

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL
CAMPUS DESCALVADO**

KARINE BOMFIM DOS SANTOS

**SUPLEMENTAÇÃO DE PRIMIPARAS LEITEIRAS COM
ANTIOXIDANTES NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO: SÉRIE BRANCA**

PRIMIPAROUS HEIFERS DAIRY SUPPLEMENTATION WITH ANTIOXIDANTS IN
THE TRANSITION PERIOD: WHITE BLOOD CELLS

Descalvado – SP

2021

KARINE BOMFIM DOS SANTOS

**SUPLEMENTAÇÃO DE PRIMIPARAS LEITEIRAS COM
ANTIOXIDANTES NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO: SÉRIE BRANCA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo
Orientador

Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia
Coorientadora

Descalvado –SP
2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

S235s Santos, Karine Bomfim dos
Suplementação de primíparas leiteiras com antioxidantes no período de transição: série branca / Karine Bomfim dos Santos. – Descalvado: Universidade Brasil, 2021.
53f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.
Orientador: Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo.
Coorientadora: Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia.

1. Hemograma. 2. Leucócito. 3. Pré-parto. 4. Pós-parto. 5. Série branca. I. Título.

CDD 636.213




UNIVERSIDADE
BRASIL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Karine Bonfim dos Santos

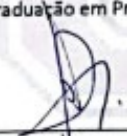
"SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS COM ANTIOXIDANTES NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO"

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo
(Orientador)

Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



Prof. Dr. Wanderley José de Melo

Programa de Pós-Graduação em Produção Animal

Marcela Midori Yada de Almeida

Dra. Marcela Midori Yada de Almeida
Instituto Taquaritinguense de Ensino Superior

Descalvado, 27 de agosto de 2021

Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo

Presidente da Banca

Houve alteração do Título: sim (X) não ()

"SUPLEMENTAÇÃO DE PRIMIPARAS LEITEIRAS COM ANTIOXIDANTES NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO. SÉRIE BRANCA"



UNIVERSIDADE
BRASIL

Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://universidadebrasil.edu.br/portal/cursos/ppgpa/>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **"SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS COM ANTIOXIDANTES NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO"**

Houve alteração do Título: sim (X) não ()

"SUPLEMENTAÇÃO DE PRIMIPARAS LEITEIRAS COM ANTIOXIDANTES NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO: SÉRIE BRANCA"

Autor(es):

Discente: Karine Bonfimi dos Santos

Assinatura: _____

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Mauricio Perica de Melo

Assinatura: _____

Data: 27 de agosto de 2021.

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo.”

(Albert Einstein)

RESUMO

O período de transição da vaca/novilha leiteira é definido como três semanas antes do parto até três semanas após o parto, e é uma fase crítica, pois está associada ao pico de enfermidades metabólicas, nutricionais ou infecciosas, além da imunossupressão. Diante destes fatos, o presente trabalho vem propor a suplementação de primíparas (novilhas) leiteiras da raça Holandesa, de alta produção, no período de transição, com antioxidantes. Para o estudo foram utilizadas 10 novilhas, divididas em dois grupos: grupo tratado recebeu a suplementação com formulação à base de antioxidantes na forma de pasta e ministrada oralmente, enquanto o grupo das não tratadas recebeu a pasta base sem inclusão de ativos. A suplementação foi realizada aos 23 dias antes do parto (-23) e 7, 14 e, 21 após o parto, oportunidades em que foram colhidas amostras de sangue para análise hematológica. As alterações hematológicas foram evidenciadas por meio de análise de leucograma. Concluiu-se que a suplementação com os antioxidantes avaliados influenciou positivamente na função imunológica, favorecendo a diminuição da leucocitose fisiológica e/ou patológica, uma vez que o período de transição representa estresse, adaptações físicas e hormonais, prejudicando a produção animal.

Palavras-chave: Hemograma. Leucócitos. Pré-parto. Pós-parto. Série branca.

ABSTRACT

The transition period of dairy/heifers cows is defined as a period of three weeks before the partum and three weeks after and it is a critical phase because it is associated with the peak of metabolic diseases, nutritional or infectious, in addition to immunosuppression. In view of these facts, the present work proposed the supplementation of Holstein dairy cows, of high production, in the transition period, with antioxidants. For the study, 10 Holstein heifers were used, divided into two groups: group received supplementation with the formulation as an orally paste administered, and the group of untreated received the paste, without inclusion of assets. Supplementation was performed at 23 days prepartum (-23) and 7, 14 and 21 postpartum, opportunities in which blood samples were taken for analysis. Hematological alterations were evidenced by complete blood count analysis. Supplementation was performed at 23 days before delivery (-23) and 7, 14 and 21 after delivery, opportunities in which blood samples were collected for the analysis. As hematological alterations were evidenced by leukogram count analysis. It was concluded that supplementation with actives positively influenced immunological function, favoring the reduction of physiological and/or pathological leukocytosis, since the transition period represents physical and hormonal adaptations, impairing animal production.

Keywords: Blood count. Leukocytes. Prepartum. Pospartum. White blood cell series.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o produto técnico tecnológico desenvolvido pela empresa NewAgri® com o intuito de dar base técnica à solicitação de patente do produto ao INPI. A divulgação e transferência de conhecimento da presente pesquisa será, posteriormente ao período de carência da solicitação da patente, com a própria publicação da mesma, que poderá ser usada como fonte de informação, e também, na forma de artigo científico a ser publicado em periódico de impacto na comunidade científica, além de textos em revistas técnicas.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se indicar o uso da pasta oral avaliada para bovinos leiteiros na fase de transição, fato justificado pela resposta celular dos hemogramas obtidos.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGNE	Ácidos Graxos Não Esterificado
AMPK	Proteína Quinase Ativada por Adenosina Monofosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
BEN	Balanco Energético Negativo
CAT	Catalase
CH ₃	Grupo Metil
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CCS	Contagem de Células Somáticas
CoQ10	Coenzima Q10
CPT-1	Carnitinapalmitoiltransferase
CTL	Controle
CV a	Coefficiente de Variação para Tratamento
CV b	Coefficiente de Variação para Período
DCAD	Diferença Dietética Cátion-Aniônica
EPI	Epinefrina
FIV	Fecundação <i>in vitro</i>
GPX	Glutathione Peroxidase
HGM	Hemoglobina Corpuscular Média
HO ₂	Hidroperóxido
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
NEFA	<i>Non-Esterfied Fatty Acids</i> (ácido graxos não esterificados)
NO	Óxido Nítrico
NO ₂	Dióxido de Nitrogênio
O ₂ -	Superóxido
OH	Hidroxila
PMPPA	Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal
SCA	Suplementação ativos
SOD	Superóxido Dismutase
T ₄	Tiroxina
TAC	Capacidade Antioxidante Total
TG	Triglicerídeo ou Triacilglicerídeo
UI	Unidade Internacional
VG	Volume Globular
VGM	Volume Globular Médio
VLDV	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
3.1 PERÍODO DE TRANSIÇÃO: DO PRÉ PARTO AO PÓS-PARTO	15
3.2 PERÍODO PRÉ PARTO: ALTERAÇÃO HEMATOLÓGICAS	19
3.3 ANTIOXIDANTES	21
3.3.1 Ubiquinona	21
3.3.2. Óleos essenciais ou compostos ativos	25
3.3.3. Vitamina E	29
3.3.3.1. Vitamina E na produção de leite	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E ANIMAIS.....	32
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	33
4.3 SUPLEMENTAÇÃO	33
4.4 AMOSTRAGEM E AVALIAÇÕES NAS AMOSTRAS DE SANGUE	33
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXO A – protocolo CEUA-UB	51

1 INTRODUÇÃO

As necessidades nutricionais de vacas secas aumentam à medida que a gestação progride devido ao crescimento fetal, aumento este que é exponencial no final da gestação (NRC, 2001). Condições como aumento de glicocorticoides no sangue, mobilização de lipídios e tamanho fetal contribuem para reduzir o consumo voluntário de matéria seca e, e conseqüentemente, a disponibilidade de nutrientes para a vaca e o feto diminui (INGVARTSEN & ANDERSEN, 2000).

O período de transição ou periparto, de 3 semanas antes para 3 semanas após o parto, é extremamente importante para a saúde, produção e lucratividade das vacas leiteiras. A maioria dos distúrbios de saúde ocorre durante esse período, em comparação com outras fases do ciclo de lactação. Esse período corresponde ao de maior balanço energético negativo, ao pico das concentrações sanguíneas de ácidos graxos não esterificados e à maior aceleração da produção de leite.

As doenças periparturientes podem resultar das condições ruminais adversas, causadas pela dieta pré-parto, possivelmente agravadas pela superlotação, estresse por calor ou outros fatores estressantes (CARDOSO; KALSCHEUR; DRACKLEY, 2020). Estas condições se agravam quando acompanhadas por fatores ambientais extremos, que fornecem condições ótimas para o crescimento e multiplicações microbianas (DAHL; TAO; LAPORTA, 2020).

A exposição prolongada ao estresse pode ser prejudicial à saúde geral e ao bem-estar de um animal e, pode ser evidenciado pelo perfil de fagócitos sanguíneos do animal. O período de transição ou periparto é um exemplo deste fato. Os fagócitos (neutrófilos e macrófagos) são importantes mecanismos do sistema imunológico inato. Os neutrófilos são os primeiros a responder a uma presença inflamatória e estressam e eliminam patógenos, gerando espécies reativas de oxigênio e liberação de vários peptídeos antimicrobianos, enzimas, formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos, etc. Macrófagos, os outros fagócitos, também fazem parte desse sistema imunológico inato, que remove detritos, patógenos e neutrófilos mortos após uma resposta inflamatória (ALHUSSIEN & DANG, 2020).

O uso de nutracêuticos em animais de produção pode auxiliar no estresse crônico metabólico ao qual a vaca leiteira é submetida durante sua vida útil. Segundo Zhang et al. (1995), biomoléculas de natureza lipofílica hidrofóbica, podem não ser degradadas no rúmen e serem absorvida no epitélio intestinal. Nas células dos tecidos, passam a ser componentes do sistema de transporte de elétrons mitocondrial e sua forma reduzida atua como antioxidante celular.

Para examinar os efeitos no leucograma da suplementação com antioxidante em novilhas leiteiras da raça Holandesa de alta produção no período de transição propôs-se este trabalho de pesquisa.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho visou avaliar possíveis alterações hematológicas em novilhas leiteiras, de alta produção, suplementadas com formulação antioxidante, no período de transição.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Especificadamente, objetivou-se:

- Avaliar os efeitos da suplementação com antioxidantes no leucograma de novilhas leiteiras;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 PERÍODO DE TRANSIÇÃO: DO PRÉ PARTO AO PÓS-PARTO

A transição do estágio de animal gestante e não lactante ao de não gestante e lactante constitui desafio para o organismo do animal, considerando que os sistemas de produção vêm se tornando cada vez mais eficientes.

Dietas complexas, com eventual aumento do risco de transtornos metabólicos, podem favorecer o desequilíbrio entre o ingresso de nutrientes no organismo e a capacidade para metabolizá-los (ZAMBRANO & MARQUES JR., 2009).

Para vacas de aptidão leiteira, uma vez que a maioria dos problemas metabólicos ocorre nesta fase, poderá prejudicar toda a expectativa de produção durante a lactação, resultando em impacto econômico significativo para fazendas de produção de leite (RABELO & CAMPOS, 2009; ALVARENGA, et al., 2015).

O período de transição de vacas leiteiras está associado ao elevado índice de doenças provocadas por fatores metabólicos, nutricionais ou de natureza infecciosa (MULLIGAN & DOHERTY, 2008). Mudanças fisiológicas e patológicas associadas ao balanço energético são importantes fatores relacionados ao desenvolvimento de cetose, deslocamento de abomaso e retenção de placenta (DUFFIELD & LEBLANC, 2009) e podem causar impacto negativo no sistema imune levando ao aumento da ocorrência de doenças infecciosas como mastite e metrite (DOHOO & MARTIN, 1984; KREMMER et al. 1993).

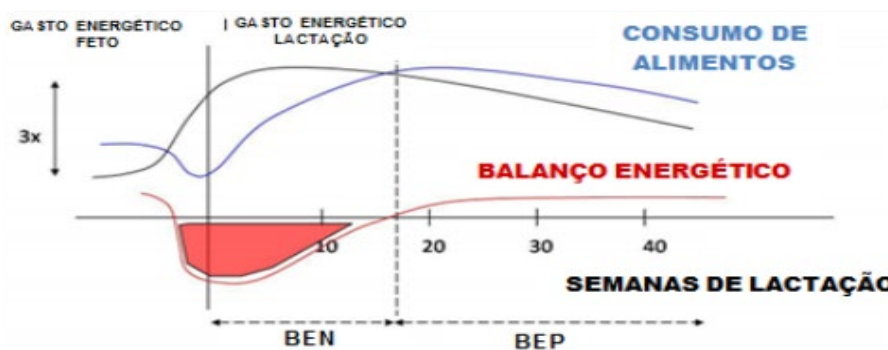
A principal consequência das doenças de produção no período de transição é o baixo desempenho da fertilidade do rebanho e consequente perdas econômicas (RABELO & CAMPOS, 2010). Para esses autores, durante o período de transição, grandes mudanças adaptativas ocorrem na fase final da gestação e o início da lactação. O grande problema enfrentado pelas vacas é o aumento expressivo na necessidade de nutrientes para produção de leite, associado ao baixo consumo de matéria seca e, portanto, atendimento insuficiente da demanda nutricional.

Mota et al. (2006) informam que as mudanças no estado fisiológico da vaca no período de transição ocorrem a fim de preparar a mesma para o parto e a lactogênese. Essa transição metabólica ocorre gradualmente e envolve alterações no fígado, tecido adiposo, músculo esquelético, secreções e ação de hormônios envolvidos no parto e na lactação (início e manutenção). À medida que o parto se aproxima, as concentrações de insulina diminuem, e as do hormônio de crescimento aumentam. Observa-se aumento rápido nas concentrações de glicocorticoides que atingem um pico no parto, retornando às concentrações originais no dia seguinte. Por outro lado, as concentrações de estradiol aumentam com a aproximação do parto, com rápidos aumentos durante as três semanas que o antecedem, enquanto a progesterona diminui rapidamente durante a última semana de gestação. A tiroxina (T4) aumenta gradativamente no final da gestação e diminui aproximadamente 50% no parto. Com o parto, observa-se novo aumento na tiroxina.

O principal regulador do metabolismo de energia nos mamíferos é a glicose sanguínea (LEHNINGER et al., 1995). Nos ruminantes, esta possui maior importância, pois apenas 5% da glicose ingerida é absorvida diretamente. Grande parte da glicose oriunda da dieta sofre fermentação ruminal, sendo convertida a ácidos graxos voláteis e, com isto, faz-se necessário constante estado de gliconeogênese para suprir a demanda de glicose (HERDT, 1988).

Nas primeiras semanas de lactação, as vacas leiteiras de alta produção apresentam balanço energético negativo (BEN), pois a alta demanda energética não é suprida pelo consumo de alimentos, uma vez que há ineficiência de consumo (VASQUEZ-ANON et al., 1994), como demonstrado na Figura 1.

Figura 1: Representação do Balanço Energético Negativo



Adaptado: Bossaert (2010).

Em rebanhos de alta produção, uma em cada duas a três vacas sucumbe a algum tipo de problema de saúde durante o período de transição, o que poderia demonstrar a fragilidade do sistema imunológico (JORDAN & FOURDRAINE, 1993; DUFFIELD et al., 2002; DRACKLEY et al. 2005). Desta forma, os problemas de saúde relacionados ao período de transição sinalizam a necessidade de melhoria no manejo, permitindo que as vacas atinjam o seu potencial genético para a produção de leite sem prejuízo à saúde e à rentabilidade da atividade leiteira. Melhor conhecimento das mudanças fisiológicas e patológicas durante o período de transição pode levar ao desenvolvimento de melhores práticas de manejo e alimentação durante esta fase.

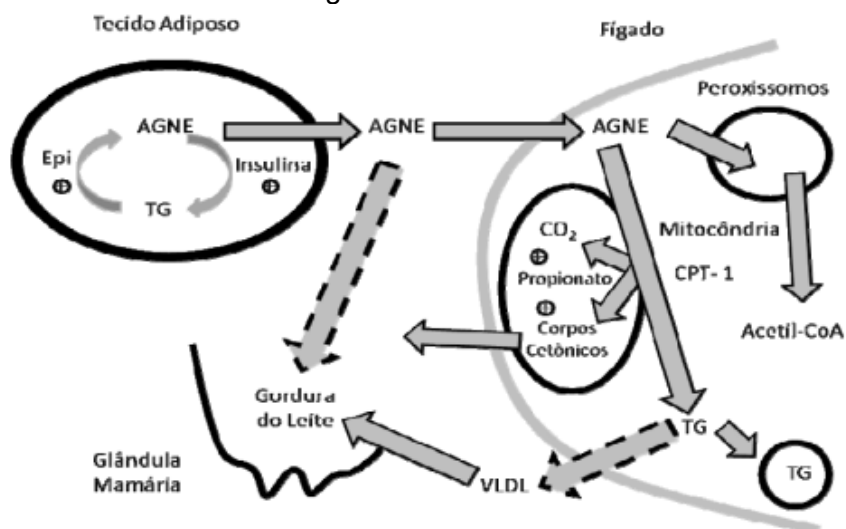
A competência do sistema imune é deprimida durante o período de transição (KEHRLI et al., 1989). Diminuição da habilidade do sistema imune em responder a desafios infecciosos provavelmente é responsável pela alta incidência de mastite ambiental ao redor do parto, como também alta incidência de metrite. As causas para a redução da função imune não são bem conhecidas. Existe alguma evidência, sugerindo que o balanço energético negativo e/ou p balanço proteico podem ser fatores que contribuem para esse fenômeno (KREMER et al., 1993; GOFF, 1999). Estudo demonstrou ligação entre retenção de placenta e diminuição da competência imune (RABELO & CAMPOS, 2010), sugerindo que a nutrição proteica pode também influenciar a incidência de retenção de placenta.

Muitos componentes do sistema imune parecem ser afetados negativamente por concentrações elevadas de corpos cetônicos (SURIYASATHAPORN et al., 2000). O fígado gorduroso pode também diminuir a competência do sistema imune (BREUKINK & WENSING, 1997). A incidência do mesmo é muito associada com a ocorrência de doenças infecciosas (BOBE et al., 2004). O acúmulo de triglicerídeos (TG) no fígado é associado a diferenças marcantes nas propriedades funcionais e fenotípicas dos neutrófilos (ZERBE et al., 2000).

Uma vez no fígado, os ácidos graxos não esterificado (AGNE) podem seguir duas vias distintas, sendo a oxidação e a esterificação. A oxidação ocorre de forma completa resultando em CO₂ ou parcial resultando em corpos cetônicos. Na esterificação os AGNE são armazenados como triglicerídeos e

exportados na forma de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDV), como demonstrado na Figura 2.

Figura 2: Representação esquemática da inter-relação entre o fígado, o tecido adiposo e a glândula mamária.



As linhas tracejadas indicam processos que ocorrem a baixas taxas ou apenas durante certos estados fisiológicos. EPI = epinefrina, AGNE = ácido graxo não esterificado (NEFA), TG = triacilglicerídeo, VLDL = lipoproteína de muito baixa densidade, CPT-1= carnitina palmitoiltransferase.

Fonte: Adaptado de Drackley (1999).

O início repentino da síntese do leite na glândula mamária resulta em aumento expressivo na demanda de cálcio. Como consequência, as concentrações de cálcio podem cair muito durante o parto, levando à hipocalcemia clínica. Já a hipocalcemia subclínica é resultado de quedas menores nas concentrações de cálcio do sangue, sendo considerada fator de risco para desordens como deslocamento de abomaso e cetose, pela diminuição da contração da musculatura lisa, vital para a função normal do trato digestivo (GOFF & HORST, 1997).

A hipocalcemia leva também a um aumento da secreção de cortisol, que é considerado um fator de risco, envolvendo o aumento da incidência de retenção de placenta (GOFF, 1999). Até que o sistema digestivo tenha a capacidade de absorver cálcio, este deve ser obtido pela reabsorção óssea. A acidose metabólica promovida pela diferença dietética cátion-aniônica (DCAD) negativa favorece a mobilização de cálcio do osso, enquanto altas

concentrações na dieta de potássio e DCAD positiva inibem o processo de reabsorção óssea (HORST et al., 1997).

3.2 PERÍODO PRÉ PARTO: ALTERAÇÃO HEMATOLÓGICAS

A hematologia na medicina veterinária vem em constante crescente sendo primordial para auxílio em diagnósticos e pesquisas. Entende-se por hematologia a especialidade médica que estuda e trata doenças do sangue e de órgãos hematopoiéticos, onde se formam as células do sangue. Na bovinocultura leiteira o uso desta prática está cada vez mais rotineiro, principalmente para estudos de distúrbios metabólicos em vacas no pré e pós-parto e desempenho de bezerros.

Para entender as alterações hematológicas é preciso ter o conhecimento dos parâmetros normais do eritrograma e leucograma de bovino (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de referência de eritrograma e leucograma bovino

Eritrograma	
Eritrócitos ($\times 10^6$)	5.0 / 10.0
Hemoglobina (g/dL)	8.0 / 15.0
VG (%)	24 / 46
HGM (pg)	11 / 17
VGM (fl)	40 / 60
CHGM (%)	30 / 36
Leucograma	
Leucócitos Totais	4.000 – 12.000
Bastonetes	0 – 120
($\mu\text{L}/\%$)	0 – 2%
Neutrófilos	600 – 4.000
($\mu\text{L}/\%$)	15 – 45%
Linfócitos	2.500 – 7.500
($\mu\text{L}/\%$)	45 – 75%
Eosinófilos	0 – 2.400
($\mu\text{L}/\%$)	2 – 20%
Monócitos	25 – 840
($\mu\text{L}/\%$)	2 – 7%
Basófilos	0 – 200
($\mu\text{L}/\%$)	0 – 2%
Fibrinogênio Plasmático, (mg/dL)	300 – 700
Proteína Total, (g/dL)	7.0 – 8.5
Plaquetas, ($\times 10^3$)	100 – 800

VG = Volume Globular. HGM= Hemoglobina Corpuscular Média. VGM= Volume Globular Médio. CHCM= Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

Fonte: SCHALM's Veterinary Hematology (2000).

De acordo com o estudo do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão e Pecuária (2009), foi constatado que as alterações hematológicas são mais evidentes no fim da gestação, período no qual o crescimento do feto induz uma redistribuição dos componentes sanguíneos (Tabela 2).

Tabela 2: Valores hematológicos para bovino leiteiro da raça Holandesa, de acordo com as semanas anteriores ao parto

Variável (unidade)	Semanas em relação ao parto					
	-3	--1	-2	5	8	11
Hematócrito (%)	32,72	31,87	29,24	29,21	29,08	28,90
Hemoglobina (g/dL)	12,70	11,95	10,72	10,62	10,88	10,54
Leucócitos totais (μ L)	7011,60	8080,81	9044,47	8414,22	6684,60	6348,17
Neutrófilos (μ L)	2566,9	3187,9	3198,73	3551,36	2725,78	2724,46
Eosinófilos (μ L)	750,69	578,97	438,31	368,16	366,27	366,98
Basófilos (μ L)	65,89	65,85	46,34	78,41	31,90	68,62
Monócitos (μ L)	563,59	569,12	658,16	680,50	629,24	494,01
Linfócitos (μ L)	5458,79	5505,45	5396,52	5198,4	4659,18	4370,01
Relação neutrófilo/ linfócito	0,6073	0,7117	0,797	1,0086	0,7733	0,6766

Fonte: NUPEEC – Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária, 2009.

Várias pesquisas indicam que a alta incidência de doenças durante e após o período de transição está relacionada à imunossupressão associada ao estresse e, alterações no sistema imune de vacas leiteiras durante o periparto. De acordo com o estudo do Departamento de Ciência Animal, *Universidad Nacional de Colômbia*, juntamente com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul os níveis de cortisol mais alto foram detectados na segunda semana após o parto, uma vez que neste período a produção do leite é desencadeada e há aumento da síntese de lactose para garantir a maior produção de leite e outros produtos da gliconeogênese modulada pelo cortisol. Valores altos de cortisol também foram encontrados durante o pré-parto, o que também pode estar relacionado com o período de transição, caracterizado por grandes desafios na homeostasia (CAMPOS, et al, 2008).

3.3 ANTIOXIDANTES

3.3.1 Ubiquinona

A Coenzima Q foi descoberta em 1957, pelo professor Frederick L. Crane e seus colegas, na Universidade de Wisconsin-Madison. Um ano mais tarde, a substância pura isolada de mitocôndrias de coração de boi foi enviada para o Dr. Karl Folkers, na empresa farmacêutica *Merck*, para a identificação e elucidação de sua estrutura. O papel vital da CoQ10 na cadeia de transporte de elétrons foi descrito pela primeira vez pelo Dr. Peter Mitchell, da Inglaterra, que recebeu o prêmio Nobel por seu trabalho (SANTOS, 2012).

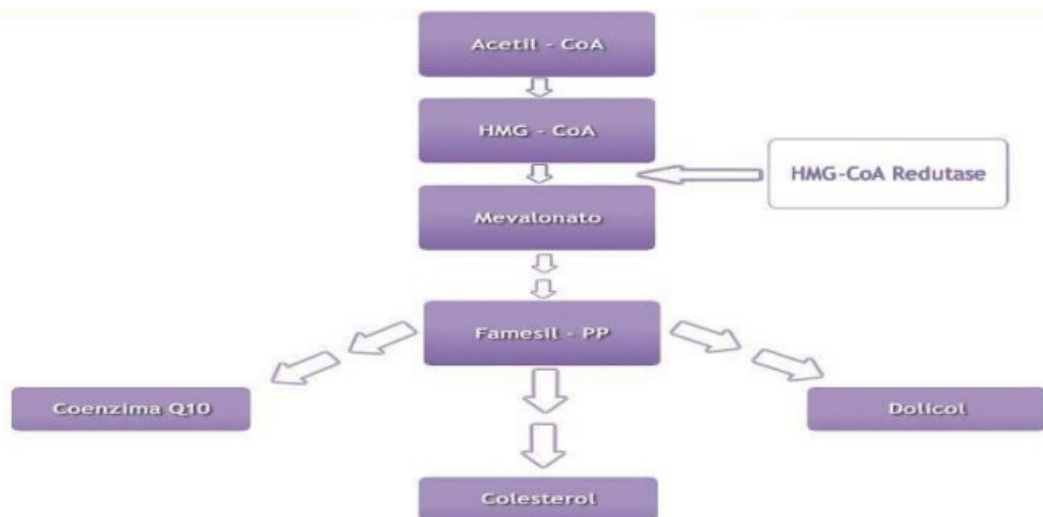
A CoQ10 atua como um antioxidante através de mecanismos classificados em: 1) reação direta com os radicais livres; 2) regeneração da forma ativa da vitamina E pela redução do radical alfa-tocoferil (QUINN et al., 1999; ARROYO et al., 2000; FERREIRA, 2010).

A coenzima Q10 é uma substância natural e um antioxidante muito importante. Importante para a produção natural de energia a nível celular. Todos os seres vivos que dependem da respiração para a produção de energia contêm a coenzima Q10 porque esta assegura a produção da energia necessária para sustentar a vida. Estudos clínicos têm demonstrado que a coenzima Q10 está presente no processo da geração de 95% de toda a energia necessária para o corpo (DILLÓN, 2006).

Segundo Bank et al. (2011), esta substância trata-se de uma molécula altamente lipofílica e praticamente insolúvel em água. A absorção e transporte da CoQ10 parece ser semelhante a outros compostos lipofílicos tais como a vitamina E. Quando administrada por via oral, é convertida para a forma reduzida (ubiquinol) pelos enterócitos, absorvida pelo intestino delgado, entrando na circulação através do sistema linfático (FELTRE et al., 2014).

Parte da CoQ10 é sintetizada a partir da tirosina, enquanto outra parte, é sintetizada a partir de Acetil-CoA pela via do mevalonato (Figura 3), mesma via utilizada nos primeiros passos da biossíntese do colesterol. Por apresentar uma parte de sua síntese em comum com essa molécula, alguns medicamentos para a diminuição da pressão e dos níveis de colesterol sanguíneo são responsáveis pela inibição da produção de CoQ10 (SANTOS, 2012).

Figura 3: Ciclo do Mevalonato



Fonte: Adaptado: Bentinger et al., (2010).

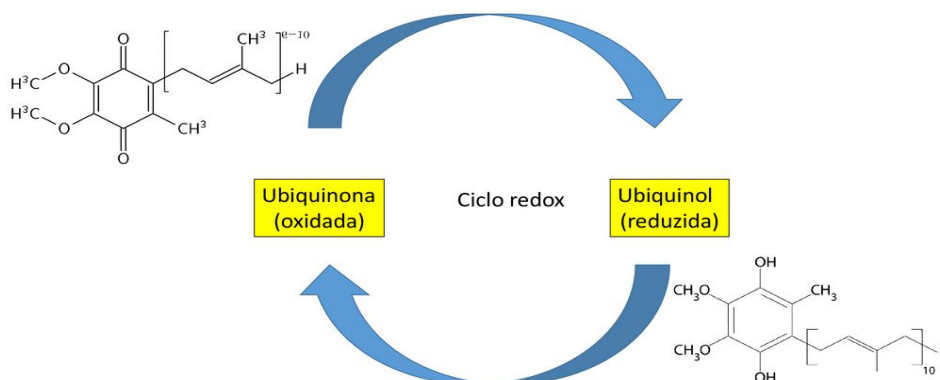
A CoQ10 tem capacidade de transferir elétrons, atuando como antioxidante para o organismo é usado para suplementação em humanos. Com o tempo vamos diminuindo a produção CoQ10, assim a uma necessidade de suplementação, uma vez que a falta pode levar a danos cerebrais entre outros.

Em 1957, a Coenzima Q10 foi primeiramente isolada a partir da mitocôndria de coração bovino (KUMAR et al. 2009). É uma pro-vitamina lipossolúvel sintetizada endogenamente também conhecida como CoQ10 ou ubiquinona. Essa coenzima pertence a uma série de compostos homólogos que compartilham na sua estrutura um anel benzoquinona, mas diferem no comprimento da cadeia isoprenoide. A Coenzima Q10 está presente em duas formas, a oxidada chamada ubiquinona e a reduzida ubiquinol (LITTARRU; TIANO, 2007; MACHADO, 2011).

A CoQ10 é uma coenzima de pelo menos três enzimas mitocondriais (complexo I, II e III). Como destacado na Figura 4, é um componente central da produção de energia celular. Os processos bioquímicos que ocorrem no interior da célula e envolvem a produção, transformação e utilização da energia contam com a participação do ATP (adenosina trifostafato) como principal fonte de energia, advindo da fosforilação oxidativa no interior da mitocôndria. A CoQ10 é um componente crucial desse sistema, onde a energia derivada de ácidos graxos e carboidratos é convertida em ATP. Nesse sentido, a CoQ10 afeta a

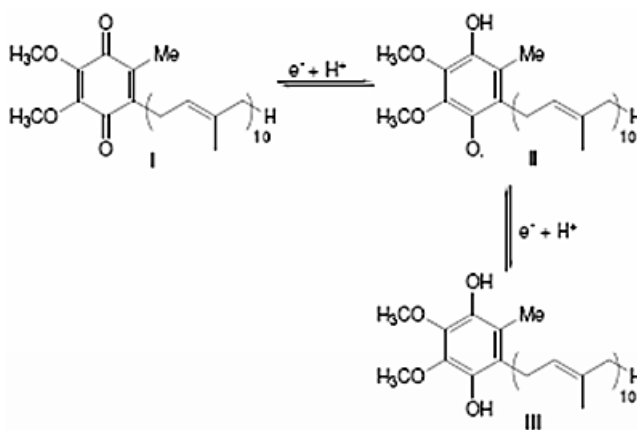
função de cada célula no corpo, o que a torna importante para a saúde de todos os tecidos e órgãos (de DIEU NDIKUBWIMANA & LEE, 2014).

Figura 4: Formas da Coenzima Q10



A estrutura química da ubiquinona é designada por 2,3-dimetoxi-5-metil-6-decaprenil-1,4-benzoquinona(I) (Figura 5).

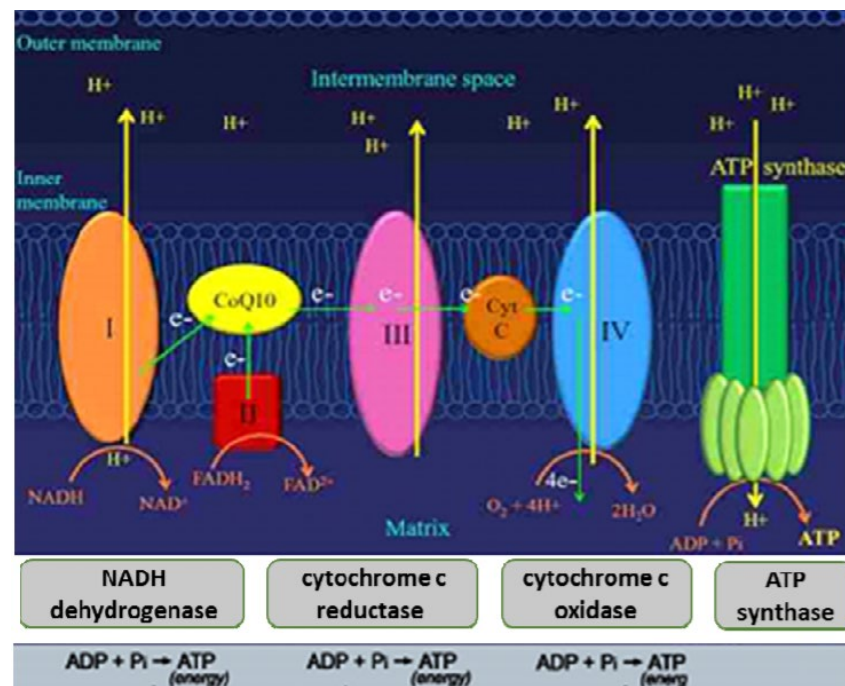
Figura 5: Estrutura química da ubiquinona



Fonte: Ferreira (2010).

Estudos envolvendo a suplementação CoQ10, tem demonstrado sua importante atuação em diversas funções bioquímicas, como principal fonte de energia celular, além da participação dessa substância como inibidora da fadiga durante o exercício em humanos (BRAUN et al., 1991; MIZUNO et al., 1997; WESTON et al., 1997; NIELSEN et al., 1999).

Figura 6: Papel central da CoQ10 na cadeia de transporte de elétrons



Fonte: Vaghari et al. (2016)

Na bovinocultura de leite, pouquíssimos trabalhos foram publicados, demonstrando resultados de pesquisa envolvendo alguma categoria desse tipo de animal de produção e a suplementação com CoQ10.

ABDULHASAN et al., (2017) testaram se a aumenta o ATP durante a maturação *in vitro* de oócitos bovino, tão como a porcentagem oócitos-M2, a polarização/ massa mitocondrial e se diminui a morte do oócito, usando a CoQ10 em meio de cultivo a 40 µM e observaram que a CoQ10(40 µM) promoveu 1,9 vezes mais ATP do que o grupo controle. Houve 4,3 vezes menos morte de oócitos, 1,7 vezes mais polarização de carga mitocondrial e 3,1 vezes mais massa mitocondrial a 40 µM do que a 0 µM de CoQ10.

Segundo Bae et al., (2018), o fornecimento de altos níveis de CoQ10 a idosos ou jovens por meio da ingestão de alimentos pode ajudar a manter ou melhorar seu estado de saúde, pois a CoQ10 previne declínios funcionais relacionados à idade em humanos. Nesta condição, os pesquisadores conduziram estudo com o objetivo de promover a produção de leite de valor agregado e produtos lácteos, enriquecidos com CoQ10. Para tanto,

suplementaram vacas leiteiras com a coenzima (0,1 e 0,5%) e mostraram que quando suplementadas ao nível de 0,5%, não apresentaram efeito adverso no consumo de matéria seca e na produção de leite. No entanto, a concentração de CoQ10 no leite aumentou dramaticamente, com vacas tratadas produzindo 70,9% mais CoQ10 do que vacas controle.

CoQ10 pode auxiliar na superação do estresse antes da maturação *in vitro* de oócitos (por exemplo, estresse por calor de doadores bovinos) ou estresse atual (por exemplo, cultura de *in vitro* de oócitos, isolamento de oócitos e manuseio) sem preocupações com a possível toxicidade devido à maior possível hiperatividade de AMPK causada por agonistas. CoQ10 parece aumentar a eficácia da fecundação *in vitro* (FIV) / ART tanto *in vitro* quanto *in vivo*, e pode melhorar oócitos idosos e diminuir o aborto, afetando gametas e embriões (BEN-MEIR et al., 2015; BENTOV et al., 2014; MELDRUM et al., 2016).

Outro estudo que avaliou doses de CoQ10 na cultura de embriões bovinos foi de Stojkovic et al., (1999), em que doses de CoQ10 de 0, 10, 30 e 100 μM foram testadas, e 30 μM foi a dose ideal com efeitos positivos na formação de blastocisto, proliferação celular, eclosão e embriões bovinos cultivados com conteúdo de ATP. CoQ10 de 100 μM reduziu significativamente a taxa de desenvolvimento de blastocisto em comparação com 30 μM e, além disso, ATP, morte e polarização foram significativamente otimizados para 40-60 μM em comparação com 100 μM .

3.3.2. Óleos essenciais ou compostos ativos

Os radicais livres são átomos ou moléculas resultantes de processos metabólicos e atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas. Desempenham funções relevantes no metabolismo. As principais fontes de radicais livres são as organelas citoplasmáticas que metabolizam o oxigênio, o nitrogênio e o cloro, gerando grande quantidade de metabólitos (MÉNDEZ FILHO & RODRÍGUEZ, 1997). Segundo Koury & Donangelo (2003), os mecanismos de geração de radicais livres ocorrem, normalmente, nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma.

Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, presente em menores concentrações que as do substrato oxidável, seja capaz de atrasar ou inibir a oxidação. Tais substâncias podem agir diretamente, neutralizando a ação dos radicais livres e espécies não-radicais, ou indiretamente, participando dos sistemas enzimáticos com tal capacidade (HALLIWELL & WHITEMAN, 2004).

Estão incluídos entre os radicais livres o superóxido (O_2^-), a hidroxila (OH), o hidroperóxido (HO_2), o óxido nítrico (NO) e o dióxido de nitrogênio (NO_2). O radical hidroxila é o mais reativo na indução de lesões nas moléculas celulares e o peróxido de hidrogênio é capaz de atravessar a membrana nuclear e induzir danos na molécula de DNA, porém, não é considerado um potente radical livre (FERRARI, 2004).

Dada a existência do desequilíbrio no organismo, com uma geração excessiva de radicais livres, ou em detrimento da velocidade de remoção destes, desencadeia-se o que se conhece por estresse oxidativo, que pode conduzir à oxidação maciça de substratos biológicos. Em nível celular, a frequência desse estresse oxidativo pode causar severos problemas metabólicos e estar envolvida na origem e no desenvolvimento de numerosas doenças (LUCESOLI & FRAGA, 1995). Segundo Halliwell & Whiteman (2004), o estresse oxidativo conduz à oxidação de biomoléculas com conseqüente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos.

De acordo com Barbosa et al., (2010) enzimas com importantes funções antioxidantes incluem dismutase de superóxido (SOD), que catalisa a desmutação do radical superóxido para peróxido de hidrogênio e água; catalase (CAT), que catalisa a quebra do peróxido de hidrogênio ao oxigênio e à água; e glutathione peroxidase (GPX), que facilita a destruição tanto do peróxido de hidrogênio quanto dos peróxidos orgânicos.

Yesilbag et al., (2016) conduziram estudo para avaliar os efeitos do óleo essencial de zimbro sobre o desempenho de crescimento, parâmetros de fermentação ruminal, população de protozoários ruminais, parâmetros de enzimas antioxidantes sanguíneas e conteúdo fecal em cabritos Saanen em

crescimento. O grupo controle foi alimentado com dieta composta de ração concentrada e feno de aveia, enquanto os demais grupos experimentais consumiram a mesma dieta, mas com ração concentrada uniformemente pulverizada com óleo essencial de zimbro 0,4 mL / kg, 0,8 mL / kg ou 2 mL / kg. Os pesquisadores não observaram efeito da suplementação sobre os parâmetros de desempenho ou ruminais, no entanto, os parâmetros sanguíneos antioxidantes foram alterados. A atividade da superóxido dismutase (SOD), a capacidade antioxidante total (TAC) e os valores da catalase tenham aumentado significativamente ($p < 0,05$) nos grupos experimentais com o óleo, principalmente no grupo 2 mL / kg, o valor da glutathione peroxidase (GPX) no sangue diminuiu significativamente nos grupos experimentais. Os resultados deste estudo sugerem que a suplementação de óleo de zimbro é mais eficaz nos parâmetros antioxidantes do que nos parâmetros de desempenho e pode ser usado como um produto antioxidante natural.

As mitocôndrias, células produtoras de energia, geram continuamente e abundantemente os radicais de oxirredução como resíduos tóxicos, da mesma forma que ocorre com o desencadeamento do estresse, da poluição e outras substâncias externas (DEVASAGAYAM et al., 2004). Outros fatores como as atividades metabólicas produzem radicais livres e, esses fatores induzem o estresse oxidativo, causando diferentes graus de deterioração e destruição de células corporais, incluindo as células da fração vermelha do sangue (DRAGAN et al., 2003).

As elevações na contagem de células brancas e contagem de glóbulos brancos diferenciais geralmente são uma resposta à invasão do corpo por agentes infecciosos, nesse caso radicais livres gerados por esses agentes sensibiliza o sistema imunológico para responder produzindo e recrutando mais células da série branca do sangue para limpar esses invasores (ORHUE et al., 2008).

O desempenho das funções normais pelos eritrócitos é altamente dependente de sua estabilidade da membrana e capacidade de resistir à lise. Os antioxidantes têm sido muito implicados na prevenção de danos celulares e geralmente consolidam a integridade da membrana eritrócito, reduzindo seus danos oxidativos devido ao impacto dos radicais livres (ADENKOLA e OLUREMI,

2014). O impacto dos radicais livres na membrana eritrócito é uma das principais causas de redução de sua capacidade de resistir à lise (DEVASAGAYAM et al., 2004; DRAGAN et al., 2003).

Elwan et al., (2020), realizaram estudo com coelhos brancos da Nova Zelândia para investigar o efeito da alimentação com dietas suplementadas com carotenoides de pimenta vermelha, considerado potente antioxidante. Dentre os componentes ativos estão os compostos fenólicos, como os ácidos p-cumárico, sinapínico, vanílico e luteolina, além da catequina e seus isômeros. Os pesquisadores observaram que a adição desse carotenoide da pimenta vermelha aumentou significativamente as respostas imunológicas; atividade fagocítica, quimiotaxia, Tlg, IgG, IgM e IgA aumentaram em comparação com o grupo de controle. Ressalta-se que as dietas foram suplementadas com 1 ou 2% do carotenoide.

O mecanismo pelo qual os carotenoides protegem os sistemas biológicos dos radicais depende da transferência de energia do oxigênio excitado para a molécula do carotenoide, em que a energia é dissipada por meio de rotações e vibrações do mesmo, no meio solvente (STAHL & SIES, 1999). Os carotenoides reagem com os radicais livres, notavelmente com os radicais peróxidos e com o oxigênio molecular, sendo a base de sua ação antioxidante. Carotenoides como o betacaroteno, licopeno, zeaxantina e luteína, exercem funções antioxidantes em fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam as membranas lipoprotéicas (SIES & STAHL, 1995).

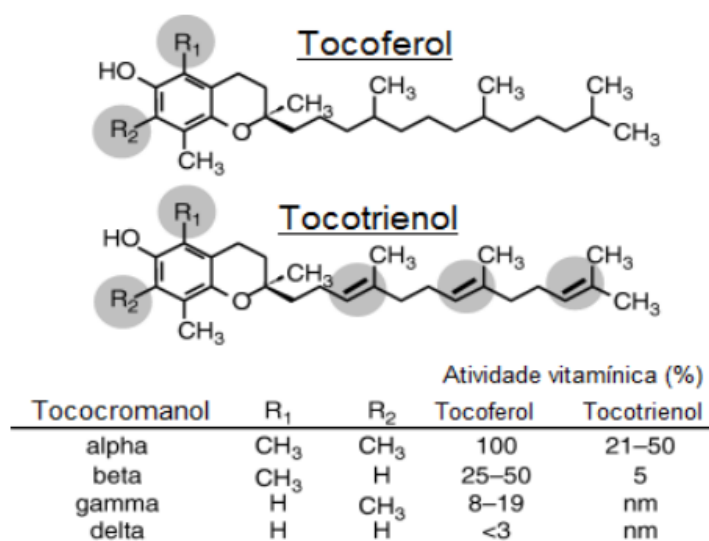
A vitamina C é o agente antioxidante padrão, sendo um importante regulador do ferro- “up-take” e reduz os íons Fe^{3+} férricos para íons ferrosos, promovendo assim a absorção de ferro não-hem dietético do trato gastrointestinal e estabilizando as proteínas de ligação de ferro. A maioria dos animais é capaz de sintetizar vitamina C a partir da glicose, mas humanos e outros mamíferos não têm a última enzima envolvida na síntese de vitamina C (“gulonolactone oxidase”), assim, eles requerem a presença da vitamina em suas dietas (NAYAN et al., 2013).

3.3.3. Vitamina E

A vitamina E foi descoberta em 1922 por Evans & Bishop, durante um estudo onde ratas apresentavam infertilidade e reabsorção fetal, quando alimentadas somente com gordura suína. Após adição do germe de trigo na dieta, o fenômeno de reabsorção fetal não era observado, estando relacionado com um componente ativo desconhecido, o qual foi nomeado vitamina E.

A denominação genérica vitamina E, é composta por oito moléculas diferentes, entre quatro tocoferóis e quatro tocotrienóis, sendo que as estruturas α (alfa), β (beta), γ (gama) ou δ (delta) são determinadas de acordo com o número e posição do grupo metil (CH_3) (Figura 7).

Figura 7: Estrutura química do tocoferol e tocotrienol



Fonte: Adaptado de DELLAPENNA & LAST (2006).

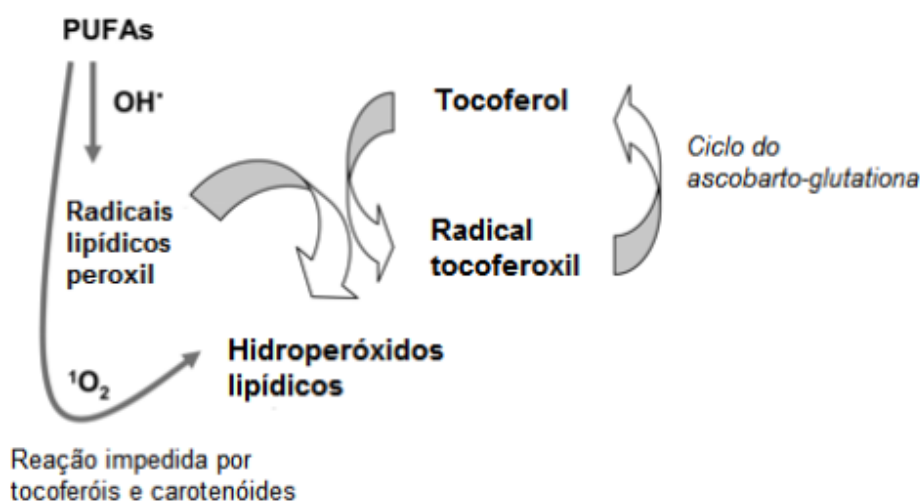
No organismo a vitamina E atua como potente antioxidante, por ser um composto lipossolúvel e compor as membranas celulares, a mesma, é capaz de deter a deterioração lipídica, conseqüentemente, impedir a formação de hidroperóxido (BUCKLEY et al., 1995).

O controle da homeostase *redox* por tocoferóis, ascorbato e glutatona aparenta estar intimamente interligado. Enquanto tocoferóis controlam a

extensão da peroxidação lipídica, ascorbato e glutathiona agem como tampões do potencial redox celular, controlando, entre outros, o nível de peróxido de hidrogênio (FOYER & NOCTOR, 2005). Dessa forma, o ascorbato evita a formação de radicais hidroxil altamente reativos e, indiretamente, a peroxidação lipídica. Além disso, o ciclo do ascorbato glutathiona suporta a função antioxidante de tocoferóis através da reciclagem dos radicais tocoferoxil, resultado da reação de tocoferóis com os radicais peroxil.

Além de seu papel na captura de radicais lipídicos peroxil, tococromanóis também atuam na eliminação (*quenching*) dos oxigênios *singletes*, isso porque uma molécula de α -tocoferol é capaz de desativar centenas de oxigênios *singletes* por meio de processos físicos (transferência de energia por ressonância). Tocoferóis podem reagir quimicamente com oxigênios *singletes* e assim destruí-los (*scavenging*) (FALK & MUNNÉ-BOSCH, 2010) (Figura 8).

Figura 8: Esquema de controle da homeostase redox feito por tocoferóis



Fonte: Adaptado de FALK & MUNNÉ-BOSCH (2010).

3.3.3.1. Vitamina E na produção de leite

A exigência de vitamina E para vacas em lactação é de 500 UI/dia, porém, no período seco e no estágio inicial da lactação, a recomendação se torna o

dobro, sendo de 1000 UI/dia. Estudos recentes demonstram que, a suplementação com vitamina E acima da recomendação, durante o período de transição, aumenta a atividade imune e o desempenho reprodutivo e reduz o risco de doenças infecciosas, como a mastite (NRC, 2001).

Segundo o estudo de Baldi et al (2000), vacas suplementadas com 2.000 UI/dia de vitamina E, durante as duas últimas semanas pré-parto e a primeira pós-parto, tiveram contagem de células somáticas (CCS) menor durante as duas primeiras semanas pós-parto, em relação às vacas alimentadas com 1.000 UI/dia.

POLITIS et al. (2004), avaliou o efeito da suplementação com vitamina E, sobre atividade imune, composição do leite e atividade de plasmina, dando início 4 semanas antes do parto na dose 3.000UI/dia, continuando com a suplementação até 12 semanas pós-parto na dose de 1.000UI/dia. O resultado foi satisfatório, onde houve um aumento da função das células de defesa. O leite obtido de vacas que receberam vitamina E suplementar teve CCS menor em 25%, e plasmina menor em 30%, do que os valores correspondentes no leite obtido de vacas controle. A redução da plasmina como resultado da suplementação de vitamina E é muito benéfica para a indústria de laticínios, pois, a plasmina reduz a capacidade de produção de queijo do leite, afeta as propriedades de coagulação do leite e sua capacidade geral de suportar o processamento durante a produção de queijo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos realizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Brasil, registrados sob o protocolo nº 2000093 (ANEXO A).

4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E ANIMAIS

O experimento foi conduzido na Fazenda de produção de leite, localizada no município de São João Batista do Glória – MG, coordenadas geográficas, latitude S20.62612° e longitude O46.52173°.

Foram selecionados dez bovinos, fêmeas primíparas, da raça Holandesa no período de transição, especificadamente na fase pré-parto (23 dias antes do parto), com peso vivo médio de 510 kg, de alta produção de leite.

As novilhas no pré-parto ficaram em confinamento por estabulação livre (*Loosinghouse*) (Figura 9) até a parição, com supervisão frequente. Receberam ração total à vontade, tinham acesso ao cocho com o suplemento mineral e bebedouro com água potável.

Figura 9: Instalação do tipo *Loosinghouse* para manutenção dos animais no período pré-parto



Fonte: Liandra Maria Abaker Bertipaglia.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de análise de parcela subdividida no tempo (medidas repetidas no tempo), com 2 tratamentos, sendo cada tratamento composto por 5 unidades experimentais. Foram avaliados quatro períodos no tempo: zero (-23), sete, catorze e vinte e oito dias após a suplementação dos animais. Ressalta-se que o tempo zero coincidiu com vinte e três dias antes do parto.

Os tratamentos avaliados foram:

- 1) Tratamento controle em novilhas suplementadas sem ativos (pasta base sem ativos).
- 2) Tratamento em novilhas suplementadas com ativos (pasta base com ativos).

A pasta oral foi desenvolvida pela empresa NewAgri®, sediada no município de Descalvado/SP, através de parceria de inovação tecnológica com o programa de mestrado profissional em Produção Animal (PMPPA), da Universidade Brasil, campus de Descalvado, SP.

4.3 SUPLEMENTAÇÃO

Os animais foram suplementados logo após a amostragem do sangue, que foi conduzida às sete horas da manhã. A suplementação foi via oral, por meio de pasta contida em seringa de aplicação, diretamente na cavidade oral da novilha.

4.4 AMOSTRAGEM E AVALIAÇÕES NAS AMOSTRAS DE SANGUE

As amostras de sangue dos animais experimentais foram obtidas nos tempos zero, sete, catorze e vinte e oito dias após a suplementação. Foram coletadas da veia coccígea média por agulhas do calibre 40/12 e seringas de 10

mL estéreis (Figura 10). Logo após a coleta, foram passadas para frascos contendo anticoagulante EDTA-K3.

Figura 10: Local onde os animais foram contidos para coleta de sangue (A) e amostragem do sangue da veia coccígea média (B)



Fonte: Liandra Maria Abaker Bertipaglia

O sangue foi analisado em equipamento automático modelo Poch-100iVDiff, marca Sysmex. Na amostra de sangue foi realizada a contagem diferencial de leucócitos, efetuada em esfregaços sanguíneos a partir do sangue *in natura* e corados pelo método pancromático de Rosenfeld e contagem em microscópico a luz (JAIN et al., 1993). Em cada esfregaço sanguíneo, foram diferenciados 100 leucócitos e classificados de acordo com suas características morfológicas e tintoriais, neutrófilos com núcleo segmentado, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados obtidos foi feita utilizando o software SAS. Os dados foram analisados como medidas repetidas no tempo. As variáveis foram analisadas por ANOVA e a comparação de médias, pelo Teste SNK com nível mínimo de significância de 5% ($P < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os valores médios de leucócitos (Tabela 3) e linfócitos (Tabela 4) das amostras de sangue das novilhas na fase de transição (período pré-parto) não houve diferença significativa entre os tratamentos e, nos períodos de avaliação ($p > 0,05$).

Os parâmetros hematológicos para leucócitos e linfócitos observados neste estudo encontram-se dentro dos valores de referência para a espécie bovina na fase pré-parto (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3: Valores médios de leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) totais de novilhas da raça Holandesa, controle e com suplementação de ativos, antes do tratamento (0) e após o tratamento, em períodos de sete dias (7, 14 e 28).

Tratamento	Período (dias)				Média Tratamento
	0	7	14	28	
Suplem. (SCA)	19,03	20,05	21,63	23,95	21,16 a
Controle (CTL)	21,03	22,38	22,30	21,89	21,90 a
Média período	20,03 A	21,21 A	21,96 A	22,92 A	21,53
CVa (%)	58,1				
CVb (%)	51,0				

*Valores médios seguidos pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; Valores médios seguidos pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; CV a = coeficiente de variação para tratamento; CV b = coeficiente de variação para período.

Baldacim (2014), ao avaliarem 13 vacas leiteiras da raça Holandesa gestantes, observaram oscilações, durante o período de transição, sobre os valores de leucócitos totais. Ressaltou que houve aumento ($p < 0,05$) desde pré-parto até o parto, momento em que foi encontrado pico máximo desse valor (14,26 a 24,06 $10^3/\mu\text{L}$, respectivamente).

De acordo com Santos & Roraima (2008), foram observados valores para leucócitos de $12,44 \pm 3,81$ ($10^3/\mu\text{L}$) em vacas leiteiras gestantes, sendo estes, valores inferiores aos encontrados no presente estudo, diante os valores médios por período e por tratamento (21,53 $10^3/\mu\text{L}$) das novilhas leiteiras gestantes.

Baldacim (2014) relatou que não foi observada variação nos valores absolutos e relativos de linfócitos em vacas, no período de transição, com valores de 9,19 e 12,21 ($10^3/\mu\text{L}$), respectivamente. 2 semanas e na semana do parto.

Tabela 4: Valores médios de linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) de novilhas da raça Holandesa, controle e com suplementação com ativos, antes do tratamento (0) e após o tratamento, em períodos de sete dias (7, 14 e 28)

Tratamento	Período (dias)				Média Tratamento
	0	7	14	28	
Suplem. (SCA)	14,50	18,39	17,20	19,95	17,51 a
Controle (CTL)	15,01	16,81	15,30	20,25	16,84 a
Média período	14,75 A	17,60 A	16,25 A	20,1 A	17,17
CVa (%)	76,2				
CVb (%)	59,0				

*Valores médios seguidos pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; Valores médios seguidos pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; CV a = coeficiente de variação para tratamento; CV b = coeficiente de variação para período;

Para os valores absolutos médios de monócitos, observou-se, aos 14 dias, ou seja, após duas suplementações semanais do ativo, que as novilhas que receberam a suplementação com ativos apresentaram menor valor absoluto (Tabela 5). A comparação estabelecida no tempo de avaliação reflete uma diferença entre os valores de monócito no início e final do período experimental.

Tabela 5: Valores médios de monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) de novilhas da raça Holandesa, controle e com suplementação com ativos, antes do tratamento (0) e após o tratamento, em períodos de sete dias (7, 14 e 28)

Tratamento	Período (dias)				Média Tratamento
	0	7	14	28	
Suplem. (SCA)	0,64 aA	0,58 aA	0,39 bA	0,48 aA	0,52
Controle (CTL)	0,41 aB	0,39 aB	0,70 aA	0,56 aA	0,51
Média período	0,52	0,48	0,54	0,52	0,51
CVa (%)	55,8				
CVb	48,9				

*Valores médios seguidos pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; Valores médios seguidos pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; CV a = coeficiente de variação para tratamento; CV b = coeficiente de variação para período;

No estudo de Baldacim (2014), na avaliação de vacas gestantes, pré-parto e parto, foi observada diferença nos valores absolutos e relativos do número de monócitos, ao longo do período, com a proximidade do parto. Os valores e proporção foram maiores no pré-parto e diminuindo com a proximidade (2 semanas) e data do parto (0,55 e 0,36 $10^3/\mu\text{L}$), respectivamente) e,

distintamente aos achados no presente estudo (0,52 e 0,56 $10^3/\mu\text{L}$, respectivamente).

Na Tabela 6 pode ser observada alteração dos valores médios de neutrófilo, entre os grupos experimentais. O grupo suplementado com ativos apresentou valor médio significativamente inferior ao do grupo controle.

Tabela 6: Valores médios de neutrófilo ($10^3/\mu\text{L}$) de novilhas da raça Holandesa, controle e com suplementação com ativos, antes do tratamento (0) e após o tratamento, em períodos de sete dias (7, 14 e 28)

Tratamento	Período (dias)				Média Tratamento
	0	7	14	28	
Suplem. (SCA)	3,60	4,30	4,40	3,80	4,02 b
Controle (CTL)	5,60	4,40	4,50	6,80	5,32 a
Média período	4,4 A	4,35 A	4,45 A	5,30 A	4,67
CVa (%)	34,8				
CVb (%)	41,7				

*Valores médios seguidos pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; Valores médios seguidos pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; CV a = coeficiente de variação para tratamento; CV b = coeficiente de variação para período;

Na Tabela 7 pode ser observada alteração dos valores médios de eosinófilos, entre os grupos experimentais e, diferentemente ao ocorrido para a variável neutrófilo, pois o grupo suplementado com ativos apresentou valor médio significativamente superior ao do grupo controle.

Segundo SILVA et al. (2008), a eosinopenia pode ser observada muito próximo ao dia do parto, pode estar associada a ação dos glicocorticoides nesse momento.

De modo geral, em todos os parâmetros avaliados observou-se um elevado coeficiente de variação na análise de comparação de médias pelo teste SNK.

Ao se analisarem os dados do leucograma foi possível fazer inferências referentes à ocorrência de parâmetros associados à imunidade dos animais experimentais (casuística), verificou-se que as constatadas no início do estudo

(dia 0), como a leucocitose por linfocitose (75%) persistiu, evoluindo para 85% dos animais avaliados, em 28 dias do período experimental.

Tabela 7: Valores médios de eosinófilo de novilhas da raça Holandesa, controle e com suplementação com ativos, antes do tratamento (0) e após o tratamento, em períodos de sete dias (7,14 e 28)

Tratamento	Período (dias)				Média Tratamento
	0	7	14	28	
Suplem. (SCA)	730,6	589,0	899,2	652,3	717,7 a
Controle (CTL)	668,0	435,3	365,8	437,6	476,8 b
Média período	699,3 A	512,1 A	632,5 A	544,9 A	597,3
CVa (%)	65,7				
CVb (%)	57,0				

*Valores médios seguidos pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; Valores médios seguidos pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade; CV a = coeficiente de variação para tratamento; CV b = coeficiente de variação para período;

Segundo FAGLIARI (1998), o parto determina intensas modificações no leucograma, sendo que essas alterações, caracterizadas por leucocitose devido à neutrofilia e eosinopenia. Baldacim (2014) referiu-se à leucocitose por linfopenia devido à alteração do número de leucócitos totais e células monocelulares, a partir do leucograma.

No caso da leucocitose por neutrofilia, observou-se comportamento semelhante ao parâmetro leucocitose por linfocitose, ou seja, persistiu, evoluindo até 28 dias do período experimental, com 50% dos animais. Já a leucocitose por monocitose ocorreu em 15% dos animais experimentais, apenas aos 28 dias do período experimental.

A alta associação entre a contagem total de leucócitos com a de neutrófilos, possivelmente estaria associada a quadros inflamatórios agudos, nos quais essas células aumentam (WITTWER, 2012). Segundo o mesmo autor, os animais com neutrofilia apresentam maior frequência de hiperproteinemia (12,2%) e hiperfibrinogenemia (41,5%), comparados com animais sem neutrofilia (4,0% e 7,4%, respectivamente, $P < 0,05$), estes achados sugerem que os animais com neutrofilia cursaram com um processo inflamatório provavelmente agudo e acompanhado por desidratação.

De acordo com Kimura et al. (1999), com a aproximação do parto, a quantidade de linfócitos e sua capacidade funcional diminuem, alcançando o ponto mínimo dias antes do parto. Segundo Ingvarsen et al. (2003), os leucócitos, essenciais componentes do sistema imune, expressam receptores funcionais para muitos hormônios (cortisol, insulina, leptina) que atuam mediando a homeorrese e a homeostase na vaca leiteira.

De modo geral, no presente estudo, de 0 a 28 dias do período experimental, o rebanho experimental apresentou caso de leucocitose em 5% do total de animais. De acordo com Wittwer (2012), classifica-se amostras com leucocitose em >10.000 leucócitos/ μL .

A trombocitopenia apresentou-se em 50 a 65% dos animais avaliados, em todo o período experimental. Quanto ao agregado plaquetário, houve diminuição com o tempo de avaliação, com uma representação da ordem de 60% dos animais, no início (dia 0), para 35%, no final do período (28 dias). Os desvios à esquerda foram observados em 5% dos animais, tanto no primeiro, quanto no último dia do período experimental.

Observou-se nos animais tratados um decréscimo da leucocitose por neutrofilia durante os 28 dias de tratamento, com início no dia zero de 60% de ocorrência e final dos 28 dias 50% de ocorrência. Enquanto o parâmetro leucocitose por linfocitose persistiu igual nos tempos, com início no dia zero de 46% e no final dos 28 dias 47% de ocorrência. Já a leucocitose por monocitose não se teve ocorrência nos animais tratados ao longo dos 28 dias de tratamento.

No caso dos animais controle observou-se aumento da leucocitose por neutrofilia, com parâmetros de início ao dia zero de 33% de ocorrências e no final dos 28 dias 50% de ocorrência. O parâmetro leucocitose por linfocitose persistiu igual nos tempos, com início no dia zero de 53% e no final dos 28 dias 53% de ocorrência. E o parâmetro leucocitose por monocitose apareceu aos 28 dias de tratamento.

Com isso observa-se que o parâmetro leucocitose por neutrofilia aumentou a ocorrência durante o período de tratamento nos animais controle, indicando que a CoQ10 provavelmente influencia no sistema imune, já que esse

parâmetro indica provavelmente um quadro de inflamação (WITTEWER, 2012). Os animais tratados tiveram uma diminuição na ocorrência desse parâmetro.

Enquanto, o parâmetro leucocitose por linfocitose não sofreu diferença entre os tratamentos, já que este parâmetro está ligado a quadros de estresse ou devido à ação de hormônios glicocorticoides. Sobre o parâmetro leucocitose por monocitose, ocorreu nos animais controle, confirmando quadros inflamatórios agudos e/ou crônicos (THRALL, 2007 e TAYLOR, 2010).

No caso da leucocitose sem prevalência nos animais controle, observou-se 100% de ocorrência somente no tempo zero, enquanto os animais tratados, observou-se 100% de ocorrência em 7, 14 e 28 dias de tratamento.

A trombocitopenia nos animais tratados apresentou uma diminuição da ocorrência de 50% no tempo zero para 45% nos 28 dias de tratamento, enquanto nos animais controle teve um aumento da ocorrência de 50% no tempo zero para 55% aos 28 dias de tratamento. Quanto ao agregado plaquetário, houve diminuição da ocorrência nos animais tratados de 70% nos 7 dias para 42% nos 28 dias de tratamento, enquanto nos animais do grupo controle, observou-se um aumento das ocorrências de 30% nos 7 dias para 58% nos 28 dias de tratamento.

Os desvios à esquerda (leucócitos jovens) foram observados somente nos animais controle nos tempos zero e 28 dias de tratamento, indicando que provavelmente ocorreu algum estímulo inflamatório que contribuiu para a leucocitose registrada.

A suplementação com ativos pode influenciar parâmetros do leucograma de novilhas leiteiras da raça Holandesa, no período pré-parto. Os animais que receberam a suplementação têm melhor resposta evidenciadas pelos parâmetros do leucograma.

Observa-se, de maneira geral, uma leucocitose por neutrofilia, o que indica provavelmente quadros de inflamações nos animais experimentais. Verifica-se uma diminuição ao longo do período experimental, foi estatisticamente significativo este parâmetro nos animais tratados em relação ao grupo controle.

A leucocitose por linfocitose se manteve estável nos dois tratamentos, mas esse parâmetro está provavelmente relacionado a quadros de estresse ou a presença da ação de hormônios glicocorticoides.

O parâmetro de leucocitose por monocitose só apareceu nos animais não tratados e nos últimos dias de pré-parto, o que confirma o quadro de inflamação aguda e/ou crônica.

6 CONCLUSÃO

A suplementação com ativos em novilhas no período de transição (fase pré-parto) proporciona alterações no leucograma, sugerindo influência positiva na função imunológica, reduzindo a produção de células sanguíneas relacionadas à resposta inflamatória, uma vez que o período de transição representa estresse, adaptações físicas e hormonais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULHASAN, M. K., LI, Q., DAI, J., ABU-SOUD, H. M., PUSCHECK, E. E., & RAPPOLEE, D. A. CoQ10 increases mitochondrial mass and polarization, ATP and Oct4 potency levels, and bovine oocyte MII during IV M while decreasing AMPK activity and oocyte death. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v.34, n.12, p.1595–1607, 2017.

ADENKOLA AY, OLUREMI OI. Erythrocyte osmotic fragility score in rabbits fed hibiscus sabdariffa in graded level. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, v. 29, p.113–117, 2014.

ALHUSSIEN, M.N.; DANG, A.K. Interaction between stress hormones and phagocytic cells and its effect on the health status of dairy cows: A review. **Veterinary World**, v.13, n.9, 1837-1848, 2020.

ALVARENGA, E.A.; MOREIRA, G.H.F.A.; FACURY FILHO, E.J.; LEME, F.O.P et al. Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.3, 2015.

ARROYO, A.; KAGAN, V.E.; TYURIN, V.A.; BURGESS, J.R.; DE CABO, R. NADH and NADPH- Dependent reduction of coenzyme Q at the plasma membrane. **Antioxidants & Redox Signaling**. v.2, p. 251-262, 2000

BAE, G. S., CHOI, A., YEO, J. M., KIM, J. N., SONG, J., KIM, E. J., & CHANG, M. B. Supplementing Rhodobacter sphaeroides in the diet of lactating Holstein cows may naturally produce coenzyme Q10-enriched milk. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 31, n.1, p.40-46, 2018

BALDACIM, V.A.P. **Metabolismo e resposta imune celular no sangue de vacas Holandesas no período de transição**. Dissertação. Universidade de São Paulo – USP. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Pirassununga, 2014.

BALDI, A.; SAVOINI, G.; PINOTTI, L.; MONFARDINI, E.; CHELI, F.; DELLORTO, V. Effects of vitamin E and different energy sources on vitamin E status, milk quality and reproduction in transition cows. **Journal of Veterinary Medicine (Ser. A)**. v.47, p.599-608, 2000.

BANK, G.; KAGAN, D.; MADHAVI, D. Coenzyme Q10: Clinical Update and Bioavailability. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v.16, p.129-137, 2011.

BEN-MEIR A, BURSTEIN E, BORREGO-ALVAREZ A, CHONG J, WONG E, YAVORSKA T, NARANIAN T, CHI M, WANG Y, BENTOV Y, ALEXIS J, MERIANO J, SUNG HK, GASSER DL, MOLEY KH, HEKIMI S, CASPER RF, JURISICOVA A. Coenzyme Q10 restores oocyte mitochondrial function and fertility during reproductive aging. **Aging Cell**, v.14, n.5, p.887-95, 2015.

BENTINGER, M., DALLER, G. (2010). Coenzyme Q - Biosynthesis and functions. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.396, pp. 74-79.

BENTOV Y, HANNAM T, JURISICOVA A, ESFANDIARI N, CASPER RF. Coenzyme Q10 Supplementation and Oocyte Aneuploidy in Women Undergoing IVF-ICSI Treatment. **Clinical Medicine Insights: Reproductive Health**. v.8, p.31-36, 2014.

BOBE, G., YOUNG, J.W., BEITZ, D.C. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.3105-3124, 2004.

BOSSAERT, P. **The role of insulin in the energy conflict between milk production and ovarian activity during the transition period of high-yielding dairy cows**. 2010. 266F. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Ghent, Guent.

BRAUN, B.; CLARKSON, P. M.; FREEDSON, P. S.; KOHL, R. L. Effects of coenzyme Q10 supplementation on exercise performance, VO₂max, and lipid peroxidation in trained cyclists. **International Journal of Sport Nutrition**, v. 1, p. 353–365, 1991.

BREUKINK, H.J, WENSING, T., Pathophysiology of the liver in high yielding dairy cows and its consequences for health and production. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 52, p.66-72, 1997.

BUCKLEY DJ, MORRISSEY PA and GRAY JI. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. **Journal of Animal Science**, v.73, p. 3122-3130, 1995.

CAMPOS R., DE ALMEIDA LACERDA L., TERRA S.R.; GONZÁLEZ F.H.D. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, n.45, v.5, p.354- 361, 2008.

CARDOSO, F.C.; KALSCHEUR, K.F.; DRACKLEY, J.K. Symposium review: Nutrition strategies for improved health, production, and fertility during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v.103, n. 6, p.5684-5693, 2020.

DAHL, G.E.; TAO, S.; LAPORTA, J. Heat Stress Impacts Immune Status in Cows Across the Life Cycle. **Frontiers in Veterinary Science**, v.7, p. 116, 2020.

DANTAS, J. A.; PONTES, C.A.; LEITE, G.A.; FERNANDES, P. L. DE O.; FREITAS, W. E. DE S.; CARVALHO, C.A. C. de. Biossíntese de vitaminas em frutos e hortaliças. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 8, n. 4, p. 22-37, 2012.

DE DIEUNDIKUBWIMANA J, LEE BH. Enhanced production techniques, properties and uses of coenzyme Q10. **Biotechnology Letters**, v. 36, n.10, p.1917-26, 2014.

DELLAPENNA, D.; LAST, R. L. Progress in the dissection and manipulation of plant vitamin E biosynthesis. **Physiology Plantarum**, v.126, n. 3, p. 356– 368, 2006.

DEVASAGAYAM TP, TILAK JC, TILAK KK, BOLOOR KS, SAROJ SG, LELE RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. **Journal of the Association of Physicians of India**, v.9, p.52, 2004.

DILLÓN, L.B.S. **Prevención de edema de ubre en vacas pre y post parto conco-enzima Q 10**. Tese. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de CienciasPecuarias. Ecuador, 2006.

DOHOO, I.R., MARTIN, S.W., Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and disease. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 48, p.1-5, 1984.

DRACKLEY J. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier: **Journal of Dairy Science**, v. 82, p 2259-2273, 1999.

DRACKLEYJ.K., DANN H.M., DOUGLAS G.N., GURETZKYN.A.J., LITHERLAND N.B., UNDERWOOD J.P. &LOORJ.L. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. **Italian Journal of Animal Science**, v.4, p.323-344, 2005.

DRAGAN AD, DAVIDOVI A, DRAGO B, NENAD T. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. **CroaticaChemica Acta**, v. 76, p.55–61, 2003.

DUFFIELD, T. F., LEBLANC. **Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period**. Proc. Southwest Nutrition and Management Conference. p. 106-114. 2009.

DUFFIELD, T., BAGG, R., DESCOTEAUX, L., BOUCHARD, E., BRODEUR, M., DUTREMBLAY, D., KEEFE, G., LEBLANC, S., DICK, P., Prepartum monensin

for the reduction of energy associated disease in postpartum dairy cows. **Journal Dairy Science**. v.85, p.397-405, 2002.

ELWAN, H., ABDELHAKEM, M., EL-SHAFEI, S., EL-RAHMAN, A. A, ISMAIL, Z., ZANOUNY, A., SHAKER, E., AL-REJAIE, S.S, MOHANY, M., ELNESR, S. Efficacy of Dietary Supplementation with L on Performance, Hematology, Blood Biochemistry and Hepatic Antioxidant Status of Growing Rabbits. 12 de novembro de 2020. <https://www.physiciansweekly.com/efficacy-of-dietary-supplementation-with-l-on-performance-hematology-blood-biochemistry-and-hepatic-antioxidant-status-of-growing-rabbits>

FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E.; LUCAS, F.A. et al. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, p.253-262, 1998.

FALK, J.; MUNNE´-BOSCH, S. Tocochromanolfuctions in plants: antioxidationandbeyond. **Journalof experimental botany**, v.61, p.1549–1566, 2010.

FELTRE, K.; COSTA, R.L.; POMBO, G.V.; PALAGI, M.A.F.; GOBESSO, A.A.O. **Suplementação de equinos com coenzima Q10**. Departamento de Nutrição e Produção Animal – FMVZ/USP. 2014. Disponível em <http://posvnp.org/simposios/2014/resumos/AlexandreAugustodeOliveiraGobesso.pdf>

FERRARI, C.K.B. Functional foods, herbs and nutraceuticals: towards biochemical mechanisms of healthy aging. **Biogerontology**, v.5, n.5, p.275-279, 2004.

FERREIRA, M.J.V. **Bezerras da raça Holandesa suplementadas com Coenzima Q10: Desempenho e Perfil Metabólico**. Dissertação. Mestrado Profissional em Produção Animal. Universidade Camilo Castelo Branco. Descalvado, 2010.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v.119, p.355-364, 2003.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1260-1268, 1997.

GOFF, J.P. Mastitis and retained placenta – relationship to bovine immunology and nutrition. **Advanced Dairy Science and Technology**, v.11, p.185-192, 1999.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **Brasilian Journal of Pharmacology**, v.142, n.2, p.231-255, 2004.

HERDT, T. H. Fuel homeostasis in the ruminant. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 4, p. 213-232, 1988.

HORST, R. L.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A.; BUXTON, D. R. Strategies for Preventing Milk Fever in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1269-1280. 1997.

INGVARTSEN, K. L.; DEWHURST, R. J.; FRIGGENS, N. C. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. **Livestock Production Science**, v. 83, n. 2-3, p. 277-308, 2003.

INGVARTSEN, K.L.; ANDERSEN, J.B. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. **Journal Dairy Science**, n.83, p.1573-1597, 2000.

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

JORDAN, E. R., AND R. H. FOURDRAINE. Management for herds to produce 30,000 pounds of milk: characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. **Journal Dairy Science**. v.76, p.3247-3258, 1993.

KEHRLI, M.E. JR., NONNECKE, B.J., ROTH, J.A., Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, p.215-220, 1989.

KIMURA, K.; GOFF, J. P.; KEHRLI JR., M. E.; HARP, J. A. Phenotype analysis of peripheral blood mononuclear cells in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 315-319, 1999.

KOURY, J.C.; DONANGELO, C.M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, v.16, n.4, p.433-441, 2003.

KREMER, W.D.J. et al. Severity of experimental Escherichia coli mastitis in ketonemic and nonketonemic dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 76, n. 11, p. 3428-3436, 1993.

KUMAR, A. et al. Role oh coenzyme Q10 (CoQ10) in cardiac disease, hypertension and Meniere-like syndrome. **Pharmacology & Therapeutics**, v.124. n.3, p.259-268, 2009

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**, 2. ed., São Paulo: Sarvier 1995.

LITTARRU GP, TIANO L. Clinical aspects of coenzyme Q 10: an update. **Nutrition**, v. 26, p.250–254, 2010.

LUCESOLI, F.; FRAGA, C. Evaluación del estrés oxidativo. **Antioxidant y Calidad de Vida**, v.1, n.4, p.8-13, 1995.

MACHADO, C.S. **Possíveis efeitos citoprotetores do antioxidante da dieta coenzima Q₁₀ em modelo de células neuronais**. Universidade São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. 2011.

MEIRELLES, J. P.; FENSTERSEIFER, S. R.; PEREIRA, R. A.; SCHWEGLER E.; RIBEIRO, C.L. G.; BIANCHI I.; DEL PINO, F. A. B.; CORRÊA, M. N. **Padrões hematológicos de vacas leiteiras no período de transição**. Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária. Disponível em: www.ufpel.edu.br/nupeec. Acesso: 22 jun 2020.

MELDRUM DR, CASPER RF, DIEZ-JUAN A, SIMON C, DOMAR AD, FRYDMAN R Aging and then environment affect gamete and embryo potential: can we intervene? **FertilSteril**, v.105, n.3, p.548-559, 2016.

MÉNDEZ FILHO, J.D.; RODRÍGUEZ, H.G.R. Sobre los beneficios de los radicales libres. **Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social - IMSS**v.35, n.4, p.309-313, 1997.

MIZUNO, M.; QUISTORFF, B.; THEORELL, H.; THEORELL, M.; CHANCE, B. Effects of oral supplementation of coenzyme Q10 on ³¹P-NMR detected skeletal muscle energy metabolism in middle-aged post-polio subjects and normal volunteers. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 18, p. 291-298, 1997.

MOTA, M.F.; PINTO NETO, A.; SANTOS, G.T.; FONSECA, J.F.; CIFFONI, E.M.G. Período de transição na vaca leiteira. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.9, n.1, p. 77-81, 2006.

MULLIGAN, F. J. & Doherty, M. L. Production diseases of the transition cow. **Veterinary Journal**, v. 176, p. 3–9, 2008.

NAYAN RB, PANKAJ BN, ACHARYA RN, SHUKIAVJ. In vitro antioxidant activity of hydro-alcoholic extract from the fruit pulp of *Cassia fistula* Linn. Ayu. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, n.34, p.209–214, 2013.

NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th. Ed., National Academy Press: Washington D.C., 2001. 381p.

ORHUE ES, IDU M, ATAMAN JE, EBITE LE. Haematological and histopathological studies of *Jatropha tanjorensis* leaves in Rabbits. **Asian Journal of Biological Sciences**, v.1, p.84–89, 2008.

POLITIS, I.; BIZELIS, I.; TSIARAS, A.; BALDI, A. Effect of vitamin E supplementation on neutrophil function, milk composition and plasmin activity in dairy cows in a commercial herd. **Journal of Dairy Research**, v.71, p.273-278, 2004.

QUINN, P.J. FABISIAZ, K.J.P.; KAGAN, V.E. Expansion of antioxidante function of vitamin e by coenzyme Q. **Biofactors**, v.9, p. 149-154, 1999.

RABELO, E.; CAMPOS, B.C. Fisiologia do período de transição. Universidade Federal de Goiás. 2010. Disponível em <https://revistas.ufg.emnuvens.com.br/vet/article/download/7921/5782>.

SANTOS, M.A.M. **Ubiquinona e Tocoferol**. In: Notas de estudo. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Instituto Química. Natal-RN, 2012. Disponível em: <http://ANwww.qme.ufsc.br/qmcweb/artigos/vitaminas/vitaminas_frame.html> Acesso em: 28/06/20.

SANTOS, P.; RORAIMA, M. Observaciones hematológicas de vacas gestantes de lapredominancia racial Carora y Holstein. **Mundo Pecuário**, v.4, n. 3, p.169-197, 2008.

SIES H, STAHL W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.62, n.6, p.1315-21, 1995.

SILVA, L.A.F. et al. Causas de descarte de vacas da raça holandesa confinadas em uma população de 2083 bovinos (2000-2003). **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.383-389, 2008.

STAHL W, SIES H. **Carotenoids: occurrence, biochemical activities, and bioavailability**. In: Packer L, Hiramatsu M, Yoshikawa T. Antioxidant food supplements in human health. San Diego: Academic Press; 1999. p.183-98.

STOJKOVIC M, WESTESEN K, ZAKHARTCHENKO V, STOJKOVIC P, BOXHAMMER K, WOLF E. Coenzyme Q(10) in submicron-sized dispersion improves development, hatching, cell proliferation, and adenosine triphosphate content of in vitro-produced bovine embryos. **Biology of Reproduction**, v.61, n.2, p.541-547, 1999.

SURIYASATHAPORN, W., HEUR, C., NORDHUIZEN-STASSEN, E.N., SCHUKKEN, Y.H., Hyperketonemia and their impairment of udder defense: A review. **Veterinary Research**, v.31, p.397-412, 2000.

TAYLOR J.A. **Leucocyte responses in ruminants**. In: FELDAN, BF; ZINKL, JG; JAIN, NC. Schalm's Veterinary Hematology. 6. th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2010.

THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª ed., Ed Roca, 2007, 582p.

VAGHARI, H.; VAGHARI, R.; JAFARIZADEH-MALMIRI, H.; BERENJIAN, A. Coenzima Q10 e suas fontes eficazes. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v.12, n.4, p.214–219, 2016.

VAZQUEZ-ANON, M., S. J. BERTICS, M. LUCK, AND R. R. GRUMMER. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites. **Journal Dairy Science**. v.77, p.1521-1528, 1994.

WESTON, S. B.; ZHOU, S.; WEATHERB, R. P.; ROBSON, S. J. Does exogenous coenzyme Q10 affect aerobic capacity in endurance athletes? **International Journal of Sport Nutrition**, v. 7, p. 197–206, 1997.

WITTEWER, F. **Patología Clínica Veterinaria**. UACH: Valdivia. 200p

YESILBAG, D.; BIRICIK, H.; CETIN, I.; KARA, C.; MERAL, Y.; CENGIZ, S.S.; ORMAN, A.; UDUM, D. Effects of juniper essential oil on growth performance, some rumen protozoa, rumen fermentation and antioxidant blood enzyme parameters of growing Saanen kids. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.101, p.67-76, 2017.

ZAMBRANO, W.J.; MARQUES JR., A.P. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras do pré-parto ao quinto mês da lactação. **Zootecnia Tropical**, v.27, n.4, p.475-488, 2009.

ZERBE, H., SCHNEIDER, N., LEIBOLD, W., WENSING, T., KRUIP, T.A., SCHUBERTH, H.J., Altered functional and immune phenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. **Theriogenology**, v.54, p.771-786, 2000.

ZHANG Y, ABERG F, APPELKVIST EL, DALLNER G, ERNSTER L Up take of dietary coenzyme Q supplements limited in rats. **Journal of Nutrition**, v.125, n.3, p.446-53, 1995.

ANEXO A – PROTOCOLO CEUA-UB



UNIVERSIDADE
BRASIL

RESOLUÇÃO - PARECER
COMISSÃO DE ÉTICA PARA USO DE ANIMAIS –
CEUA

PROTOCOLO Nº 2000093

RESPONSÁVEL

Nome completo	Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia
Instituição	UNIVERSIDADE BRASIL
Unidade	Descalvado - SP
Departamento / Disciplina	Nutrição Animal- Mestrado Profissional em Produção Animal
Telefone	(19) 3593-8510
E-mail	liandramab@gmail.com

TÍTULO DO PROJETO

*VACAS DA RAÇA HOLANDESA EM ESTRESSE FISIOLÓGICO, SUPLEMENTADAS
COM COQ10*

RESOLUÇÃO DA COMISSÃO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, na sua reunião de 10/12/2020, APROVOU os procedimentos éticos apresentados neste Protocolo.

Assinatura – coordenadora da comissão
Cássia Maria Barroso Orlandi