



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**Anais do I Simpósio de
Patologia Clínica Veterinária
da Região Sul do Brasil**

EDITORES

**Félix H. D. González
Rómulo Campos**

Porto Alegre - RS - 2003

**ANAIS DO
I SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA
VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO
BRASIL**

EDITORES

**Félix H. D. González
Rómulo Campos**

Faculdade de Veterinária
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre - RS
2003

EDITORES

FÉLIX H.D. GONZÁLEZ

Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVET)
Faculdade de Veterinária – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Av. Bento Gonçalves 9090. Porto Alegre - RS 91.540-000 BRASIL
felixgon@orion.ufrgs.br

RÓMULO CAMPOS

Departamento de Ciência Animal
Faculdade de Ciências Agropecuárias - Universidade Nacional da Colômbia
Apartado aéreo 237, Palmira (Valle), COLÔMBIA
romo90@latinmail.com

AUTORES CONTRIBUINTES

NÁDIA ALMOSNY

Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Federal Fluminense
almosny@urb.com.br

ENRICO LIPPI ORTOLANI

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo
ortolani@usp.br

REGINA KIOMI TAKAHIRA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista (Botucatu)
takahira@fmvz.unesp.br

SÔNIA TEREZINHA DOS ANJOS LOPES

Centro de Ciências Rurais – Universidade Federal de Santa Maria
sonia@laborcare.com.br

CIP – CATALOGAÇÃO INTERNACIONAL DA PUBLICAÇÃO

Catálogo na publicação: Biblioteca Setorial da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS. Copyright 2003 by Félix H.D. González & Rómulo Campos. Todos os direitos reservados. Não é permitida a reprodução total ou parcial desta publicação sem a autorização escrita e prévia dos editores.

SUMÁRIO

Prefácio

4

Equilíbrio ácido-básico em Medicina Veterinária

Nádia Almosny

5-16

Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes

Enrico Lippi Ortolani

17-29

Indicadores metabólico-nutricionais do leite

Félix H.D. González & Rómulo Campos

31-47

Distúrbios da hemostasia em veterinária: patogenia e avaliação clínico-laboratorial

Regina Kiomi Takahira

49-64

Características dos derrames cavitários em Veterinária

Sônia Terezinha dos Anjos Lopes

65-72

Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional

Félix H.D. González & Jean Scheffer

73-89

Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes

Enrico Lippi Ortolani

91-102

PREFÁCIO

A presente publicação reúne as palestras proferidas durante o 1º Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, realizado na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, por ocasião da Semana Acadêmica, em maio de 2003.

Este documento reúne matérias de palestrantes da Universidade Estadual Paulista, da Universidade de São Paulo, da Universidade de Federal de Santa Maria e da Universidade de Federal do Rio Grande do Sul. Os temas incluem aspectos de bioquímica clínica, em particular os mecanismos envolvidos nos transtornos do equilíbrio ácido-básico em pequenos animais e em ruminantes, bem como o emprego de fluidos biológicos no diagnóstico de desordens metabólicas e nutricionais, enfatizando a urina, o sangue o leite e os líquidos cavitários. No campo da hematologia é abordado o tema da hemostasia.

Queremos expressar nossos agradecimentos aos palestrantes convidados por seu valioso apoio ao evento e aos alunos formandos do curso de Veterinária da UFRGS de 2003/2, organizadores da Semana Acadêmica. Especial agradecimento manifestamos à Dra. Márcia Regina Cordeiro, do Laboratório Veterinário de Análises Clínicas PETLAB por seu apoio na publicação dos Anais e à firma VETSUL pelo patrocínio no transporte dos palestrantes.

Os editores
Porto Alegre, maio de 2003

EQUILÍBRIO ÁCIDO-BÁSICO EM MEDICINA VETERINÁRIA*

Nádia Almosny

Faculdade de Medicina Veterinária
Universidade Federal Fluminense
almosny@urbi.com.br

Introdução.

A manutenção da vida animal requer uma série de reações químicas. Estas reações podem produzir substâncias acidificantes ou alcalinizantes.

As reações enzimáticas mantêm o funcionamento do organismo e as enzimas são bastante sensíveis a variações de pH (assim como de temperatura).

O sangue é usado como parâmetro para a avaliação do estado ácido-base dos animais, portanto, avaliamos o pH sanguíneo e extrapolamos este dado para os tecidos. Assim, se o pH do sangue é fisiológico, cada tecido também deverá estar em seu pH ideal.

O pH do sangue está próximo da neutralidade com leve tendência à alcalinidade (aproximadamente 7,4). As reações metabólicas, porém, tendem a desviar continuamente este pH para ácido ou básico.

Para evitar que ocorram grandes variações séricas de pH, existem sistemas amortecedores plasmáticos, ou sistemas tamponantes. Os sistemas tamponantes são:

- proteínas plasmáticas
- hemoglobina
- sistema fosfato-ácido fosfórico
- sistema bicarbonato-ácido carbônico

Proteínas plasmáticas.

No meio intracelular é o tampão mais eficiente (o que não ocorre no plasma). O mecanismo de ação ocorre através dos aminoácidos, os quais podem associar ou dissociar H^+ de acordo com a necessidade do sangue e assim, atuar na manutenção do pH fisiológico.

* Almosny, N. (2003). Equilíbrio ácido-básico em Medicina Veterinária. In: González, FH.D., Campos, R. (eds.): *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.5-16.

Hemoglobina.

Como proteína, ela mantém um grande número de grupos ácidos ou básicos. Podem existir também outros grupos tamponantes (grupo imidazol = histidina). Como transportadora de gases, ela aumenta ou diminui sua afinidade pelo gás carbônico, permitindo sua maior liberação (em caso de acidose) ou sua retenção (na alcalose). Grande parte do tamponamento na faixa fisiológica de pH ocorre devido às modificações dos grupos imidazol da histidina.

Os grupos tamponantes da hemoglobina estão associados com os átomos de ferro. Na oxihemoglobina, o oxigênio é transportado pelos átomos de ferro. Quando o oxigênio é removido, as modificações que ocorrem na estrutura eletrônica dos átomos de ferro influenciam o imidazol e os outros grupos tamponantes.

Modificações na dissociação do grupo imidazol relacionam a capacidade tampão da hemoglobina com a sua oxigenação e desoxigenação.

O aumento da acidez favorece a liberação de oxigênio, enquanto que sua redução facilita a fixação de oxigênio. Quando a hemoglobina é desoxigenada, forma compostos carbamínicos e íons H^+ são liberados.

A maior porção do gás carbônico que entra nos eritrócitos é hidratada para formar ácido carbônico por ação da anidrase carbônica. Em seguida o ácido carbônico ioniza-se, formando íons H^+ e íons bicarbonato. Estas reações ocorrem porque os produtos de reação são removidos do eritrócito à medida que se formam, por intermédio de dois processos: a hemoglobina tampona a maioria dos íons H^+ e boa parte do íon bicarbonato difunde para o plasma.

Quando o ácido carbônico ioniza-se, forma um número igual de cátions hidrogênio e ânions bicarbonato. Os íons H^+ se combinam com a hemoglobina e a carga da hemoglobina se reduz. Os íons sódio e potássio são balanceados eletricamente com os bicarbonatos formados, mantendo a neutralidade elétrica da solução.

O dióxido de carbono total do plasma existe de três formas:

- dissolvido no plasma,
- como ácido carbônico, e
- como bicarbonato.

Sistema fosfato - ácido fosfórico.

Abundante nos líquidos tubulares, eficiente no sangue, porém em menor quantidade. Possui grande poder de tamponamento. Atua no transporte de H^+ e de sódio, aumentando as trocas renais para a correção dos desequilíbrios ácido-básicos.

Sistema bicarbonato - ácido carbônico.

Com menor poder de tamponamento, porém mais abundante no plasma, mais facilmente controlado e mais fácil de medir. Assim, ele se torna o mais importante. O líquido céfalo-raquídeo é pobremente tamponado e um pequeno aumento na PCO_2 representa redução significativa de pH.

Ação dos rins no tamponamento de pH.

A função do rim é manter a constância do meio interno. Para isto, ele excreta água, promove a troca de íons e mantém o organismo em equilíbrio.

Os túbulos renais secretam íons H^+ na urina tubular, e para cada mol de ácido secretado, um mol de bicarbonato (base) aparece no sangue.

As células tubulares também secretam potássio na urina tubular e a secreção de íons potássio está inter-relacionada com a de H^+ .

Na acidose respiratória, a taxa de secreção de ácido está elevada e a de potássio reduzida. Por outro lado, na deficiência de potássio, a secreção deste está reduzida e a de H^+ aumentada. Como resultado, ocorre alcalose metabólica de origem renal.

O pH mínimo da urina é em torno de 4,5, e isto acontece devido à capacidade tamponante dos rins. Um dos tampões mais importantes é o fosfato.

DISTÚRBIOS ÁCIDO-BASE

Os distúrbios ácido base, poderão estar relacionados a parâmetros respiratórios (CO_2) ou metabólicos (HCO_3). Então, a acidose e a alcalose poderão ser metabólicas ou respiratórias.

Acidose metabólica.

Causas:

- cetoacidose diabética
- inibidores da anidrase carbônica
- insuficiência renal com perda da capacidade de reabsorver o sódio
- acidose láctica – choque
- hipoxemia
- exercício
- toxinas exógenas – etileno-glicol
- ácido salicílico
- acidificantes urinários
- diarreia.

Na diarreia, ocorre aumento do cloro porque os rins corrigem a acidose acompanhando sódio com cloro.

Tratamento:

Segundo Cornellius, deve-se corrigir a patologia de base, pois ela é, geralmente, a que mata o paciente.

O animal somente deve ser tratado em condições extremas de pH (menor que 7,2 ou superior a 7,6) e acrescenta-se o tratamento da causa.

Existem casos em que o próprio tratamento pode induzir a complicações.

Usar agentes alcalinizantes = bicarbonato

Exemplo: Carbicab ($\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$)

No cálculo, considera-se o líquido extra-celular (LEC: 20% do volume total). Por causa do intercâmbio entre LIC e LEC, toma-se como base um volume maior (30%). Não usar fórmulas com base na água corporal total (60%), porque o intercâmbio entre LIC e LEC é lento e isto acarretaria uma superdosagem.

Lembrar também que os processos mórbidos não são estáticos e que os mecanismos de compensação também estão atuando. A quantidade de bicarbonato a medicar segue a seguinte equação:

$$\text{HCO}_3 \text{ meq/l} = 0,3 \times \text{peso corporal (kg)} \times \text{E.B.}^*$$

* E.B. = Excesso de Base: condição ocasionada pela adição de base ou remoção de ácido (pode ser negativo ou positivo).



espaço tratável (30%)

É mais seguro administrar a metade da dose e logo reavaliar o paciente e os valores de gases e do pH do sangue. Se o tratamento da enfermidade primária é eficiente, não é necessário continuar a terapia com o bicarbonato. Neste caso, prefere-se que o próprio paciente normalize o desequilíbrio ácido-base em curso.

Complicações:

1- Formação de mais ácido carbônico, com passagem de CO₂ para as células de L.C.R. (acidose paradoxal do L.C.R.).

2 -Aumento da osmolaridade do LEC com aumento do volume intravascular: problemas em pacientes com insuficiência cardíaca.

3 -A infusão rápida leva a hemorragia intracranial (neonatos).

4 -Sobregiro alcoólico (sobre-correção).

5 -Trocas nos eletrólitos séricos.

pH alcalino - aumenta ligação proteína + cálcio -diminui cálcio iônico = TETANIA

6 -Quando a acidose é corrigida, o potássio se movimenta para o interior da célula, podendo mascarar uma hipocalcemia.

Acidose respiratória.

Elevação da pCO₂ = Hipercapnia

Causas:

- Depressão do centro respiratório, causada por:
 1. drogas anestésicas gerais
 2. opiáceos
 3. traumas de SNC
 4. lesão ocupante de espaço
 5. tumor cerebral
 6. abscesso cerebral
- Afecções respiratórias, tais como:
 1. pneumotórax

2. obstrução de vias aéreas
 3. pneumonia
 4. edema pulmonar
 5. debilidade de músculos respiratórios
 6. polimiopatia
 7. polineuropatia
- Movimento do toráx reduzido devido a:
 - 1 obesidade
 - 2 dor
 - 3 bandagem torácica ajustada
 - 4 hipertermia maligna

Os sistemas amortecedores respondem imediatamente, porém a resposta não é completa e duradoura. A causa original precisa ser corrigida, senão a acidose persistirá.

O aumento da $p\text{CO}_2$ causa vaso-dilatação, aumentando o fluxo sanguíneo cerebral e agravando os sinais neurológicos. Valores superiores a 70 mmHg de CO_2 causam narcose. Observar e considerar este fato quando a recuperação anestésica for retardada.

$p\text{CO}_2$ = estimula o simpático causando:

- taquicardia
- sudorese
- aumento da temperatura corporal
- vaso dilatação periférica
- arritmia (maior no cão): considerar quando se administram outros agentes arritmogênicos, como Halotano e Xilazina

Tratamento:

O tratamento dependerá da causa primária. A acidose respiratória crônica é um desafio, pois muitas etiologias são irreversíveis. Em pneumonias ou obstruções, usar bronco-dilatadores e antibióticos.

Convulsões e arritmias cardíacas são complicações das modificações rápidas da $p\text{CO}_2$.

Hiperventilar somente em casos extremos (casos agudos), para não inibir o estímulo da hipóxia.

Nunca usar bicarbonato em tratamento de acidose metabólica. A utilização do bicarbonato eleva a $p\text{CO}_2$ causando narcose.

Alcalose metabólica.

Causas:

- vômito gástrico puro
- overdose de bicarbonato de sódio (NaHCO_3)
- diminuição do LEC
- diminuição do potássio (atualmente esta hipótese está sendo contestada)
- desidratação
- intoxicação pela uréia (em bovinos).

Compensação:

- A redução da ventilação alveolar é uma forma de compensação praticamente impossível porque ocorre o estímulo hipóxico, o que impede a compensação por esta via (o animal não fica sem respirar).
- A verdadeira compensação é renal, mediante excreção de HCO_3 .
- Níveis de potássio e cloreto séricos influem na excreção de HCO_3 (por causa das trocas) e os rins se tornam culpados pela manutenção da alcalose.
- Sinais clínicos da alcalose metabólica podem ser confundidos com os da hipocalcemia.
- Quando o volume do LEC está reduzido (assim como os níveis de cloro e potássio) não pode ocorrer bicarbonatúria (papel poupador de sódio e água) e a alcalose mantém-se.

Tratamento:

A etiologia deve ser tratada, caso contrário a alcalose se manterá descompensada.

O cloreto de sódio 0,9% promoverá a expansão do LEC e reduzirá o pH.

Em casos de hipocalemia, acrescentar cloreto de potássio nas soluções intravenosas.

Alcalose respiratória.

Hiperventilação - causas:

- calor
- ansiedade
- medo
- dor
- lesões do SNC
- anemia pronunciada (ver acidose metabólica paralela)
- ventilação mecânica aumentada.

Em cães: grave somente quando a pCO₂ está abaixo de 25mmHg.

Alcalose intensa: hiperexcitabilidade do S.N. Periférico = tetania (↓ cálcio)

Tratamento:

Deve-se tratar a causa do distúrbio, conforme a seguir:

- calor: reduzir a temperatura corporal
- lesões do SNC: oxigenioterapia
- dor: analgésicos
- ansiedade: tranquilizantes.

Em casos de anemia e de hiperventilação em geral, é interessante observar o grande aumento da formação de ácido láctico.

Desordens combinadas.

Quando duas ou mais patologias causam distúrbios diferentes. O distúrbio primário sempre tem o pH tendendo para si.

Exemplos:

- 1 - insuficiência renal e vômito: acidose e alcalose, porém o pH está baixo
- 2 - calor intenso: alcalose respiratória e formação de ácido láctico
- 3 - pneumonia e anorexia
- 4 - vômito e hiperventilação
- 5 - nefrite e pneumonia
- 6 - diarreia e vômito.

Gasometria.

Colheita:

Usar seringa heparinizada. Em humanos usa-se sangue arterial sempre (artéria femoral). Em veterinária, preferencialmente deve-se tentar coletar sangue arterial (também artéria femoral após garrotear a coxa do animal por algum tempo).

Levar em conta que anestésiar o animal vai alterar o estado ácido-básico do sangue.

Pode-se utilizar sangue venoso e, neste caso, não devem ser considerados os dados da pO_2 . A diferença de pH entre sangue arterial e venoso é pequena. Existem pequenas variações entre níveis de eletrólitos, porém os valores de pCO_2 e O_2 variarão. Deve-se lembrar que a pCO_2 é maior no sangue venoso e a pO_2 , maior no arterial. Entretanto, a literatura cita vários trabalhos que consideram somente sangue venoso.

A punção deverá ser cuidadosa e não poderá haver ar na seringa (este deverá ser totalmente retirado).

Ao final da punção, após certificar-se da não existência de ar na seringa, vedar totalmente a agulha (por dobramento desta, com tampas apropriadas ou usar uma rolha na ponta da agulha).

O material deverá ser acondicionado em isopor com gelo e enviado imediatamente ao laboratório.

Existem seringas importadas especiais para gasometria, nas quais o sangue poderá aguardar até duas horas para ser analisado. Quando usamos seringas comuns, o tempo máximo deverá ser de meia hora.

Os aparelhos são computadorizados e a análise é feita após injetar-se (com a mesma seringa em que foi coletado) uma pequena quantidade de sangue em orifício apropriado. O resultado é dado em um minuto com as seguintes informações:

- dados
- pH
- pO₂
- pCO₂
- HCO₃
- proporção respiratória/metabólica
- excesso de base (E.B.)
- hemoglobina
- “anion gap” (normalmente calculado)
- potássio, cloreto
- outros (de acordo com o equipamento).

Para a avaliação da gasometria, consideramos como dados indispensáveis:

- 1 pH: varia em torno de 7,4, que é o pH fisiológico do sangue;
- 2 pCO₂: é igual a 40mmHg, aproximadamente, e é mantida pelos pulmões. É o parâmetro respiratório;
- 3 bicarbonato (HCO₃): seu nível fisiológico médio é de 24mEq/l. É o parâmetro metabólico;
- 4 a proporção entre os parâmetros metabólicos (HCO₃) e respiratório (pCO₂) é de 20:1, ou seja, temos que ter 20 partes de HCO₃ para 1 parte de PCO₂.

Por que?

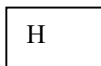
Porque, segundo a equação de Henderson-Hasselbalch, o pH é a relação entre ácidos e bases, ou seja: $\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{base}/\text{ácido}]$

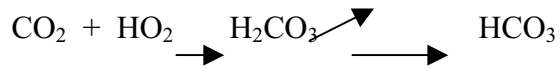
E como fica a equação no final?

$$\text{pH} = 3,7 + \log [20/1]$$

Ou seja, vinte partes de bicarbonato para uma de ácido carbônico.

Observamos aí, que a pCO₂ foi substituída na fórmula pelo ácido carbônico (H₂CO₃), porque já sabemos que:





Se a $p\text{CO}_2$ é dada em mmHg e o HCO_3 em mEq/l, como saber se a proporção é realmente 20:1?

- O aparelho já faz as correções, transformando em mEq/l, multiplicando o valor por 0,03. Portanto, a $p\text{CO}_2$ é dada em mmHg (40) e em mEq/l (1,2).

Se a proporção é de 20:1, o pH é 7,4!!!!

O excesso de base (EB) avalia o parâmetro metabólico:

E.B. negativo = acidose

E.B. positivo = alcalose

Valores normais de EB: 1 a -3 para cães, 1 a -5 para gatos.

Gasometria (interpretação).

1. Ao avaliarmos a gasometria, primeiro verificamos o pH, que indicará acidose ou alcalose.
2. Após verificarmos o estado ácido-base, observamos o parâmetro que está alterado (se metabólico ou respiratório).
3. A redução no nível de HCO_3 acarretará em acidose metabólica.
4. Níveis aumentados de HCO_3 causarão alcalose metabólica.
5. Valores reduzidos na $p\text{CO}_2$ causarão alcalose respiratória.
6. Aumento na $p\text{CO}_2$ causará acidose respiratória.
7. Em caso de desordens combinadas, devemos observar o pH, pois o processo predominante desviará o pH.

Literatura consultada.

- BURTIS C.A., ASHWOOD E.R., TIETZ N.W. 1999. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 1917p.
- CASTRO A.L., HUEHARA M., VIERA C.C. 1994. *Propedêutica do Equilíbrio Hidroelectrolítico e Ácido-Básico*. Rio de Janeiro: Atheneu Editora. 138p.
- DAVENPORT H.W. 1984. *ABC of Acid Base Chemistry*. 6. ed. Chicago: The University of Chicago Press. 280p.
- DiBARTOLA P.S. 2000. *Fluid Therapy in Small Practice*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 611p.
- MEYER D.J., COLES E.H., RICH L.S. 1992. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. Philadelphia: W.B. Saunders. 848p.
- MICHELL A.R. 1991. *Fluidoterapia Veterinaria*. Zaragoza: Editorial Acribia. 273p.
- MURRAY R.K., GRANNER D.K., MAYES P.A, RODWELL V.W. 1996. *Harper's Biochemistry*. 24. ed. Stanford: Longe Medical Publications. 868p.
- ROOTH G. 1978. *Introdução no Equilíbrio Ácido-Base e Electrolítico: Texto para Clínicos e Pediatras*. Rio de Janeiro: Atheneu Editora. 119p.
- SHERDING, R.G. 1994. *The Cat Diseases and Clinical Management*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 2046p.
- STRYER, L. 1995. *Biochemistry*. 4. ed. New York: W.H Freeman and Company. 1064p.

DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE ALTERAÇÕES ÁCIDO-BÁSICAS EM RUMINANTES*

Enrico Lippi Ortolani

Professor Associado
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo
Pesquisador Nível 1C do CNPq
Consultor Veterinário do Programa Globo Rural
ortolani@usp.br

Introdução.

Alterações no equilíbrio ácido-básico em ruminantes são relativamente freqüentes na rotina do atendimento veterinário, em especial os quadros de acidose metabólica. Por não serem muito reconhecidas e diagnosticadas, essas alterações do equilíbrio ácido-básico não são devidamente tratadas, diminuindo o sucesso das terapias empreendidas. Para melhor entendimento do assunto é necessária uma revisão sobre o assunto.

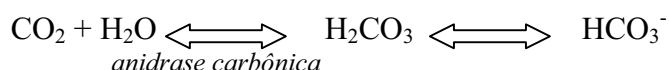
Homeostase do equilíbrio ácido-básico.

Entre as muitas funções que o organismo deve manter em equilíbrio destaca-se a estabilidade do pH dos fluidos corpóreos contidos nos espaços extracelulares, em especial intravascular, e o espaço intracelular. Para tal manutenção o organismo desenvolveu no decorrer da evolução uma série de mecanismos que fazem com que o pH permaneça dentro de limites muito estritos. Em condições normais os ácidos e bases absorvidos ou gerados endogenamente são devidamente tamponados, transformados em outros compostos ou sumariamente eliminados. Entre os órgãos envolvidos no equilíbrio ácido-básico destacam-se os rins, sangue, intestinos, pulmões e o fígado.

A principal forma de combate na eliminação de ácidos é por meio do tamponamento. Para tal, o organismo utiliza-se de ácidos fracos ou de compostos anfóteros, como a hemoglobina e certas proteínas sangüíneas, também com pH próximo da neutralidade. O tampão mais importante e de primeiro combate é o ácido carbônico,

* Ortolani, E.L. (2003). Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes. In: González, FH.D., Campos, R. (eds.): *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.17-29.

que têm um pK^1 bastante alto (6,1). O ácido carbônico, gerador do bicarbonato é sintetizado endogenamente em vários órgãos do corpo, tais como rins, hemácias, fígado, etc. Contudo, depois de formado, o ácido carbônico tem uma estabilidade muito baixa, permanecendo por poucos segundos, sendo transformado em bicarbonato e íon H^+ ou CO_2 e água, dependendo do grau de saturação e da natureza da reação. No esquema abaixo descreve-se a seqüência destas reações que são catalisadas pela anidrase carbônica:



A tendência e direcionamento destas reações foram estudadas por Henderson e Hasselbalch, quem descreveram uma equação clássica de dissociação dos compostos baseado no seu pH, e na razão do logaritmo da concentração de seu sal e do seu ácido, segundo esquema abaixo:

$$pH = pK_a + \log \frac{[sal]}{[ácido]}$$

$$pH = 6,1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

Pelo fato do ácido carbônico ser instável ele é substituído na equação pela pressão de CO_2 no fluido, a qual deve ser multiplicado pela constante 0,3 para que seja calculada sua concentração. Estas modificações fazem com que a fórmula final seja a seguinte:

$$pH = 6,1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{[0,3pCO_2]}$$

Em outras palavras, quanto maior a concentração de bicarbonato no meio, maior será o pH do fluido, ocorrendo o inverso com a pCO_2 . Assim pode-se deparar que num acúmulo de CO_2 no sangue existirá uma diminuição no pH, o que pode significar

¹ O pK é definido como o valor do pH em que metade do ácido está em forma dissociada, com carga negativa; quanto mais alto for o pK mais fraco é o ácido.

biologicamente uma acidose, enquanto que um aumento no teor de bicarbonato representará uma alcalose.

Como o pK do ácido carbônico é menor que 7, o bicarbonato terá sua ação maior na correção das acidoses, sendo mais efetivo quanto baixo for o pH do meio. Assim, em acidoses muito severas recomenda-se o uso de bicarbonato para a correção do equilíbrio ácido-básico.

ESTADOS DE ACIDOSE E ALCALOSE: CONCEITOS, CAUSAS E EFEITOS

Didaticamente, as acidoses e alcaloses podem ser classificadas como metabólicas, respiratórias, ou mistas. No caso de diminuição ou aumento do pH sanguíneo acompanhado de queda ou elevação dos teores de bicarbonato teremos uma acidose ou alcalose metabólica, respectivamente. Na elevação ou queda da pressão de gás carbônico teremos uma acidose ou alcalose respiratória, respectivamente. Na Tabela 1 são apresentadas a classificação e caracterização sintética dos quadros de acidose e alcalose.

Tabela 1. Classificação dos desequilíbrios ácido-básicos com os correspondentes efeitos em algumas variáveis gasométricas.

Desequilíbrio	pH	pCO₂	HCO₃⁻	Excesso ácido-base
Acidose metabólica	↓	↓ (N)	↓	↓
Acidose respiratória	↓	↑	↑ (N)	↑ (N)
Alcalose metabólica	↑	↑ (N)	↑	↑
Alcalose respiratória	↑	↓	↓ (N)	↓ (N)

(N): resposta compensatória.

Como a ocorrência de quadros de acidose é muito mais freqüente que as alcaloses, o organismo animal se adaptou melhor desenvolvendo mecanismos compensatórios para a correção do primeiro estado.

Acidoses metabólicas.

As acidoses metabólicas são causadas primariamente por aumento na produção de íons H⁺ e por perda de bicarbonato do organismo. A produção excessiva de íons H⁺ é muito freqüente e pode ser causada por três diferentes situações: geração de ácido

lático, geração de outros ácidos, menor excreção de íons H^+ do organismo e perda de bicarbonato.

Várias condições podem aumentar a produção exógena ou endógena de ácido láctico. Dentre a geração exógena de ácido láctico cita-se a acidose láctica ruminal, surgindo da intensa e rápida fermentação de carboidratos solúvel ingeridos subitamente por animais adaptados ou não. A produção de ácido láctico no rúmen pode aumentar em mais de 200 vezes, e como seu pK é baixo (3,7) faz com que o pH do suco de rúmen caia de 6 a 7 para valores inferiores a 4,0 (Maruta & Ortolani, 2002a,b). Uma parte relativamente pequena deste ácido é absorvida provocando grave quadro de acidose metabólica, que pode levar o animal à morte. Em condições experimentais, o pH do sangue venoso pode diminuir de 7,35 para até 7,0, exaurindo os teores de bicarbonato de 25 para até 10 mM (Exemplo 1).

Endogenamente, o ácido láctico pode surgir de quadros de levem ao desencadeamento de processos fermentativos anaeróbicos para a produção de energia. No choque hipovolêmico, devido a um avançado quadro de desidratação, como acontece nas diarréias intensas em especial em neonatos, e nos casos de endotoxemia, o organismo diminui a circulação sangüínea periférica para órgãos não-vitais, tais como musculatura e pele, gerando a produção excessiva de ácido láctico (Exemplo 2).

Outra situação que pode levar a um quadro moderado de acidose metabólica é o exercício físico intenso, oriundo de longas e exaustivas caminhadas. Ainda, o ácido láctico pode ser gerado intensamente em quadros de intoxicação pela amônia (uréia), em que a amônia interfere com a eficiência do ciclo de Krebs aumentando subitamente a fermentação anaeróbica.

A geração de outros ácidos orgânicos, que não o ácido láctico, também ocorre com alguma freqüência em ruminantes. A condição mais comum é a cetoacidose presente em ovelhas e cabras com toxemia da prenhez e na acetonemia ou cetose da vaca leiteira. Na primeira enfermidade, a acidose metabólica é muito intensa e é proveniente da formação de corpos cetônicos (acetoacetato e beta-hidroxibutirato) e em menor grau da mobilização de ácidos graxos livres que são compostos bastante ácidos (Exemplo 3). Durante o jejum prolongado, existe uma tendência de ocorrer uma acidose metabólica leve em vacas leiteiras pelo acúmulo de corpos cetônicos e em novilhos pela formação de ácidos graxos livres.

A menor eliminação de íons H^+ pelos rins, como acontece em certas lesões tubulares ou mesmo na anúria, colabora decididamente para a instalação de acidose

metabólica. Desidratação severas provocam menor fluxo sanguíneo renal e conseqüentemente menor produção de urina.

Quadros diarréicos agudos em bezerros lactentes fazem com que estes animais percam quantidades muito apreciáveis de bicarbonato, chegando a eliminar cerca de 10 vezes a mais a quantidade de tampão pelas fezes (Lewis & Phillips, 1972). Além de bicarbonato e outros eletrólitos importantes, como o sódio, potássio e cloretos, as fezes diarréicas causam depleção de água no organismo, que invariavelmente provocam desidratação. Animais com obstrução esofagiana ou com lesões bucais crônicas que cursam com sialorréia continuada podem ter acidose metabólica por perda de bicarbonato salivar.

Frente a uma ação sempre existe uma reação. O organismo acometido por acidose metabólica contra-ataca em duas frentes para diminuir os efeitos de um baixo pH sanguíneo. Os rins aumentam a excreção de íons H^+ pela urina, tornando esta mais ácida, e incrementam a reabsorção de bicarbonato pelos túbulos renais. Por outro lado pode existir ou não um aumento na freqüência respiratória para maior eliminação de CO_2 pelo ar expirado.

O quadro clínico resultante de uma acidose metabólica é muito variável de acordo com a causa primária. Mas chama a atenção a depressão no estado geral, que leva o animal a apresentar um quadro de abatimento, apatia e menor resposta aos estímulos. Nos quadros iniciais também o animal tende a elevar a freqüência respiratória. Toda vez que um animal diminui o pH sanguíneo, existe um estímulo ao centro respiratório para aumentar a ventilação, incrementando a freqüência respiratória. Porém, quando a acidose metabólica é muito intensa, e o pH atinge valores inferiores a 7,1 o centro respiratório se inibe desencadeando uma hipoventilação, que muitas vezes antecede a morte. A síndrome desidratação geralmente acompanha a acidose metabólica, com o surgimento de sinais variados de acordo com a intensidade do quadro.

Acidose respiratória.

Quadros de acidose respiratória são constatados pelo acúmulo de CO_2 na corrente circulatória, devido a uma diminuição na ventilação alveolar, resultando inicialmente numa queda nos teores de O_2 e em seguida um aumento na pressão de CO_2 . Qualquer disfunção que interfira com a ventilação pode causar acidose respiratória, como obstrução respiratória anterior, pneumonias e pneumotórax. Doenças ou drogas

anestésicas ou não que interfiram com o centro respiratório, diminuindo a frequência respiratória podem causar retenção de CO₂. A compensação orgânica na acidose respiratória não é tão eficiente como na acidose metabólica. Mesmo assim, o organismo aumenta a retenção renal de bicarbonato, só que este processo demora alguns dias e é verificado mais em quadros crônicos de acidose respiratória. Animais com acidose respiratória muitas vezes assumem atitude ortopnéica, com o pescoço distendido, as pernas anteriores e as narinas bem abertas, podendo ser acompanhado de dispnéia, respiração superficial e taquipnéia. Em algumas situações pode ser verificada congestão ou cianose das mucosas.

Alcalose metabólica.

Pode ser causada por excesso de retenção de bicarbonato, ou maior perda de íons H⁺ pelo organismo. Alguns tipos de danos tubulares renais, como o constatado logo em seguida a instalação do quadro de intoxicação pelo cobre em ovinos, podem elevar o pH sanguíneo por acúmulo de bicarbonato (Exemplo 4). Alguns problemas digestivos como a dilatação ou impactação do abomaso, e indigestão vaginal posterior fazem com que o ácido clorídrico tenha um refluxo para o rúmen ou fique seqüestrado no órgão não sendo posteriormente reabsorvido pelo duodeno, diminuindo a quantidade de anions cloreto e íons H⁺ na corrente circulatória. Perdas contínuas de íons H⁺ pela urina também têm sido referidas como causadores de alcalose metabólica, em especial quando do uso prolongado de certos diuréticos de atuam na alça de Henle, como a furosemida.

Para diminuir o pH sanguíneo, o organismo diminui a ventilação fazendo com que haja um acúmulo de CO₂ no sangue.

O quadro clínico é muito variável dependendo do grau de alcalose, podendo ocorrer oligopnéia e respiração superficial, depressão no estado geral e intensa apatia.

Alcalose respiratória.

É decorrente de quadros que levem o ruminante a hiperventilação por um longo período, como conseqüência de prolongadas anemias, doenças pulmonares e doença cardíaca congestiva. A compensação é realizada por diminuição na reabsorção de bicarbonato renal o qual se acumula na corrente, levando o organismo a reter também cloreto para aumentar a eletroneutralidade.

Diagnóstico laboratorial.

Deve-se suspeitar de alterações no equilíbrio ácido-básico quando os ruminantes apresentem sinais sugestivos de perda ou seqüestro agudo ou crônico de fluidos e eletrólitos; em distúrbios metabólicos em que predominam reações catabólicas, como os que ocorrem na toxemia da prenhez, acetonemia e anorexia prolongada; em quadros respiratórios agudos ou crônicos em se detecte insuficiência respiratória; e em animais com anemia severa.

Muitos dos desequilíbrios ácido-básicos trazem poucos transtornos ao organismo, pois são transitórios ou devidamente compensados pelo animal. Contudo, em muitas circunstâncias a correção desse status é fundamental para evitar que haja um colapso ou que coloque em risco a vida, por inibição do centro respiratório ou mesmo da bateria enzimática celular, em especial do sistema sangüíneo, que trabalha em faixa restrita de pH.

A prova laboratorial que mais fornece informações é o exame gasométrico, ou também denominado hemogasométrico, realizado no sangue total heparinizado. O grande empecilho deste exame é o equipamento que é caro e encontrado em algumas faculdades, hospitais e laboratórios clínicos de grande porte. O custo por exame gira em torno de US\$ 2,00 e deve ser realizado em até seis horas após a coleta do sangue, sendo que este deve ser mantido refrigerado. A coleta de sangue deve ser feita em condições anaeróbicas, fazendo-se a venopunção com agulhas e seringas de insulina. O sangue venoso coletado da jugular pode ser empregado para o diagnóstico de distúrbios metabólicos, e quando se suspeita de alterações respiratórias opta-se por coleta de sangue arterial. Os resultados dos exames gasométricos devem ser corrigidos pela temperatura retal e os teores de hematócrito de cada animal examinado.

O hemogasômetro avalia o pH sangüíneo e as pressões de CO₂ e O₂ e destes dados o próprio equipamento calcula os teores de bicarbonato, concentração total de CO₂ e teores de excesso de ácido-base (ABE). O resultado do pH sangüíneo é fornecido com duas ou três casas decimais, com grande precisão. Os valores normais de pH de sangue venoso são cerca de 0,5 ponto mais baixo que o arterial. Este menor valor está ligado aos maiores teores de CO₂ existentes no sangue venoso. Na Tabela 2 encontram-se os valores normais hemogasométricos de bovinos criados em nosso meio.

Tabela 2. Valores normais de pH, bicarbonato, excesso de ácido-base (EAB), total de dióxido de carbono, pressão de dióxido de carbono de sangue venoso e pressão de oxigênio de sangue arterial obtidos de bovinos e ovinos adultos criados em condições brasileiras.

Parâmetro	Bovinos	Ovinos
pH	7,29 - 7,40	7,28- 7,42
HCO ₃ (mM)	20 –29	19 – 25
TCO ₂ (mM)	21 –30	19 – 26
EAB (mM)	-2,3 – 3,7	-4 - 2,0
pCO ₂ (mmHg)	33 - 46	34 - 45
pO ₂ (mmHg)	80 –102	83 - 95

Os teores sangüíneos de bicarbonato e de TCO₂ seguem tendências paralelas, sendo que o primeiro é cerca de 95% do valor da TCO₂. Quadros de acidose e alcalose metabólica diminuirão e aumentaram os teores de bicarbonato e de TCO₂, respectivamente.

O excesso de ácido-base (EAB) é medido pela quantidade de ácido clorídrico necessário para atingir o pH 7,4, numa concentração de pCO₂ 40 mmHg e numa temperatura de 37°C. O excesso de base indica indiretamente a quantidade de tampões existentes dentro do sangue, numa dada temperatura e pressão de dióxido de carbono. Por isso, os valores normais não são zero, mas em torno dele. Quanto mais negativos forem os valores de EAB, abaixo dos valores citados na Tabela 1, maior é a perda de reserva de tampões no sangue, em outras palavras, maior o grau de acidose. Inversamente, quão mais positivos forem os valores de EAB mais tampões estão se acumulando no sistema, indicando um quadro de alcalose. O EAB é importante para o calculo da quantidade de tampão necessário para se infundir num tratamento de um animal com desequilíbrio ácido-básico, como será visto em seguida.

Correção da acidose metabólica.

Feito o diagnóstico clínico ou laboratorial de acidose metabólica, deve-se ser feito o tratamento. Na grande maioria dos casos este quadro é acompanhado de desidratação. O clínico deve decidir se o estado de desidratação é muito mais grave ou não que o desequilíbrio ácido-básico. Geralmente, deve ser prioritária a correção da acidose metabólica, sendo em seguida realizada a infusão de fluidos para combater a hipovolemia. Para tal, injeta-se por via sistêmica quantidades calculadas de tampão

suficientes para a elevação do pH do sangue venoso até um patamar mínimo de 7,25. Para calcular a quantidade de tampão necessária para o tratamento, é utilizada a seguinte fórmula clássica:

$$\text{quantidade de HCO}_3^- \text{ (mM)} = \text{peso vivo (kg)} \times 0,3 \times \text{EAB (mM)}$$

Num caso prático de uma vaca pesando 400 kg de peso vivo, com um pH do sangue venoso de 7,18 e com um EAB de -15 mM, os seguintes cálculos devem ser feitos:

$$\text{quantidade de HCO}_3^- \text{ (mM)} = 400 \times 0,3 \times 15 = 1800 \text{ mM}$$

Ou seja, devem ser infundidos 1800 mM de bicarbonato. Para evitar complicações, como edema cerebral, recomenda-se infundir por via sistêmica solução isotônica de bicarbonato de sódio com 300 mOsm/L. A solução isotônica deve conter 1,25% de bicarbonato de sódio (12,5 g do sal/L). Porém, na água o bicarbonato e o sódio se dissociam e como ambos são monovalentes (de forma que um miliosmol é igual a um milimol), teremos apenas 150 mM de bicarbonato por litro de solução isotônica, pois os demais 150 mM serão de sódio. Como nesse caso hipotético da vaca, tem-se que infundir 1800 mM e um litro de solução contém 150 mM de bicarbonato, para conhecer o volume a ser infundido divide-se 1.800 por 150, o que dá um total de 12 litros de solução isotônica. Como um grama de bicarbonato contém 12 mM deste tampão, essa vaca necessitará de 150 g de bicarbonato de sódio.

Erros de excesso de infusão de bicarbonato podem transformar uma acidose em alcalose metabólica, sendo muito mais difícil de ser corrigida. Assim, desse cálculo inicial desconta-se por precaução 10% a 20%, dependendo da intensidade da acidose, fazendo com este animal receba, em vez de 12 L, cerca de 10 L de solução.

O grande problema prático deste tratamento é como estimar o EAB na rotina, com ausência de aparelhos sofisticados, como o de gasometria. Uma das alternativas foi proposta por Ortolani et al. (1997) para tratamento de casos de acidose láctica em bovinos. Os autores induziram experimentalmente esta enfermidade avaliando os resultados gasométricos e de pH da urina, verificando que quando menor era o pH e, principalmente o EAB, do sangue, menor era o pH de urina. Esta última variável é muito mais fácil de ser obtida em condições rotineiras. O pH normal urinário geralmente varia de 5,7 a 8,0, sendo que em casos de acidose metabólica este pH chega a cair até no máximo 4,4. Mediante uma equação, é possível estimar o EB por meio do pH urinário:

$$\text{EAB (mM)} = -47,4 + 7,42 \times [\text{pH urinário}]$$

Um animal com um pH urinário de 5,0, terá um EAB de $-10,3$ mM, o qual pode ser transposto para fórmula acima.

Para se evitar uma intoxicação iatrogênica por bicarbonato e o uso de cálculos mais dificultosos para estimar a quantidade de tampão necessária na correção da acidose metabólica, foi realizado um estudo comparativo da eficiência de diferentes tampões (Ortolani et al., 2000). No estudo foram infundidas soluções com iguais quantidades de bicarbonato, DL-lactato, L-lactato, propionato e acetato em bovinos adultos normais, ocorrendo um aumento significativo do pH sanguíneo nos animais tratados com bicarbonato e L-lactato. Num segundo ensaio, foi induzida acidose láctica ruminal em bovinos e os mesmos foram medicados com iguais doses de bicarbonato ou L-lactato. Ambos tratamentos corrigiram a acidose metabólica de grau médio. O L-lactato é oxidado naturalmente no fígado, consumindo para cada molécula oxidada uma de íon H^+ . A grande vantagem desta terapia é que o excesso de L-lactato, não causa uma alcalose metabólica, como poderia ocorrer com o bicarbonato. Outra vantagem deste tratamento é a alta velocidade de oxidação do composto, corrigindo a acidose dentro de uma a duas horas após o início do tratamento. Um teste semelhante realizado em bezerros diarréicos demonstrou que o bicarbonato corrige mais rapidamente a acidose metabólica que o L-lactato, embora este tenha também parcialmente corrigido o desequilíbrio ácido-básico (Kasari & Naylor, 1985). Este fato provavelmente ocorra, pois o bezerro neonato não tem o fígado completamente maturo para oxidar de maneira eficaz o L-lactato.

Infelizmente, ainda não existem no mercado soluções puras de L-lactato. A solução de Ringer-lactato, altamente empregada nos tratamentos veterinários, contém em vez de 150 mM de lactato, como a solução testada, apenas 27 mM (18%). Mesmo assim, em bovinos com acidose láctica ruminal tratados com solução de Ringer com lactato (6 L/100 kg PV) apresentaram certa correção da acidose metabólica, embora inferior à obtida com bicarbonato (Mendes Netto & Ortolani, 2000).

Correção da alcalose metabólica.

Diferentemente da acidose metabólica, a alcalose tem um prognóstico mais reservado, pois o organismo tem mecanismos compensatórios menos eficientes para a auto-correção do problema e a terapia tem resultados mais incertos. Devem ser utilizadas na correção da alcalose soluções de sais que contenham ânions tais como o

cloreto ou amônio. Entre os sais cita-se o cloreto de sódio, cloreto de potássio e cloreto de amônio. Estes dois últimos sais têm o inconveniente de poderem trazer efeitos colaterais se aplicados em demasia. Assim, recomenda-se a aplicação de 100 a 150 mL/kg PV de solução isotônica de cloreto de sódio (0,9%).

Em casos de alcalose metabólica causada por intoxicação iatrogênica por bicarbonato, ocorre elevação no pH urinário podendo chegar até 9,2 devido à maior eliminação renal de bicarbonato. Contudo, em alguns casos de alcalose sistêmica, como nos casos de dilatação do abomaso em que ocorre grave hipocalcemia, pode ocorrer a chamada acidúria paradoxal compensatória, se apresentando alterada até quatro dias após o tratamento cirúrgico da afecção. Nesta afecção, embora o pH sanguíneo esteja elevado, o pH urinário pode estar dentro da faixa de normalidade ou ácido, atingindo até 5,4. A possível explicação é que neste processo se desenvolve intensa desidratação, ocorrendo liberação de aldosterona, a qual aumenta a reabsorção tubular de sódio. O cloreto e o potássio também são bastante reabsorvidos pelos túbulos renais, pois estes elementos encontram-se seqüestrados no líquido abomasal. Para cada íon de sódio, cloreto e potássio reabsorvidos há uma secreção concomitante de um íon H^+ aumentando assim a acidez urinária.

Correção da acidose respiratória.

O tratamento primário é baseado na correção do distúrbio respiratório por meio de antibioticoterapia, uso de antiinflamatórios e outras drogas congêneres. Sintomaticamente trata-se o animal por meio de ventilação (inalação) com gases contendo altos pO_2 e baixos de pCO_2 por meio de respiradores mecânicos. Em alguns casos pode ocorrer acidose metabólica concomitante, devido a menor oxigenação nos tecidos periféricos e formação de ácido lático, e devem ser tratados com pequena quantidade de tampões.

Correção da alcalose respiratória.

No caso de hiperventilação, o animal deve ser tratado com um sedativo que provoque a diminuição da frequência respiratória. Além disto, se recomenda colocar o animal temporariamente em um ambiente fechado com pouca renovação de ar, rico em CO_2 para aumentar os teores deste gás no sangue.

Referências bibliográficas.

- KASARI T.R., NAYLOR J. M. Clinical evaluation of sodium bicarbonate, sodium L-lactate, and sodium acetate for the treatment of acidosis in diarrheic calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.187, p.392-397, 1985.
- LEWIS L.D., PHILLIPS R.W. Water and electrolyte losses in neonatal calves with acute diarrhea . A complete balance study. *Cornell Vet.*, v.62, p.596-607, 1972.
- MARUTA C.A., ORTOLANI E.L. Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal. I – Variáveis ruminais e fecais. *Ciência Rural*, v.32, p.55-59, 2002a.
- MARUTA C.A., ORTOLANI E.L. Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal. I – Acidose metabólica e metabolização do lactato-L. *Ciência Rural*, v.32, p.61-65, 2002.
- MENDES NETTO D., ORTOLANI E.L. Evaluation of sodium bicarbonate or lactated Ringer's solution for treatment of rumen lactic acidosis in steers. *Veterinária Notícias*, v.6, p.31-39, 2000.
- ORTOLANI E.L., MENDES NETTO D., MARUTA C.A. O uso do pH urinário para estimar o grau de acidose metabólica em garrotes com acidose láctica ruminal. In: *Anais do XXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Gramado, 1997, p.214.
- ORTOLANI E.L., LEAL M.L., MARUTA C.A Correção da acidose metabólica sistêmica com uso de soluções de bicarbonato e lactato-L em bovinos com acidose láctica ruminal. In: *Anais do XXVII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Águas de Lindóia, 2000, p.17.

CASOS PRÁTICOS: INTERPRETAÇÃO DE HEMOGASOMETRIA

Exemplo 1. Acidose metabólica por formação exógena de ácido láctico no rumen.

Quadro hemogasométrico de um novilho com acidose láctica ruminal, induzida experimentalmente a 24 h (Ortolani & Maruta, 2002 a,b).

Ácido láctico ruminal (mM) = 87 (valor normal = 0,1 – 0,5)
Lactato sangüíneo (mM) = 12,5 (valor normal = 0,2 – 2)
pH sangue venoso = 7,14
Bicarbonato (mM) = 14
EAB (mM) = -9,5
pCO ₂ (mmHg) = 43
pH urinário = 5,0
Hematócrito (%) = 43 (valor normal 27- 35)

Nota-se que a acidose metabólica no caso da acidose láctica ruminal não tem compensação respiratória, ou seja não tem maior eliminação de CO₂ pois este se encontra dentro dos valores normais no sangue, por outro lado há queda no pH urinário indicando intensa excreção de íons H⁺.

Exemplo 2. Acidose metabólica por formação endógena de ácido láctico.

Quadro hemogasométrico de um bezerro com diarreia intensa causada por infecção entérica aguda (Rotavirus e *Cryptosporidium parvum*)

Láctato sérico (mM) = 11 (valor normal 0,3- 0,6)
pH sangue venoso = 7,1
Bicarbonato (mM) = 13,7
EAB (mM) = - 10
pCO ₂ (mmHg) = 46,4
pH urinário = 4,9
Hematócrito (%) = 46 (valor normal 28- 35)

Exemplo 3. Acidose metabólica por formação de corpos cetônicos.

Quadro hemogasométrico de uma ovelha com toxemia da prenhez tipo 2, superalimentada.

Corpos cetônicos (mM) = 5,5 (valor normal 0,2- 1)
Ácidos graxos livres (µM) = 800 (valor normal 50-200)
pH sangue venoso = 7,02
Bicarbonato (mM) = 8,2
EAB (mM) = -17
pH urinário = 4,8
Hematócrito (%) = 46

Exemplo 4. Alcalose metabólica por menor excreção renal de bicarbonato.

Quadro hemogasométrico de um ovino com intoxicação acumulativa por cobre, de sangue venoso obtido no 3º dia após o início da hemoglobinúria (Machado & Ortolani,1998).

Uréia sérica (mM) = 50 (valor normal 2- 6)
Creatinina (µM) = 490 (valor normal 70 – 120)
pH sangüíneo = 7,5
Bicarbonato (mM) = 36
EAB (mM) = 8,6
pCO ₂ (mmHg) = 48

INDICADORES METABÓLICO-NUTRICIONAIS DO LEITE *

Félix H. D. González

Faculdade de Veterinária
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
felixgon@orion.ufrgs.br

Rómulo Campos

Faculdade de Ciências Agropecuárias
Universidade Nacional da Colômbia
romo90@latinmail.com

Introdução.

O leite bovino é composto por nutrientes sintetizados na glândula mamária, a partir de precursores sangüíneos filtrados nas células alveolares. Os componentes do leite incluem água, glicídeos (basicamente lactose), gordura, proteína (principalmente caseína e albumina), minerais e vitaminas. O leite é secretado como uma mistura desses compostos e suas propriedades são mais complexas que a soma dos seus componentes individuais.

A proporção de cada componente no leite está influenciada, em diferentes graus, pela nutrição e o status metabólico da vaca. A alimentação responde por aproximadamente 50% das variações de gordura e proteínas do leite (Fredeen, 1996).

O conhecimento da composição do leite e sus variações é importante para o veterinário no monitoramento dos efeitos da alimentação ou na detecção de transtornos metabólicos. O leite, sendo o fluido mais fácil de coletar na vaca lactante, torna-se uma ferramenta diagnóstica, pois sua composição pode refletir situações presentes no sangue e, portanto, nos tecidos animais.

De forma geral, os fatores metabólico-nutricionais que afetam a composição do leite são: (1) fatores meio-ambientais, que incluem a nutrição (composição da dieta), tipo de alimentação (pastagem, ração, suplementos), manejo (nível de produção) e época do ano, e (2) fatores intrínsecos aos animais, divididos em genéticos, sanitários, grau de adaptação metabólica e período da lactação (Barros, 2001).

O presente trabalho pretende abordar de que forma variações na composição química do leite, fundamentalmente relacionada a gordura, proteínas, uréia e corpos cetônicos, podem indicar diferentes situações nutricionais e metabólicas na vaca leiteira.

* González, F.H.D., Campos, R. (2003). Indicadores metabólico-nutricionais do leite. In: González, F.H.D., Campos, R. (eds.): *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.31-47.

Composição química do leite.

A composição química do leite pode variar dentro da mesma espécie. Na vaca leiteira, as diferenças são especialmente em gordura e proteína, sendo esses componentes as bases de pagamento diferenciado para os produtores de leite. A gordura nas raças Jersey e Guernsey é maior que na Holandesa (Tabela 1). A lactose, por outro lado, se mantém praticamente constante entre as diferentes raças. A composição do leite também pode variar entre indivíduos da mesma raça. Por exemplo, a gordura do leite em vacas Jersey, que tem médias de 5 a 5,5%, pode variar de menos de 4% a mais de 7%.

Mesmo durante a ordenha, a composição do leite pode variar. A gordura do leite é menor no início da ordenha, aumentando gradualmente em percentagem quando o leite é retirado da glândula. O último leite da glândula é o mais alto em conteúdo de gordura. Este dado é importante quando se coletam amostras de leite para testes, de forma que a melhor amostra está representada pelo leite inteiro coletado durante toda a ordenha.

Tabela 1. Composição química do leite em várias raças bovinas.*

Raça	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Cinzas (%)	Sólidos totais (%)
Ayrshire	4,1	3,6	4,7	0,7	13,1
Guernsey	5,0	3,8	4,9	0,7	14,4
Holstein	3,5	3,1	4,9	0,7	12,2
Jersey	5,5	3,9	4,9	0,7	15,0
Pardo Suíço	4,0	3,6	5,0	0,7	13,3
Zebu	4,9	3,9	5,1	0,8	14,7

Jensen, R.G. *Handbook of Milk Composition*, Academic Press (1995).

O conteúdo de água no leite, em média 87% na vaca, depende da síntese de lactose. Este é o principal fator osmótico no leite, responsável por 50% desta variável. No processo de síntese, a lactose “atrai” água para as células epiteliais mamárias. Em função da estreita relação entre a síntese de lactose e a quantidade de água drenada para o leite, o conteúdo de lactose é o componente do leite que menos tem variação.

A lactose, principal glicídeo do leite, é um dissacarídeo composto pelos monossacarídeos D-glicose e D-galactose, ligados por ponte glicosídica β -1,4. Outros glicídeos podem ser encontrados no leite, porém em concentrações muito baixas.

Pequenas quantidades de glicose livre (cerca de 0,1 mM) e galactose livre (0,2 mM) são encontradas no leite de vaca e de outras espécies.

O componente lipídico do leite é formado por uma complexa mistura, sendo os triglicerídeos os lipídeos mais importantes (98%). A gordura do leite é secretada das células epiteliais mamárias na forma de glóbulos graxos, principalmente compostos de triglicerídeos rodeados de uma dupla camada lipídica similar à membrana apical das células epiteliais. Esta membrana ajuda a estabilizar o glóbulo de gordura formando uma emulsão dentro do ambiente aquoso do leite. A Tabela 1 mostra que a gordura é o componente mais variável do leite. Nos padrões atuais de consumo, tem sido dada mais importância a baixos teores de gordura e altos teores de proteína do leite.

Nos ruminantes, a proporção de ácidos graxos de cadeia curta e insaturados é bem maior que nos monogástricos. Os precursores dos ácidos graxos sintetizados no tecido mamário incluem glicose, acetato e β -hidroxibutirato. Entretanto, alguns ácidos graxos provenientes da dieta ou do metabolismo ruminal e intestinal são incorporados à glândula mamária a partir do sangue. Aproximadamente 25% dos ácidos graxos do leite são derivados da dieta e 50% do plasma sanguíneo. O resto é elaborado na glândula mamária a partir de precursores, principalmente de acetato. Os ácidos graxos de cadeia média (8-12 C) são característicos do leite não sendo possível encontrá-los em outros tecidos (Tabela 2). Aparecem apenas quantidades muito baixas de ácidos graxos livres no leite

Tabela 2. Conteúdo de ácidos graxos nos triglicerídeos (TG) da gordura do leite de vaca.

Ácidos graxos	Conteúdo (% molar nos TG)
<i>Ácidos graxos saturados</i>	
butírico	10
capróico	3
caprílico	1
cáprico	2
láurico	3
mirístico	9
palmítico	21
esteárico	11
<i>Ácidos graxos insaturados</i>	
oléico	31
linoléico	5
outros	4

A composição protéica total do leite reúne várias proteínas específicas. Dentro das proteínas do leite, a mais importante é a caseína, que perfaz cerca de 85% das proteínas lácteas. Existem vários tipos identificados de caseínas (α , β , γ e κ) todas similares na sua estrutura (Tabela 3). As caseínas se agregam formando grânulos insolúveis chamados micelas. As demais proteínas do leite estão em forma solúvel. As micelas de caseína contêm também água e minerais, principalmente cálcio e fósforo. A caseína é um dos mais abundantes componentes orgânicos do leite, junto à lactose e à gordura. As moléculas individuais de caseína não são muito solúveis no ambiente aquoso do leite. No entanto, os grânulos da micela de caseína mantêm uma suspensão colóide no leite. Se a estrutura micelar se perde, as micelas se dissociam e a caseína fica insolúvel, formando o coalho.

Tabela 3. Conteúdo de frações de proteína no leite de vaca.

Fração protéica	Conteúdo no leite desnatado (%)
Caseína α	45-55
Caseína K	8-15
Caseína β	25-35
Caseína γ	3-7
α -Lactalbumina	2-5
β -Lactoglobulina	7-12
IgG ₁	1-2
IgG ₂	0,2-0,5
IgM	0,1-0,2
IgA	0,05-0,10

As principais proteínas do soro do leite de vaca são a β -lactoglobulina e a α -lactalbumina. A α -lactalbumina corresponde a 2-5% do total de proteínas e funciona como uma das subunidades da enzima lactose-sintetase. Outras proteínas do leite incluem a β -lactalbumina (7-12%), albumina sérica (1%) e as imunoglobulinas G, M e A (1,3-2,8%). A função da β -lactoglobulina não se conhece. As proteínas do soro também incluem uma longa lista de enzimas, hormônios, fatores de crescimento, transportadores de nutrientes e fatores de resistência a doenças, entre outros.

Os precursores para a síntese das proteínas do leite são aminoácidos livres do sangue em 90% e proteínas séricas em 10%.

Os principais minerais encontrados no leite são cálcio e fósforo. Eles estão basicamente associados com a estrutura das micelas de caseína. Conseqüentemente, o soro tem relativamente pouco cálcio e fósforo, comparado com o leite inteiro. O leite

também contém pequenas quantidades da maioria dos demais minerais encontrados no organismo animal.

A glândula mamária não pode sintetizar vitaminas. Portanto, para sua secreção no leite depende do aporte sangüíneo. As vitaminas podem ser sintetizadas pelas bactérias do rúmen ou podem ser convertidas na forma ativa a partir de pró-vitaminas no fígado, intestino delgado e pele ou proceder diretamente dos alimentos. O leite contém todas as principais vitaminas. As vitaminas lipossolúveis A, D, E e K são encontradas basicamente na gordura do leite, porém com limitadas quantidades de vitamina K.

Outros componentes do leite incluem importantes metabólitos de excreção, como é o caso da uréia, produto do catabolismo dos aminoácidos. Também, o aumento sangüíneo de alguns metabólitos por desordens metabólicas, pode causar aumento no leite. Assim, em estado de cetose, podem aparecer corpos cetônicos, principalmente o beta-hidroxibutirato.

Fatores nutricionais que afetam a composição química do leite.

Composição da gordura.

Considera-se a gordura como o componente do leite que maior variação sofre em função da alimentação, podendo variar em até 3 pontos percentuais. Os fatores nutricionais que mais afetam o teor de gordura do leite são o aumento de concentrado na dieta, a quantidade e o tamanho da fibra e a adição de tamponantes e compostos ionôforos. Existem fatores não nutricionais que envolvem a raça, o estágio de lactação, o volume total de leite produzido, entre outros. A Tabela 4 (Carvalho, 2000) resume os principais fatores que afetam o conteúdo de gordura no leite.

Proporção de:concentrado na dieta.

A utilização de concentrados na dieta de vacas leiteiras tende a reduzir o conteúdo de gordura no leite de forma proporcional. A fermentação ruminal a base de glicídios rapidamente fermentáveis, como é o caso do amido, substrato abundante na composição de concentrados, leva a uma maior produção de propionato do que de acetato e butirato. Destes ácidos graxos voláteis, o primeiro é precursor de glicose e os dois últimos são precursores de ácidos graxos que compõem a gordura. Este efeito começa a ser notado quando a relação acetato/propionato no rúmen cai para 2,2. Griinari et al. (1998)

mostraram que quando a dieta para vacas leiteiras aumenta de uma proporção de 50% para 80% de concentrado, o teor de gordura no leite passa de 3,36% para 2,49%.

Tabela 4. Principais fatores que afetam o conteúdo de gordura no leite.

Fatores que aumentam o teor de gordura	Fatores que diminuem o teor de gordura
Baixa produção de leite	Alta proporção de concentrados na dieta
Estágio avançado na lactação	Baixo teor de FDN efetiva (<21% da MS)
Alto teor de fibra na dieta (FDN>35%)	Alto teor de carboidratos não estruturais na dieta
Fornecimento de gordura protegida	Alto teor de gordura insaturada na dieta
Inclusão de tamponantes na dieta	Utilização de ionôforos
Perda de peso excessiva no início da lactação	Alimentos muito moídos ou de rápida degradação

Adaptado de Carvalho (2000).

Quantidade e tamanho da fibra na dieta.

A quantidade de fibra está relacionada com a manutenção do pH ruminal (6,0-7,0) devido ao estímulo que exerce sobre a secreção de saliva, a qual é rica em bicarbonato e favorece o efeito tamponante. O pH nesse intervalo favorece o crescimento de bactérias celulolíticas do rúmen, responsáveis pela produção de ácido acético, precursor de ácidos graxos.

O tamanho da partícula de fibra tem efeito sobre o estímulo de ruminação e, portanto, sobre a secreção de saliva. A fibra não deve ser moída em partículas menores de 0,6 cm porque diminui o estímulo da ruminação. O teor de fibra adequado em dietas para vacas deve ser de 28% (FDN). Quantidade de fibra muito elevada na dieta pode causar aumento na porcentagem de gordura do leite, mas pode diminuir a produção total de gordura por diminuição da energia total da dieta.

Adição de gordura na dieta.

A adição de gordura na dieta de vacas leiteiras pode aumentar a produção total de leite em função do aumento da densidade energética da ração. Porém, pode diminuir o teor de gordura do leite, explicado pela redução da digestibilidade da fibra devido a um bloqueio físico, e a conseqüente queda na produção de ácido acético. A diminuição no teor de gordura é maior quando se utilizam óleos vegetais, que contêm maior proporção de ácidos graxos insaturados, do que quando se usa gordura animal (sebo).

Uso de aditivos na ração.

Compostos tamponantes (exemplo bicarbonato de sódio) minimizam a queda do pH ruminal em dietas com alta proporção de concentrados, mantendo a produção de ácido acético e evitando a diminuição no teor de gordura no leite.

Outros aditivos, como a monensina (ionôforo), têm o efeito de aumentar a produção de ácido propiônico no rúmen por inibir bactérias celulolíticas, diminuindo assim o teor de gordura no leite, embora causem aumento da produção total de leite.

Composição da proteína.

A proteína é o segundo componente do leite que varia em função da alimentação, depois da gordura. A diferença entre raças não é tão notória quanto à de gordura (Tabela 1) O consumo limitado de alimento ou com baixo conteúdo de proteína e/ou energia na dieta é o principal efeito que causa diminuição do teor de proteína no leite. A adição de gordura pode causar diminuição e a de aminoácidos essenciais aumento de proteína láctea em vacas de alta produção. Fatores não nutricionais, como estágio da lactação e stress térmico, também afetam o teor de proteína no leite. A Tabela 5 (Carvalho, 2000) resume os principais fatores que afetam a quantidade de proteína no leite.

Tabela 5. Principais fatores que afetam o conteúdo de proteína no leite.

Fatores que aumentam o teor de proteína	Fatores que diminuem o teor de proteína
Baixa produção de leite	Baixo consumo de matéria seca
Estágio avançado na lactação	Falta de proteína degradável (< 60% da PB)
Baixo teor de gordura no leite (<2,5%)	Falta de proteína solúvel (< 30% da PB)
Adequação de lisina e metionina	Falta de carboidratos não estruturais (< 30% da MS)
Alto teor de carboidratos não estruturais	Fornecimento de gordura adicional
Inclusão de niacina e ionôforos na dieta	Excesso de fibra na dieta
Fornecimento de forragem de alta qualidade	Stress térmico

Adaptado de Carvalho (2000).

Proporção de concentrado na dieta.

A utilização de maior quantidade de concentrado na dieta aumenta o teor de proteína no leite, por aumentar a produção de propionato no rúmen. Em geral, dietas

mais energéticas e que produzam maior quantidade de precursores de glicose, levam a aumentar a produção total de leite e o teor de proteína do leite.

Adição de gordura na dieta.

Maior quantidade de gordura na dieta causa menor quantidade de glicídios a disposição dos microorganismos do rúmen, que não conseguem utilizar os lipídios como fonte de energia. Isto acaba gerando menor produção de proteína microbiana ruminal e, portanto, menor teor de proteína no leite.

Uso de aditivos na ração.

Ionóforos e outros aditivos conhecidos como modificadores ruminais provocam maior produção de propionato e de proteína microbiana, o que favorece o aumento de proteína no leite.

Quantidade de proteína da dieta.

Em situações de baixo aporte de proteína, um aumento de proteína degradável na dieta pode aumentar a produção total de proteína do leite por aumentar a quantidade total de leite produzido. Em situações de aporte adequado de proteína, este efeito não é observado.

Em vacas de alta produção, onde existe uma alta demanda de proteína para síntese no leite, a adição suplementar de proteína não degradável contendo lisina e metionina é favorável para aumentar o teor de proteína do leite.

Composição da lactose.

A lactose praticamente não é alterada por variações nutricionais, a menos que ocorra severa desnutrição. Uma vez que a lactose está relacionada com a regulação da pressão osmótica na glândula mamária, maior produção de lactose determina maior produção de leite, com o mesmo teor de lactose (Peres, 2001).

Efeito do stress térmico na composição do leite.

O stress térmico ocasiona diminuição do volume total de leite e dos teores de sólidos totais, de proteína e de gordura (Kadzere et al., 2002). No stress calórico aumenta a frequência respiratória levando a uma moderada alcalose respiratória. Como

mecanismo compensatório, ocorre perda de bicarbonato pelo rim, diminuindo a quantidade deste tampão na saliva. Assim, o pH ruminal sofre uma queda (acidose) levando a uma menor proporção de acetato ruminal. O calor também provoca diminuição no consumo de alimento e portanto de fibra, principal estimulador da ruminação e da produção de saliva, fato que aumenta o efeito diminuidor de pH ruminal. As vacas de alta produção são mais afetadas devido a que o mecanismo de termorregulação nesses animais está afetado pelo aumento de calor metabólico.

Fatores metabólicos que afetam a composição química do leite.

A importância econômica da produção de leite com altas exigências de qualidade e o aumento na incidência de enfermidades metabólicas nas vacas de alta produção, especialmente no início da lactação, fazem com que sejam necessários métodos analíticos rápidos, econômicos e seguros que possam testar mudanças na composição do leite (lactose, gordura, proteínas), ou a presença de metabólitos que possam informar sobre doenças metabólicas (beta-hidroxibutirato, acetona, fosfato, potássio) ou que possam indicar alterações na barreira sangue-leite que, em geral, indicam alteração na fisiologia da glândula mamária. Tais métodos são agora conhecidos como Perfil Metabólico no Leite (Hamman & Krömker, 1997).

Na Tabela 6 apresentam-se tipos de desordens metabólicas associadas com alta produção do leite e o indicador possível no leite.

Os principais componentes sintetizados pela glândula mamária são proteínas (caseína, lactalbumina, lactoglobulina), lactose e ácidos graxos. Adicionalmente, o leite contém outros compostos derivados diretamente da dieta, tais como vitaminas, minerais e ácidos graxos de cadeia longa. Outros compostos presentes no leite, como uréia e corpos cetônicos, são produtos da difusão na glândula e estão presentes em quantidades variáveis, não sendo dosados de forma rotineira (Fredeen, 1996).

Tabela 6. Doenças metabólicas e indicador metabólico no leite.

Estado metabólico	Componente	Nível normal	Nível de alerta
Deficiência de energia	acetona*	2,0	> 3,0
	β -hidroxibutirato*	0,5-1,0	> 1,2
	citrato*	7,8	> 9,4

	relação G/P**	1,2	> 1,25
Deficiência de proteína	MUN***	10-16	< 9,0
Excesso de proteína	MUN***	10-16	> 18
Alcalose	Potássio	44,1	> 44,76
	Sódio*	30	> 32,61
Acidose	Potássio	44,1	< 43,85

* mmol/l; ** gordura/proteína; *** mg/dl;

MUN e o metabolismo do nitrogênio.

Tradicionalmente, a porcentagem de proteína crua (CP) no leite tem sido estimada como total de nitrogênio determinado pelo método de Kjeldahl multiplicado pelo fator 6,38. Esta aproximação assume que o total de proteínas no leite contém 15,7% de nitrogênio.

A uréia é o maior produto do metabolismo nitrogenado nos mamíferos. Embora a maior parte da uréia seja excretada na urina, uma parte se difunde livremente do sangue e sai no leite, recebendo o nome de MUN (de *Milk Urea Nitrogen*: Nitrogênio Uréico no Leite). Atualmente, a dosagem de MUN tem tomado muita força devido a duas razões: (1) a proposta de usar o MUN como indicador do status nutricional protéico e da eficiência da utilização do nitrogênio em vacas do leite, e (2) a possibilidade da sua dosagem rápida através de método enzimático-colorimétrico, que permite dosar um grande número de amostras em pouco tempo, critério usado pelos serviços de controle leiteiro no mundo (Kauffman & St-Pierre, 2001).

A concentração de uréia no sangue tem sido empregada como indicador do metabolismo protéico e do aporte protéico da ração, em uso rotineiro nos perfis metabólicos (González et al., 2000). A uréia é sintetizada no fígado em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen. Daí sua importância no controle nutricional nos ruminantes (DePeters & Cant, 1992).

A concentração de MUN está diretamente relacionada com a concentração de BUN (*Blood Urea Nitrogen*), mas este é afetado por múltiplos fatores os quais incluem os níveis de proteína crua na dieta, a relação proteína:energia e o momento da coleta das amostras em relação com os processos digestivos. A concentração de uréia no leite não está ligada a regulação de mecanismos homeostáticos e está menos afetada por variações pós-prandiais, de forma que a dosagem de MUN pode ser melhor indicador do balanço protéico que o BUN (Campos, 2002).

Em forma prática, para coletar um grande número de amostras, é preferível o leite ao sangue (Kauffman & St-Pierre, 2001; Wittwer et al., 1993). Também é possível usar MUN para avaliar os níveis circulantes de uréia e conhecer indiretamente o nitrogênio urinário (UN) a partir da equação sugerida por Jonker et al. (1998):

$$\text{UN (g/dia)} = 12,54 \times \text{MUN (mg/dl)}$$

Os níveis normalmente aceitos de MUN estão entre 10 a 16 mg/dl, equivalentes a 21,4 a 34,2 mg/dl de uréia (1 mol de MUN = 2,14 mols de uréia). Quando o MUN está elevado em um animal, é evidente que a proteína está sendo utilizada em forma ineficiente. Quando os valores são baixos (menos de 9 mg/dl de MUN) a informação permite reconhecer que os níveis de proteína na dieta são inadequados (Campos, 2002).

As técnicas para dosagem de proteínas por espectrofotometria de infravermelho não incluem a medição da fração de nitrogênio não protéico. Portanto, a leitura por separado do MUN tem que ser diferencial.

Frente à qualidade do leite, a maior valor de MUN, menor a concentração de caseína, com a respectiva queda do potencial de industrialização do leite no processamento de queijos (Ospina et al., 2001).

A composição protéica específica do leite é de interesse da indústria láctea. O consumo de queijo no mundo duplicou na última década e a produção do derivado lácteo depende totalmente da presença de caseína no leite. As caseínas constituem entre 76 a 86% do total de proteína no leite. Existem atualmente métodos precisos de identificação das frações de caseína, assim como técnicas de engenharia genética para induzir a síntese direcionada de κ -caseínas de maior rendimento na industrialização de queijos (DePeters & Cant, 1992).

Corpos cetônicos.

O leite tem sido ultimamente usado para o diagnóstico de cetose nas vacas. A cetose é uma das doenças metabólicas que se desenvolve sem um rápido e seguro diagnóstico, já que a maioria dos casos é de tipo subclínico, podendo chegar até 34% dos casos, enquanto que os casos clínicos chegam apenas a 7% (González & Silva, 2002).

A cetose é uma doença relativamente comum em vacas de alta produção, com apresentação mais freqüente em vacas multíparas que em primíparas. Em geral, sua apresentação ocorre entre 8 a 60 dias pós-parto, período quando o animal exibe balanço

energético negativo (BEN). A cetose afeta significativamente a produção do leite e a reprodução, causa queda na imunidade e está associada com o aumento na frequência de deslocamento de abomaso (Enjalbert et al., 2001).

A cetose se deve ao acúmulo anormalmente elevado de corpos cetônicos no sangue devido a anormalidades do metabolismo energético. Basicamente ocorre pela mobilização de tecido adiposo como fonte de energia acompanhado de uma depleção do ciclo de Krebs, em que se acumula acetoacetato e beta-hidroxibutirato. Os pKs desses ácidos permitem aumentar a concentração de íons H^+ no plasma. A cetose caracteriza-se por hipoglicemia e cetoacidose.

Os corpos cetônicos são solúveis no plasma e não requerem de proteínas transportadoras, ultrapassam facilmente a glândula mamária e sua dosagem pode ser feita no leite. Os valores médios de corpos cetônicos no leite têm alta correlação com os corpos cetônicos circulantes no plasma (Geishauser et al., 2000).

Clinicamente, o beta-hidroxibutirato é o corpo cetônico usado para a detecção da cetose. Considera-se que valores no plasma acima de 1,2 mM são indicativos da doença, discriminando entre animais sadios e com cetose subclínica. Mas as dificuldades e o custo da sua dosagem no sangue, fizeram com que fossem desenvolvidas técnicas semiquantitativas para sua avaliação no leite. Geishauser et al. (2000) apresentam um amplo estudo no qual avaliaram 8 diferentes testes para a detecção de cetose subclínica, obtendo êxito em pelo menos quatro deles. No estudo foram testadas tiras ou tabletes tanto no leite como no sangue para detectar acetoacetato, β -hidroxibutirato e acetona.

A dosagem de beta-hidroxibutirato no leite mostrou sensibilidade e especificidade na detecção de cetose em vacas de leite, recomendado-se seu uso rotineiro em vacas leiteiras.

Acidose ruminal.

A acidose ruminal é provocada por erros na alimentação, quando ocorre consumo excessivo de glicídeos facilmente fermentescíveis sem período de adaptação prévio. Está caracterizada por uma queda no pH ruminal, que cursa com um quadro clínico agudo de desidratação e morte. Sua manifestação clínica aguda ocorre poucas horas após a ingestão de alimentos. Entretanto, mais freqüentemente é observada a forma subclínica, menos grave, que tem importância econômica por causar queda na produção e alterações na composição do leite do leite (Barros, 2001).

Dentre os alimentos com maior risco de causar acidose ruminal estão os grãos, particularmente trigo, cevada e milho que têm alto conteúdo de amido, as frutas e as farinhas. Uma dieta com baixa fibra e mais glicídios solúveis estimula o crescimento de microorganismos amilolíticos às expensas dos celulolíticos..

A queda de pH no rúmen favorece o crescimento de bactérias gram-positivas e o desaparecimento de protozoários. O aumento de *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus sp.* modificam o substrato ruminal, tornando o meio cada vez mais ácido. A fermentação causada por essas bactérias aumenta fortemente a concentração de ácido láctico, diminuindo o acetato e o β -hidroxibutirato.

O acúmulo de ácido láctico no rúmen aumenta a pressão osmótica intra-ruminal forçando a passagem de água do compartimento vascular para o rúmen e causando desidratação. O ácido láctico ainda é absorvido provocando acidose sangüínea.

Os efeitos da acidose ruminal causam aumento do ácido propiônico, efeito insulínico que favorece a lipogênese, diminuição de ácido acético, diminuição da biohidrogenação de C_{18:2} pelo baixo pH no rúmen e inibição da síntese de AG-trans-insaturados (C_{18:1}) na glândula mamária por sua elevada quantidade circulante.

Como consequência dessas mudanças há uma diminuição do teor de gordura no leite, que foi chamada por Engvall (1980) de Síndrome de Baixa Gordura (*Low Milk Fat Syndrome*).

Futuro da qualidade do leite.

A produção eficiente do leite com alto grau de controle sobre a qualidade e a ausência de antibióticos ou de qualquer produto químico contaminante serão pontos críticos para garantir competitividade no mercado globalizado do leite (Bachman, 1992).

Atualmente nem todas as técnicas estão prontas para detectar o grande universo de substâncias que farmacologicamente são usadas na clínica da glândula mamária, levando em conta que o controle da mastite é um desafio permanente. Na medida que novos fármacos apareçam, novas técnicas para sua determinação no leite deverão ser desenvolvidas. Mas, com certeza absoluta, não será possível comercializar o leite com traças de antibióticos pelo alto risco sobre a saúde da população e porque a presença de antibacterianos no leite altera os rendimentos industriais (Dürr, 2002).

Desde que os sistemas de infravermelho (NIRS) apareceram no mercado, grandes avanços têm sido feitos. No futuro próximo, a indústria de equipamentos leiteiros, em especial os produtores de máquinas de ordenha, colocará no mercado aparelhos com leitura *on-line* para a contagem de células somáticas, diferenciando cada um dos quartos mamários. Este fato permitirá o controle rápido da mastite, já que seu diagnóstico será imediato. Medidas de manejo nas fazendas poderão ser implantadas, tais como tratamento individual, mudanças na linha de ordenha e câmbios gerais sobre o manejo alimentar, uma vez que poderão ser conhecidos, na hora, a composição do leite e o estado de saúde da glândula mamária. Assim, os controles leiteiros como hoje são trabalhados (dosagem mensal) terão de mudar sua concepção de serviço (Whyte et al, 2000).

Visando o melhoramento da qualidade do leite, atualmente existem duas estratégias usadas pelos geneticistas para alterar a composição do leite: a seleção assistida, que envolve o uso de marcadores moleculares, geralmente genes seqüenciados e conhecidos para o melhoramento de características desejáveis (exemplo, níveis de κ -caseína) e a análise da informação que permita identificar os genes que participam na produção e qualidade do leite. Estes estudos se fazem mediante medições da expressão gênica. As duas áreas requerem de tecnologia e aplicações da biologia molecular (trangenese) e de facilidades na informática para o uso de programas de genética quantitativa (Kennelly et al., 2002).

O mapeamento do genoma bovino e a localização de genes economicamente importantes, comumente estudados mediante técnicas de biologia molecular, tais como QTL (*Quantitative Trait Loci*), EST (*Expressed Sequence Tags*), SNP (*Singel Nucleotide Polymorphism*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), provas feitas quase sempre a partir de bibliotecas de cDNA, têm permitido avanços na modificação da composição do leite, especialmente no referente a fenótipos de κ -caseína e β -lactoglobulina, frações protéicas que dão ao leite melhores propriedades na industrialização.

Nos próximos anos algumas perguntas sobre o controle da expressão genética poderão ser resolvidas. O uso da tecnologia molecular poderá informar sobre qual dos 15.000 genes que podem expressar-se em cada célula mamária é importante no controle da composição do leite, e como pode ser modificada a secreção procurando benefícios para a saúde dos consumidores e para a indústria láctea (Kennelly et al., 2002).

As mudanças esperadas gerarão controle sobre a qualidade do leite e das doenças metabólicas que afetam a qualidade do leite, e sobre a relação nutrição:composição do leite. Estas possibilidades farão que o leite seja um produto de alta competitividade no mercado. Aqueles países que desenvolvam sistemas especializados e que invistam na pesquisa diferenciada poderão manter sua opção no mercado mundial.

Bibliografia.

- BACHMAN K.C. Managing Milk Composition. In: *Large Dairy Herd Management*. Champaign: Van Horn & Wilcox Editors. p.336-346. 1992.
- BARROS L.. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- CAMPOS R. Alguns indicadores metabólicos no leite para avaliar relação nutrição:fertilidade. In: *Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais*. 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Gramado, p.40-48. 2002.
- CARVALHO M.P. *Manipulando a composição do leite: gordura*. In: I Curso on-line sobre qualidade do leite. Milkpoint. 2000. 15p.
- CARVALHO M.P. *Manipulando a composição do leite: proteína*. In: I Curso on-line sobre qualidade do leite. Milkpoint. 2000. 15p.
- DEPETERS E. J., CANT J. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A Review. *J.Dairy Sci.* v.75, p.2043-2070, 1992.
- DÜRR J. *Resíduos de Antibióticos β-lactâmicos no leite cru produzido no Rio Grande do Sul*. 2º Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite. Riberão Preto, 2002.
- ENGVALL A. Low milk fat syndrome in Swedish dairy cows. *Acta vet. Scan., Suppl.* v.72, p.1-124. 1980.
- ENJALBERT F., NICOT M.C., BAYOURTHE C., MONCOULON R. Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *J.Dairy Sci.* v.84, p.583-589, 2001.
- FREDEEN A.H. Considerations in the nutritional modification of milk composition. *Animal Feed Science and Technology* v.59, p.185-197. 1996.
- GEISHAUSER T., LESLIE K.E., KELTON D.F., DUFFIELD T. Evaluation of eighth cowside test for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* v.81, p.438-443. 1998.

- GONZÁLEZ F.H.D., BARCELLOS J.O., OSPINA H., RIBEIRO L.A.O. (Eds.) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.
- GONZÁLEZ F.H.D., SILVA S.C. *Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária*. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS. 2003. 200p.
- GRINARI J.M., DWYER D.A., MCGUIRE M.A. et al. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* v.81, p.1251-1261. 1998.
- HAMANN J., KRÖMKER V. Potential of specific milk composition variables for cow health management. *Livestock Production Science* v.48, p.201-208. 1997.
- JENSEN R.G. *Handbook of Milk Composition*. San Diego: Academic Press. 1995.
- JONKER J.S., KOHN R.A., ERDMAN R.A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* v.81, p.2681-2692. 1998.
- KADZERE C.T., MURPHY M.R., SILANIKOVE R., MALTZ E. Heat stress in lactating dairy cows: A review. *Livestock Prd. Sci.* v.77, p.59-91. 2002.
- KAUFFMAN A.J., ST-PIERRE N.R. The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* v.84, p.2284-2294. 2001.
- KENNELLY J.J., GLIMM D.R., OZIMEK L. Milk composition in the cow. Alberta: University of Alberta, 2000. p.1-20.
- OSPINA H., MÜHLBACH P.R. PRATES E.R., BARCELLOS J.O. Porque e como otimizar o consumo de alimentos da vaca em lactação. In: *2º Encontro Anual da UFRGS sobre Nutrição de Ruminantes: Novos Desafios para a Produção Leiteira do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, p37-72. 2000.
- PERES J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- WHYTE D., CLAYCOMB R., MEINS G. *Desenvolvimento de um sensor on-line de mastite*. In: *2º Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite*. Ribeirão Preto. Novembro, 2002.
- WITWER F., REYES J.M., OPITZ H., CONTRERAS P., BÖHMWALD H. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Arch.Med.Vet.* v.25, p.165-172. 1993.

DISTÚRBIOS DA HEMOSTASIA EM VETERINÁRIA: PATOGENIA E AVALIAÇÃO CLÍNICO- LABORATORIAL*

Regina Kiomi Takahira

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade Estadual Paulista – Botucatu
takahira@fmvz.unesp.br

Introdução.

O sistema hemostático consiste de mecanismos que conduzem a uma resposta efetiva à injúria vascular ao mesmo tempo em que garante a fluidez do sangue nos vasos e a perfusão tecidual. Eventos fisiológicos e bioquímicos envolvendo a dinâmica do fluxo sangüíneo, componentes do endotélio vascular, fatores de coagulação, plaquetas e os mecanismos fibrinolíticos interagem para minimizar a perda de sangue e promover a subsequente reparação tecidual. Este enfoque é importante pois a hemostasia inclui não apenas o controle da hemorragia, com a qual é mais comumente relacionada, mas também a dissolução do coágulo (fibrinólise).

Pode-se dividir didaticamente o mecanismo hemostático em três fases: hemostasia primária, hemostasia secundária ou coagulação e hemostasia terciária ou fibrinólise, embora seja importante ressaltar a inter-relação existente entre todos os componentes do sistema.

Hemostasia primária.

A *hemostasia primária* é o resultado da interação entre as paredes do vaso lesado e as plaquetas, culminando na formação do *plug* ou tampão hemostático primário. A vasoconstrição por meio de arco-reflexo acontece imediatamente após a lesão do vaso, mantendo o controle da hemorragia nos momentos iniciais (primeiros segundos). Com a exposição do tecido subendotelial, ocorre a ligação entre as plaquetas e o colágeno tecidual (agregação plaquetária) intermediada pelo Fator de von Willebrand (FvW). A ligação do FvW em receptores na membrana da plaqueta provoca alterações morfológicas e a consequente liberação de substâncias vasoativas e agregantes (adrenalina, noradrenalina, ADP, serotonina, tromboxane A₂, entre outras). Estas

* Takahira, R. (2003). Hemostasia Veterinária. In: González, F.H.D., Campos, R. (eds.): *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.49-64.

substâncias são responsáveis pela manutenção da vasoconstrição nos próximos minutos e pela amplificação da adesão e agregação plaquetária.

A ligação das plaquetas entre si (agregação plaquetária) é mediada pelo fibrinogênio presente no plasma. A compactação do agregado (*plug* hemostático primário) se dá pela contração dos filamentos de actinmiosina existentes no citoplasma da plaqueta.

A eficiência deste processo depende do calibre do vaso lesado, sendo mais eficiente nos vasos capilares. A limitação do processo de adesão plaquetária ocorre pela liberação de PGI₂ (prostaciclina), um potente vasodilatador e antagonista da agregação plaquetária derivado do ácido araquidônico, pelo endotélio íntegro, restringindo os eventos acima citados ao local da injúria.

Produção de plaquetas (trombopoiese).

É realizada pelos megacariócitos na medula óssea, por meio da fragmentação de seu citoplasma.

Eventualmente algumas destas células podem cair na circulação e vir a parar no pulmão ou no baço, onde há grande rede de capilares, e lá continuar a sua produção até o final de sua vida útil. A vida média das plaquetas é de 4 a 7 dias, dependendo da espécie.

Uma disfunção na hemostasia primária leva à formação de pequenas lesões hemorrágicas (petéquias e equimoses) imediatamente após o trauma, devido à ineficiência dos componentes da hemostasia primária conterem o extravasamento de sangue dos vasos, principalmente nos primeiros minutos. Estas lesões são geralmente múltiplas e difusas.

Em resumo, a lesão vascular seguida da vasoconstrição por arco-reflexo, posteriormente mediada por substâncias vasoativas liberadas pelo vaso, leva à diminuição da pressão hidrostática e do fluxo sanguíneo local. Ocorre a adesão plaquetária à superfície da parede do vaso e alterações morfológicas levam à liberação de outros mediadores químicos pelas plaquetas, estimulando a adesão e agregação plaquetárias e a formação do *plug* hemostático primário.

Hemostasia secundária (coagulação).

A hemostasia secundária envolve a formação de complexos macromoleculares de fibrina pela coagulação de proteínas na superfície do *plug* plaquetário primário. O evento central da coagulação sangüínea é a conversão do fibrinogênio em fibrina mediada pela trombina. Esta transformação de uma substância solúvel em uma rede polimérica insolúvel ocorre precisamente no local da injúria.

Os fatores ou proteínas da coagulação participam em reações altamente específicas e são designados por números romanos de acordo com a sua descoberta pelo mundo científico, não correspondendo à ordem de atuação na seqüência de reações da formação do coágulo de fibrina (Tabela 1).

Tabela 1. Fatores da coagulação.

Fator	Nome	Local de síntese	Observações
Fator I	Fibrinogênio	hepatócito	
Fator II	Protrombina	hepatócito	vit. K dependente
Fator III	Tromboplastina tecidual	vários tipos celulares	
Fator IV	Íons cálcio		
Fator V	Proacelerina	hepatócito/ megacariócito	
Fator VII	Proconvertina	hepatócito	vit. K dependente
Fator VIII	Fator anti-hemofílico (Fator VIII:C)	hepatócito	fator VIII:c
vWF	Fator de von Willebrand (FVIII:RAG)	célula endotelial, megacariócito	carreia o FVIII:C; atua na hemostasia primária
Fator IX	Fator de Christmas	hepatócito	vit. K dependente
Fator X	Fator de Stuart-Prower	hepatócito	vit. K dependente
Fator XI	Antecedente da tromboplastina plasmática	hepatócito	
Fator XII	Fator de Hageman	hepatócito	
Fator XIII	Fator Estabilizador da Fibrina	hepatócito	

A quantidade de cálcio necessária para o processo de coagulação é muito pequena, e uma hipocalcemia severa, a ponto de interferir com este processo levaria o animal à morte por outros motivos, pois o cálcio desempenha outras funções vitais em que são requeridas maiores concentrações (contração muscular, transmissão do impulso nervoso, etc). O conhecimento da atuação do cálcio na coagulação possibilita a obtenção de sangue e plasma (com anticoagulantes quelantes de cálcio como o EDTA) para a realização de diversas provas laboratoriais.

O Fator VI não figura nesta lista porque posteriormente à sua descoberta observou-se que o mesmo correspondia ao fator V ativado.

O FvW é uma molécula grande e de alto peso molecular e serve de carreador para as moléculas do FVIII:C. Embora sejam duas proteínas distintas e de funções bastante

distantes, o Fator VIII coagulante (FVIII:C, Fator anti-hemofílico) e o Fator de von Willebrand (FvW, Fator VIII:RAG), são por vezes considerados como um único complexo denominado apenas como Fator VIII.

Com base no mecanismo de ativação inicial da coagulação foram identificadas duas vias: a *via intrínseca* e a *via extrínseca*. Qualquer que seja o mecanismo de ativação, ambas levam a uma via comum e a formação da fibrina.

A via intrínseca é ativada pelo contato do Fator XII com uma superfície negativamente carregada, geralmente o colágeno. Substâncias como a calicreína, precalicreína, e cininogênio de alto peso molecular (HMWK) propagam a coagulação.

O Fator XIII (fator estabilizador da fibrina) forma ligações covalentes entre os monômeros da fibrina, tornando-a insolúvel e estabilizada.

Ao final deste processo obtém-se uma malha de polímeros de fibrina sobre o alicerce formado pelo endotélio lesado e pelo *plug* plaquetário.

A deficiência dos fatores de coagulação podem levar à formação de lesões hemorrágicas maiores (equimoses e hematomas) e hemorragias em cavidades, pois os mecanismos de hemostasia primária não são suficientes para reparar as injúrias de vasos de maior calibre, ou as lesões mais extensas. O sangramento exacerbado ocorre geralmente após uma ou duas horas da lesão inicial, quando cessam os efeitos temporários exercidos pela vasoconstrição e pela adesão e agregação plaquetária. Sem a consolidação do *plug* plaquetário pela fibrina, o tamponamento dos vasos é ineficiente.

É importante ressaltar neste momento que nem todo distúrbio hemorrágico ou hemostático é uma coagulopatia, uma vez que a coagulação é apenas uma etapa do processo hemostático completo.

Hemostasia terciária (fibrinólise).

Concomitantemente à formação do tampão hemostático, iniciam-se os mecanismos fibrinolíticos, que promovem a degradação enzimática do fibrinogênio e da fibrina e outros fatores de coagulação ativados, permitindo o reparo definitivo da injúria vascular e o controle sobre os eventos trombóticos. O equilíbrio entre a coagulação e a fibrinólise são importantes, uma vez que deles dependem a manutenção do sangue dentro dos vasos e a sua fluidez por dentro dos mesmos.

A plasmina é o principal mecanismo de fibrinólise, e é formada a partir do plasminogênio por meio de substâncias liberadas pelo tecido lesado. A plasmina age

sobre a fibrina, gerando os fragmentos denominados Produtos de Degradação da Fibrina (PDFs).

Outras substâncias importantes na fibrinólise são as proteínas C e S, que promovem a proteólise dos fatores V e VII ativados. São vitamina K-dependentes. A antitrombina III é um anticoagulante natural antagonista da trombina

Patogênese dos defeitos de hemostasia.

A origem dos defeitos de hemostasia pode estar localizada em qualquer uma das fases, levando tanto a fenômenos hemorrágicos quanto trombóticos. Outras formas de hemorragia podem ocorrer independentemente da localização do defeito, como a epistaxis, hematúria, hematoquesia, melena, etc. (Tabela 2).

Tabela 2. Principais alterações da hemostasia e sinais mais comuns.

Tipo de hemostasia	Possíveis alterações	Sinais mais comuns
<i>Hemostasia primária</i>	- defeitos vasculares, - alterações quantitativas ou qualitativas das plaquetas	- petéquias e equimoses, - hemorragias múltiplas em mucosas e serosas, - sangramento imediato
<i>Hemostasia secundária (coagulação)</i>	- deficiência adquirida ou hereditária na síntese dos fatores de coagulação, - síntese defeituosa dos fatores, - consumo excessivo	- equimoses, hematomas e hemorragias em cavidades, - sangramento tardio geralmente induzido
<i>Hemostasia terciária (fibrinólise)</i>	- estímulos excessivos, - liberação de substâncias ativadoras da coagulação	- trombose, - infarto renal, cardíaco, etc. - hemorragias

Defeitos vasculares.

Os vasos são responsáveis pelo controle imediato da hemorragia, e as alterações estruturais pré-existentes ou decorrentes de processos imunomediados (deposição de imunocomplexos) e/ou inflamatórios, levam a vasculite e a fragilidade capilar, diminuindo a capacidade de resposta dos mesmos.

Anormalidades quantitativas das plaquetas (trombocitopenias).

São a principal causa de distúrbios hemostáticos. As principais causas de trombocitopenia são: deficiência na produção (megacariocitopoiese), meia vida reduzida por destruição (processos imunomediados) ou consumo (coagulação

intravascular disseminada), ou seqüestro em baço. O baço pode armazenar cerca de 75% das plaquetas circulantes, e em condições de esplenomegalia, pode ocorrer uma trombocitopenia transitória.

Anormalidades qualitativas das plaquetas.

As alterações qualitativas, menos freqüentes que as quantitativas, são normalmente decorrentes de alterações morfológicas e funcionais adquiridas por processos imunomediados (drogas, *Ehrlichia sp*, transfusões incompatíveis, etc).

Dentre as alterações funcionais congênitas, citam-se a deficiência de estoque ou produção de substâncias plaquetárias (Ca^{++} , fator de von Willebrand, ADP, etc). As deficiências de receptores de membrana (glicoproteínas) são raríssimas. Citam-se a deficiência do receptor GP Ib/IX (ligação do FvW), denominada síndrome de Bernard-Soulier, e a deficiência do GP IIb/IIIa (fibrinogênio), conhecida como Trombastenia de Glanzmann.

A administração de anti-inflamatórios não esteróides inibidores da cicloxigenase inibem a adesão e a agregação plaquetária por bloquearem a síntese de tromboxane A_2 (TXA_2) plaquetária a partir do ácido araquidônico. O TXA_2 é um potente agente vasoconstritor e estimulante da adesão plaquetária. A síntese de prostaciclina (PGI_2); antagonista do TXA_2 e potente vasodilatador; pelo endotélio íntegro não é muito prejudicada devido à reversibilidade deste bloqueio, uma vez que a célula endotelial é nucleada e capaz de produzir mais cicloxigenase. Estes medicamentos são utilizados em doses baixas como terapia antitrombótica.

Defeitos nos fatores de coagulação.

As alterações decorrentes de falha nos mecanismos de hemostasia secundária podem advir de falha absoluta ou parcial na síntese dos fatores de coagulação. Estas podem ser congênitas como na hemofilia A ou hemofilia clássica (deficiência de fator VIII) e hemofilia B (deficiência de fator IX) ou adquiridas. A deficiência do FvW leva à doença de von Willebrand, entretanto os sinais serão de primeira fase, pois este é o único fator de coagulação que atua na hemostasia primária (adesão plaquetária).

A insuficiência hepática, a intoxicação por dicumarínicos (antagonistas da vitamina K), o consumo excessivo dos fatores de coagulação (CID) e a presença de

inibidores na circulação (heparina, etc) são as principais causas de deficiência adquirida dos fatores de coagulação.

Alguns fatores de coagulação (II, VII, IX e X) chamados vitamina K-dependentes, são sintetizados em uma forma afuncional (acarboxiladas), e sofrem uma reação de carboxilação em que a vitamina K participa como cofator, produzindo centros de ligação para o cálcio, necessários para a sua função normal. Durante esta reação a vitamina K é convertida num metabólito inativo (Vitamina K epóxido). A enzima epóxido redutase é responsável pela reciclagem deste metabólito, convertendo-o para a forma ativa, razão pela qual a necessidade diária de ingestão de vitamina K é pequena. A ingestão de anticoagulantes rodenticidas leva à inibição desta enzima, e à rápida depleção dos estoques de vitamina K do organismo.

Coagulopatias de consumo.

A Coagulação Intravascular Disseminada (CID) é um estado patológico secundário encontrado em uma grande variedade de doenças e sob várias condições patológicas. A CID é um dos achados mais alarmantes numa doença, pois normalmente indica um mal prognóstico. O mecanismo básico desta síndrome é a ativação intravascular da coagulação sangüínea, concomitantemente com a ativação do sistema fibrinolítico como resultado da exposição do sangue a superfícies estranhas ou da entrada de material tromboplástico na circulação.

A formação subsequente de trombina leva a amplificação do processo com a estimulação da agregação plaquetária e formação de fibrina, resultando em trombose de capilares, arteríolas e vênulas e infarto em diversos órgãos.

A ativação do sistema fibrinolítico resulta na dissolução do fibrinogênio e fibrina e na liberação dos produtos de degradação da fibrina (PDFs) no sangue. Por esta razão a CID também pode estar associada a tendências hemorrágicas que podem ser severas.

Para definir esta condição paradoxal, em que um excesso de coagulação dá origem a uma diátese hemorrágica, o termo coagulopatia de consumo também é usado como sinônimo para a CID, que interfere nos três níveis do processo hemostático.

Acidentes ofídicos.

Os venenos ofídicos agem sobre o mecanismo hemostático por meio de suas ações coagulante, proteolítica e vasculotóxica, interferindo em todas as fases da hemostasia. O

veneno das serpentes dos gêneros *Bothrops* possuem ação coagulante "tipo trombina", transformando o fibrinogênio em fibrina. A capacidade da maioria dos venenos botrópicos de ativar o fator X e a protrombina da cascata de coagulação, resultam num consumo de fibrinogênio com incoagulabilidade sangüínea. A ação vasculotóxica sistêmica do veneno das serpentes do gênero *Bothrops* é causada por fatores hemorrágicos denominados hemorraginas, que agem destruindo inicialmente a membrana basal do endotélio lesado, causando posteriormente a ruptura de vasos capilares. Foi isolada por meio de fracionamento cromatográfico do veneno de *B. jararaca*, uma fração denominada botrocetin que possui atividade agregante plaquetária in vitro, mostrando que há também interferência com a hemostasia primária.

AVALIAÇÃO CLÍNICO - LABORATORIAL DOS DISTÚRBIOS HEMOSTÁTICOS

Introdução.

Antes de realizar qualquer exame laboratorial na tentativa de estabelecer um diagnóstico preciso da origem do sangramento, faz-se necessária a diferenciação entre um distúrbio hemostático propriamente dito de uma hemorragia por causas diversas, como um corpo estranho provocando epistaxe, diarréia sanguinolenta por parvovirose, sangramento após corte profundo, etc.

Deve-se sempre avaliar a quantidade e duração da hemorragia em relação ao grau de injúria. Desta maneira, suspeita-se de um distúrbio nos mecanismos hemostáticos quando há, por exemplo, sangramento exacerbado e/ou prolongado após punção venosa, extração dentária, caudectomia e outras formas de cirurgia.

História clínica.

Alguns dados são importantes no que se refere ao histórico do paciente.

O tempo de sangramento após o trauma pode denunciar a localização do distúrbio hemostático. Assim, um sangramento exacerbado que se dá logo após o trauma, está mais comumente associado a uma alteração de hemostasia primária, e um sangramento que ocorre após um período inicial de estancamento está mais associado a uma alteração da hemostasia secundária.

A idade do paciente no início dos sinais e a existência de sintomas semelhantes em familiares pode levar a pensar em alguma doença hereditária, como as hemofilias ou

trombastenias. O sexo dos animais acometidos também pode indicar se é uma doença ligada ao sexo ou não. O processo de aprimoramento racial entre os animais propicia o acasalamento entre familiares, aumentando a possibilidade de anomalias hereditárias em cães de raça.

Verificar se há história de exposição a drogas ou agentes tóxicos ao fígado, medula óssea ou plaquetas, possibilidade de intoxicação por rodenticidas, uso de anti-inflamatórios inibidores do ácido araquidônico, ou de terapia com anticoagulantes (heparina). Informar-se a respeito de transfusões sanguíneas incompatíveis.

Exame físico.

Avaliar o animal a procura de sinais como hepatomegalia, anemia, icterícia ou hipertermia, que podem indicar doenças intercorrentes que levam o animal à sintomatologia de sangramento. Doenças mieloproliferativas; imunomediadas; que levam à insuficiência hepática; à uremia ou que são potencialmente desencadeadoras de uma coagulação intravascular disseminada (CID), como as septicemias, viroses, e neoplasias, são pontos importantes a serem procurados.

Observar a presença de ectoparasitas. Os carrapatos são responsáveis pela transmissão da *Ehrlichia canis*, por causar trombocitopenia e posteriormente uma hipoplasia medular com pancitopenia, sendo uma das causas mais comuns de diáteses hemorrágicas em cães.

Os tipos de lesões hemorrágicas e a sua localização também são importantes no diagnóstico clínico (Tabela 3).

Exames laboratoriais.

Seleção dos testes.

A história e o exame clínico são importantes na seleção dos testes laboratoriais, realizados com base na suspeita clínica da localização do defeito da hemostasia.

Tabela 3. Tipos de lesões hemorrágicas, localização e possíveis causas.

Lesão	Localização	Possíveis causas
Petéquias (<0,5 cm)	Extremidades e zonas de alta pressão (geralmente múltiplas)	Alterações vasculares e/ou plaquetárias (hemostasia primária)
Equimoses	Pele, mucosas gengival, genital, ou conjuntival	Anormalidade na hemostasia primária ou secundária

Hemorragias intra-cavitárias ou em tecidos	Abdomen (hemoperitônio), tórax (hemotórax), articulação (hemartrose), músculo, olhos (retina, esclera e íris), etc	Alterações dos fatores de coagulação
Outras formas de sangramento	Hematúria, melena, epistaxis	Causas múltiplas.

Colheita e acondicionamento das amostras.

A punção venosa deve ser sempre cuidadosa, procurando evitar um garrote prolongado e/ou sucessivas punções, que levam à contaminação da amostra com substâncias teciduais (tromboplastina), estimulando a coagulação e a agregação plaquetárias.

O material deve ser sempre colhido em seringas e recipientes plásticos (policarbonato) ou tubos siliconizados, pois o contato com o vidro ativa a via intrínseca da coagulação.

Deve se utilizar sangue recém colhido. Os fatores de coagulação têm meia vida curta e as plaquetas tendem a formar agregados e/ou a aderir à superfície do frasco.

A temperatura do laboratório interfere nas provas laboratoriais por alterar a forma das plaquetas e acelerar (calor) ou retardar (frio) o processo de coagulação. Por esta razão algumas das provas devem ser realizadas em laboratórios climatizados.

Devido à grande quantidade de fatores interferentes e aos diferentes valores de referência existentes nos diversos laboratórios, é indicada a colheita e processamento concomitante de amostra de um animal controle sadio.

Anticoagulantes.

- Citrato de sódio a 3,8%: 9 partes de sangue para 1 de anticoagulante, para a avaliação dos fatores de coagulação (coagulograma);
- EDTA (ácido etileno-diamino-tetraacético) a 10%: 0,1 ml para cada 5 ml de sangue. É o anticoagulante de escolha para a contagem de plaquetas;
- Heparina: seu uso não é indicado pois inibe a trombina, interferindo com a coagulação.

Testes laboratoriais.

1. Hemostasia primária.

1.1 Contagem de plaquetas.

A maior parte das causas de sangramento nos animais são decorrentes de trombocitopenia. A contagem de plaquetas é realizada em câmara de Neubauer, utilizando como diluente uma solução de oxalato de amônio a 1% (líquido de Brecher).

Interpretação:

- Normal: 200.000 - 500.000/ μ l (cão)
- Trombocitopenia: < 100.000/ μ l
- Sangramento: < 50.000/ μ l

A trombocitopenia não tem relação direta com o grau de sangramento, e pode estar relacionada a:

- diminuição da produção;
- depressão da medula óssea por drogas, viroses ou radiação;
- doenças mieloproliferativas;
- aumento da destruição / consumo;
- hipersensibilidade (imunomediada);
- CID.

A trombocitose (aumento do n^o de plaquetas) geralmente está associada a:

- anemia regenerativa, como resposta ao estímulo da eritropoetina;
- neoplasias;
- infecções;
- processos inflamatórios (trombocitose reativa);
- pós-esplenectomia, pois o baço pode armazenar até 75% das plaquetas circulantes;
- leucemia megacariocítica (condição mais rara).

1.2 Avaliação do esfregaço sangüíneo corado.

Fornece uma estimativa subjetiva da quantidade de plaquetas. O encontro de 3 (três) ou menos plaquetas por campo em objetiva de imersão sugere trombocitopenia.

A avaliação do esfregaço traz ainda informações como:

- presença de macroplaquetas, que são mais funcionais que as plaquetas normais e indicam regeneração da medula óssea;

- presença de agregados plaquetários, decorrentes de colheitas mal feitas (garrote prolongado, sucessivas punções, etc), ou
- demora no processamento e podem indicar uma falsa trombocitopenia.

1.3 Exame de medula óssea.

O mielograma avalia quantitativa e qualitativamente a megacariocitopenia, diferenciando os processos de consumo ou destruição periférica de plaquetas dos defeitos de produção, como por exemplo nas doenças mieloproliferativas.

1.4 Tempo de sangramento.

Avalia a integridade vascular e a função plaquetária.

↳ Após tricotomia, realizar pequeno corte na pele (padronizar o comprimento e profundidade do corte) em regiões com pouco pêlo (pavilhão interno da orelha, parte medial da coxa ou mucosa gengival).

↳ Remover o sangue com papel de filtro de 30 em 30 segundos sem tocar a pele até a hemorragia parar.

Valores normais: 1 - 5 minutos.

O tempo de sangria encontra-se prolongado em vasculites, aumento da fragilidade capilar, trombocitopenias, trombocitopatias, na Doença de Von Willebrand, etc.

Devido a interferência do local e tamanho da incisão, temperatura ambiente, etc, deve-se usar sempre um animal controle e padronizar bem a técnica.

1.5 Agregação plaquetária.

A função plaquetária pode ser avaliada por meio de provas de agregação, onde um agonista é adicionado à uma suspensão de plaquetas (plasma rico em plaquetas - PRP), estimulando-as e promovendo sua agregação. Essa agregação diminui a turbidez do plasma rico em plaquetas, alterando a transmissão de luz por essa suspensão, que é mensurada pelo agregômetro de plaquetas. Os agonistas mais importantes são o ADP, o colágeno, e a adrenalina e avaliam a capacidade de resposta (presença de receptores de membrana, integridade do citoesqueleto, etc) e a reserva dessas substâncias nos grânulos citoplasmáticos das plaquetas. O PRP deve ser padronizado a 100.000-300.000 plaquetas/ μ l.

2. Hemostasia secundária.

2.1 Tempo de coagulação.

Avalia de maneira grosseira os fatores de coagulação.

2.1.1 Método do tubo capilar:

↳ Preencher alguns capilares de microhematócrito com sangue total sem anticoagulante.

↳ Quebrar o capilar a cada 30 segundos e verificar a formação de um fio de fibrina (início da coagulação).

↳ Contar o tempo a partir do surgimento do sangue no êmbolo da seringa.

Normal em eqüinos e bovinos: 3 - 15 minutos

Outros animais: 1 - 5 minutos

Encontra-se prolongado quando há deficiência dos fatores de coagulação da via intrínseca ou comum.

2.1.2 Método de Lee-White:

É um método mais preciso pois padroniza-se a temperatura da reação e o diâmetro do tubo para a realização do teste.

↳ Colher cerca de 3 ml de sangue.

↳ Cronometrar o tempo assim que o sangue aparecer na seringa.

↳ Colocar 1 ml de sangue em 3 tubos de vidro (10 x 75 mm).

↳ Incubar em banho-maria a 37^oC.

↳ Após 2 minutos girar levemente o tubo n^o 1.

↳ Girá-lo a intervalos de 1 minuto.

↳ Quando o tubo n^o 1 coagular, realizar o mesmo procedimento com o segundo e depois com o terceiro tubo.

Tempo de coagulação: surgimento do sangue na seringa até a coagulação no terceiro tubo.

Normal: 3 - 12 minutos

2.2 Tempo de protrombina (TP).

Avalia a via extrínseca e a comum, pela adição de um fator tecidual, estimulando a coagulação pela via extrínseca (Tabela 4).

↳ Plasma colhido em citrato de sódio.

↳ Adição de tromboplastina tecidual (fator extrínseco) e recalcificação da amostra.

↳ Cronometrar até a formação do coágulo de fibrina.

O valor normal depende da atividade dos reagentes e do laboratório empregado, porém o tempo de coagulação que seria de minutos passa a ser de alguns segundos, pela adição do fator tecidual.

2.3 - Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA).

Avalia a via intrínseca e comum, pela adição de um fator de ativação por contato (Tabela 4).

↳ Plasma colhido em citrato de sódio.

↳ Adição de caolin (ativa fator XII) ou cefalina (substituto do fator plaquetário).

↳ Recalcificar a amostra e cronometrar até a formação do coágulo.

2.4 Tempo de trombina (TT).

Avalia basicamente o tempo para formação da fibrina a partir do fibrinogênio, que é o passo mais importante da via comum.

↳ Plasma colhido em citrato de sódio.

↳ Adição de trombina e recalcificação da amostra.

↳ Cronometrar até a formação do coágulo de fibrina.

Normal: 15 - 20 segundos.

Encontra-se aumentado em hipofibrinogemias (<100 mg/dl), na função deficiente do fibrinogênio (desfibrinogenemia) e na presença de inibidores da indução de formação do coágulo pela trombina (heparina).

Tabela 4. Relações entre tempos de protrombina (TP) e de tromboplastina parcial ativada (TTPA).

Resultado	Interpretação
TTPA ↑ e TP normal	alteração da via intrínseca (deficiência dos fatores XII, XI, IX e VIII), hemofilias
TTPA normal e TP ↑	alteração da via extrínseca (deficiência do fator VII)
TTPA e TP ↑	alteração da via comum (fatores X, V, II e I) ou de vários fatores concomitantemente (ex: insuficiência hepática)

Observação: Na intoxicação por antagonistas da vitamina K, devido a curta vida média do Fator VII, o TP pode apresentar-se inicialmente prolongado enquanto o TTPA está normal.

2.4 Fibrinogênio.

O fibrinogênio pode ser mensurado por duas técnicas.

2.4.1 Método do refratômetro:

↳ Preencher dois capilares de microhematócrito com sangue com anticoagulante EDTA a 10%.

↳ Vedá-los e centrifugá-los a 5000 rpm por cerca de 3-5 minutos.

↳ Quebrar o primeiro capilar e ler a proteína plasmática total (PPT) no refratômetro.

↳ Levar o segundo capilar ao banho maria a 56°C por 3 minutos, onde ocorrerá a coagulação do fibrinogênio (o plasma fica turvo).

↳ Centrifugar novamente para a precipitação do fibrinogênio.

↳ Ler a proteína plasmática restante no refratômetro (PPR).

↳ Calcular a diferença entre a primeira e a segunda leitura (PPT – PPR= fibrinogênio).

2.4.2 Método colorimétrico (Ratnoff & Menzie):

É um método mais preciso, pouco utilizado na rotina dos laboratórios veterinários. Mensura o fibrinogênio pela adição de trombina ao plasma citratado e recalcificado, promovendo a formação de fibrina, e quantificação colorimétrica pela reação desta com o Folim.

3. Fibrinólise.

Produtos de Degradação da Fibrina (PDFs).

A amostra deve ser colhida com antifibrinolítico para evitar a degradação da fibrina in vitro e formação de mais PDFs. Existem kits comerciais que avaliam semi-quantitativamente os PDFs por meio de reação de aglutinação em látex.

Os PDFs encontram-se aumentados em condições de estímulo da fibrinólise ou na CID.

Literatura recomendada.

COLMAN R.W. et al *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. Lippincott Willians & Wilkins, 4ed., 2001.1578p.

- FELDMAN, B.F. Hemostasis. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, vol.18, n.1, 1988.
- FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology* . 5 ed Philadelphia, Lea & Febiger, 2000. 1344p.
- HOFFMAN, R. et al. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 2.ed., New York, Churchill Livingstone, 1995. 2369p.
- JAIN, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 4ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1986. 1221p.
- KANEKO, J. J. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. New York, Academic Press. 1997, 932p.
- LEE, G.R. et al. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 9 ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1993. 2324p.

CARACTERÍSTICAS DOS DERRAMES CAVITÁRIOS EM VETERINÁRIA*

Sonia Terezinha dos Anjos Lopes

Hospital Veterinário
Centro de Ciências Rurais
Universidade Federal de Santa Maria
sonia@laborcare.com.br

Introdução.

O volume de água corporal nos animais corresponde cerca de 65% do peso total. Esta percentagem está mais relacionada com a massa dos tecidos, sendo que os animais magros possuem maior percentagem de água que os obesos. A distribuição do volume de água não é equitativa porque os tecidos e órgãos do corpo contêm quantidades diferentes e características de água. Esta distribuição desigual de água é divisível em dois compartimentos: o líquido extracelular e o líquido intracelular. O líquido extracelular corresponde aproximadamente a 24% do volume de líquido total e inclui o plasma (4%), o líquido tissular ou intersticial (15%) e o líquido transcelular (5%). O líquido transcelular é aquele que ocorre nas cavidades corporais, nas vísceras ocas, nos olhos e nos produtos de secreção das várias glândulas. O restante 76% dos compartimentos líquidos corresponde ao líquido intracelular, que é intercambiável com o extracelular, estando os dois em um estado de fluxo constante.

O plasma ou a fase intercelular líquida do sangue contém numerosos e variados cristalóides, assim como proteínas plasmáticas. Os cristalóides não deixam o sangue em quantidades significativas sob condições normais. Apenas a água e os cristalóides têm livre acesso aos tecidos conjuntivos. O líquido tissular, portanto, é o plasma desprovido da maioria de suas proteínas características. O líquido tissular que ganha acesso aos capilares linfáticos é chamado de linfa. A linfa não contém quantidades significativas de proteínas, mas as proteínas plasmáticas que adentram no interstício retornam indiretamente para a circulação geral pelos vasos linfáticos.

Trocas normais de fluidos.

Os metabólitos e o oxigênio devem atravessar o líquido tissular antes de atingir as células. Os produtos residuais do metabolismo atravessam o líquido tissular e são

* Lopes, S.T. (2003) Características dos derrames cavitários em Veterinária. In: González, F.H.D., Campos, R. (eds.): *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.65-72.

transportados no sangue para os seus locais de excreção (rins) ou troca (pulmões) adequados. As substâncias dissolvidas no sangue se movem a favor dos seus gradientes de concentração (difusão) de forma aleatória, para fora ou para dentro do compartimento vascular através das fenestras das células endoteliais. A permeabilidade seletiva da célula endotelial impede, exceto por uma pequena quantidade, o transporte de macromoléculas (proteínas) através desta barreira.

O movimento do fluido e de substâncias é governado pelas relações entre as pressões hidrostática e oncótica que regulam o delicado equilíbrio líquido do organismo. A pressão hidrostática no interior dos capilares move continuamente o líquido e as substâncias nele dissolvidas para o tecido conjuntivo. A perda de líquido do espaço vascular poderia ser contínua, se a pressão oncótica das proteínas plasmáticas do leito vascular não recuperasse os líquidos do espaço intersticial de volta para o espaço intracapilar.

O movimento e a distribuição de fluídos no organismo depende do balanço de quatro fatores, que governam a direção e quantidade de líquidos que são movidos e/ou mantidos nos vários locais. Esses fatores são: a pressão hidrostática do capilar, a pressão hidrostática intersticial, a pressão coloidosmótica do capilar e a pressão coloidosmótica intersticial (Tabela 1).

Tabela 1. Fatores que afetam a direção e quantidade dos fluidos no organismo.

Pressão (mmHg)	Arteriolar	Venular
Hidrostática do plasma	30	17
Hidrostática do tecido	8	8
Oncótica do plasma	25	25
Oncótica do tecido	10	10

Pressão de filtração: $[30 - 8] - [25 - 10] = 7$ mmHg

Pressão de reabsorção: $[17 - 8] - [25 - 10] = -6$ mmHg

A pressão hidrostática capilar (do plasma) é iniciada e mantida pela força mecânica do coração. Embora a pressão hidrostática capilar caia apreciavelmente no lado arterial dos capilares para 30 mmHg, esta pressão excede a pressão hidrostática intersticial (do tecido), que é de 8 mmHg. As proteínas plasmáticas, principalmente a albumina, contribuem para a pressão coloidosmótica (oncótica) do sangue. Esta é de aproximadamente 25 mmHg no lado arterial do leito capilar. A pressão coloidosmótica do líquido tissular é de aproximadamente 10 mmHg. Deste modo, no leito capilar arterial, há uma pressão resultante de 7 mmHg, também chamada de pressão de filtração, a favor do líquido para o tecido.

Alterações nas trocas de fluídos.

Numerosos fatores podem influenciar e alterar o delicado equilíbrio que existe entre os componentes líquidos dos compartimentos do sistema vascular, do sistema linfático e do tecido conjuntivo. Alterações como ingestão excessiva ou inadequada de água, desequilíbrio eletrolítico, deficiência de proteínas, processos inflamatórios e doenças sistêmicas podem se manifestar na troca de uma perturbação generalizada do equilíbrio fluído.

O edema é a retenção e o subsequente acúmulo de líquido tissular, resultante da transformação da pressão hidrostática intersticial em positiva (Tabela 1). As condições edematosas sistêmicas e/ou regionais não ocorrem facilmente. Como manifestação clínica, o edema geralmente é resultado de sérios processos patológicos.

Dois mecanismos específicos proporcionam uma margem de segurança para a acumulação de fluídos. A substância fundamental, representada pela propriedade intrínseca de absorção do tecido conjuntivo, pode absorver cerca de 30% de líquido além do seu conteúdo normal. O mecanismo de fluxo linfático proporciona uma margem de segurança adicional. Este fluxo é influenciado pela pressão hidrostática intersticial negativa, pelo bombeamento dos capilares linfáticos e pelo mecanismo de arrastamento de proteínas intersticiais pela água. O sistema de fluxo linfático gera um mecanismo que requer um aumento de 70% da pressão hidrostática capilar antes que o edema seja observado. Ainda é necessário que haja uma redução aproximada de 70% da pressão coloidosmótica do capilar antes que seja atingida uma condição edematosa.

Apesar destes fatores de segurança, o edema ocorre. Quatro mecanismos básicos provocam a formação excessiva de líquido tissular:

1. Obstrução linfática.

A obstrução linfática influencia este processo em duas vias. Inicialmente a obstrução linfática impede o retorno do líquido tissular para a circulação, resultando no aumento gradual e contínuo de líquidos no tecido conjuntivo. Isto aumenta a pressão hidrostática do líquido tissular. Ocorre também uma acumulação progressiva de proteínas no tecido conjuntivo. As proteínas elevam a pressão coloidosmótica do tecido conjuntivo, resultando numa tendência para atrair e reter mais água. As causas podem ser :

- linfangite e linfadenoma;

- tumores e/ou metástases;
- abscessos;
- extirpação cirúrgica de cadeia linfática.

2. Aumento da permeabilidade capilar.

Elevação da permeabilidade capilar resulta no vazamento de plasma para o compartimento do tecido conjuntivo. A elevada pressão coloidosmótica intersticial devido ao excesso de proteínas no tecido conjuntivo provoca o aumento da quantidade de líquido tissular. O fato mais significativo é a diminuição da capacidade do sangue para atrair a água de volta para os capilares. As causas podem ser :

- processos inflamatórios;
- reações alérgicas;
- substâncias tóxicas e venenos;
- queimaduras.

3. Diminuição da pressão oncótica capilar.

A baixa da pressão coloidosmótica (oncótica) está associada à baixa concentração de proteínas plasmáticas. Este tipo de deficiência resulta na diminuição da habilidade do sangue de remover fluidos do tecido conjuntivo. A hipoproteinemia pode ser resultado de :

- distúrbios hepáticos;
- perda excessiva de proteínas na urina (distúrbios renais);
- desnutrição protéica;
- perda excessiva de proteínas pelo tubo digestivo;
- parasitismo intenso.

4. Aumento da pressão hidrostática capilar.

A obstrução venosa resulta na elevação da pressão hidrostática capilar. Quando a pressão hidrostática excede a pressão coloidosmótica capilar, os líquidos são retidos no tecido conjuntivo. A elevação da pressão hidrostática capilar pode resultar de:

- deficiência cardíaca congestiva ou estase portal;
- inflação ou obstrução dos vasos;
- compressão com bloqueio dos vasos por tumores ou nódulos;
- aumento da resistência pulmonar;

- colocação apertada de bandagens.

Classificação dos derrames cavitários.

A classificação dos derrames cavitários é realizada com base nas suas diversas características, quer na parte física, química e citológica, nos seguintes termos:

- Transudato
- Transudato modificado
- Exsudato.

Transudato.

Características do transudato.

- * Límpidos e incolores (cães e gatos)
- * Amarelados (herbívoros)
- * Pequena quantidade de proteína total (<2,5 g/dl)
- * Poucas células nucleadas (CTCN <1.500 / μ l)
- * pH alcalino
- * Densidade baixa (< 1.017)
- * Células predominantes: mesoteliais, poucos linfócitos, neutrófilos íntegros e raros macrófagos e hemácias.

Causas de formação do transudato.

- diminuição da concentração das proteínas plasmáticas, ou seja; diminuição da pressão coloidosmótica;
 - nefropatia;
 - hepatopatia crônica;
 - enteropatia;
 - deficiência nutricional.

Transudato modificado.

A citologia do transudato modificado depende da sua origem, mas geralmente apresenta neutrófilos não degenerados em pequena quantidade, células mesoteliais reativas, pequena quantidade de linfócitos e macrófagos e poucas hemácias.

Tabela 2. Classificação dos transudatos conforme a sua localização.

Localização	Classificação
Cavidade abdominal	Hidroperitônio ou ascite
Cavidade pleural ou torácica	Hidrotórax
Pericárdio	Hidropericárdio
Cavidade articular	Hidroartrose
Bolsa escrotal	Hidrocele
Espaço subaracnóide nervoso	Hidrocéfalo, líquido ou líquido cefalorraquidiano
Tecido conjuntivo	Edema

Características do transudato modificado.

- * Leve a moderadamente turvo
- * Quantidade de proteína total moderada (2,5 – 7,0g/dl)
- * Baixa a moderada celularidade (CTCN 1.000 – 7.000/ μ l)
- * Células predominantes: mesoteliais, poucos linfócitos e neutrófilos íntegros, macrófagos e hemácias.

Causas de formação de transudato modificado.

* Aumento da pressão hidrostática capilar:

- estase venosa portal;
- ruptura de bexiga, ureter ou uretra;
- insuficiência cardíaca;
- ruptura do ducto biliar;
- neoplasias;
- hemorragias intra-cavitárias;
- bloqueio das veias que drenam os tecidos;
- torção pulmonar.

* Bloqueio do sistema linfático:

- massas;
- tumores.

Tabela 3. Classificação dos transudatos modificados conforme a sua localização.

Localização	Classificação
Cavidade abdominal	Hemoperitônio, uroperitônio, quiloperitônio
Cavidade pleural ou torácica	Hemotórax, quilotórax
Pericárdio	Hemopericárdio
Cavidade articular	Hemartrose
Bolsa escrotal	Hemocele

Características de alguns transudatos modificados específicos.

Efusão quilosa.

- * Formada pelo extravasamento de linfa
- * Cor creme (branca) ou rosada devido a presença de hemácias
- * Proteína total 2,0 a 6,5 g/dl
- * Células nucleadas: 1.000 a 17.000/ μ l
- * Células predominantes: linfócitos, podendo estar presentes neutrófilos e macrófagos
- * Concentração de triglicerídeos no fluido maior que no soro
- * Concentração de colesterol do fluido menor que no soro.

Peritonite Infeciosa Felina (PIF).

* Aguda: pouco quimiotactante, fluido com poucas células, alta proteína, incolor, viscoso, neutrófilos degenerados, macrófagos, plasmócitos, células mesoteliais e linfócitos.

- * Crônica: poucos neutrófilos, aumento de outras células.

Peritonite biliar.

- * Ruptura da vesícula ou ducto biliar
- * Amarelo - alaranjado, PT e CTCN moderada a alta
- * Pigmentos biliares em macrófagos
- * Concentração de bilirrubina do fluido maior que no soro.

Exsudato.

O exsudato possui formação ativa e origem inflamatória, com presença de substâncias *vasoativas* e *quimiotáticas*, que aumentam respectivamente o conteúdo de proteínas (por aumento da permeabilidade vascular) e o conteúdo de células do líquido.

Características do exsudato.

- * Turvos
- * Cor: branca, rosa, âmbar, vermelha, etc.
- * Proteína total (> 3,0 g/dl)
- * Densidade (> 1020)

* pH ácido

* Células nucleadas (CTCN >7.000 / μ l)

* Geralmente coagulam

* Citologia: predominância de neutrófilos, macrófagos e células mesoteliais; bactérias podem estar presentes.

Os exsudatos podem ser divididos em:

(1) sépticos: devido a agentes bacterianos, fúngicos, etc.

(2) assépticos: uoperitônio, peritonite biliar, pancreatite necrótica e neoplasias.

Tabela 3. Características dos derrames cavitários.

Parâmetro	Transudato	Transudato modificado	Exsudato
Proteína total (g/dl)	< 2,5	2,5 - 7,5	> 3,0
CTCN / μ l	< 1.500	1.000 - 7.000	> 7.000
Densidade	< 1017	1017 - 1025	> 1025
Bactérias	ausentes	ausentes	variável
Células predominantes	mononucleares mesoteliais	linfócitos monócitos mesoteliais hemácias	neutrófilos macrófagos mesoteliais

Bibliografia.

DUNCAN J.R., PRASSE K.W., MAQHFFEY E.A. *Veterinary laboratory medicine*. 3 ed. Ames: Iowa State University Press. 1994. 300p.

FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, C.N. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5ed., Philadelphia: Lea & Febiger. 2000. 1344p.

JAIN, C.N. *Essential of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger. 1993. 417p.

JAIN, C.N. *Schalm's Veterinary Hematology*. 4ed., Philadelphia: Lea & Febiger. 1986. 1221p.

KANEKO, J.J., HARVEY, D.W., BRUSS, W.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. New York: Academic Press. 1997. 932p.

MEYER D.J., COLES E.H., RICH L.J. *Medicina de Laboratório Veterinária - Interpretação e Diagnóstico*, São Paulo:Roca, 1995. 308p.

MEYER J.D, HARVEY J.W. *Veterinary laboratory medicine*. 2 ed.Philadelphia:W.B. Saunders Company, 1998. 373p.

WILLARD M.D, TVDTEN H., TURNWALD G.H. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*, 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1999. 430p.

PERFIL SANGÜÍNEO: FERRAMENTA DE ANÁLISE CLÍNICA, METABÓLICA E NUTRICIONAL*

Félix H. D. González; Jean F. S. Scheffer

Faculdade de Veterinária
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
felixgon@orion.ufrgs.br

Introdução.

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

O estudo da composição bioquímica do sangue é de longa data, principalmente vinculada à patologia clínica em casos individuais. Na década de 1970, Payne e colaboradores em Compton (Inglaterra), ampliaram a utilização deste estudo mediante o conceito de perfil metabólico, isto é, a análise de componentes sangüíneos aplicados a populações. O trabalho de Payne, aplicado inicialmente a rebanhos leiteiros, foi ampliado a outras espécies, com aplicações práticas no manejo alimentar (Payne & Payne, 1987).

A interpretação do perfil bioquímico é complexa tanto aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, devido aos mecanismos que controlam o nível sangüíneo de vários metabólitos e devido, também, a grande variação desses níveis em função de fatores como raça, idade, stress, dieta, nível de produção leiteira, manejo, clima e estado fisiológico (lactação, gestação, estado reprodutivo).

Também, para a correta interpretação dos perfis metabólicos é indispensável contar com valores de referência apropriados para a região e a população em particular. Em caso de não contar com esses dados, os valores referenciais a ser usados devem ser de zonas climáticas e grupos animais similares.

O presente trabalho tem por objetivo mencionar as causas de variação de alguns dos metabólitos sangüíneos mais usados no estudo do perfil bioquímico.

* González, F.H.D., Scheffer, J.F.S. (2003) Perfil sangüíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: González, F.H.D., Campos, R. (eds.): *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.73-89.

Albumina.

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, perfazendo cerca de 50% do total de proteínas. Tem um peso molecular aproximado de 66 kD. É sintetizada no fígado e contribui em 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo também uma importante reserva protéica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, atuando como ânion.

O nível de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente. Para a detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação. Níveis de albumina diminuídos, juntamente com diminuição de uréia, indicam deficiência protéica. Níveis de albumina diminuídos com níveis de uréia normais ou elevados acompanhados de níveis de enzimas altos são indicadores de falha hepática.

A hipoalbuminemia pode afetar o metabolismo de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportador, além de causar queda da pressão osmótica do plasma e levar a ascite, geralmente quando a concentração de albumina cai para menos de 20 g/l.

Albumina

Aumento

- desidratação
- perda excessiva de fluidos

Diminuição

- dano hepático crônico
- déficit alimentar de fontes protéicas
- parasitismo gastrointestinal
- doença renal (síndrome nefrótica, glomerulonefrite crônica, diabetes)
- síndrome de malabsorção
- hemorragias
- sobreidratação (iatrogênico)

Bilirrubina.

A maior parte da bilirrubina no plasma deriva da degradação dos eritrócitos velhos pelo sistema retículo-endotelial, especialmente no baço. A bilirrubina restante provém da degradação da mioglobina, dos citocromos e de eritrócitos imaturos na medula óssea. A hemoglobina liberada dos eritrócitos se divide em porção globina e grupo heme. Após a extração da molécula de ferro, que fica armazenado ou é reutilizado, o grupo heme é convertido em bilirrubina. A bilirrubina assim formada é

chamada de bilirrubina livre, que é transportada até o fígado ligada à albumina plasmática. Esta forma, também conhecida como bilirrubina indireta no laboratório clínico, não é solúvel em água. Sendo lipossolúvel, não é filtrada pelos glomérulos renais, e não é excretada pela urina.

No fígado, a bilirrubina é desligada da albumina e conjugada com o ácido glicurônico para formar bilirrubina conjugada. Esta é solúvel em água e secretada ativamente pelos canalículos biliares menores e posteriormente excretada pela bile.

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

Bilirrubina

Aumento

- hemólise intravascular
- hemorragia massiva
- transfusão inadequada
- lesão hepato-celular
- obstrução biliar
- cirrose
- drogas esteroidais

Diminuição

- anemia crônica

Cálcio.

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

O sistema endócrino envolvendo a vitamina D₃, o paratormônio (PTH) e a calcitonina, responsáveis pela manutenção dos níveis sanguíneos de cálcio, atua de forma bastante eficiente para ajustar-se à quantidade de cálcio disponível no alimento e às perdas que acontecem, principalmente na gestação e na lactação. O firme controle

endócrino do Ca, faz com que seus níveis variem muito pouco (17%) comparado com o fósforo (variação de 40%) e o magnésio (variação de 57%). Portanto, o nível sanguíneo de cálcio não é um bom indicador do estado nutricional, enquanto que os níveis de fósforo e magnésio refletem diretamente o estado nutricional com relação a estes minerais.

Cálcio

Aumento

- neoplasia
- intoxicação com vitamina D
- hiperparatireoidismo primário
- dieta com excesso de cálcio

Diminuição

- febre do leite (vacas leiteiras)
- deficiência de vitamina D
- hipoparatiroidismo
- hipoalbuminemia
- doença renal crônica
- animais velhos
- gestação / lactação
- doenças intestinais
- dieta baixa em cálcio
- dieta baixa ou com excesso de magnésio

Colesterol.

O colesterol nos animais pode ser tanto de origem exógena, proveniente dos alimentos, como endógena, sendo sintetizado, a partir do acetyl-CoA, no fígado, nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. A biossíntese de colesterol no organismo é inibida com a ingestão de colesterol exógeno. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas (HDL, LDL e VLDL), sendo que cerca de 2/3 dele está esterificado com ácidos graxos. Os níveis de colesterol plasmático são indicadores adequados do total de lipídios no plasma, pois corresponde a aproximadamente 30% do total.

O colesterol é necessário como precursor dos ácidos biliares, os quais fazem parte da bile, e dos hormônios esteróides (adrenais e gonadais). Os estrógenos, sintetizados a partir de colesterol, afetam a complexa inter-relação das funções hipofisária, tireoidiana e adrenal. Portanto, os níveis de colesterol podem dar uma indicação indireta da atividade tireoidiana.

O colesterol é excretado pela bile, na forma de ácidos biliares, ou na urina, na forma de hormônios esteróides. Em animais monogástricos é recomendável que as coletas para dosar colesterol sejam feitas após jejum de 12 horas.

Cholesterol

Aumento

- hipotireoidismo
- diabetes mellitus
- obstrução biliar
- pancreatite

- síndrome nefrótica
- hiperadrenocorticismo
- dieta rica em gorduras
- gestação
- início da lactação
- animais velhos

Diminuição

- insuficiência hepática
- dieta baixa em energia
- hipertireoidismo
- doenças genéticas relacionadas com síntese diminuída de apolipoproteínas do plasma
- pré-parto

Corpos cetônicos.

Os corpos cetônicos, produto do metabolismo dos ácidos graxos, são o β -hidroxibutirato, o acetoacetato e a acetona. Em situações onde há deficiência de energia, o acetoacetato, produzido normalmente no metabolismo dos ácidos graxos, não pode ser metabolizado e sofre redução a β -hidroxibutirato ou descarboxilação até acetona.

Corpos cetônicos

Aumento

- diabetes mellitus
- cetose dos ruminantes
- jejum prolongado
- malnutrição
- síndrome de malabsorção
- deficiência de cobalto em ruminantes
- balanço energético negativo
-
-
-

Diminuição

Creatinina.

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

A excreção de creatinina só se realiza por via renal, uma vez que ela não é reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo. Por isso, os níveis de creatinina

plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que níveis altos de creatinina indicam uma deficiência na funcionalidade renal.

Creatinina

Aumento

- fluxo renal reduzido
- hipotensão
- desidratação
- doenças renais
- obstrução urinária
- síndrome hepato-renal
- dano muscular
- exercício intenso

Diminuição

- insuficiência hepática
- sobreidratação
- miopatia

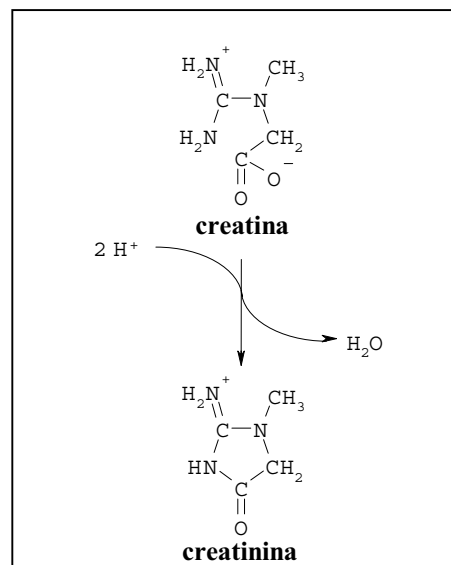


Figura 1. Formação de creatinina a partir da creatina.

Fósforo.

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

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

atividade da microflora e portanto para a normal digestão.

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

Geralmente, as pastagens são abundantes em Ca e deficientes em P, acontecendo uma relativa deficiência de P e um excesso de Ca. Porém, os ruminantes estão bem adaptados para compensar altas relações Ca:P (até mais de 3:1). Por outro lado, o excesso de suplementação com Ca e P podem causar diminuição da absorção intestinal de outros minerais, tais como Mg, Zn, Mn e Cu.

Dietas com excesso de cereais, especialmente trigo, que contém alto teor de P, podem causar hiperfosfatemia em ovelhas e cabras, em decorrência da qual pode ocorrer urolitíase. O mesmo pode acontecer em gado sobrealimentado com concentrados e em cães e gatos com dietas únicas de carne.

Fósforo

Aumento

- insuficiência renal
- intoxicação com vitamina D
- hipoparatiroidismo
- dieta com baixa relação Ca/P
- amostra hemolisada
- amostra mal conservada
- hemólise (extravasular)
- animais jovens

Diminuição

- dieta com alta relação Ca/P
- síndrome de malabsorção
- hiperparatiroidismo
- deficiência de vitamina D
- osteomalacia

Glicose.

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

Na digestão dos ruminantes, pouca glicose proveniente do trato alimentar entra na corrente sanguínea. O fígado é o órgão responsável pela sua síntese a partir de moléculas precursoras na via da gliconeogênese. Assim, o ácido propiônico produz 50%

dos requerimentos de glicose, os aminoácidos gliconeogênicos contribuem com 25% e o ácido láctico com 15%. Outro precursor importante é o glicerol.

O teor de glicose sanguíneo tem poucas variações, em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes do organismo, os quais envolvem o controle endócrino por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticóides sobre a gliconeogênese. Quando o fornecimento energético é inadequado, esses hormônios estimulam a degradação de glicogênio hepático e a síntese de nova glicose no fígado e quando o balanço energético se torna negativo, estimulam a mobilização de triglicerídeos para fornecer ácidos graxos como fonte de energia e glicerol como precursor de glicose hepática. A dieta tampouco tem grande efeito sobre a glicemia, em função desses mecanismos homeostáticos, exceto em animais com severa desnutrição. Porém, o fato de ser um metabólito vital para as necessidades energéticas do organismo justifica sua inclusão no perfil metabólico. Sob condições de campo, diferentemente das condições experimentais, em ocasiões ocorre hipoglicemia, e seja qual for a causa ela indica um estado patológico com importantes implicações na saúde e na produção. Em cavalos subalimentados apresenta-se com freqüência hipoglicemia e hiperlipemia. A mobilização de lipídios nesta espécie pode ser excessiva podendo causar dano hepático, às vezes fatal. O nível de glicose nos ruminantes tende a ser menor no terço final da gestação do que nos períodos anteriores, isto é, os níveis tendem a diminuir à medida que a gestação avança. Sabe-se que o feto *in utero* demanda glicose como maior fonte de energia. Entretanto, no momento do parto, a glicemia tem um aumento agudo, talvez devido ao estresse. No período posterior ao parto os níveis caem de novo, especialmente na primeira semana e em vacas de alta produção.

Glicose

Aumento

- diabetes mellitus
- hiperadrenocorticismo
- stress
- pancreatite
- hipoinsulinismo
- alimentação recente
- deficiência de tiamina
- animais jovens
- infusão intravenosa de glicose

Diminuição

- hiperinsulinismo
- hipoadrenocorticismo
- síndrome de malabsorção
- amostra mal conservada
- subnutrição
- lactação
- toxemia da gestação (ovelhas)

Lactato.

O lactato é um produto intermediário do metabolismo dos glicídeos, sendo o

produto final da glicose anaeróbica. Na presença suficiente de oxigênio e uma moderada taxa de glicólise, o ácido pirúvico entra no ciclo de Krebs, gerando CO₂ e H₂O. Em condições em que o ácido pirúvico é produzido em uma quantidade maior da que consiga utilizar, ou quando ocorre condição de anaerobiose, o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico.

Em condições normais, a maioria do lactato é produzida pelos eritrócitos, mas durante exercício ou atividade física intensa, o músculo produz grandes quantidades de lactato, devido à condição de insuficiente oxigenação do músculo nestas situações.

Lactato

Aumento

- situações de hipoxia
- anemia
- insuficiência cardíaca
- diabetes mellitus
- acidose láctica (ruminantes)
- deficiência de tiamina
- toxemia da gestação (ovelhas)
- exercício físico intenso
- amostra mal conservada

Diminuição

Lipídios totais.

Os lipídios têm importantes funções no organismo, tais como fazer parte da estrutura das membranas celulares, como fonte energética, na síntese de hormônios e como protetores das vísceras.

Os lipídios encontrados no plasma são divididos em três grandes grupos: colesterol, fosfolipídios e triglicerídios ou gorduras neutras (TG).

Lipídios totais

Aumento

- hipotireoidismo
- diabetes mellitus
- hepatite aguda
- após alimentação com gordura
- cirrose biliar
- gestação
- oviposição
- nefrose
- caquexia

Diminuição

- hipertireoidismo
- anemia
- infecção aguda
- animais jovens

Magnésio.

Não existe um controle homeostático rigoroso do Mg e, portanto, sua concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta. O controle renal de Mg está

mais direcionado para prevenir a hipermagnesemia, mediante a excreção do excesso de Mg pela urina. Diante de uma deficiência de Mg, seus níveis na urina caem a praticamente zero. Assim, os níveis de Mg na urina são indicadores da ingestão do mineral nos alimentos.

A hipomagnesemia tem sérias conseqüências para os ruminantes podendo levar até a morte, enquanto que a hipermagnesemia não causa maior transtorno. A hipomagnesemia ou a tetania hipomagnesêmica constitui uma doença da produção, geralmente causada pela baixa ingestão de magnésio (Mg) na dieta. A hipomagnesemia pode causar, além da tetania, hiperexcitabilidade, retenção de placenta, bem como anormalidade da digestão ruminal e diminuição da produção de leite. Também predispõe à apresentação de febre do leite em vacas após o parto, devido a que níveis baixos de Mg (< 2 mg/dl) reduzem drasticamente a capacidade de mobilização das reservas de Ca dos ossos.

O Mg está mais disponível em forragens secas e em concentrados (10-40%) do que em pastos frescos (5-33%). Pastagens jovens com altos níveis de proteína e K inibem a absorção de Mg. O Mg é absorvido no intestino mediante um sistema de transporte ativo que pode ser interferido pela relação Na:K e ainda pela quantidade de energia, de Ca e de P presentes no alimento. A hipomagnesemia também pode ser conseqüência de uma excessiva lipólise em decorrência de uma deficiência de energia.

O Mg é um mineral não essencial para o crescimento das pastagens. O K, que é essencial, muitas vezes fica em excesso especialmente por causa dos fertilizantes. Esse K em excesso inibe a absorção intestinal de Mg e, associado à deficiência de Mg, pode levar facilmente à hipomagnesemia. O nível de Mg no perfil metabólico pode indicar estados subclínicos antes de surgir o problema (nível normal 2,0-3,0 mg/dl), sendo especialmente útil antes do parto para evitar problemas de tetania no pós-parto, geralmente complicados com febre de leite.

Configura-se hipomagnesemia em ruminantes com níveis de Mg abaixo de 1,75 mg/dl, aparecendo sintomas com concentrações abaixo de 1,0 mg/dl. O níveis de Mg na urina podem ser indicativos de deficiência quando estão abaixo de 0,5 mg/dl (o nível normal de Mg na urina é de 10-15 mg/dl). É aconselhável fazer monitoramento dos níveis de Mg no sangue ou na urina ao longo do ano para prevenir hipomagnesemias. O leite é relativamente deficiente em Mg, pelo qual recomenda-se suplementar aos animais lactentes.

Magnésio

Aumento

- hipocalcemia
- falha renal
- amostra hemolisada
- amostra mal conservada
- desidratação

Diminuição

- tetania das pastagens
- síndrome de malabsorção
- desnutrição
- hipoparatiroidismo
- glomerulonefrite crônica
- hiperaldosteronismo
- convulsões

Proteínas totais.

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

As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, e com a funcionalidade hepática.

Proteínas totais

Aumento

- desidratação
- perda de fluidos
- infecções
- tumores
- choque
- animais velhos
- amostra hemolisada

Diminuição

- síndrome de malabsorção
- subnutrição
- cirrose hepática
- síndrome nefrótico
- sobreidratação
- enteropatia
- queimaduras
- animais jovens
- hemorragia

Uréia.

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

O aumento plasmático da uréia pode ser por causas pré-renais, que diminuem o

fluxo sanguíneo no rim, causas renais, por deficiência de filtração ou por causas pós-renais, como na obstrução urinária.

Os níveis de uréia sanguínea também estão afetados pelo nível nutricional, particularmente em ruminantes. De modo geral, a uréia é um indicador sensível e imediato da ingestão de proteína, enquanto que a albumina é indicador a longo prazo do estado protéico. Por outra parte, uma dieta baixa em proteínas afeta pouco a concentração de globulinas.

Uréia

Aumento

- falha cardíaca
- choque hipovolêmico
- hipotensão
- desidratação
- doença renal
- obstrução do trato urinário
- dieta alta em proteína
- diabetes mellitus
- dieta baixa em energia

Diminuição

- insuficiência hepática (com aumento de amônia)
- síndrome de malabsorção
- sobreidratação
- dieta baixa em proteína
-
-
-
-

Perfil enzimático.

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

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

(a) No plasma sanguíneo podem ser encontradas enzimas cuja síntese e função são exercidas em nível intracelular, mas que podem sair para a corrente circulatória, após a morte celular. Sob condições normais, estas enzimas têm baixa atividade no plasma. Outras enzimas, que também são produzidas no espaço intracelular podem ser secretadas para atuar fora das células, como é o caso das enzimas da coagulação sanguínea (trombina).

(b) Como a concentração intracelular das enzimas é bem maior que no plasma, danos celulares relativamente pequenos podem levar a aumentos significativos da atividade das enzimas no plasma.

(c) Aumentos da atividade enzimática no plasma permite fazer inferência sobre o lugar e o grau do dano celular, uma vez que muitas enzimas são específicas de órgãos (Tabela 1). O grau de alteração pode ser determinado pela atividade de enzimas

associadas a diferentes compartimentos celulares. Assim, em danos tissulares severos, aparece maior atividade de enzimas mitocondriais (e.g. GLDH) e em danos menores aparece atividade de enzimas citoplasmáticas (e.g. ALT) ou de membrana (e.g. ALP).

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

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

O sistema de medida da atividade enzimática mais usado é o de Unidades Internacionais (U), equivalente à quantidade de enzima que catalisa a conversão de 1 μ mol de substrato por minuto. Devem ser expressadas as condições de pH, temperatura e concentração de substrato usadas na determinação. A União Internacional de Bioquímica (IUB) recomenda, para expressar a atividade enzimática, o uso do katal (1 kat= 1 mol/s) unidade que tem equivalência no sistema internacional (1 U/l= 16,67 nkat/l).

A amostra utilizada para a análise de enzimas deve ser preferivelmente soro e, se usar plasma, deve evitar-se o uso de anticoagulantes com agentes quelantes de metais, tais como EDTA, citrato ou oxalato, para evitar a inativação das metaloenzimas. A heparina é uma boa alternativa. A estabilidade das enzimas é diferente para cada uma sendo conveniente separar o soro ou o plasma o mais rapidamente possível.

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

Enzima	Órgão	Interpretação do aumento
Acetilcolinesterase	junção mioneural, substância cinzenta do cérebro	lesão no SNC, hiperlipoproteinemia
Alanina	fígado e músculo	lesão hepática (<i>hepatite infecciosa e tóxica, trauma,</i>

aminotransferase		<i>neoplasia primária, amiloidose, esteatose</i>), indução por drogas (<i>anticonvulsivos, glicocorticóides, mebendazol, paracetamol</i>), miocardite, regeneração hepatocelular
Aldolase	fígado e músculo	lesão hepática (<i>carcinoma, hepatite</i>), leucemia granulocítica, anemia megaloblástica, lesão dos músculos esquelético e cardíaco, indução por corticosteróides
Amilase	pâncreas, intestino, glândula salivar	pancreatite aguda, lesões intestinais (<i>obstrução, úlceras, torção, traumas</i>), obstrução urinária, hiperadrenocorticismo, obstrução da glândula salivar, insuficiência renal
Aspartato aminotransferase	fígado, músculo esquelético e cardíaco, eritrócitos, rins	cardiomiopatias (<i>isquemia cardíaca, necrose, neoplasia</i>), lesão muscular (<i>deficiência de vitamina E e selênio, injeção intramuscular, exercício excessivo</i>), lesão hepatocelular (<i>hepatite infecciosa e tóxica, cirrose, obstrução do ducto biliar, esteatose, icterícia</i>)
Creatina quinase	músculo, SNC, rins, tireóide, útero	lesão muscular (<i>rabdomiólise, cirurgia, injeção intramuscular, necrose, toxoplasmose, hípus eritematoso sistêmico, deficiência de vitamina E e selênio, hipertermia maligna, decúbito</i>), miocardiopatias, encefalomalácia
Fosfatase alcalina	ossos, fígado, intestino, placenta, rins	dano hepatocelular, indução por drogas (<i>barbitúricos e anticonvulsivos</i>) ou esteróides, animais em crescimento, doenças ósseas (<i>tumores, osteomalácia, consolidação de fraturas</i>), deficiência de vitamina D, caquexia, septicemia, endotoxemia, pancreatite, hiperparatireoidismo, hiperadrenocorticismo
Gama-glutamil transferase	fígado, pâncreas, rins, intestino	dano hepático (<i>metástase, hepatite, obstrução biliar, aflatoxicose</i>), indução por glicocorticóides
Glutamato desidrogenase	fígado	doenças hepáticas (<i>necrose, obstrução biliar</i>)
Lactato desidrogenase	Fígado e músculo	desordens dos músculos esqueléticos (<i>rabdomiólise, miodegeneração nutricional</i>) e cardíaco (<i>isquemia devido à endocardite, dirofilariose, trombose aórtica, infarto, trauma, necrose, neoplasia</i>), moléstias renais e hepáticas (<i>necrose, lesão</i>)
Lipase	pâncreas, fígado	pancreatite aguda, falha renal, doenças hepáticas, indução por glicocorticóides e opióides, obstrução intestinal, insuficiência renal.
Tripsina	pâncreas	pancreatite aguda

Referências bibliográficas.

- ADAMS R.S, STOUT D.C., KRADEL S.B. *et al.* Use and limitations of profiles in assessing health or nutritional status of dairy herds. *J. Dairy Sci.* v.61, p.1671. 1978.
- BOUCHAT J.C., DOIZE F., PAQUAY R. Effect of fasting on blood composition and nitrogen losses in the adult sheep depending on previous diet and body weight. *Reprod. Nutr.Dev.* v.20,p. 77-92. 1980.
- BUSH B.M. *Interpretation of laboratory results for small animal clinicians.* Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1991.

- COLLINS J.D. Metabolic profiles tests for dairy cattle. *Irish Vet. J.* feb.79, p.26-31. 1979.
- CONTRERAS P.A. Enfermedades metabólicas en vacas de alta producción. *Therios* Suplemento especial, octubre 1998, 30p. 1998.
- CONTRERAS P.A., VALENZUELA L. *et al.* Desbalances metabólicos más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia-Chile. *Arch. Med. Vet.* v.28, p.39-50. 1996.
- COTE J.F., HOFF B. Interpretation of blood profiles in problem Dairy Herds. *The Bovine Practitioner*, v.26, p.7-11. 1991.
- ETTINGER S.J., FELDMAN E.C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária.* 4ª ed. São Paulo: Manole, 1997.
- FAJARDO H., VIAMONTE M.I. Algunas alteraciones metabólicas asociadas a la infertilidad de los rumiantes. *Rev. Cub. Cienc. Vet.* v.23, p.33-44. 1992.
- GALIMBERTI A., BERTONI G., CAPPÀ V. La determinazione del profilo metabolico quale mezzo per evidenziare le cause alimentari di ipofertilità bovina. *Zoot. Nutriz. Anim.* v.3, p.237-245, 1977.
- GONZÁLEZ F.H.D. Perfil metabólico en bovinos: alcance y utilidad. *Revista MVZ*, v.3, p.45-52, 2001.
- GONZALEZ F.H.D., HAIDA K., ZANELLA R., FIGUR K. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. *Arq. Fac. Vet. UFRGS* v.24, p.11-24. 1996.
- González, F.H.D., Carvalho, V., Möller, V., Duarte, F. Perfil bioquímico sanguíneo de cães e gatos na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, 29, 1-6, 2001.
- GONZÁLEZ F.H.D., CONCEIÇÃO T.R., SIQUEIRA A.J.S., LA ROSA V.L. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária*, v.20, p.59-62, 2000.
- GONZÁLEZ F.H.D., MÖLLER V.M., CARVALHO V. Plasma biochemical profile in dogs with gastrointestinal disorders. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, v.27, p.80-86, 1999.
- GONZÁLEZ F.H.D., ROCHA J.A. Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, v.26, p.52-64, 1998.
- GONZÁLEZ F.H.D., BARCELLOS J.O., OSPINA H., RIBEIRO L.A.O. (Eds.) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.* Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000a.
- GONZÁLEZ F.H.D., BORGES J.B., CECIM M. (Eds.) *Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos.* Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000b.
- GONZÁLEZ-MONTAÑA, J.R., REJAS-LÓPEZ, J. Toxemia de la gestación. *Med. Vet.* v.12, p.513-522. 1995.

- INGRAHAM R.H., KAPPEL L.C. Metabolic profile testing. *Vet. Clin. N. Amer.: Food Anim. Pract.* v.4, p.391-411. 1988.
- KANEKO J.J., HARVEY J.W., BRUSS M.L. (eds.) *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed., New York: Academic Press, 1997.
- KERR M.G. *Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1991.
- KOLVER E.S., MCMILLAN K.L. Variation in selected plasma constituents during the post-partum and breeding periods in dairy cows. *N.Z. Vet. J.* v.42, p.161-166, 1994.
- MCDOWELL L.R. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais enfatizando o Brasil. Gainesville: University of Florida. 1999.
- PAYNE J.M., PAYNE S. *The Metabolic Profile Test*. Oxford University Press. 1987.
- PELLETIER G., TREMBLAY A.V., HELIE P. Facteurs influençant le profil métabolique des vaches laitières. *Can Vet. J.* v.26, p.306-311, 1985.
- SMITH B.P. *Tratado de medicina interna de grandes animais*. 1^aed. São Paulo: Manole, 1993.
- SMYTHE P.J. Metabolic profile tests, their uses and limitations. *J. Dept. Agric. Fish-Ireland* v.73, p.60-68, 1976.
- SOMMER H. Preventive Medicine in Dairy Cows. *Vet. Med. Rev.* v.1, p.42-63, 1975.
- ROSSATO W., GONZÁLEZ F.H.D., DIAS M.M., et al. Number of lactations affects metabolic profile of dairy cows. *Archives of Veterinary Science*, v. 6, p.83-88, 2001.
- ROSSATO W., GONZÁLEZ F.H.D., DIAS M.M., FARIA S.V., RICCÓ D. Condição metabólica e desempenho reprodutivo no pós-parto em vacas leiteiras do sul do Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.23, p.155-156, 1999.
- ROWLANDS G.J., MANSTON R. Decline of serum albumin concentration at calving in dairy cows: its relationships with age and association with subsequent fertility. *Res. Vet. Sci.* v.4, p.90-96. 1983.
- WITTEWER F., HEUER G., CONTRERAS P.A., BÖHMWALD T.M. Valores bioquímicos clínicos sangüíneos de vacas cursando con decúbito en el sur de Chile. *Arch. Med. Vet.* v.15, p.83-88. 1993.
- WITTEWER F., BÖHMWALD H., CONTRERAS P.A., FILOZA J Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en rebaños lecheros en Chile. *Arch. Med. Vet.* v.19, p.35-45. 1987.
- WITTEWER F., REYES J.M., OPITZ H. et al. Determinación de úrea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Arch. Med. Vet.* v.25, p.165-172. 1993.

DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS NUTRICIONAIS E METABÓLICAS POR MEIO DE EXAME DE URINA EM RUMINANTES*

Enrico Lippi Ortolani

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo
ortolani@usp.br

Introdução.

A urina é um dos principais fluidos de excreção de substâncias nocivas ao organismo. Ela é produto de seletiva e específica filtração do sangue pelos rins, acrescida de células e porventura bactérias presentes nos ureteres, bexiga, uretra e da genitália, resultando normalmente num fluido de coloração amarelada, variando seu tom de acordo com a concentração da urina. A maior ou menor taxa de filtração, reabsorção e excreção de alguns nutrientes e catabólitos pelos rins permite com que a urina seja utilizada no diagnóstico de algumas enfermidades metabólicas.

Coleta e conservação de amostras de urina.

Uma das grandes vantagens da urina é a sua fácil coleta, sem provocar grande agitação ou estresse nos animais. A urina pode ser prontamente coletada tanto em machos como em fêmeas, desde que os animais não se encontrem em estados de oligúria, anúria ou logo em seguida à micção, quando a vesícula urinária se encontra vazia.

Em machos, a massagem prepucial e o ruído de marulhar de agitação de água num balde estimulam fortemente a micção. Nas fêmeas, este fenômeno ocorre com a massagem suave na região perineal e vulvar. Nos pequenos ruminantes, a micção se torna presente, quase invariavelmente, após um breve período de sufocamento, por oclusão das narinas e da boca, quando o animal volta a respirar. A cateterização uretral pode ser feita em vacas de grande porte com auxílio de um cateter rígido metálico. Caso o animal tenha dificuldade de urinar pode ser empregado o uso de diuréticos, tal com a furosemida (0,8 a 1,5 mg/kg PV). A primeira micção geralmente ocorre, em média, 17 minutos após o tratamento com furosemida [iv]. Contudo, a urina obtida com o uso de furosemida, já na 1ª coleta, é significativamente mais ácida e com menor osmolaridade que a obtida por meio de estimulação manual. A acidez é mais pronunciada devida a

* Ortolani, E. (2003). Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. González, F.H.D., Campos, R. (eds.): *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.91-102.

maior excreção de amônio (NH_4^+), já que a furosemida diminui a reabsorção desta substância na alça de Henle, fazendo com que seja eliminada na urina.

O ideal é que a urina colhida seja analisada o mais rápido possível, em especial quando se quer determinar substâncias voláteis como a acetona ou de certa instabilidade química como o acetoacetato, ambos corpos cetônicos. Análise destas substâncias, cerca de 30 min após a coleta da urina, pode diminuir suas concentrações em até 40%.

O pH urinário também pode se alterar em relação ao tempo de colheita. Bactérias contaminantes da urina, presentes no trato urinário, podem degradar a uréia urinária em amônio, principalmente se o pH original da urina for maior que 7,3, acidificando sensivelmente o pH urinário.

Caso as amostras de urina não possam ser analisadas imediatamente, recomenda-se que sejam refrigeradas a 4°C , por até 12h, para serem analisadas (Kaneko et al., 1997). Caso se queira analisar os teores de uréia, amônia, ácido úrico e demais compostos nitrogenados na urina, recomenda-se seja adicionada na amostra algumas gotas de solução de ácido forte (sulfúrico ou clorídrico) para acidificar a amostra e bloquear a ação da urease, que transforma a uréia em amônio e amônia.

Volume urinário.

Muitos fatores interferem no volume urinário. Sem dúvida, estados deficitários de água diminuirão a produção de urina, por menor irrigação sangüínea nos rins e maior reabsorção de água nos túbulos renais. Contudo, a restrição de água na dieta só afetará o volume urinário após o 2º dia de jejum hídrico, sendo compensado até este momento pela absorção de água presente no rúmen. Quanto maior for a ingestão de alimento, de proteína ou de nitrogênio não-protéico dietético, maior será a produção urinária, causada por uma maior ingestão de água. Por outro lado, quanto maior for a concentração de lactato plasmático, verificado em estados de acidose láctica ruminal e de glicólise anaeróbica, menor será o volume urinário (Osbaldiston & Moore, 1971).

pH urinário.

O pH urinário é determinado pelo balanço de íons H^+ e de bicarbonato na urina. Quanto maior a presença do primeiro, menor o pH e vice-versa. Em muitos casos o pH urinário reflete o estado de acidose ou alcalose do organismo como um todo, porém em

outras situações esta variável não espelha o que acontece no sangue devido a mecanismos compensatórios de eliminação do íon oposto (Kaneko *et al.*, 1997).

A excreção de íons H^+ esta atrelada principalmente à eliminação de amônia pelos rins. Uma molécula de amônia excretada no túbulo contorcido proximal se associará a um íon H^+ , dentro da luz deste segmento. Parte dos íons H^+ excretados na urina podem também estar associados à eliminação de moléculas de fosfato e de lactato. Já o bicarbonato é proveniente, na sua maioria, da própria passagem do bicarbonato sangüíneo pelo glomérulo renal. Quanto maior a concentração sangüínea de bicarbonato, maior a filtração desta molécula pelo glomérulo (Malnic & Marcondes, 1986). Grande parte do bicarbonato é reabsorvida quando de sua passagem pelo néfrons, mas este processo é inibido em casos de acidose respiratória quando a pCO_2 sangüínea está mais elevada, e em casos de hipercalemia e na hiperclorêmia.

O pH normal urinário dos ruminantes geralmente varia de 5,5 a 8,0. Os valores de pH urinário variam no decorrer do dia, sendo mais ácidos logo em seguida à alimentação devido a menor filtração glomerular, e logicamente menor filtragem de bicarbonato e a maior excreção de íons H^+ no período (Osbaldiston & Moore, 1971). Assim recomenda-se que a avaliação do pH urinário seja feita cerca de 6 horas após a alimentação.

Quanto maior a quantidade de cátions (Na^+ e K^+) em relação aos ânions (Cl^- e S^{2-}) presentes numa dieta, mais alcalino será o pH urinário e vice-versa (Herdt, 2000). Normalmente, os bovinos criados extensivamente têm um pH urinário bastante alcalino, já que os capins contêm mais cátions do que ânions, enquanto que animais recebendo dietas ricas em carboidratos solúveis apresentarão um pH urinário mais ácido, principalmente pela maior formação ruminal de ácidos graxos voláteis. Bovinos alimentados com capins têm um pH urinário em torno de 7,5 a 8,0, enquanto que os alimentados com dietas ricas em concentrados apresentam um pH entre 5,5 a 7,0.

O jejum pode provocar alteração no pH urinário fazendo com que se alcalinize ligeiramente no decorrer do tempo em que o animal permanece sem ingerir alimentos. A realimentação faz com que haja um retorno a um pH mais ácido (Maruta & Ortolani, 2002).

Quadros de acidose metabólica ou respiratória podem provocar acidificação no pH urinário, chegando, em casos extremos, ao pH 4,4. Ortolani *et al.* (1997) induziram um quadro de acidose láctica ruminal em bovinos e acompanharam o pH urinário e sangüíneo no decorrer do processo. Quanto mais baixo foi o pH sangüíneo, mais baixo

foi o pH urinário ($r = 0,8$). Verificaram ainda que existia também uma relação linear significativa entre o pH urinário e a concentração de excesso de ácido-base (EAB) do sangue ($r = 0,78$). Este achado é grande importância prática, pois no tratamento da acidose metabólica, com tampões, é necessária a estimativa do déficit de bicarbonato sanguíneo, a fim de corrigir o pH do sangue. Para o cálculo do déficit de bicarbonato é necessário se conhecer o peso vivo do animal e o seu atual EAB, conforme a seguinte equação:

$$\text{Déficit bicarbonato (mM)} = \text{peso vivo (kg)} \times 0,3 \times \text{EAB (mM)}$$

O cálculo do EAB é realizado com precisão por meio de exame hemogasométrico, de pouca disponibilidade, principalmente em condições de campo. Desde que se conheça o pH urinário, passível de ser mensurado em condições rotineiras, é possível se estimar a concentração de EAB, pela seguinte fórmula obtida por Ortolani *et al.* (1997):

$$\text{EAB (mM)} = -47,4 + 7,42 \text{ pH urinário}$$

Exemplo prático.

Uma vaca com 400 kg PV e um pH urinário 5,0 terá o seguinte EAB = $-47,4 + 7,42 \times 5 = -10,3$ mM. O sinal negativo deve então ser desconsiderado. O déficit de bicarbonato (DB) estimado é o seguinte: $\text{DB} = 400 \times 0,3 \times 10,3 = 1236$ mM. Num litro de solução de bicarbonato de sódio isotônica (1,3%) existe em torno de 155 mmóis de bicarbonato. Para saber quantos litros de solução isotônica são necessários para o tratamento, divide-se 1236 por 155, obtendo o resultado de 7,97 L.

Um outro estudo correlacionou o pH urinário e o EAB em bezerros recém-nascidos com diarreia, com diferentes graus de severidade, encontrando também uma relação semelhante ao trabalho descrito acima, servindo como base para a correção da acidose metabólica destes animais (Lubestskaya & Melnichuick, 1999).

Estados de alcalose metabólica, provocados por ingestão de dietas com alto teor de potássio, também alteram o pH urinário, assim como uma condição iatrogênica pela infusão [iv] de altas doses de bicarbonato, tornam o pH urinário mais alcalino, principalmente por maior eliminação de bicarbonato urinário (Goff & Horst, 1997; Leal *et al.*, 2000).

Embora ocorra uma resposta compensatória dos rins para equilibrar estados de alcalose, estes órgãos estão mais adaptados a terem uma correção mais efetiva frente aos quadros de acidose metabólica. Em alguns casos de alcalose sistêmica, como o apresentado na dilatação do abomaso, pode ocorrer a chamada acidúria paradoxal

compensatória, se apresentando alterada até quatro dias após o tratamento cirúrgico da afecção (Buscher & Klee, 1993).

O pH urinário tem sido utilizado rotineiramente para avaliar a eficiência da administração de sais aniônicos, para prevenir hipocalcemia da parturiente em vacas secas no final da gestação. Estes sais contêm geralmente cloreto de amônio e sulfato de cálcio (gesso agrícola), fontes de íons aniônicos, os quais diminuem levemente o pH sanguíneo, acidificando também o pH urinário. O grande problema desta suplementação resume-se no fato de que estes sais, em especial o cloreto de amônio, são pouco palatáveis e se utilizados em grande quantidade na dieta podem diminuir a tal ponto a ingestão de alimentos que podem aumentar o risco de surgimento de fígado gorduroso e cetose em seguida ao parto. Por outro lado se forem oferecidos em pequena quantidade não exercerão o seu papel de prevenir a hipocalcemia. Geralmente, são utilizados para que a dieta, normalmente catiônica, se torne ligeiramente aniônica (ao redor de -50 mEq/kg MS). Vacas que estão recebendo quantidades adequadas de sais aniônicos devem apresentar, cerca de 6h após a alimentação, pH urinário entre 6,0 a 7,0 e vacas Jersey mais predispostas à hipocalcemia, devem apresentar um pH de 5,5 a 6,0 (Herdt, 2000).

Corpos cetônicos.

Os corpos cetônicos (CC) são compostos primários formados do metabolismo das gorduras e do butirato representados pelo β -hidroxibutirato, o acetoacetato e a acetona. Este último composto é bastante volátil, enquanto que os dois primeiros não o são.

O acetoacetato é quimicamente instável e pode ser transformado em acetona e dióxido de carbono. Tanto o acetoacetato como o β -hidroxibutirato são compostos ácidos, com pKs baixos (3,58 e 4,41, respectivamente), ou seja, quando no sangue cerca de 99% estarão na forma ionizada, e se estiverem em grande quantidade poderão provocar acidose metabólica (Kaneko *et al.* 1997).

Normalmente, os CC são formados em pequena quantidade no organismo, não se acumulando no mesmo. Em casos de grande mobilização de gorduras, como ocorre na cetose bovina e na toxemia da prenhez dos pequenos ruminantes, ele se acumula no organismo causando graves transtornos como acidose metabólica e distúrbios cerebrais.

Parte dos CC podem ser utilizados como energia por vários tecidos inclusive o renal e uma menor quantidade deles (10%) são excretados pela urina, o leite e o ar exalado (Herdt,1988). Pequenas quantidades de CC no sangue não chegam a alcançar a

urina, pois embora sejam filtrados pelos glomérulos são em seguida reabsorvidos pelos túbulos renais e metabolizados por suas células. Porém, altas concentrações sanguíneas de CC ultrapassam o limiar renal, principalmente a acetona e o acetoacetato, sendo excretados abundantemente. Nestes casos, para cada 4 moles de CC na urina se encontrará um no sangue e cerca de 0,5 no leite. Assim numa suspeita de hiperacetonemia, a urina deve ser utilizada inicialmente, como uma prova de triagem, pois caso não se detecte CC nela, outros fluidos não devem ser pesquisados (Herdt,1988).

A detecção de acetona e de acetoacetato na urina é feita por meio da prova de Rothera, que utiliza o nitroprussiato de sódio como reativo. Esta prova é rápida com resposta dentro de 1 min, e pode ser realizada com uso de fitas ou tabletes comerciais. Sua sensibilidade mínima é de 0,5 mM, e a prova é considerada semi-quantitativa sendo classificada em cruzes de zero a 4 (Kaneko *et al.*, 1997). Principalmente na toxemia da prenhez, a eliminação de CC na urina é extremamente alta podendo atingir até 12 mM, enquanto que na cetose bovina a produção de CC não é tão alta, raramente ultrapassando 8 mM na urina. Foi sugerido que a detecção de teores de corpos cetônicos na urina superiores a 1mM (8 mg/dl) no decorrer da prenhez já seriam indicativos de risco de toxemia da prenhez em ovelhas gestando dois fetos (Ruiz-Moreno *et al.*, 1997).

O jejum, ou estado de anorexia de no mínimo 24h, pode fazer com que, principalmente vacas leiteiras em lactação e ovelhas e cabras prenhes com boa condição corporal, eliminem CC na urina na quantidade detectada em até 2⁺⁺, o que não deve ser considerado como estado de cetose, firmando este diagnóstico apenas em valores acima deste. Bovinos de corte mantidos até dois dias em jejum não eliminam nem mesmo traços de CC na urina (Sucupira & Ortolani, 2002). Um novo teste para se detectar β -hidroxibutirato na urina e no leite já foi desenvolvido.

Ácido metilmalônico.

A carência de cobalto em ruminantes ocorre em várias regiões brasileiras, devido ao baixo teor deste microelemento em capins, principalmente de solos fracos. A sua carência implica na queda dos teores de cianocobalamina (vitamina B₁₂) no organismo. Esta vitamina é cofator de uma reação ligada ao metabolismo do propionato, importante para a geração de energia, convertendo a metilmalonil-CoA em succinil-CoA, substrato para o ciclo de Krebs nos ruminantes.

A carência de vitamina B₁₂ não é de fácil diagnóstico, pois a sua detecção no sangue é complexa e de difícil interpretação nos ruminantes, devido à presença de análogos desta vitamina. Normalmente, o diagnóstico é realizado por detecção dos teores de cobalto no fígado, já que existe uma íntima relação entre os estes teores e os de vitamina B₁₂ naquele órgão (Underwood & Suttle, 1999).

Uma alternativa para o diagnóstico de deficiência de vitamina B₁₂ é a detecção de ácido metilmalônico na urina já que por falta de vitamina B₁₂ ocorrerá um acúmulo desta substância no sangue, fazendo com que seja excretada na urina. Experimentos com ovelhas e bovinos detectaram este catabólito na urina na carência da vitamina B₁₂ algumas semanas após o oferecimento de dietas carentes em cobalto. A detecção da vitamina é por meio de HPLC, o que torna mais difícil o seu uso rotineiro.

Amônia.

A amônia (NH₃) é excretada geralmente em pequenas quantidades na urina, na forma de amônio (NH₄⁺). A amônia é secretada, na sua grande maioria, no túbulo contornado proximal e parcialmente reabsorvida na alça de Henle. Quanto mais ácido e quanto maior o fluxo urinário maior é a quantidade de amônia na urina (Ortolani *et al.*, 2002). Valores normais de amônio urinário obtidos de bovinos hígidos, criados em nosso meio, variam de 50 a 800 µM (Brito, 1998).

Na intoxicação por amônia, proveniente da alta ingestão de uréia dietética, descobriu-se recentemente que quando um bovino urina com mais frequência, mais resistente ele é a esta intoxicação, pois mais íons amônio são eliminados neste fluido (Ortolani *et al.*, 2002). Neste experimento detectou-se, em bovinos intoxicados, quando do surgimento de episódio convulsivo, uma grande elevação nos teores urinários de amônio variando de 3000 até 25000 µM. Como a amônia pode se volatilizar na amostra e a uréia presente nesta pode-se converter em amônia, recomenda-se que a urina seja congelada ou que sejam adicionadas algumas gotas de ácido forte (ácido clorídrico ou sulfúrico) na amostra até a determinação laboratorial dessa substância. O amônio pode ser determinado na urina por meio de kit diagnóstico ou por eletrodo íon específico.

Flúor.

A intoxicação por flúor em ruminantes é citada esporadicamente em nosso país. Contudo, após a liberação do uso de certas fontes de fosfato de rocha no sal mineral, é

provável que num futuro próximo ocorram surtos de intoxicação por flúor, principalmente em bovinos (em especial em vacas de corte) que tenham recebido altos teores de flúor dietético, por longos períodos. O flúor se acumula nos ossos e dentes e uma das principais vias de excreção é a urina.

Em relação aos valores de referência, enquanto que em animais normais os teores de flúor sangüíneo se elevam cerca de 1,5 vezes, em animais intoxicados este incremento na urina é da ordem de seis a 10 vezes (Shupe, 1980). Recomenda-se que as coletas de urina sejam feitas pela manhã ou que os resultados sejam corrigidos pela gravidade específica ou, em especial, pelo teor de creatinina urinário (Shupe, 1980). O método mais prático e sensível de determinação de flúor é por meio de eletrodo íon-específico.

Taxa de excreção urinária.

A taxa de excreção urinária pode ser definida como a quantidade de uma substância que é eliminada na urina por dia, por peso, ou por diluição da urina. Como a coleta completa de urina no decorrer de um dia é laboriosa e de difícil aplicação prática, tem-se simplificado esta prova, com a colheita de uma única amostra de urina colhida em qualquer momento do dia. Para diminuir a enorme influência da diluição da urina é analisada, conjuntamente com a substância que se quer mensurar, a concentração de creatinina. Esta substância é um catabólito da creatina, presente na musculatura, e é filtrada livremente pelo glomérulo, encontrando-se no filtrado glomerular na mesma concentração que no sangue. Uma outra vantagem da creatinina é que ela não é absorvida e muito pouco secretada nos túbulos renais, sendo assim indicadora de taxa de reabsorção tubular.

Num animal desidratado haverá uma intensa reabsorção de água nos túbulos renais o que fará que haja também uma intensa concentração da creatinina urinária, enquanto que num caso de diurese ocorrerá o fato inverso. Assim, ao se dividir a quantidade da substância excretada na urina pela concentração de creatinina urinária diminuirá sensivelmente o fator diluição da urina. Como a quantidade total de creatinina formada no corpo e excretada na urinária depende do peso vivo e da quantidade de massa muscular, tem sido recomendado que, para corrigir discrepâncias de peso entre animais, a taxa de excreção urinária (TEU) seja corrigida pelo peso metabólico (Chen *et al.* 1992). Ou seja:

$$\text{TEU} = \text{concentração da substância na urina} / \text{concentração de creatinina urinária} \times \text{PV}^{0,75}$$

A taxa de excreção urinária tem um menor significado biológico em animais com grave insuficiência renal, em que a filtração glomerular fica comprometida, diminuindo a passagem para os néfrons de todas as substâncias, inclusive a creatinina.

Taxa de excreção urinária de uréia.

A uréia é originária do catabolismo de aminoácidos, ácidos nucleicos e de amônia endógena ou exógena, proveniente da dieta. Quanto mais rica for a dieta em proteína bruta, em especial naquela que é digerida no rúmen, maior será o teor de uréia plasmática. Por outro lado, nos casos de carência de proteína o organismo reagirá reduzindo as perdas orgânicas de nitrogênio. A principal via de excreção de nitrogênio é pela urina, por meio de eliminação de uréia. Os ruminantes além da excreção urinária, reciclam o nitrogênio (uréia) por meio da saliva para suplementar os microorganismos ruminais.

Os rins têm grande capacidade de excretar a uréia. Esta substância é filtrada do sangue pelo glomérulo renal, reabsorvida e excretada nos vários segmentos dos túbulos renais, que resulta finalmente numa grande concentração de uréia por volume de urina em relação ao seu teor no sangue. Em algumas situações os teores de uréia na urina podem ser centenas de vezes superiores à uréia plasmática (Brenner, 1996). Apesar da elevada concentração de uréia urinária, esta reflete fielmente a quantidade de uréia presente no soro (Brito, 1998).

Os ruminantes criados extensivamente no decorrer da evolução, se alimentaram com uma dieta relativamente pobre em proteína, comparado com os monogástricos. Isto fez com que evolutivamente os ruminantes desenvolvessem mecanismos compensatórios de economizar o nitrogênio eliminado na urina, por meio de intensa reabsorção de uréia nos dutos coletores (Brenner, 1996). Isto faz com que a taxa de excreção urinária de uréia seja muito baixa em ruminantes recebendo dietas com baixos teores de proteína. Num experimento com bovinos recebendo uma dieta de 4% de proteína bruta (PB), apresentaram essa taxa por volta de 120 mM (Brito, 1998).

Por outro lado, semelhante ao que acontece com os monogástricos, caso os ruminantes sejam alimentados com crescentes quantidades de proteína na dieta, maior será a excreção de uréia na urina. No experimento de Brito (1998) os mesmos animais carentes em proteína, após receberem uma dieta com altos teores de nitrogênio, não-protéico aumentaram a taxa de excreção de urina urinária para mais de 3000 mM. Comparando-se o período de carência e de abundância de nitrogênio na dieta,

constatou-se que, enquanto a excreção de uréia urinária aumentou cerca de 25 vezes, no plasma este incremento foi de apenas 9,7 vezes, indicando a sensibilidade e o potencial diagnóstico da primeira análise. Contudo, em ruminantes com carência de proteína mantidos em jejum ou anorexia por dois dias, ocorre um aumento do catabolismo de aminoácidos aumentando os teores de uréia sérica e urinária, falseando a interpretação. Estes teores serão muito mais altos ainda após as primeiras 12h de realimentação quando a uréia residual do catabolismo se somará à uréia proveniente da digestão da dieta (Maruta & Ortolani, 2002).

Recomenda-se em estudos de perfil metabólico que amostras tanto de sangue como de urina para avaliar os teores de uréia, sejam coletadas na 5^a hora após o oferecimento da alimentação, quando estas concentrações estarão mais indicativas do status protéico do animal (Maruta & Ortolani, 2002).

Alantoína e ácido úrico urinários.

A alantoína e o ácido úrico são catabólitos da degradação das purinas, provenientes dos ácidos nucléicos. Seus limiares de excreção renal são muito baixos sendo com facilidade excretados na urina. Nos ruminantes, cerca de 85% ou mais das purinas são oriundas dos ácidos nucléicos dos microorganismos ruminais digeridos no abomaso e intestino delgado e absorvidos neste último órgão. Ou seja, a alantoína e o ácido úrico são indicadores do metabolismo ruminal recente, informando indiretamente a quantidade de microorganismos presentes no órgão, os quais aumentarão em número de acordo com a qualidade nutricional e a ingestão de alimentos pelo ruminante (Puchala & Kulasek, 1992).

Experimentos demonstraram que quanto menor a quantidade de energia e de proteína dietética ingerida, menor será a excreção de alantoína e de ácido úrico na urina (Sucupira & Ortolani, 2002). O jejum provoca uma diminuição na taxa de excreção urinária de alantoína e de ácido úrico.

Do ponto de vista prático, o ácido úrico tem a vantagem de ser dosado mais rapidamente por meio de um kit diagnóstico. Porém, esta substância é produzida no organismo e eliminada na urina em menor concentração, exigindo maiores cuidados na análise. A determinação da alantoína ainda tem uma metodologia demorada e trabalhosa, apesar de ser mensurada por um disponível método colorimétrico (Bochers 1977). Estas provas ainda necessitam ser melhor conhecidas para serem utilizadas em análises rotineiras de diagnóstico laboratorial de problemas nutricionais.

Referências bibliográficas.

- BORCHERS E. Allantoin determination. *Analytical Biochemistry* v.79, p.612-613, 1977.
- BRENNER B.M. *The Kidney*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 5th ed. vol.1, 1133p. 1996.
- BRITO L.A.B. *Avaliação do uso intensivo de cama de frango na alimentação de bovinos: alguns aspectos toxicológicos e do metabolismo da amônia*. 1998. 235p. (Doutorado de Clínica Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BUSCHER C., KLEE W. Investigations on the pre- and post-operative course of pH and net acid-base excretion in the urine of dairy cows with abomasal displacement. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* v.100, p.171-176, 1993.
- CHENX.B., GRUBIC G., ORSKOV E.R., OSUJI, P. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. *Animal Production* v.55 p.185-191, 1992.
- GOFF J.P., HORST R.L. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to pre-partum rations on milk fever in dairy cows. *Journal Dairy Science* v.80, p.176-186, 1997.
- HERDT T.H. Metabolic diseases of ruminant livestock. *The Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice* v.4, n.2, p.213-439, 1988.
- HERDT T.H. Metabolic disorders of ruminants. *The Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice* v.16, n.2, p.215 -408, 2000.
- KANEKO J.J., HARVEY J.W., BRUSS M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1977, 932 p.
- LEAL M.L.R., ORTOLANI E.L., MARUTA C.A. Estudo comparativo da capacidade alcalinizante de tampões metabolizáveis em bovinos hígidos. In: *Anais do XXVII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Águas de Lindóia, SP, p.16-17, 2000.
- LUBETSKAYA T., MELNICHUCK D. Urine pH as an index for calculating the amount of bicarbonate for treatment of acidotic calves. *Journal of Animal and Feed Science* v.8, p.247-254, 1999.
- MALNIK G., Marcondes, M. *Fisiologia renal*. 3^a ed. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária Ltda., 409p, 1986.
- MARUTA C.A., ORTOLANI E.L. Resultados não publicados, São Paulo, 2002.
- ORTOLANI E.L., MENDES NETTO D., MARUTA C.A. O uso do pH urinário para estimar o grau de acidose metabólica em garrotes com acidose láctica ruminal. In: *Anais do XXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Gramado, p.215, 1997.
- ORTOLANI E.L., KITAMURA S.S., MARUTA C.A., ANTONELLI A., SOARES P.C. Diuresis alleviates ammonia poisoning in cattle through ammonium excretion in the urine. In: *Anais do XXII Congresso Mundial de Buiatria*, Hannover, 2002.
- OSBALDISTON G.W., MOORE W.E. Renal function tests in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* v.159, p.292-301, 1971.

- PUCHALA R., KULASECK G.W. Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using nucleic acid and urinary excretion of purine derivatives. *Canadian Journal of Animal Science* v.72, p.821-830, 1992.
- RUIZ-MORENO M.J., SILVA J.H., DIAZ I., et al. Variación de algunos parámetros urinarios y hemáticos en ovejas gestantes bajo riesgo de cetosis. *Revista de Medicina Veterinaria –Buenos Aires* v.78, p.249-256, 1997.
- SHUPE J.L. Clinico-pathologic features of fluorine toxicosis in cattle. *Journal of Animal Science* v.51, p.746-757, 1980.
- SUCUPIRA M.C.A., ORTOLANI E.L. Resultados não publicados, São Paulo, 2002.
- UNDERWOOD E.J., SUTTLE N.F. *The mineral nutrition of livestock*, 3rd ed, Wallingford: CABI Publishing, 614 p.