do núcleo e citoplasma. Na sequência foram obtidos valores percentuais e determinados os valores absolutos de cada célula, baseado no número total de leucócitos obtidos anteriormente (Oliveira, 2013). Também foi mensurado o número de plaquetas (Plt). As análises do eritrograma, contagem global

de leucócitos e plaquetas foram realizadas mediante a utilização de um contador automático de células sanguíneas (Humacount Plus – Human GmbH, Max Planck-Rng21, Wesbaden, Alemanha).

O soro foi obtido após as coletas de sangue em frascos a vácuo siliconizados sem anticoagulante, os quais foram mantidos em temperatura ambiente (25 °C) até a retração do coágulo, em seguida foram centrifugados a 1500g (Centrífuga Excelsai 2206, Fanem, Guarulhos, SP, Brasil), durante cinco minutos. Após a sua obtenção, as amostras de soro foram alíquotadas em microtubos e imediatamente congelados a -20 °C até o momento das análises. Em aparelho automático HumaStar 300 (Human, distribuído por In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG) foram mensurados a proteína total (Método Colorimétrico, Biureto, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), albumina (Método Colorimétrico, VBC – Verde de Bromocresol, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), globulina (obtida mediante diferença dos valores encontrados na proteína total sérica e albumina), ferro (Método colorimétrico, Cromazurol B, Bioclin – Quibasa Clínica Básica LTDA. Belo Horizonte, MG, Brasil). A concentração do fibrinogênio foi obtida pelo método de precipitação térmica e mensurado por refratômetro.

Para a análise dos dados, foi utilizado o *Statistical Analysis System* (SAS, 2002). Os dados foram avaliados pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Bartlett para verificação de normalidade dos erros e homogeneidade de variâncias, respectivamente, e as variáveis que não atenderam as premissas da ANOVA foram submetidas à transformação raiz quadrada ($y' = \sqrt{y + 0,5}$).

Os dados referentes às éguas gestantes foram analisados em modelos mistos lineares com parcelas repetidas no tempo utilizando o PROC MIXED (SAS, 2002), com estrutura de covariâncias autorregressiva e animal como efeito aleatório (Littell et al., 2006), de acordo com o modelo matemático: $Y_{ij} = X_{ijk}\beta_k + Z_{ijk}b_{ik} + e_{ij}$

Em que, Y_{ij} = variável dependente; X_{ijk} = covariável associada ao efeito fixo β_1, \dots, β_p (tempo); Z_{ijk} = covariável associada ao efeito aleatório b_{1i}, \dots, b_{qi} (animal); e_{ij} = erro aleatório. Para a comparação de médias, foi utilizado o teste t com ajuste de Tukey-Kramer para as variáveis pouco instáveis (CV < 15%) e ajuste pelo teste t para variáveis instáveis (CV > 15%). Adicionalmente, as médias dos tempos foram comparadas ao grupo manutenção pelo teste de Dunnett. O nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$.

4.5. Resultados

Durante o período experimental, a média das temperaturas ambiente foram de 17,4°C e 28,6°C (mínima e máxima, respectivamente), e a média de umidade relativa do ar foi de 49%. As éguas mantiveram-se hígdas, todos os partos foram eutócicos e ocorreram durante a madrugada sem auxílio humano. Todos os recém-nascidos foram saudáveis.

O número de hemácias nas éguas em manutenção (GM) foi maior ($P < 0,05$) que nas éguas do grupo em transição (GT) nos tempos T0, T+15, T+30 e T+60, onde o menor valor foi observado nas éguas em lactação T+30 ($5,35 \pm 0,80$). A comparação nos animais do GT apresentou diferença ($P < 0,05$) ao longo do tempo (Tabela 1). Éguas gestantes no T-60 tinham maior quantidade de hemácias ($P < 0,05$) que as éguas no parto (T0) e lactação (T+15 e T+30) (Figura 1).

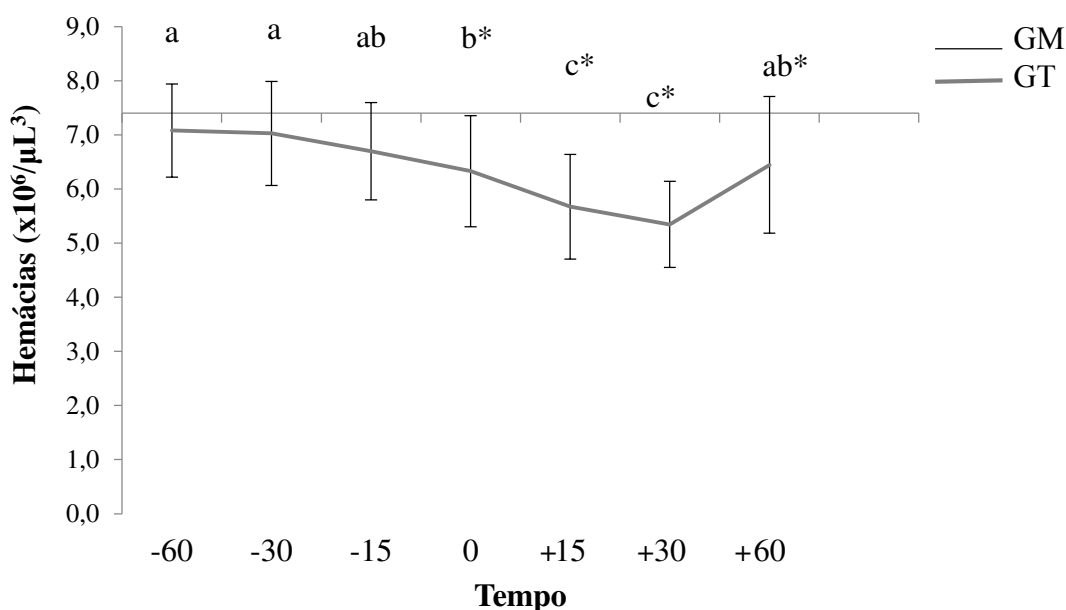


Figura 1. Número de hemácias de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

Resultados semelhantes foram observados para os valores de hematócrito, em que o maior índice foi obtido ($P < 0,05$) nas éguas do GM ($34,77 \pm 3,79$) quando comparadas às do GT nos tempos T0, T+15, T+30 e T+60. Nos animais do GT houve diferença ao longo do tempo ($P < 0,05$). Os tempos T-60, T-30 e T-15 e T0 apresentaram maiores

valores médios quando comparado aos tempos T+15, T+30, T+60, sendo o menor valor médio observado no T+30 ($27,18 \pm 3,63$) (Figura 2).

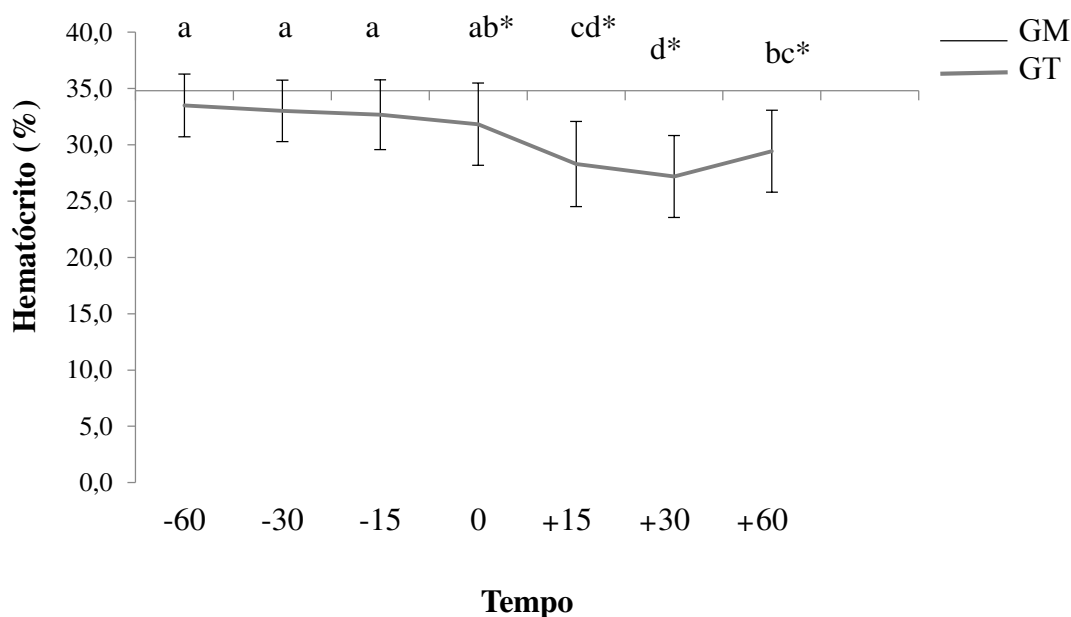


Figura 2. Concentração de hematócrito de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnett.

A hemoglobina também apresentou diferença ($P < 0,05$) entre o GM e GT (T0, T+15, T+30, T+60). Ao longo do tempo houve diferença no GT conforme pode ser observado na figura 3. O volume corpuscular médio (VCM) diferiu ($P < 0,05$) no GM em comparação com o GT (T0, T+15, T+30, T+60), com menor concentração no GM ($45,18 \pm 4,26$) e maior no GT aos trinta dias após o parto ($53,40 \pm 4,24$). Ao longo do tempo, também houve diferença ($P < 0,05$) no GT entre os animais, conforme pode ser observado na figura 4.

A respeito dos valores de hemoglobina corpuscular média (HCM), não foram encontradas diferenças entre os grupos e nem ao longo do tempo ($P > 0,05$). Já na concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) as éguas em manutenção diferiram ($P < 0,05$) das lactantes (T+15, T+30 e T+60), sendo os maiores valores obtidos no GM ($33,40 \pm 1,23$) e os menores no GT aos sessenta dias após o parto ($27,17 \pm 5,68$).

Os resultados demonstraram que a amplitude de distribuição dos eritrócitos mensurada como coeficiente de variação (RDWcv) diferiu entre os grupos GM e GT (T+30 e T+60). Nas éguas em transição, os valores foram diferentes entre si ($P < 0,05$)

durante a gestação e parto. Maiores índices foram observados durante os T+15, T+30 e T+60, conforme pode ser observado na tabela 1.

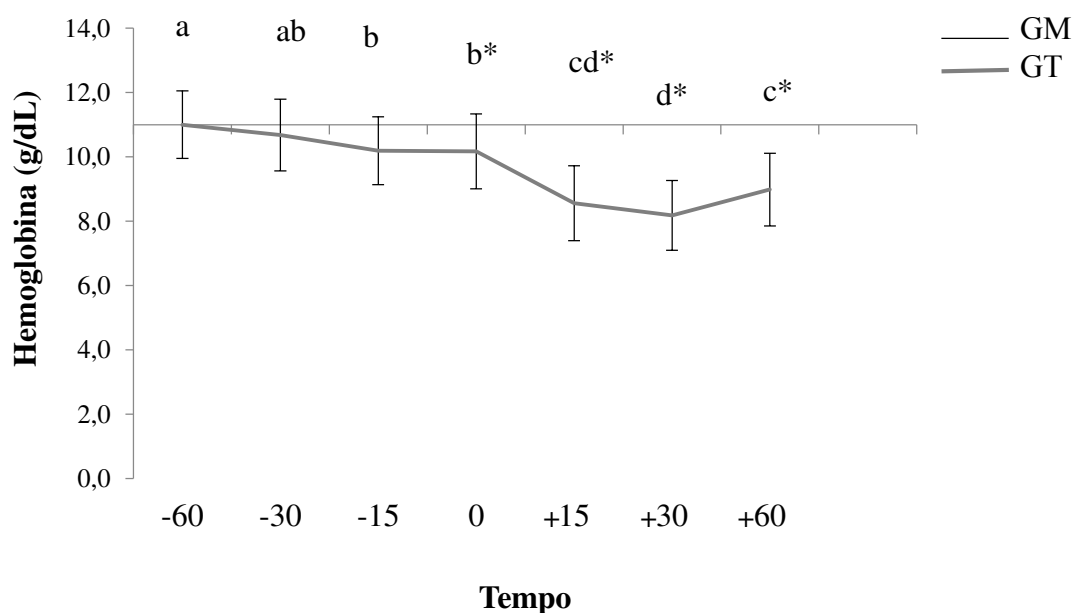


Figura 3. Concentração de hemoglobina de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnett.

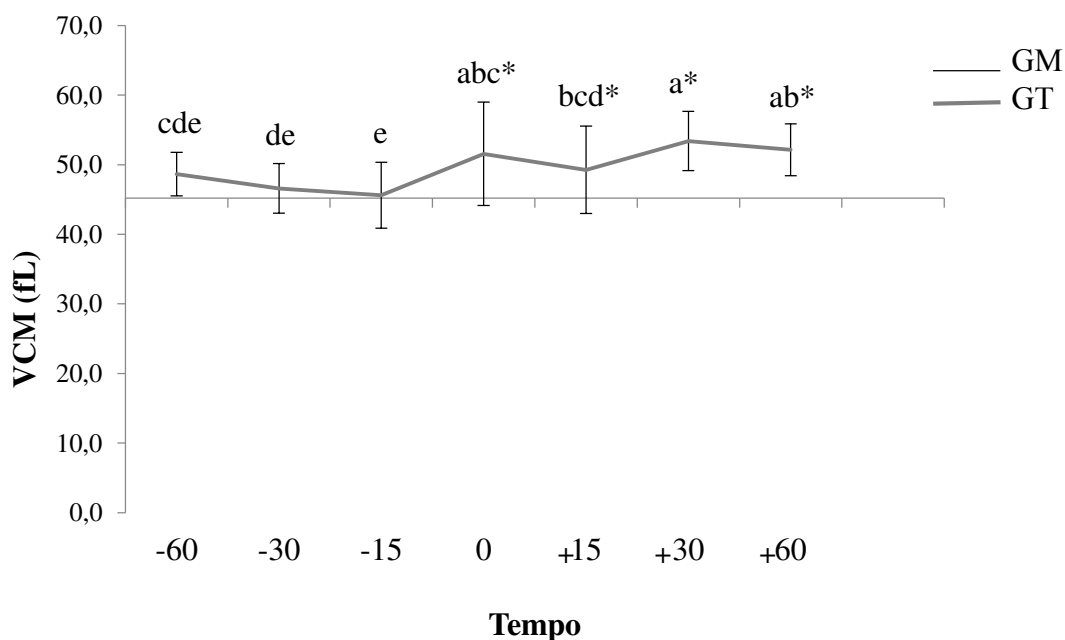


Figura 4. O volume corpuscular médio de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnett.

Não houve diferença ($P > 0,05$) entre grupos e nem entre tempos nos valores de leucócitos global e neutrófilos segmentados e bastonetes (Tabela 2). Além disso, eles permaneceram dentro do intervalo de referência para a espécie equina. Já a quantidade de monócitos foi menor ($P < 0,05$) no GM ($210,86 \pm 139,77$) quando comparado ao GT (T-30, T-15, T0, T+15, T+30 e T+60). As éguas do GT apresentaram diferenças ($P < 0,05$) entre os tempos avaliados, sendo as maiores quantidades obtidas no T+60 ($783,67 \pm 234,12$).

As éguas do grupo em manutenção tiveram quantidades de eosinófilos ($P < 0,05$) diferentes das éguas em transição nos tempos T0 e T+60, sendo os menores ($241,64 \pm 248,96$) e maiores ($670,47 \pm 384,63$) valores observados nos respectivos tempos. No GT houve diferença ($P < 0,05$) entre os tempos avaliados, conforme tabela 2.

A quantidade de linfócitos foi maior ($P < 0,05$) no GM quando comparado ao GT (T+15, T+30 e T+60). Ao longo do tempo houve diferença ($P < 0,05$) no GT, os tempos T-30, T-15 e T0 tiveram maiores quantidades de linfócitos do que os tempos T+15, T+30 e T+60, sendo estes dois últimos tempos com valores abaixo dos de referência para a espécie equina. A concentração de plaquetas foi semelhante ($P > 0,05$) entre os grupos, e ao longo dos tempos diferiu ($P < 0,05$) apenas no T-60.

Houve diferença nas concentrações de proteínas totais ($P < 0,05$) entre os GM e GT (T-15). Nas éguas em transição os tempos T-15 e T0 foram diferentes ($P < 0,05$) do T+15 e T+30, sendo as menores concentrações observadas no T+30 ($7,34 \pm 0,78$) (Figura 5). Também houve diferença ($P < 0,05$) nas concentrações de fibrinogênio entre GM e GT (-30) e ao longo dos tempos avaliados. Maior quantidade ($P < 0,05$) foi observada no T-30 ($484,62 \pm 212,96$) e menor no T-15 ($223,08 \pm 86,29$), conforme pode ser observado na tabela 3.

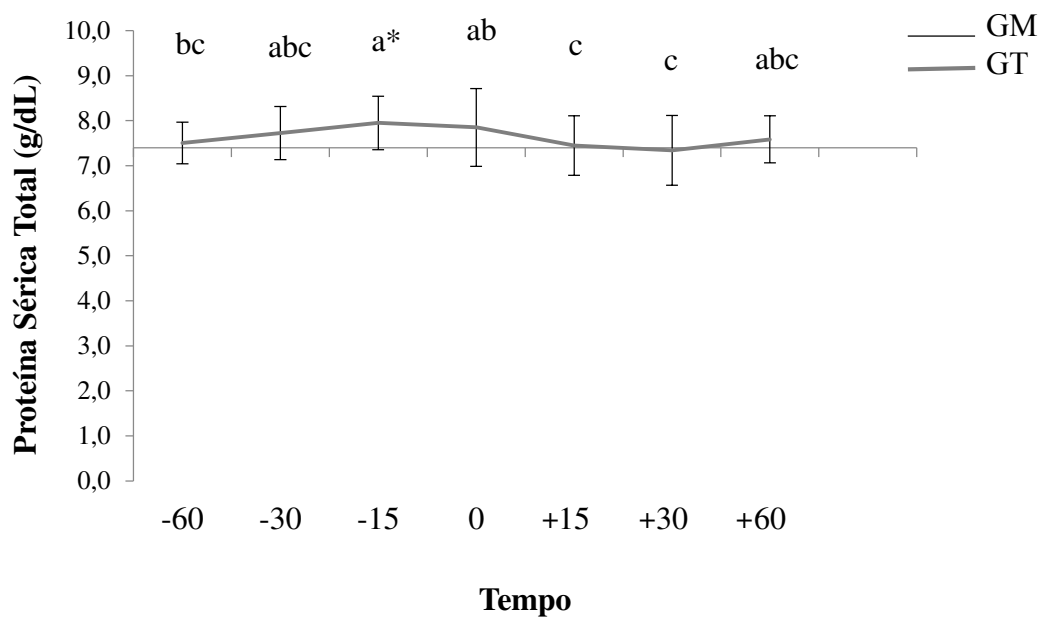


Figura 5. Concentração de proteína sérica total de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

No GM a concentração de albumina diferiu ($P < 0,05$) do GT apenas no tempo T-15, com maior valor médio observado ($3,95 \pm 0,23$). No GT menores valores foram obtidos ($P < 0,05$) nos tempos T0 e T-30. A quantidade de globulina foi semelhante entre os grupos ($P > 0,05$). O GT apresentou maior quantidade de globulina no T0 ($4,23 \pm 1,16$), sendo diferente ($P < 0,05$) do T+15 ($3,62 \pm 0,78$). Não houve diferença nas quantidades de ferro entre as éguas do grupo em manutenção e as do grupo em transição ($P > 0,05$) e nem entre os tempos no grupo GT (Tabela 3).

Tabela 1 Valores médios e desvios padrões das concentrações de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}^3$), hematócrito (%), hemoglobina (g/dL), volume corpuscular médio (fL) e concentração de hemoglobina corpuscular média (%), RDWcv (%)

Parâmetros Sanguíneos	Fases do Período de Transição (GT)							Grupo em Manutenção
	Gestação		Parto			Lactação		
	T-60	T-30	T-15	T0	T+15	T+30	T+60	
Eritrograma								
HEM	7,08 ± 0,86a	7,02 ± 0,96a	6,69 ± 0,90ab	6,32 ± 1,03bA	5,67 ± 0,96cA	5,34 ± 0,80cA	6,44 ± 1,26abA	7,38 ± 1,01
HCT	33,50 ± 2,79a	33,01 ± 2,73a	32,68 ± 3,10a	31,82 ± 3,66abA	28,30 ± 3,78cdA	27,18 ± 3,63dA	29,43 ± 3,64bcA	34,77 ± 3,79
HGB	11,00 ± 1,05a	10,67 ± 1,11ab	10,19 ± 1,05b	10,17 ± 1,17bA	8,56 ± 1,16cdA	8,18 ± 1,09dA	8,98 ± 1,13cA	11,01 ± 0,94
VCM	48,65 ± 3,11cde	46,59 ± 3,56de	45,62 ± 4,73e	51,56 ± 7,43abcA	49,25 ± 6,28bcdA	53,40 ± 4,24aA	52,17 ± 3,73abA	45,18 ± 4,26
HCM	15,62 ± 0,97a	16,03 ± 3,59a	15,34 ± 1,11a	16,34 ± 2,42a	15,15 ± 1,18a	15,48 ± 1,67a	16,23 ± 7,66a	15,03 ± 1,24
CHCM	32,06 ± 0,99a	31,77 ± 5,87a	32,95 ± 1,16a	31,83 ± 2,30a	31,11 ± 3,71abA	29,11 ± 3,24bcA	27,17 ± 5,68cA	33,40 ± 1,23
RDWcv	7,08 ± 0,86a	7,02 ± 0,96a	6,69 ± 0,90ab	6,32 ± 1,03bA	5,67 ± 0,96cA	5,34 ± 0,80cA	6,44 ± 1,26abA	7,38 ± 1,01
HEM	33,50 ± 2,79a	33,01 ± 2,73a	32,68 ± 3,10a	31,82 ± 3,66abA	28,30 ± 3,78cdA	27,18 ± 3,63dA	29,43 ± 3,64bcA	34,77 ± 3,79

Médias seguidas por letras minúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas por letra maiúscula na mesma linha diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

Tabela 2 Valores médios e desvios padrões das concentrações de leucócitos totais - LEUtot (μL), neutrófilos bastonetes - NBAST (μL), neutrófilos segmentados - NSEG (μL), monócitos - MONO (μL), eosinófilos - EOSI (μL), linfócitos - LINF (μL) e plaquetas - PLAQ ($\times 10^6$) de éguas no período de transição (GT) e éguas em manutenção (GM)

Parâmetros Sanguíneos	Fases do Período de Transição (GT)							Grupo em Manutenção
	Gestação		Parto			Lactação		
	T-60	T-30	T-15	T0	T+15	T+30	T+60	
Leucograma								
LEUtot	8401,15 \pm 1451,83a	8223,08 \pm 1691,51a	9385,77 \pm 1728,74a	9495,12 \pm 4257,17a	8220,77 \pm 1206,58a	8102,31 \pm 1449,41a	8146,92 \pm 1830,80a	8376,86 \pm 3048,33
NBAST	77,15 \pm 61,99a	42,75 \pm 46,53a	53,47 \pm 61,62a	96,50 \pm 205,00a	54,33 \pm 72,08a	61,23 \pm 69,66a	86,03 \pm 94,76a	61,00 \pm 68,31
NSEG	4849,77 \pm 969,31a	4768,96 \pm 1149,51a	5676,69 \pm 1261,01a	5450,05 \pm 2947,41a	5098,38 \pm 1206,25a	4651,87 \pm 1033,51a	5679,71 \pm 6136,74a	5533,18 \pm 1482,59
MONO	228,88 \pm 153,44c	527,65 \pm 180,03bA	514,78 \pm 160,39bA	493,33 \pm 464,24cA	654,75 \pm 362,94abA	727,23 \pm 326,20Aab	783,67 \pm 234,12aA	210,86 \pm 139,77
EOSI	457,85 \pm 293,12b	281,35 \pm 172,66b	272,60 \pm 181,18b	241,64 \pm 248,96cA	325,60 \pm 250,13b	395,13 \pm 262,46b	670,47 \pm 384,63aA	392,09 \pm 359,18
LINF	2728,04 \pm 995,31ab	2595,67 \pm 725,48a	2965,99 \pm 741,55a	2706,71 \pm 1769,70a	2084,50 \pm 961,47bA	1873,34 \pm 722,99bA	1862,30 \pm 1073,28bA	3048,23 \pm 1189,33
Plaquetas								
PLAQ	140,15 \pm 28,27b	173,85 \pm 38,63a	185,54 \pm 55,23a	200,42 \pm 104,37a	171,38 \pm 49,68a	216,73 \pm 174,23a	162,12 \pm 34,50a	183,55 \pm 50,68

Médias seguidas por letras minúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas por letra maiúscula na mesma linha diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

Tabela 3 Valores médios e desvios padrões das concentrações de ferro ($\mu\text{g/dL}$), proteína (g/dL), albumina (g/dL), globulina (g/dL) e fibrinogênio (mg/dL) de éguas no período de transição (GT) e éguas em manutenção (GM)

Parâmetros Sanguíneos	Fases do Período de Transição (GT)							Grupo em Manutenção
	Gestação		Parto			Lactação		
	T-60	T-30	T-15	T0	T+15	T+30	T+60	
Ferro	145,72 \pm 107,58a	102,06 \pm 24,06a	109,62 \pm 20,23a	131,05 \pm 63,83a	100,05 \pm 19,25a	97,05 \pm 20,77a	75,50 \pm 36,23a	108,20 \pm 63,79
Proteína	7,50 \pm 0,46bc	7,72 \pm 0,59abc	7,95 \pm 0,59aA	7,85 \pm 0,86ab	7,44 \pm 0,66c	7,34 \pm 0,78c	7,58 \pm 0,52ab	7,40 \pm 0,55
Albumina	3,73 \pm 0,22ab	3,63 \pm 0,25b	3,95 \pm 0,23aA	3,64 \pm 0,63b	3,80 \pm 0,53ab	3,70 \pm 0,32ab	3,68 \pm 0,27ab	3,57 \pm 0,27
Globulina	3,76 \pm 0,55ab	4,09 \pm 0,65ab	3,99 \pm 0,65ab	4,23 \pm 1,16a	3,62 \pm 0,78b	3,75 \pm 0,89ab	3,89 \pm 0,58ab	3,82 \pm 0,59
Fibrinogênio	300 \pm 116,62bc	484,62 \pm 212,96aA	223,08 \pm 86,29c	392,31 \pm 183,12ab	353,85 \pm 206,36ab	407,69 \pm 222,57ab	383,62 \pm 186,96ab	300,00 \pm 123,44

Médias seguidas por letras minúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas por letra maiúscula na mesma linha diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

4.6. Discussão

Foram detectadas variações significativas nos constituintes hematológicos de éguas Mangalarga Marchador durante o período de transição mantidas à pasto. Essas alterações são similares a outros estudos realizados em éguas durante diferentes fases de gestação, parto e lactação (Orozco et al., 2007; Aoki et al., 2013; Meliani et al., 2014; Fontequé et al., 2016). Apesar desta semelhança, foi importante avaliar essa classe de animal durante esse período e nesse tipo de manejo, pois a maioria dos animais dessa raça são criados num sistema semelhante aos do presente ensaio. Além disso, até o presente estudo não tinham sido realizadas pesquisas avaliando os parâmetros sanguíneos em éguas Mangalarga Marchador durante o período de transição mantidas a pasto.

O sangue e os fluidos corpóreos apresentam alterações durante a gestação para suprir as necessidades do desenvolvimento fetal e placentário, com importantes variações no volume sanguíneo e nos seus componentes (Carlin e Alfirevic, 2008). No último trimestre é detectada atividade anabólica (Vincze et al., 2015) mais intensa, decorrente de maior demanda nutricional para o crescimento fetal. Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que houve redução progressiva e gradual na quantidade de eritrócitos nas éguas durante o período de transição, principalmente em T0, T+15 e T+30 ($P < 0,05$). Enquanto no T+60, houve pequeno acréscimo no número desta célula, apesar de não significativo, quando comparado a gestação e parto (Tabela 1). Esse achado sinaliza que ao redor desse período (T+60) começa a ocorrer recuperação dos índices hematimétricos nos animais.

O hematócrito e a hemoglobina apresentaram comportamento similar aos eritrócitos, com decréscimo em T+15 e T+30 e discreto aumento em T+60 (Tabela 1). Em éguas nesta fase, ocorre expansão da volemia sanguínea, aproximadamente de 30 a 50%. Esse evento pode ser decorrente de fatores como a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, promovendo aumento no volume de líquidos no organismo (Cheung e Lafayette, 2013), resultando no incremento na reabsorção de sódio renal e retenção de água (Bazzano et al., 2014b). Este sistema tem importante função nas demandas cardiovasculares, hematológicas e hemodinâmicas impostas pelo desenvolvimento do feto e placenta, tendo influência direta na viabilidade fetal e peso ao nascer (Satué e Domingo, 2011). Porém, nesse evento observa-se apenas aumento na parte líquida do sangue sem ocorrer acréscimo proporcional na massa eritrocitária, resultando em hemodiluição. Como consequência, registra-se redução no número de

eritrócitos, no hematócrito e na concentração da hemoglobina, gerando o aparecimento de anemia por diluição como citou Chandra et al. (2012). Estas afirmações elucidam as mudanças nos valores de eritrócitos detectadas nesse período.

Diminuição nos valores do hematócrito e hemoglobina em éguas no período de transição, também foram obtidos por Bazzano et al. (2014b), ressaltando-se que os valores mais baixos obtidos foram registrados no pós-parto, confirmando os resultados do presente ensaio. Segundo os referidos autores, esse evento provavelmente deveu-se ao maior consumo de água pelos animais no terço final de gestação gerado pelo acréscimo de líquido na placenta e no feto. Essa afirmação difere da citada por Cheung e Lafayette (2013). Resultados similares ao presente ensaio também foram obtidos por Hunka et al. (2015).

Estudo realizado com éguas gestantes em diferentes fases da gestação e início da lactação, Nagel et al. (2016) descreveram o controverso aparecimento de hemoconcentração ao redor do parto, onde de acordo com os autores pode ser decorrente de extravasamento de fluídos durante o parto, o que difere dos resultados da presente pesquisa. O discreto aumento nos valores de eritrócitos, hematócrito e hemoglobina registrado em T+60 (Tabela 1) pode estar relacionado com a redução nos requerimentos energéticos necessários à produção de leite. Com isso, parte da rota energética que era utilizada nesta via será empregada na produção de células sanguíneas.

Animais da espécie equina não expressam aumento na hematopoiese com a presença de reticulócitos no sangue periférico e sim pela presença de macrocitose (aumento no valor do VCM) e anisocitose. Segundo Tvedten (2010), em equinos o VCM > 53fl é indício de resposta na hematopoiese. Nos animais da presente pesquisa observou-se esse aumento no valor do VCM no T+30 ($P < 0,05$), sinalizando que houve resposta do organismo a redução do número de eritrócitos (Tabela 1). Desta forma, pode-se inferir que o pequeno aumento registrado no número de eritrócitos em T+60 tem a participação da resposta medular. Satué et al. (2009) também obtiveram aumento do volume corpuscular médio em éguas gestantes de diferentes idades.

Semelhante a outras pesquisas com éguas (Taylor-Macallister et al., 1997; Aoki e Ishii, 2012) a hemoglobina corpuscular média (HCM) não diferiu ao longo da fase experimental. Já a CHCM apresentou variações. Sua concentração diminuiu ($P < 0,05$) em T+30 e T+60. Quando se avalia a redução no índice desta variável associada ao aumento dos valores do VCM e RDWcv em T+30 e T+60 (Tabela 1), detecta-se a presença de hipocromia, macrocitose e anisocitose. Como citado anteriormente, ocorre

hemodiluição progressiva e gradual decorrente da expansão da volemia em éguas no período de transição, confirmados no presente ensaio. Em determinado momento, o organismo inicia uma resposta a esta alteração. Ela se traduz no aumento da hematopoiese, que nos equinos é caracterizada principalmente por macrocitose e anisocitose no sangue periférico.

Ao avaliarmos a presença da hipocromia, macrocitose e anisocitose associados ao decréscimo de número de eritrócitos e do hematócrito (Tabela 1), conclui-se que nessa fase em éguas instala-se anemia macrocítica hipocrômica regenerativa de baixa intensidade ou podendo também ser denominada de anemia regenerativa, pois como citaram Stockham e Scott (2011) a presença concomitante de macrocitose e anisocitose sustentam a presença de eritrócitos jovens no sangue periférico.

Embora tenham ocorrido variações ($P < 0,05$) na quantidade de plaquetas, monócitos, eosinófilos e linfócitos, elas foram de pequena intensidade (Tabela 2). O fato de terem permanecido na faixa de referência para a espécie equina (Grondin e Dewitt, 2010) confirma que as alterações detectadas foram discretas, sinalizando a inexistência de significado clínico para esse achado. Ausência de alteração nos valores do leucograma também foi registrado por Orozco et al. (2007) em éguas no final da gestação.

O valor do ferro sérico não diferiu ($P > 0,05$) entre os grupos e tempos avaliados (Tabela 2). Enquanto a proteína e albumina séricas apresentaram aumento ($P < 0,05$) no seu valor médio em T-15 e T0 (Tabela 3). Este incremento detectado no terço final da gestação pode ser resultado de variações hormonais (Milinkovic-Tur et al., 2005) como os glicocorticoides, que favorecem a mobilização de proteínas extra-hepática e o transporte de aminoácidos aos hepatócitos. Os aminoácidos mobilizados nas células do fígado auxiliam na síntese de glicose, à qual é a principal fonte de energia para o embrião (Satué e Montesinos, 2013). Estes autores encontraram resultados semelhantes na quantidade de proteínas, em éguas espanhola avaliadas no terço final da gestação.

O aumento no valor da proteína sérica também pode estar associado ao acréscimo na produção de globulinas necessárias a formação do colostro. A quantidade de globulina não diferiu entre os grupos ($P < 0,05$) assim como em estudo realizado por Harvey et al. (2005), entretanto, no grupo de éguas em transição maior valor médio foi observado no T0 (parto) (Tabela 3). Segundo Mariella et al. (2014) a globulina se mantém concentrada na glândula mamária como constituinte do colostro no final da gestação.

Aoki e Ishii (2012) em estudo realizado com éguas antes da parição, no parto e até quatro primeiras semanas de lactação, observaram maior quantidade de proteína, albumina e globulina no parto. Os autores explicaram que redução na quantidade de albumina e aumento na globulina causa variação na proteína sérica, e que o aumento temporário da albumina pode ser resultado de desidratação, o que não foi observado neste estudo. Ainda assim, pode-se observar maior concentração de albumina aos quinze dias antes do parto (T-15). Os valores médios foram maiores no grupo de transição, contudo, apenas o T-15 diferiu ($P < 0,05$) do GM (Tabela 3). Este aumento coincide com uma ampliação de síntese proteica (Satué e Montesinos, 2013) no fígado (Milinković-Tur et al., 2005). Resultado semelhante para albumina foi obtido por Mariella et al. (2014), ao contrário dos estudos de Milinković-Tur et al. (2005) e Satué e Montesinos (2013).

O fibrinogênio é um pró-coagulante e durante a gestação sua concentração se mantém elevada em comparação ao período não gestacional (Hill e Pickinpaugh, 2008), além de ser considerado uma proteína de fase aguda, podendo aumentar em resposta a um estímulo inflamatório (Mariella et al., 2014). De modo geral, observou-se um aumento nas quantidades de fibrinogênio durante o período de transição, entretanto estes valores se mantiveram dentro do intervalo de referência para a espécie (Grondin e Dewitt, 2010). Bazzano et al. (2014a) em estudo realizado com éguas no período de gestação e pós-parto, obtiveram maior concentração de fibrinogênio ao redor do parto. Gentry et al. (1992) em estudo realizado com éguas saudáveis, pode-se observar que os valores de fibrinogênio aumentaram gradualmente até o parto. Oliveira (2013) explicou que um incremento no valor do fibrinogênio após o parto pode ser consequência de um processo inflamatório que se instala no útero, contudo no presente estudo as éguas não apresentaram inflamação. O incremento do fibrinogênio pode ser causado por estímulos inflamatórios gerados por mediadores inflamatórios envolvidos em torno do parto.

Os exames laboratoriais visam o monitoramento de saúde nos animais. O período de transição gera mudanças em todos os sistemas, incluindo o hematológico, a fim de suprir as demandas do feto e da placenta, além de proteger a égua. O presente estudo possuiu limitações. O sistema extensivo de criação ao qual às éguas eram submetidas e a impossibilidade de alteração no manejo, não possibilitou um jejum pré-coleta, nem a realização de qualquer tipo de suplementação nutricional. Apesar disto, os autores acreditam que estes fatores não interferiram nos resultados obtidos.

4.7. Conclusão

Durante o período de transição as éguas Mangalarga Marchdor mantidas à pasto apresentam hipocromia, macrocitose e anisocitose, acompanhada por redução no número de eritrócitos e hematócritos. As concentrações das características hematológicas e bioquímicas avaliadas permaneceram na grande maioria, dentro dos valores fisiológicos à espécie, demonstrando que as variações metabólicas são decorrente de processos adaptativos do organismo materno.

4.8. Referências Bibliográficas

Aoki, T., Ishii, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). *Journal Equine Veterinary Science*, v.32, n.3, p.170-176, 2012.

Aoki, T., Honda, H., Ishii, M. Immunologic profiles of peripheral blood leukocytes and serum immunoglobulin G concentrations in perinatal mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). *Journal Equine Veterinary Science*, v.33, n.11, p.989-995, 2013.

Bazzano, M., Giannetto, C., Fazio, F., Marafioti, S., Giudice, E., Piccione, G. Hemostatic profile during late pregnancy and early postpartum period in mares. *Theriogenology*, v.81, n.4, p.639-643, 2014a.

Bazzano, M., Giannetto, C., Fazio, F., Rizzo, M., Giudice, E., Piccione, G. Physiological adjustments of haematological profile during the last trimester of pregnancy and the early post partum period in mares. *Animal Reproduction Science*, v.149, n.3-4, p.199-203, 2014b.

Bazzano, M., Giannetto, C., Arfuso, F., Giudice, E., Piccione, G. Metabolic profile of broodmares during late pregnancy and early post-partum. *Reproduction in Domestic Animal*, v.49, n.6, p.947-953, 2014c.

Carlin, A., Alfirevic, Z. Physiological changes of pregnancy and monitoring. *Best Practice e Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, v.22, n.5, p.801-823, 2008.

Chandra, S., Tripathi, A.K., Mishra, S., Vaish, A.K. Physiological changes in hematological parameters during pregnancy. *Indian J Hematol Blood Transfus*, v.28, n.3, p.144-146, 2012.

Cheung, K.C., Lafayette, R.A. Renal physiology of pregnancy. *Advanced in Chronic Kidney Disease*, v.20, n.3, p.209-214, 2013.

Fonteque, J.H., Ceccatto, M.L., Bagio, R.M., Schaden, J., Saito, M.E., Martins, V.V., Fonteque, G.V., Martins, E., Ramos, A.F., Albuquerque, M.S.M., Costa, D. Hematological profile, total plasma protein and fibrinogen concentrations of clinically healthy adult Campeiro horses. *Ciência Rural*, v.46, n.1, p.144-149, 2016.

Gentry, P.A., Feldman, B.F., Liptrap, R.M. Haemostasis and parturition revisited: comparative profiles in mammals. *Comparative Haematology International*, v.1, n.3, p.150-154, 1991.

Grondin, T.M., Dewitt, S.F. Normal hematology of the horse and donkey. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, editors. *Schalm's veterinary hematology*, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010, p. 821-828.

Hadden, D.R., McLaughlin, C. Normal and abnormal maternal metabolism during pregnancy. *Seminars in Fetal Neonatal Medicine*, v.14, n.2, p.66-71, 2009.

Harvey, J.W. Pate, M.G., Kivipelto, J., Asquith, R.L. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. *Veterinary Clinic Pathology*, v.34, n.3, p.248-254, 2005.

Hill, C.C., Pickinpaugh J. Physiologic changes in pregnancy. *Surgical Clinics of North America*, v.88, n.2, p.391-401, 2008.

Hunka, M.M., Silva, E.R.R., Vaz, S.G., Ferreira, L.M.C., Manso, H.E.C.C.C., Manso Filho, H.C. Avaliação Hematológica de éguas em lactação mantidas a pasto. *Revista Ciência Veterinária nos Trópicos*, v.18, n.2, p.323-325, 2015.

Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D., Schabenberger, O. SAS® for mixed models, 2 ed. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2006.

Manso Filho, H.C., Mckeever, K.H., Gordon, M.E., Costa, H.E.C., Lagakos, W.S., Watford, M. Changes in glutamine metabolism indicate a mild catabolism state in the transition mare. *Journal of Animal Science*, v.86, n.12, p.3424-3431, 2008.

Mariella, J., Pirrone, A., Gentilini, F., Castagnetti, C. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. *Theriogenology*, v.81, n.4, p.526-534, 2014.

Meliani, S., Benallou, B., Hamdi, A., Bouabdelli, S. Influence of Age on Haematological Parameters in Post-Partum Pure Bred Arabian Mares Raised in Tiaret Algeria. *Microbial e Biochemical Technology*, v.7, n.1, p.8-10, 2014.

Milinković-Tur, S., Perić, V., Stojević, Z., Zdelar-Tuk, M., Piršljin, J. Concentrations of total proteins and albumins, and AST, ALT and GGT activities in the blood plasma of mares during pregnancy and early lactation. *Veterinarski Arhiv*, v.75, n.3, p.195-202, 2005.

Nagel C, Trenk L, Aurich J, Wulf, m., Aurich, C. Changes in blood pressure, heart rate, and blood profile in mares during the last 3 months of gestation and the peripartum period. *Theriogenology*, v.86, n.7, p.1866-64, 2016.

Oliveira, A.C., Ribeiro Filho, J.D., Guimaraes, J.D., Silva, A.R., Dantas, W.M.F., Bonfá, L.P., Farias, S.K. Concentração de anticoagulante, tempo e temperatura de armazenagem sobre os parâmetros hematólogicos no hemograma automatizado. *Ciência Rural*, v.40, n.12, p.2521-2526, 2010.

Oliveira, D.P. Biomarcadores fisiológicos do parto de cabras. 2013. 58p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG.

Orozco, C.A.G., Martins, C.B., Angelis, F.H.F.D., Oliveira, J.V., Lacerda-Neto, J.C. Hematological values and total protein of Brasileiro de Hipismo and Breton mares during pregnancy. *Ciência Rural*, v.37, n.6, p.1695-1700, 2007.

SAS Institute Inc 2002: SAS/STAT® 9.0 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Satué, K., Blanco, O., Munoz, A. E-related differences in the hematological profile of Andalusian broodmares of Carthusian strain. *Veterinari Medicina*, v.54, n.4, p.175-82, 2009.

Satué, K., Domingo, R. Longitudinal study of the renin angiotensin aldosterone system in purebred Spanish broodmares during pregnancy. *Theriogenology*, v.75, n.7, p.1185-94, 2011.

Satué, K., Montesinos, P. Plasma biochemistry in pregnant Spanish purebred broodmares. *Comparative Clinic Pathology*, v.22, n.1, p.113-117, 2013.

Stockham, S.L., Scott, M.A. Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 2011.

Talbot, L., Maclellan, K. Physiology of pregnancy. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, v.17, n.7, p.341-345, 2016.

Taylor-Macallister, C., Macallister, C.G., Walker, D., Aalseth, D. Haematology and serum biochemistry evaluation in normal postpartum mares. *Equine Veterinary Journal*, v.29, n.3, p.234-235, 1997.

Tvedten, H. Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, editors. Schalm's veterinary hematology, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010, p. 152-161.

Vincze, B., Kutasi, O., Baska, F., Szenci, O. Pregnancy-associated changes of serum biochemical values in Lipizzaner Broodmares. *Acta Veterinaria Hungarica*, v.63, n.3, p.303-316, 2015.

5. CAPÍTULO IV

Bioquímica clínica de éguas Mangalarga Marchador no período de transição

5.1. RESUMO

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Avaliação clínica e laboratorial em éguas Mangalarga Marchador durante o período de transição mantidas à pasto.** Orientador: José Dantas Ribeiro Filho. Coorientadores: Hélio Cordeiro Manso Filho e Luis Augusto Nero.

Mudanças adaptativas no metabolismo podem ocorrer em condições fisiológicas específicas, sendo necessário o conhecimento dos constituintes bioquímicos que possam sofrer variações durante o período de transição. O presente estudo teve como objetivo identificar e avaliar o perfil bioquímico de éguas Mangalarga Marchador, no período de transição. Para isso, foram utilizadas 48 éguas, que formaram um grupo em manutenção (GM), composto por éguas não prenhes e um grupo experimental, chamado de grupo de transição (GT), formado por éguas gestantes e que após o parto passaram a ser lactantes. As coletas de sangue foram realizadas nos seguintes tempos: T-60 (sessenta dias antes do parto), T-30 (trinta dias antes do parto), T-15 (quinze dias antes do parto), T0 (primeiras seis horas após o parto), T+15 (quinze dias após o parto), T+30 (trinta dias após o parto) e T+60 (sessenta dias após o parto). Todos animais foram submetidos as análises bioquímicas, onde foram mensuradas as concentrações de cálcio total, sódio, potássio, cloreto, fósforo, magnésio, ácido úrico, creatinina, ureia, gamaglutamiltransferase, aspartatoamiltransferase, fosfatase alcalina e creatina quinase. Houve diferença ($P < 0,05$) entre os grupos GM e GT nas quantidades de cálcio total, magnésio, sódio, potássio, creatinina, ácido úrico, ureia, fosfatase alcalina e creatina quinase. Já o cloreto e o fósforo não diferiram entre as éguas em manutenção e as em transição, assim como as concentrações enzimáticas de gamaglutamiltransferase e aspartatoaminotransferase. Conclui-se que o período de transição exerce forte influência nos constituintes bioquímicos, evidenciando a demanda metabólica da égua e do feto. É possível monitorar a saúde da égua a partir da aferição e interpretação dos biomarcadores sanguíneos nas éguas em sistema de criação extensivo.

Palavras-chave: Equínos, lactantes, parâmetros metabólicos, prenhez.

Clinical chemistry of mares Mangalarga Marchador in the transition period

5.2. ABSTRACT

SILVA, Micheline Ozana da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Clinical and laboratory evaluation in mares Mangalarga Marchador during the transition period kept on pasture.** Advisor: José Dantas Ribeiro Filho. Co-Advisors: Hélio Cordeiro Manso Filho and Luis Augusto Nero.

Adaptive changes in metabolism may occur under specific physiological conditions, being necessary the knowledge of the biochemical constituents that can undergo variations during the transition period. The present study aimed to identify and evaluate the biochemical profile of Mangalarga Marchador mares, during the transition period. For this, 48 mares were used, which formed a maintenance group (MG), composed of non-pregnant mares and an experimental group, called the transition group (TG), formed by pregnant mares and who after birth became infants. Blood samples were taken at the following times: T-60 (sixty days before delivery), T-30 (thirty days before delivery), T-15 (fifteen days before delivery), T0 (firsty six hours after delivery), T+15 (fifteen days after delivery), T+30 (thirty days after delivery) and T+60 (sixty days after delivery). All animals were submitted to biochemical analysis, in which the concentrations of total calcium, chloride, phosphorus, magnesium, sodium, potassium, uric acid, creatinine, urea, gammaglutamyltransferase, aspartateamyltransferase, phosphatase alocaline and creatine kinase were measured. There was a difference ($P < 0.05$) between the GM and GT groups and between the times evaluated in the amounts of calcium, magnesium, sodium, potassium, creatinine, urea, alkaline phosphatase and creatine kinase. Chloride and phosphorus did not differ between maintenance mares and those in transition, as did the enzymatic concentrations of gammaglutamyltransferase and aspartate aminotransferase. Uric acid differed between groups ($P > 0.05$), GT also showed difference over time. It is concluded that the transition period exerts a strong influence on the biochemical constituents evidencing the metabolic demand of the mare and the fetus. It is possible to monitor the health of the mare as well from the knowledge and evaluation of the metabolic profile of mares submitted to the same management.

Key words: Equines, infants, metabolic parameters, pregnancy.

5.3. Introdução

A gestação é uma condição fisiológica específica caracterizada por ajustes contínuos que influenciam o metabolismo de todos os nutrientes materno (Bazzano et al., 2014c). Neste período, ocorrem alterações nos parâmetros bioquímicos em diferentes fases gestacionais decorrentes do crescimento fetal (Naseema et al., 2017). Condições ideais durante este estágio de vida é fundamental para assegurar um bom desenvolvimento intrauterino, bem como a capacidade de sobrevivência da prole no ambiente externo (Fernandes, 2012).

O período de transição compreende o intervalo de tempo entre o final da gestação, parto e início da lactação (Manso Filho et al., 2008). Durante o final da gestação, ocorre redução na ingestão de alimentos que é acompanhada por uma maior demanda metabólica do feto, e após o parto estas demandas continuam, com o início da produção de leite a fim de suprir as necessidades nutricionais do potro e também para a recuperação da égua no pós-parto (Hura et al., 2017).

O perfil bioquímico em éguas neste período sofre mudanças fisiológicas de modo dinâmico (Fazio et al., 2016), apesar de mecanismos homeostáticos funcionarem para garantir que os seus componentes se mantenham em condições constantes, alguns ajustes podem ocorrer durante a gestação e lactação (Harvey et al., 2005). De acordo Bazzano et al. (2014c) no último trimestre antes do parto ocorre um aumento na demanda nutricional da égua, deixando-a mais susceptível ao desenvolvimento de doenças. A análise de biomarcadores sanguíneos deve ser utilizada na medicina equina para o diagnóstico de diversas doenças que possam levar ao risco de morte para a mãe e o feto.

Muitas alterações durante estas fases podem expressar condições patológicas, pesquisas tem demonstrado alterações nos parâmetros sanguíneos em diferentes fases da reprodução. Harvey et al. (2005) observaram menores concentrações potássio e creatinina durante a lactação, quando comparado ao período gestacional. Em estudos realizados por Holcombe et al. (2016) houve redução na concentração de cálcio ionizado em éguas avaliadas antes e após o parto.

Vários estudos em diferentes raças equestres têm sido realizados a fim de descrever as principais características bioquímicas de éguas no período de transição (Filipovic et al., 2010; Mariella et al., 2014; Hura et al., 2017), contudo, no Brasil ainda são escassas as pesquisas abordando o tema, sobretudo na raça Mangalarga Marchador. Desta forma, o estudo da bioquímica clínica de éguas no período de transição torna-se

importante para o entendimento de diferentes condições que possa acometer o animal. Sendo assim, o presente estudo objetivou identificar e avaliar o perfil bioquímico de éguas Mangalarga Marchador no período de transição. A hipótese do estudo é que éguas gestantes e lactantes da raça Mangalarga Marchador apresentam mudanças nos biomarcadores associados ao período de transição.

5.4. Material e Métodos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV (protocolo nº 95/2015), e conduzido de acordo com as Normas de Condutas no Uso de Animais em Ensino, Pesquisa e Extensão, do Código de Ética Profissional do Médico Veterinário e princípios éticos para pesquisa animal, estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e a Legislação brasileira vigente. A pesquisa foi conduzida na Fazenda Salgada, localizada no município de Itaperuna, no estado do Rio de Janeiro, Brasil. O estudo ocorreu no período de julho a novembro de 2016.

Foram utilizadas 48 éguas da raça Mangalarga Marchador, divididas em dois grupos: grupo em manutenção (GM), formado por éguas não prenhes e não lactantes (n = 22) e grupo experimental (n = 26) chamado de grupo de transição (GT), composto por éguas gestantes e que após o parto passaram a ser lactantes. Os animais possuíam idade entre cinco e quinze anos, todas hípidas, selecionadas de um rebanho contendo 180 animais, criadas na Fazenda Salgada. Os animais do grupo em transição foram selecionados de acordo com o controle de cobertura da propriedade, de modo a se obter um conjunto de éguas, cuja data provável de parição se concentrasse nos 30 dias de maior frequência de parto. O sistema de criação ao qual as éguas foram mantidas era de regime extensivo, permanecendo em piquetes (com aproximadamente 300 m²) contendo capim Tifton (*Cynodon spp.*), água e sal mineral comercial (Coequi Plus, Tortuga) *ad libitum*, mantidas a pasto. Duas semanas antes do parto, as éguas foram transferidas para piquetes maternidade, onde foram mantidas até o momento do parto sem nenhuma alteração na dieta. Após a parição as éguas eram transferidas para um piquete com capim Tifton, contendo apenas éguas paridas, nas mesmas condições do manejo inicial. Todos os animais participaram do programa estabelecido pela fazenda para vacinação e controle de endo e ectoparasitas. Para a realização das avaliações as éguas percorriam uma distância de aproximadamente 2 km entre o piquete e uma área de manejo com tronco. Neste local

para manejo os animais eram contidos em tronco e só a partir daí eram realizadas as avaliações clínicas e na sequência as coletas de sangue.

As éguas foram submetidas a coleta de sangue para análises bioquímicas, que eram realizadas sempre entre as oito as onze horas da manhã. As éguas do GM foram avaliadas apenas em um único tempo: T-60 (primeira coleta de todos os animais), já as éguas do GT foram avaliadas em sete momentos diferentes: T-60 (sessenta dias antes do parto); T-30 (trinta dias antes do parto); T-15 (quinze dias antes do parto); T0 (primeiras seis horas após o parto); T+15 (quinze dias após o parto); T+30 (trinta dias após o parto) e T+60 (sessenta dias após o parto).

As coletas de sangue foram realizadas sem prévio jejum, após antisepsia, por venopunção da jugular, utilizando agulhas descartáveis e frascos a vácuo siliconizados sem anticoagulante, 10 mL (Labor Import, Osasco, SP, Brasil). Imediatamente após a coleta, os frascos foram mantidos em temperatura ambiente (aproximadamente 27 °C) até a retração do coágulo, em seguida foram centrifugados a 1500g (Centrífuga Excelsai 2206, Fanem, Guarulhos, SP, Brasil), durante cinco minutos, e na sequência o soro foi aliquotado em microtubos. Os microtubos foram imediatamente congelados a -20 °C. Todas as análises foram realizadas em aparelho automático Humastar 300 (Human, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG), exceto as análises de sódio e potássio, às quais foram mensuradas por Fotometria de Chama.

No soro, foram mensurados o cálcio total (Método Colorimétrico. O-cresoltaleína-complexa CFC, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), magnésio (Método Colorimétrico. Azul de Xilidila, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), cloreto (método Colorimétrico. Trocianato de Mercúrio, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), fósforo (Método Colorimétrico. Molibdato de Amônio, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), sódio e potássio (Método Fotometria de Chama, Modelo B462, MicroNal S.A. São Paulo, SP, Brasil), creatinina (Método Cinético colorimétrico. Bioclin – Quibasa Clínica Básica LTDA. Belo Horizonte, MG, Brasil), ureia (Método GLDH, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), creatina quinase (Enzimático Liqui-UV. Creatino quinase – EC 2.7.3.2, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG, Brasil), ácido úrico (Método Enzimático Colorimétrico UOD-PAP, Bioclin – Quibasa Clínica Básica LTDA. Belo Horizonte, MG, Brasil), gamaglutamiltransferase (Método Cinético Colorimétrico de acordo com Persinjn & van der Slik. Padronizado contra o método IFCC L-y-glutamyl transferase, In Vitro diagnóstica Ltda, Itabira, MG), aspartatoamiltransferase (Método Cinético UV, Bioclin, Quibasa Química Básica Ltda,

Belo Horizonte, MG), fosfatase alcalina (Método Cinético IFCC, Bioclin – Quibasa Clínica Básica LTDA. Belo Horizonte, MG, Brasil).

Para a análise dos dados, foi utilizado o *Statistical Analysis System* (SAS, 2002). Os dados foram avaliados pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Bartlett para verificação de normalidade dos erros e homogeneidade de variâncias, respectivamente, e as variáveis que não atenderam as premissas da ANOVA foram submetidas à transformação raiz quadrada ($y' = \sqrt{y + 0,5}$).

Os dados referentes às éguas gestantes foram analisados em modelos mistos lineares com parcelas repetidas no tempo utilizando o PROC MIXED (SAS, 2002), com estrutura de covariâncias autorregressiva e animal como efeito aleatório (Littell et al., 2006), de acordo com o modelo matemático: $Y_{ij} = X_{ijk}\beta_k + Z_{ijk}b_{ik} + e_{ij}$

Em que, Y_{ij} = variável dependente; X_{ijk} = covariável associada ao efeito fixo β_1, \dots, β_p (tempo); Z_{ijk} = covariável associada ao efeito aleatório b_{1i}, \dots, b_{qi} (animal); e_{ij} = erro aleatório. Para a comparação de médias (*Least square means*) foi utilizado o teste t com ajuste de Tukey-Kramer para as variáveis pouco instáveis ($CV < 15\%$) e ajuste pelo teste t para variáveis instáveis ($CV > 15\%$). Adicionalmente, as médias dos tempos foram comparadas ao grupo manutenção pelo teste de Dunnett. O nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$.

5.5. Resultados

No período experimental a média das temperaturas foram de 17,4°C e 28,6°C, mínima e máxima, respectivamente, e a média de umidade relativa do ar foi de 49%. Durante o estudo não houve nenhuma intercorrência que compromettesse as análises. As éguas se mantiveram híidas, todos os partos foram eutócicos e ocorreram durante a madrugada sem auxílio humano.

Como pode ser observado na figura 1, menor concentração de cálcio total foi obtido nas éguas em manutenção ($2,79 \pm 0,53$), sendo diferente ($P < 0,05$) das éguas do grupo de transição aos sessenta dias após o parto (T60). Nas éguas do GT houve diferença ($P < 0,05$) entre o T+15 e T+60, com maiores quantidades de cálcio no T+60 ($3,15 \pm 0,31$) e menores no T+15 ($2,97 \pm 0,36$).

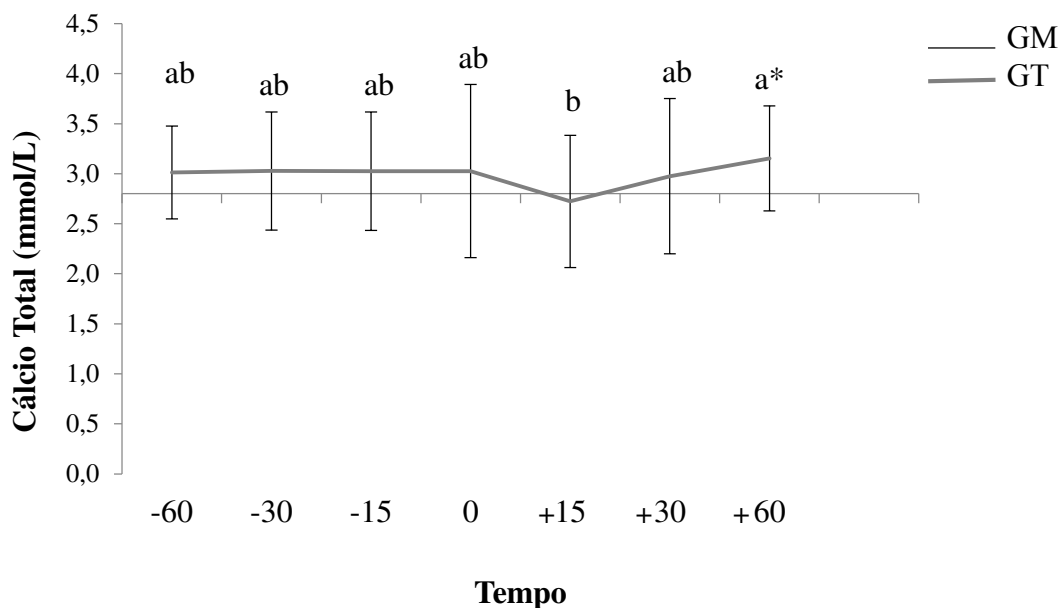


Figura 1. Concentração de cálcio total de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnett.

Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os grupos nas quantidades de cloreto. Porém as éguas em transição apresentaram maiores valores médios ($P < 0,05$) no T-15 ($101,85 \pm 7,55$) e menores no T0 ($90,65 \pm 28,85$). A concentração de magnésio foi maior ($P < 0,05$) no GM ($1,96 \pm 0,64$) do que no GT nos tempos T-15 ($1,45 \pm 0,32$), T0 ($1,30 \pm 0,37$), T+15 ($1,26 \pm 0,54$) e T+30 ($1,34 \pm 0,50$). No GT as quantidades diferiram ($P < 0,05$) entre os tempos avaliados (Figura 2). O GM foi semelhante ($P > 0,05$) ao GT nas quantidades de fósforo. Já as éguas do GT quando comparadas ao longo dos tempos avaliados, apresentou diferença ($P < 0,05$) entre no T-30 e T-60, T-15, T0, T+15 e T+60 (Tabela 1).

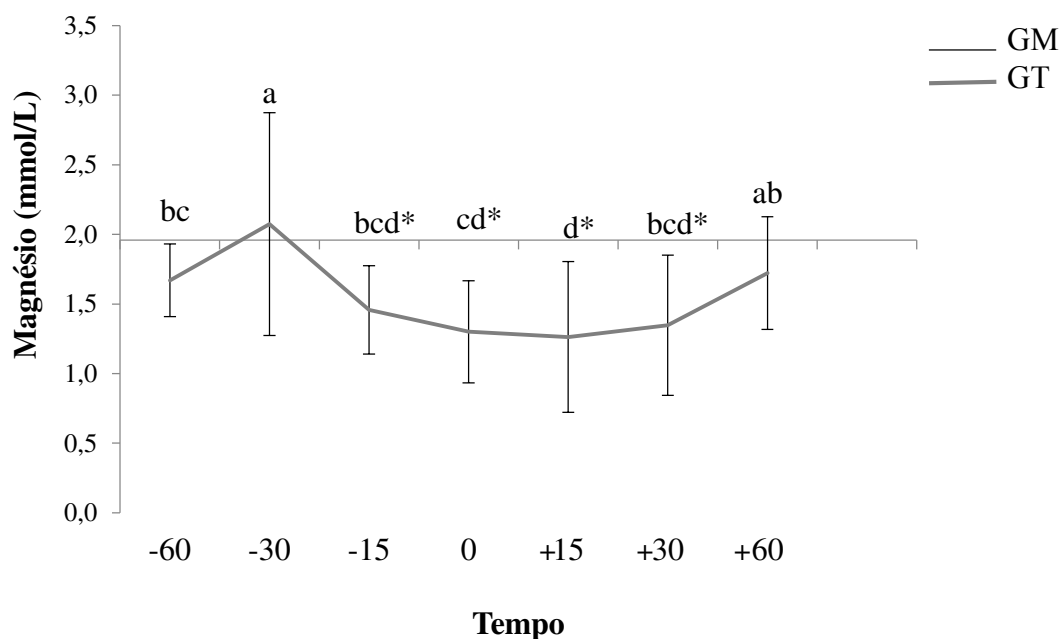


Figura 2. Concentração de magnésio de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnett.

Houve diferença ($P < 0,05$) na quantidade de sódio entre o GM ($154,60 \pm 10,87$) e GT nos tempos T0 ($170,07 \pm 10,38$) e T+60 ($131,68 \pm 19,60$). Ao longo dos tempos avaliados, as éguas do GT apresentaram diferentes quantidades de sódio ($P < 0,05$) (Figura 3). Tanto no grupo de éguas em manutenção quanto nas éguas em transição os valores de sódio estavam acima do intervalo de referência para a espécie equina, exceto nos tempos T+15 e T+60.

Os valores médios de potássio foram diferentes ($P < 0,05$) entre os grupos GM e GT (T-15, T0 e T+60) (Figura 4). O grupo GT também diferiu ($P < 0,05$) na quantidade de potássio ao longo dos tempos. As éguas no T60 tiveram menores quantidades de potássio quando comparas aos demais tempos avaliados. As éguas no T+15 também diferiram das éguas nos tempos T-15 e T0. Observou-se uma redução progressiva nos valores médios de potássio nas éguas durante a lactação.

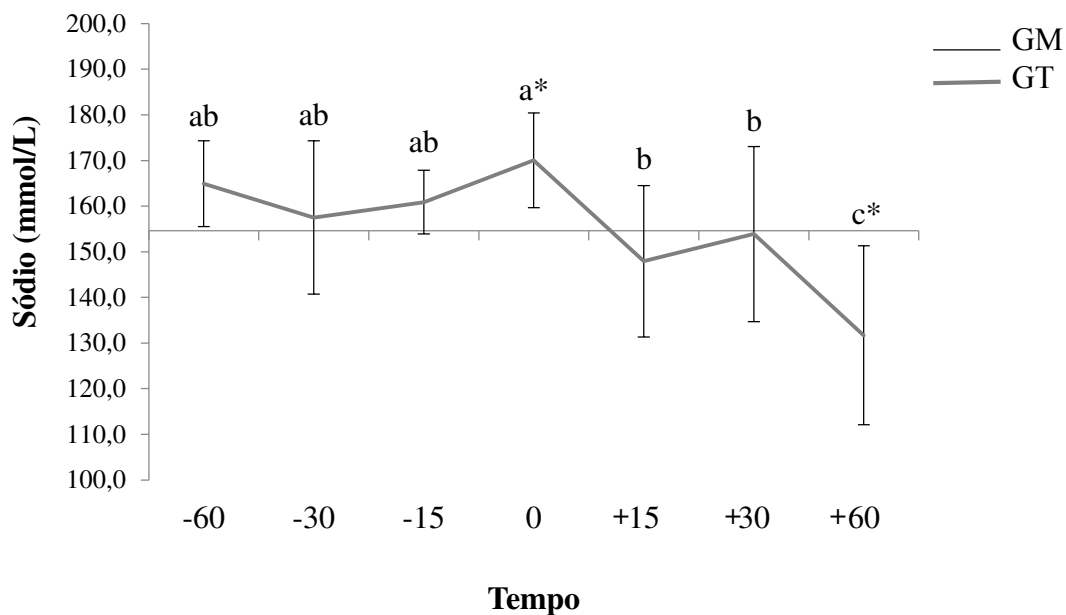


Figura 3. Concentração de sódio de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

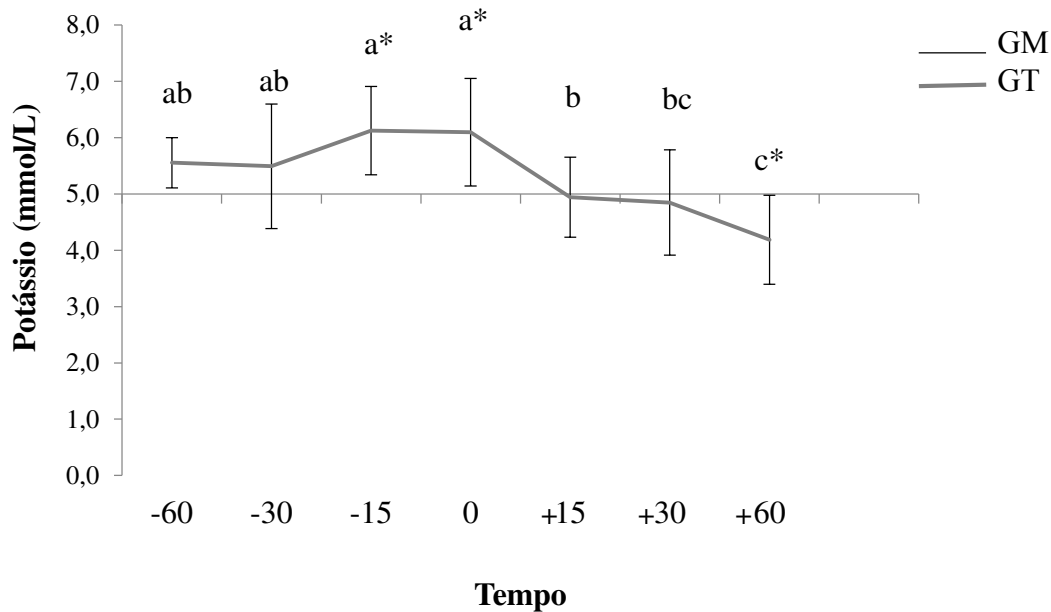


Figura 4. Concentração de potássio de éguas em manutenção (GM) e transição (GT). Letras minúsculas diferem o GT ao longo do tempo ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras seguidas por * diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

Tabela 1 Valores médios e desvios padrões das concentrações de macro-minerais: cálcio total (mmol/L), cloreto (mmol/L), magnésio (mmol/L), fosforo (mmol/L), sódio (mmol/L), potássio (mmol/L), em éguas no período de transição (GT) e éguas em manutenção (GM)

Parâmetros Sanguíneos	Fases do Período de Transição (GT)							Grupo em Manutenção
	Gestação		Parto			Lactação		
	T-60	T-30	T-15	T0	T+15	T+30	T+60	
Cálcio Total	3,01 ± 0,65ab	3,02 ± 0,40ab	3,02 ± 0,17ab	3,02 ± 0,36ab	2,72 ± 0,36b	2,97 ± 0,36ab	3,15 ± 0,31aA	2,79 ± 0,53
Cloreto	98,60 ± 2,64ab	98,91 ± 3,09ab	101,85 ± 7,55a	90,65 ± 28,85b	97,24 ± 3,61ab	99,04 ± 3,43ab	98,61 ± 3,40ab	95,15 ± 3,36
Magnésio	1,67 ± 0,26bc	2,07 ± 0,80a	1,45 ± 0,32bcdA	1,30 ± 0,37cdA	1,26 ± 0,54dA	1,34 ± 0,50bcdA	1,72 ± 0,40ab	1,96 ± 0,64
Fósforo	1,40 ± 0,24a	1,08 ± 0,19b	1,43 ± 0,30a	1,34 ± 0,30a	1,25 ± 0,19a	1,27 ± 0,21ab	1,43 ± 0,34a	1,28 ± 0,32
Sódio	164,91 ± 9,39ab	157,51 ± 16,79abc	160,88 ± 6,98ab	170,07 ± 10,38aA	147,92 ± 16,57c	153,89 ± 19,19bc	131,68 ± 19,60dA	154,60 ± 10,78
Potássio	5,55 ± 0,58ab	5,49 ± 0,96ab	6,12 ± 0,84aA	6,09 ± 0,45aA	4,94 ± 1,41b	4,84 ± 0,71bc	4,18 ± 0,50cA	5,00 ± 0,62

Médias seguidas por letras minúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas por letras maiúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

O ácido úrico diferiu entre o GM ($P < 0,05$) e o GT (T-30). O GT apresentou diferença ($P < 0,05$) ao longo dos tempos, com maior valor médio observado no T-30 ($1,00 \pm 0,15$) e menor no T+30 ($0,65 \pm 0,09$). A concentração de creatinina variou ($P < 0,05$) entre os grupos GM e GT (T-30, T-15 e T0), com maiores valores médios nos respectivos tempos. Houve diferença ($P < 0,05$) entre os tempos nas éguas em transição. Nas éguas avaliadas durante a gestação e parto os valores médios de creatinina apresentaram aumento progressivo, seguido pela redução durante o período de lactação (Tabela 2).

As éguas em manutenção apresentaram maior ($P < 0,05$) concentração de ureia do que as éguas em transição (GT) nos tempos T-60 e T-30, embora os valores obtidos se mantiveram dentro da referência para a espécie. No grupo GT houve diferença ($P < 0,05$) ao longo dos tempos avaliados conforme pode ser observado na tabela 2.

As concentrações enzimáticas de gamaglutamiltransferase (GGT) e aspartatoaminotransferase (AST) não diferiram ($P > 0,05$) entre os grupos das éguas em manutenção (GM) e transição (GT) e nem entre os tempos avaliados. As quantidades enzimáticas se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie equina, conforme pode ser observado na tabela 3.

Para as concentrações de fosfatase alcalina (FA) maiores valores ($P < 0,05$) foram observadas no GM quando comparadas as do GT (T-60, T+15, T+30 e T+60). Nas éguas em transição houve diferença ($P < 0,05$) entre os tempos T+15 e T+60, sendo as maiores ($397,50 \pm 128,35$) e menores ($332,35 \pm 102,34$) quantidades de FA observadas nos respectivos tempos.

Houve diferença ($P < 0,05$) nas concentrações séricas de creatina quinase (CK) entre GM e GT (T-30, T-15, T0, T+15, T+30, T+60). Ao longo dos tempos avaliados, as éguas em transição apresentaram diferença ($P < 0,05$) nas quantidades de CK. Os tempos T-60, T-30 e T+15 diferiram entre si, com maiores concentrações obtidas no T-60 ($656,12 \pm 204,53$) e menores no T+15 ($33,34 \pm 70,91$) (Tabela 3).

Tabela 2 Valores médios e desvios padrões das concentrações de ácido úrico (mg/dL), creatinina (mg/dL) e ureia (mmol/L) em éguas no período de transição (GT) e éguas em manutenção (GM)

Parâmetros Sanguíneos	Fases do Período de Transição (GT)							Grupo em Manutenção
	Gestação		Parto		Lactação			
	T-60	T-30	T-15	T0	T+15	T+30	T+60	
Ácido úrico	0,85 ± 0,15abc	1,00 ± 0,15aA	0,88 ± 0,08ab	0,93 ± 0,27a	0,71 ± 0,14bc	0,65 ± 0,09c	0,82 ± 0,15abc	0,79 ± 0,14
Creatinina	1,22 ± 0,28b	1,40 ± 0,22aA	1,48 ± 0,27aA	1,49 ± 0,25aA	1,11 ± 0,19bc	1,01 ± 0,16c	0,99 ± 0,11c	1,13 ± 0,15
Ureia	4,98 ± 0,95cA	5,26 ± 1,15bcA	5,93 ± 1,15ab	5,97 ± 1,31ab	5,91 ± 1,27abc	6,34 ± 1,28a	6,47 ± 1,16a	6,51 ± 1,49

Médias seguidas por letras minúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas por letras maiúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

Tabela 3 Valores médios e desvios padrões das concentrações séricas de enzimas: aspartatoaminotransferase – AST (U/L), gama-glutamyltransferase – GGT (U/L), fosfatase alcalina – FA (U/L) e cretina quinase – CK (U/L) em éguas no grupo de transição (GT) e no grupo em manutenção (GM)

Parâmetros Sanguíneos	Fases do Período de Transição (GT)							Grupo em Manutenção
	Gestação			Parto		Lactação		
	T-60	T-30	T-15	T0	T+15	T+30	T+60	
AST	226,85±16,63a	238,96±17,45a	236,46±13,07a	239,38±25,35a	242,38±19,90a	226,41±24,51a	224,96±30,29a	243,00±29,08
GGT	24,41±4,75a	24,75±4,71a	24,16±4,09a	23,03±6,19a	23,61±8,94a	22,27±7,06a	25,15±7,22a	22,15±3,66
FA	350,00±78,53abA	396,79±135,40ab	397,50±128,35a	393,15±102,89ab	366,12±115,73abA	346,77±97,16abA	332,35±102,34bA	455,45±140,77
CK	656,12±204,53a	492,25±152,29bA	410,64±153,44bcA	429,38±181,81bcA	331,34±70,91cA	384,30±86,37bcA	412,60±101,29bcA	621,10±104,06

Médias seguidas por letras minúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas por letras maiúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) do grupo em manutenção pelo teste de Dunnet.

5.6. Discussão

O presente estudo demonstrou mudanças em grande parte dos biomarcadores sanguíneos, como os macrominerais (Ca^{++} , Cl^- , Mg^{++} , Na^+ , P , K^+), enzimas (FA e CK), ureia, creatinina e ácido úrico nas éguas em transição (Tabelas 1, 2 e 3). A quantidade de minerais presente no organismo pode sofrer influência de acordo com a fase reprodutiva em que o animal se encontra, e isto interfere tanto na fertilidade quanto na gestação (Ali et al., 2013). Sendo assim, existe a necessidade de valores próprios para animais em diferentes estados fisiológicos, assim como para tipos de amostras distintas (Berlin e Aroch, 2009).

Os macrominerais apresentaram alterações durante o período de transição, corroborando com resultados obtidos em outros estudos (Bazzano et al., 2016; Hura et al., 2017). Elementos como o cálcio, cloreto, fósforo, magnésio, sódio e potássio fazem parte de estruturas químicas de diversas moléculas biológicas envolvidas em processos que regulam o organismo (Hura et al., 2017). Grande parte da deposição de minerais no feto, como por exemplo, o cálcio e fosforo, ocorre nos últimos dois meses de gestação, sugerindo que nesta fase o desenvolvimento fetal é mais intenso (Kavazis et al., 2002). É nas duas semanas que antecedem o parto e as duas primeiras semanas de lactação que ocorrem as maiores mudanças nos eletrólitos presentes no soro da égua (Bazzano et al., 2016) como pode ser observado na tabela 1.

A homeostase do cálcio na égua ocorre por meio da regulação do transporte materno via placenta, e durante a gestação este mineral é requisitado principalmente para atender as necessidades do esqueleto fetal, sendo possível que este controle seja um mecanismo intrínseco do feto (Care, 1997). No último trimestre gestacional o feto se torna maior e um aumento na atividade anabólica pode ser observado (Vincze et al., 2015). Neste estudo, os valores médios de cálcio total se mantiveram dentro do intervalo de referência proposto para a espécie, sendo os maiores valores observados nas éguas em transição durante o período gestacional, parto e aos sessenta dias após o parto, que pode ser decorrente de maior reserva de cálcio durante estes períodos. Kovasc (2015) explicou que durante a gestação, o feto necessita de aproximadamente 30g de cálcio para mineralização óssea e para manter os processos fisiológicos normais, já o recém-nascido requer mais do que esta quantidade, obtido pelo leite materno, durante os seis primeiros meses de lactação. Em estudo com éguas da raça Mangalarga Marchador foi demonstrado que a produção de leite é crescente até o segundo mês de lactação e a partir daí decresce

(Santos et al., 2005), o que demonstra uma maior demanda nutricional nos primeiros trinta dias de lactação. No presente estudo os menores valores de cálcio foram observados nos primeiros trinta dias de lactação T+15 e T+30, respectivamente, conforme pode ser observado na figura 1 e tabela 1.

Por sua vez, Berlin e Aroch (2009) registraram menor valor médio deste mineral em éguas prenhes no terço final da gestação, quando comparadas a éguas não-prenhes e éguas lactantes (sete dias após o parto). Os autores citam que é difícil avaliar os resultados entre estudos, pois estes podem derivar de condições distintas nas metodologias laboratoriais, bem como sofrer influência de fatores ambientais, nutricionais e de manejo. Mariella et al. (2014) também observaram menor quantidade deste elemento no dia do parto quando comparado a éguas não gestantes.

Os valores de cloreto permaneceram dentro da referência preconizada para equinos (Kaneko et al., 2008), apesar da diferença entre o T-15 e o T0 nas éguas do período de transição (Tabela 1). Assim como em estudos realizados por Nagel et al. (2016) e Naseema et al. (2017), o presente ensaio obteve aumento na quantidade desse elemento ao final da gestação. O cloreto exerce importante função no organismo, tais como regulação da pressão osmótica, do equilíbrio hidroeletrolítico e ácido base (Gonzáles e Silva, 2006). Aumento na quantidade de cloreto observada vinte dias antes do parto foi atribuído por Naseema et al. (2017) a uma discreta desidratação que ocorre antes do parto. No presente ensaio, este elemento não diferiu entre os grupos, entretanto, os menores valores foram observados no parto e início da lactação (Tabela 1). Estes resultados podem estar relacionados com a excreção deste eletrólito na lactação.

Diferentemente de outros estudos que a quantidade de magnésio não sofreu alteração (Hura et al., 2017) ou foi mais elevado no parto e pós-parto (Mariella et al., 2014), neste estudo os valores de magnésio foram menores em torno do parto (T-15, T0) e início da lactação (T+15 e T+30), apesar de todas as éguas do experimento apresentaram valores de magnésio acima da referência (0,9 a 1,15 mmol/L) para equinos (Kaneko et al., 2008) (Figura 2). Este macromineral está envolvido na contração muscular (Mariella et al., 2014), está presente nos ossos e participa da atividade neuromuscular (Gonzáles e Silva, 2006). Os valores obtidos podem estar relacionados com maior quantidade deste elemento na dieta, entretanto não foi possível a mensuração deste elemento na dieta dos animais, já que os mesmos permaneciam em sistema de criação extensivo.

Os resultados obtidos nas concentrações de fósforo não apresentaram significado clínico, já que os mesmos não diferiram entre os grupos e permaneceram no intervalo de

referência preconizado na literatura (Kaneko et al., 2008), apesar de alterações ocorrerem nas éguas em transição, com menor valor sendo observado aos trinta dias antes do parto. Este elemento tem importante função no metabolismo energético e nos ossos, e juntamente com o cálcio compreende aproximadamente 70% do conteúdo mineral do corpo e até 50% dos minerais presentes no leite (Bazzano et al., 2016). Apesar de não ter ocorrido diferença entre o parto e os primeiros trinta dias de lactação, é possível observar um decréscimo na concentração deste biomarcador, que pode ser decorrente de um desvio desse elemento para o leite no início da lactação, pois a produção de colostro exige grandes quantidades de fósforo (Menezes e Ribeiro Filho, 2011).

O valor do sódio no soro das éguas em manutenção (GM) e em transição (GT) encontravam-se acima da referência proposta para equinos (Kaneko et al., 2008), exceto no T+15 e T+60. Os maiores índices foram registrados na gestação e no parto, conforme resultados obtidos por outros estudos (Harvey et al., 2005; Bazzano et al., 2016). Naseema et al. (2017), avaliando éguas em diferentes fases gestacionais, relataram maior quantidade deste mineral antes do parto. Os referidos autores atribuem este resultado a uma discreta desidratação nas éguas. Na gravidez, ocorre retenção de sódio e água a fim de manter a pressão sanguínea normal (Calin e Alfievic, 2008), já que durante este período é comum ocorrer uma queda na pressão arterial decorrente de alterações hormonais. O aumento na concentração de sódio durante este período estar relacionado ao sistema renina-angiotensina-aldosterona que regula diretamente a excreção deste elemento e a pressão arterial entre mãe e feto (Bazzano et al., 2016). A maior quantidade de sódio obtida no soro dos animais em transição pode estar relacionada não apenas com as mudanças decorrentes do período de transição, mas também pode ser uma característica extrínseca dos animais desta propriedade, já que também foi encontrada maior concentração deste elemento nos animais em manutenção.

Comportamento semelhante ao sódio foi observado no potássio, com valores acima da referência citado na literatura, exceto no T+60 (Tabela 1). A redução nos valores de potássio a partir da lactação pode ser decorrente de um aumento na atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona (Nagel et al., 2016) e pode estar relacionado com maior retenção de sódio e cloreto durante a gestação. Harvey et al. (2005) também obtiveram menor quantidade de potássio durante a lactação. Essa redução durante a lactação pode estar relacionada com a migração deste elemento do soro da égua para o leite.

Poucas pesquisas com éguas em transição e outras espécies durante o período avaliam as quantidades de ácido úrico no sangue. Este elemento é um antioxidante que

protege contra a peroxidação lipídica e oxidação de proteínas e carboidratos (Kirschvink et al., 2008). Durante a gestação, ocorre um aumento na demanda de oxigênio, o que causa maior estresse oxidativo (Górecka et al., 2002). No presente estudo, a concentração de ácido úrico diferiu entre os grupos, com maiores quantidades em torno do parto e progressiva redução nos primeiros trinta dias de lactação (Tabela 2). Górecka et al. (2002) avaliaram éguas no 6º mês de gestação, duas semanas antes e quatro semanas após o parto, e não encontraram diferença entre éguas gestantes e lactantes. É possível que o aumento na concentração de ácido úrico em torno do parto seja um mecanismo de proteção do organismo contra o estresse oxidativo que ocorre na gestação.

A creatinina é uma molécula produzida a partir da creatina fosfato presente no metabolismo muscular, sendo facilmente eliminada da circulação por meio da urina. Por este fato, a sua concentração no sangue pode indicar o mal funcionamento renal (Hura et al., 2017). Normalmente, é encontrada em baixa concentração no sangue devido ao aumento da taxa de filtração renal, entretanto, em condições patológicas pode haver aumento da sua quantidade no sangue (Chang e Streitman, 2012). Durante a gestação e parto, maior valor médio de creatinina pode ser observado, com redução progressiva durante a lactação (Tabela 2). Resultados semelhantes também foram obtidos por Harvey et al. (2005) e Hura et al. (2017) quando compararam éguas da raça Lipzzan no terço final da gestação com éguas lactantes. Vincze et al. (2015) obtiveram maiores valores de creatinina correlacionados positivamente ao tempo gestacional.

O aumento nos valores de creatinina em GT-30, GT-15 e GT0 pode ser atribuído à produção pelo metabolismo materno-fetal, já que na ausência do feto os valores de creatinina decresceram (Tabela 2) (Mariella et al., 2014; Hura et al., 2017). Harvey et al. (2005) citaram que a redução detectada durante a fase de lactação, tanto na concentração da creatinina quanto da ureia, pode ocorrer devido a diminuição da massa muscular decorrente do aumento no seu catabolismo durante a lactação, o que detectado nos animais do presente estudo (Tabela 2). Segundo Talbott e Maclennan (2016), a ureia e a creatinina podem apresentar valores até 40% menor na gravidez. Bazzano et al. (2014c), Mariella et al. (2014) e Vincze et al. (2015) registraram valores médios de ureia maiores nas éguas em manutenção do que nas éguas em transição, mas especificamente nas gestantes, contudo, os valores observados em ambos os grupos permaneceram dentro da referência para a espécie. Os autores relataram uma tendência a redução nas concentrações de ureia com o passar do período gestacional, sendo justificado devido um

aumento do anabolismo proteico causado pelo incremento do metabolismo fetal e consumo de proteínas na fase final de desenvolvimento do feto.

As enzimas GGT e AST permaneceram dentro dos valores de normalidades para equinos, sendo iguais em ambos os grupos (Tabela 2). Vincze et al. (2015) encontraram resultados semelhantes ao presente estudo. A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima presente no fígado e nos ossos, e durante a gestação ocorre mudança na sua quantidade (Vincze et al., 2015). O grupo de éguas em transição apresentou valores menores quando comparado ao grupo em manutenção, contudo, é descrito na literatura o aumento da FA decorrente de uma produção adicional pela placenta (Talbot e MacLennan, 2016) e maior produção enzimática decorrente do crescimento ósseo fetal (Satué et al., 2013). O aumento na concentração sérica da CK pode ser causado por uma intensa atividade muscular (Taylor-Macallister et al., 1997), além de lesão do músculo esquelético, embora outros tecidos possam influenciar (Vincze et al., 2015). É possível que o resultado obtido no presente estudo seja decorrente da atividade muscular já que as éguas eram mantidas livremente em piquetes e no momento antes das coletas elas não se encontravam em repouso.

5.7. Conclusão

Conclui-se que o período de transição exerce influência nos constituintes bioquímicos presentes no sangue das éguas, a fim de manter a homeostase. Ocorrem aumentos nas concentração de sódio, potássio e magnésio de éguas durante o período de transição, mantidas à pasto. O estudo demonstrou ser possível monitorar a saúde da égua a partir da aferição e interpretação dos biomarcadores sanguíneos nas éguas em sistema de criação extensivo.

5.8. Referências bibliográficas

Ali, F., Lodhi, L.A., Qureshi, Z.I., Ahmad, I., Hussain, R. Serum mineral profile in various reproductive phases of mares. *Pakistan Veterinary Journal*, v.33, n.3, p.296-299, 2013.

Andreazzi, M.A., Cavalieri, F.B., Emanuelli, I.P., et al. Avaliação da bioquímica sanguínea em éguas gestantes. *Archives of Veterinary Science*, v.20, n.2, p.147-155, 2015.

Aoki, T., Ishii, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). *Journal Equine Veterinary Science*, v.32, n.3, p.170-176, 2012.

Bazzano, M., Giannetto, C., Arfuso, F., Giudice, E., Piccione, C. Metabolic profile of broodmares during late pregnancy and early post-partum. *Reproduction Domestic Animal*, v.49, p.947-953, 2014c.

Bazzano, M., Giudice, E., Giannetto, C., Fazio, F., Scollo, C., Piccione, G. The peripartum period influenced the serum macromineral profile in mares. *Archives Animal Breeding*, v.59, p.65-70, 2016.

Berlin, D., Aroch, I. Concentrations of ionized and total magnesium and calcium in healthy horses: Effects of age, pregnancy, lactation, pH and sample type. *The Veterinary Journal*, v.181, n.3, p.305-311, 2009.

Care, A.D. Fetal calcium homeostasis. *Equine Veterinary Journal*, v.24, p.59-61, 1997.

Carlin, A., Alfirevic, Z. Physiological changes of pregnancy and monitoring. *Best Practice e Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, v.22, n.5, p.801-823, 2008.

Chang, J., Streitman, D. Physiologic Adaptations to Pregnancy. *Neurologic Clinics*, v.30, n.3, p.81-789, 2012.

Fazio, E., Medica, P., Cravana, C., Bruchetta, G., Ferlazzo, A. Seasonal thyroid and lipid profiles in Thoroughbred pregnant and nonpregnant mares (*Equus caballus*). *Theriogenology*, v.85, n.9, p.1582-1589, 2016.

Fernandes, C.B. Monitoring of the last third of gestation and peripartum disorders. *Animal Reproduction*, v.9, n.3, p.173-181, 2012.

Filipovic, N., Sotojevic, Z., Prvanovic, N., Tucek Z. The influence of late pregnancy and lactation on bone metabolism in mares. *Research in Veterinary Science*, v.88, n.3, p.405-410, 2010.

Fonteque, J.H., Ceccatto, M.L., Bagio, R.M., Schaden, J., Saito, M.E., Martins, V.V., Fonteque, G.V., Martins, E., Ramos, A.F., Albuquerque, M.S.M., Costa, D. Hematological profile, total plasma protein and fibrinogen concentrations of clinically healthy adult Campeiro horses. *Ciência Rural*, v.46, n.1, p.144-149, 2016.

González, F.H.D., Silva, S.C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2 ed. Ed. UFRGS, Porto Alegre. 2006.

Górecka, R., Kleczkowski, M.W., Kluciński, W., Kasztelan, R., Sitarska, E. Changes in antioxidant components in blood of mares during pregnancy and after foaling. *Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy*, v.46, n.2, p.01-305, 2002.

Harvey, J.W. Pate, M.G., Kivipelto, J., Asquith, R.L. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. *Veterinary Clinic Pathology*, v.34, n.3, p.248-254, 2005.

Holcombe, S.J., Emberston, R.M., Kurtz, K.A., Roessner, H.A., Wismer, S.E., Geor, R.J., Kaneene, J.B. Increased serum nonesterified fatty acid and low ionised calcium concentrations are associated with *post partum* colic in mares. *Equine Veterinary Journal*, v.48, n.1, p.39-44, 2016.

Hura, V., Novotný, F., Valocký, I., Boldizar, M., Bílek, J., Hornáková, P., Vilhanová, Z., Hornák, S., Petrovic, V. Changes of biochemical environment and body weight in healthy periparturient Lipizzan mares. *Acta Veterinaria Brno*, v.86, n.1, p.67-74, 2017.

Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. *Clinical biochemistry domestic animals*. (6^a ed.). London, Elsevier, 2008.

Kavazis, A.N., Kivipelto, J., Ott, E.A. Supplementation of broodmares with copper, zinc, iron, manganese, cobalt, iodine, and selenium. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.22, n.10, p.460-464, 2002.

Kirschvink, N., de Moffarts, B., Lekeux, P. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*, v.177, n.2, p.178-191, 2008.

Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D., Schabenberger, O. SAS[®] for mixed models, 2 ed. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2006.

Manso Filho, H.C., Mckeever, K.H., Gordon, M.E., Costa, H.E.C., Lagakos, W.S., Watford, M. Changes in glutamine metabolism indicate a mild catabolism state in the transition mare. *Journal of Animal Science*, v.86, n.12, p.3424-3431, 2008.

Mariella, J., Pirrone, A., Gentilini, F., Castagnetti, C. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. *Theriogenology*, v.81, n.4, p.526-534, 2014.

Menezes, R.M., Ribeiro Filho, J.D. Concentrações de cálcio, magnésio, fósforo e glicose de vacas leiteiras no pós-parto. *Veterinaria E Zootecnia*, v.18, n.4, Supl.3, p.552-555, 2011.

Nagel C, Trenk L, Aurich J, Wulf, M., Aurich, C. Changes in blood pressure, heart rate, and blood profile in mares during the last 3 months of gestation and the peripartum period. *Theriogenology*, v.86, n.7, p.1856-1864, 2016.

Naseema, U., Vairamuthu, S., Balachandran, C., Ravikumar, G. Serum biochemical profile during gestation period Thoroughbred mare in Chennai. *Indian Veterinary Journal*, v.92, n.12, p.32-34, 2017.

Santos, E.M., Almeida, F.Q., Vieira, A.A., Pinto, L.F.B., Corassa, A., Pimentel, R.R.M., Silva, V.P., Galzerano, L. Lactação em éguas da raça Mangalarga Marchador: Produção e composição do leite e ganho de peso dos potros lactentes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.2, p.627-634, 2005.

SAS Institute Inc 2002: SAS/STAT[®] 9.0 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Satué, K., Montesinos, P. Plasma biochemistry in pregnant Spanish purebred broodmares. *Comparative Clinic Pathology*, v.22, n.1, p.113-117, 2013.

Talbot, L., Maclellan, K. Physiology of pregnancy. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, v.17, n.7, p.341-345, 2016.

Taylor-Macallister, C., Macallister, C.G., Walker, D., Aalseth, D. Haematology and serum biochemistry evaluation in normal postpartum mares. *Equine Veterinary Journal*, v.29, n.3, p.234-235, 1997.

Vincze, B., Kutasi, O., Baska, F., Szenci, O. Pregnancy-associated changes of serum biochemical values in Lipizzaner Broodmares. *Acta Veterinaria Hungarica*, v.63, n.3, p.303-316, 2015.

6. CONCLUSÕES GERAIS

A partir dos resultados obtido no estudo, pode-se concluir que o período de transição em éguas saudáveis da raça Mangalarga Marchador mantidas à pasto compreende mudanças nas condições corporais e metabólicas que estão associadas à fase reprodutiva na qual as éguas se encontram. Este período compreende a passagem de uma intensa atividade anabólica para a catabólica, marcada por mudança no metabolismo das éguas.

1. Ocorrem mudanças na condição corporal e nos constituintes metabólicos dos animais decorrentes de adaptações fisiológicas. No período de transição, as éguas apresentam um balanço energético negativo, que é compensado por maior mobilização de tecido adiposo. As avaliações clínicas e metabólicas são necessárias à espécie, durante o período, pois refletem a condição de saúde nos animais, possibilitando intervenções em casos não fisiológicos, bem como um manejo adequado.

2. Há uma redução no número de eritrócitos, no hematócrito e na concentração de hemoglobina que decorrente de mecanismos de proteção do organismo da égua para garantir que esta possa suprir as necessidades impostas pelo período. As concentrações das características hematológicas avaliadas permaneceram na grande maioria, dentro dos valores fisiológicos à espécie.

3. O período de transição exerce influência nos constituintes bioquímicos evidenciando a demanda metabólica da égua e do feto. Ocorrem variações nas quantidades dos biomarcadores em éguas da raça Mangalarga Marchador mantidas à pasto, tais como cálcio, cloreto, magnésio, sódio, potássio, fósforo, fosfatase alcalina, creatina quinase, creatinina, ureia e ácido úrico. O estudo demonstrou ser possível monitorar a saúde das éguas a partir da aferição e interpretação dos biomarcadores sanguíneos das éguas em sistema de criação extensivo.

6. ANEXOS

Anexo 1 – Valores de referência de eritrograma e plaquetas para equinos

Variável	Valor de referência	Unidade
Eritrócitos	5,5 – 9,5	$\times 10^6/\mu\text{L}$
Hb	8,0 – 14,0	g/dL
HCT	24 – 44	%
VCM	40 – 60	Pg
HCM	15 – 19	Pg
CHCM	26 – 34	%
RDW	17 – 21	%
Plaquetas	200,000 – 300,000	μL

Adaptado a partir de: Grondin, T.M.; Dewitt, S.F. Normal Hematology of the Horse and Donkey. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Ed. Wiley - Blackwell. Cap. 106, 2010, 1206p.

Anexo 2 – Valores de referência da concentração leucocitária absoluta para equinos

Parâmetros	Valor de referência	Unidade
Leucócitos totais	6,000 – 12,000	(/µL)
Diferencial Leucocitário		
Monócitos	100 – 800	(/µL)
Eosinófilos	100 – 900	(/µL)
Basófilos	0 – 200	(/µL)
Neutrófilos Bastonetes	0 – 100	(/µL)
Neutrófilos Segmentados	4,000 – 6,000	(/µL)
Linfócitos	2,000 – 4,000	(/µL)

Adaptado a partir de: Grondin, T.M.; Dewitt, S.F. Normal Hematology of the Horse and Donkey. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Ed. Wiley - Blackwell. Cap. 106, 2010, 1206p.

Anexo 3 – Valores de referência das concentrações bioquímicas para equinos

Variável	Valores de referência	Unidade
Ácidos Graxos não Esterificados	0,00 – 0,46*	mmol/L
Ácido Úrico	0,9 – 1,1	mg/dL
Albumina	26,0 – 37,0	g/L
AST (U/L)	226 – 366	U/L
Cálcio Total	2,8 – 3,40	mmol/L
Cloreto	99 – 109	mmol/L
Colesterol Total	1,94 – 3,89	mmol/L
Creatina quinase	2,4 – 23,4	U/L
Creatinina	1,2 – 1,9	mg/dL
Fibrinogênio	200 – 400	g/dL
Ferro	73 – 140	µg/dL
Fósforo	1 – 1,8	mmol/L
GGT	4,3 – 13,4	U/L
Glicose	4,16 – 6,39	mmol/L
Globulina	26,2 – 40,4	g/L
Magnésio	0,90 – 1,15	mmol/L
Lactato	1,11 – 1,78	mmol/L
Potássio	2,4 – 4,7	mmol/L
Proteína total	52 – 79	g/L
Sódio	132 – 146	mmol/L
Triglicerídeos Total	0,1 – 0,5	mmol/L
Uréia	3,57 – 8,57	mmol/L

Adaptado a partir de: KANEKO, J.J. et al. Appendix VIII Blood Analyte Reference Values in Large Animals^a. In: _____. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. California: Elsevier, 2008. p.882-888.; Grondin, T.M.; Dewitt, S.F. Normal Hematology of the Horse and Donkey. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Ed. Wiley - Blackwell. Cap. 106, 2010, 1206p. *Dugdale, A.H.A., Curtis, G.C., Cripps, P.J., Harris, P.A., Argo, C.Mc.G. Effects of season and body condition on appetite, body mass and body composition in ad libitum fed pony mares. *The Veterinary Journal*, 190, 329-337, 2011.

Anexo 4 - Imagens fotográficas dos animais do estudo







