

EFEITO DOS DIFERENTES PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM DISTINTOS ESCORES DE CLAUDICAÇÃO

Sergio Henrique Mioso Cunha¹; Adelina Rodrigues Aires²; José Francisco Xavier da Rocha³

RESUMO

Na pecuária leiteira, os animais destinados à produção estão sujeitos a significativas alterações metabólicas, que comprometem seu bem-estar e, por conseguinte, afetam sua capacidade de produção e saúde, chegando mesmo a levá-los ao descarte. Tais alterações podem resultar na ocorrência de lesões podais, entre as quais a laminite é a principal causa de claudicação na espécie bovina. Sinal clínico de ocorrência de doenças no casco, a claudicação tem efeitos diretos na produção de leite, afeta os índices reprodutivos e zootécnicos, e gera extensas perdas econômicas. Levando-se em consideração que a utilização de alguns microminerais, entre eles o zinco, podem atuar benéficamente na formação da sola do casco em bovinos enfermos, tornando-os menos susceptíveis a essas lesões, emerge o interesse de questionar a relação entre os distintos graus de claudicação de vacas leiteiras, e os respectivos perfis oxidativos desses animais. O objetivo deste estudo é avaliar os parâmetros de estresse oxidativo em diferentes escores de claudicação de vacas leiteiras, que apresentam laminite. Tomam-se como amostras 56 vacas holandesas, sendo 28 de uma fazenda de Cachoeira do Sul/RS, e 28 de uma fazenda de Santo Augusto/RS. Desses animais foram coletadas amostras de sangue para avaliar os teores de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx), a contagem total de leucócitos, os teores plasmáticos de fibrinogênio. Os animais foram selecionados e estratificados de acordo com o grau de claudicação. Os achados do estudo demonstram que não houve diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre os grupos estratificados (G1, G2, G3 e G4) com relação ao malondialdeído (MDA), porém apresentando uma atividade no G3, ainda que discreta, SOD, fibrinogênio, e leucócitos totais.

Palavras-chave: Vacas leiteiras. Estresse oxidativo. Claudicação.

¹ Médico Veterinário e Docente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário FAI – UCEFF; autor para correspondência: sergio@uceff.edu.br

² Médica Veterinária e Docente do curso de Medicina Veterinária UNOESC

³ Médico Veterinário e Assessor Técnico da empresa MIGPLUS Agroindustrial

ABSTRACT

In dairy farming, animals for the production are subject to significant metabolic changes that compromise their well-being and, therefore, affect its production capacity and health, and even take them to discard. Such changes may result in the occurrence of foot lesions, including laminitis is the major cause of lameness in cattle. Clinical sign of disease occurrence in the hoof, the lameness has direct effects on milk production, affects the reproductive and productive indexes, and generates large economic losses. Taking into consideration that the use of some trace minerals, including zinc, can beneficially in the formation of the sole of the hoof in sick cattle, making them less susceptible to these injuries, the interest emerges to question the relationship between different degrees of lameness in dairy cows, and their oxidative profiles of these animals. The aim of this study is to evaluate the parameters of oxidative stress in different scores of lameness in dairy cows that have laminitis. Are taken as samples 56 Holstein cows, 28 of a farm of Cachoeira do Sul/RS, and 28 of a farm of Santo Augusto/RS. These animals, blood samples were collected to measure the levels of thiobarbituric acid reactive species (TBARS), the activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx), the total leukocyte count, plasma fibrinogen levels. The animals were selected and stratified according to lameness. The study findings show that there was no statistically significant difference ($P < 0,05$) between the laminated groups (G1, G2, G3 and G4) with respect to malondialdehyde (MDA), but presenting an activity in G3, albeit discreet, SOD, fibrinogen, and total leukocytes.

Keywords: Dairy cows. Oxidative stress. Claudication.

1 INTRODUÇÃO

A intensificação do sistema produtivo, e o direcionamento da atividade pecuária, focado na produção, acabam por resultar em significativas alterações metabólicas em animais de alta produtividade. No entanto, os programas de produção nem sempre levam em consideração o bem-estar e a saúde dos animais, especialmente no que se refere ao sistema locomotor.

O diagnóstico de bem-estar compreende a observação do comportamento e estado de saúde geral do animal, e de indicadores fisiológicos e sanitários, como análise hematológica, dosagem de hormônios, e análise do escore de locomoção (BOND *et al.*, 2012).

Entre as causas de descarte involuntário em vacas de leite, as lesões podais representam cerca de 10%. Atrelado a isso, a falta de pesquisa acerca de novos tratamentos, e medidas de controle que visem minimizar a ocorrência das afecções

podais, e a intensificação do manejo, aumentam, paulatinamente, os custos de produção em rebanhos leiteiros (FERREIRA *et al.*, 2005; CANESIN, 2008).

A laminite é considerada, atualmente, a principal causa de claudicação na espécie bovina, estimando-se que mais de 60% das lesões podais em bovinos podem estar associadas a ela (MARTINS, 2008).

A claudicações tem efeitos diretos na produção de leite, decorrendo na perda aproximada de 20% da lactação, nos casos mais acentuados, além de exercer efeitos sobre a manifestação do cio e, por conseguinte, na reprodução dos animais (FERREIRA, 2004).

Nos animais, as lesões de cascos podem estar associadas ao estresse oxidativo, já que os danos induzidos pelos radicais livres podem afetar os tecidos, por conta de uma ação mais intensa da peroxidação lipídica, acelerando reações prejudiciais às células (POSSENTI, 2013).

Essas proposições suscitam, dessa forma, o seguinte problema a ser investigado: os diferentes níveis de estresse oxidativo observados na fisiologia de bovinos estão associados aos diferentes graus de claudicação nas vacas leiteiras?

Em vista de tal questionamento, este trabalho tem como objetivo geral avaliar os parâmetros de estresse oxidativo em diferentes escores de claudicação de vacas leiteiras, que apresentam laminite. Considera-se a situação hipotética de que a maior produção de estresse oxidativo está relacionada com os maiores níveis de claudicação em vacas leiteiras.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Laminites e claudicação

As afecções dos cascos constituem-se um sério problema para os bovinos, causando significativa diminuição do desempenho animal e grandes perdas econômicas para os produtores. Bovinos acometidos por problemas nos cascos diminuem significativamente a produção de leite, perdem peso, apresentam dificuldade de demonstrar cio e ainda, possuem a sua longevidade comprometida acarretando prejuízos que corroem a lucratividade e a viabilidade da atividade (DIAS, 2003).

A laminite é um distúrbio na microcirculação digital, que pode resultar em isquemia e degeneração das lâminas dérmicas (CANESIN *et al.*, 2008). Trata-se de uma inflamação das lâminas do cório, que leva a um desequilíbrio da função derme/epiderme, e a uma má-formação da camada córnea (FERREIRA *et al.*, 2005).

Suas causas são de origem multifatorial, e muito comumente associadas a fatores nutricionais (CANESIN *et al.*, 2008; LEAN *et al.*, 2013).

As consequências desse processo incluem hemorragias na sola, talão e linha branca, alterações de cor dos apêndices córneos, lesões da linha branca, úlceras de sola e de pinça, aparecimento de sola dupla, fissuras da muralha e erosões do talão (FERREIRA *et al.*, 2005).

Além das causas nutricionais, outros fatores podem ser associados à sua ocorrência, entre os quais incluem-se as adaptações comportamentais ao estresse térmico, que resultam na redução do tempo em repouso dos animais, e a aumentos nas taxas de ectoparasitas (moscas do chifre), que também diminui o tempo de repouso dos bovinos (COOK *et al.*, 2007).

As laminites são classificadas como aguda e subaguda, quando representam inflamações assépticas do córion, associadas a um ingurgitamento das veias digitais, e a um quadro de dilatação das anastomoses arteriovenosas da extremidade distal do membro. Nesses casos são perceptíveis sinais clínicos, como a claudicação ligeira e desconforto nos casos subagudos, ou a incapacidade de apoiar os dígitos, nos casos de maior gravidade (LEAN *et al.*, 2013).

A laminite subclínica não proporciona sinais clínicos ou alterações evidentes, sendo diagnosticável somente após o aparecimento de seqüelas. Entre estas pode-se relacionar as deficiências na qualidade do tecido córneo, úlceras e hemorragias na sola e linha branca (LEAN *et al.*, 2013).

As laminites atuam como fator causal de claudicação em bovinos (ESPEJO *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2006; COOK *et al.*, 2007). As laminites constituem um problema emergente em rebanhos leiteiros de todo o mundo, e sua ocorrência gera extensas perdas econômicas com a atividade de produção de leite (SOUZA *et al.*, 2006).

Os custos com manqueira por conta de vacas claudicantes aumentam de forma significativa (COOK *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2006), e suas altas taxas de prevalência e incidência, especialmente em animais confinados, requerem medidas eficazes de tratamento e controle para minimizar as perdas da produção de leite, a

queda dos índices reprodutivos e zootécnicos, os descartes prematuros e a morte de animais (MÜLLING *et al.*, 2006; CANESIN *et al.*, 2008).

A claudicação é um sinal clínico da ocorrência de doenças no casco de bovinos, e demonstra que o animal afetado por alguma lesão podal distribui o peso corporal de maneira desigual, entre os quatro membros, causando um desequilíbrio locomotor, e sobrecarga nos membros menos afetados (BOND *et al.*, 2012). Além disso, a claudicação está significativamente associada a outros problemas de saúde do gado leiteiro, como a mastite, que pode decorrer do contato da glândula mamária dos animais com o solo infectado por material fecal (PETERS, 2012; BELL, 2014).

Outros estudos apontam, ainda, a associação entre a claudicação e perdas na função reprodutiva, imunossupressão, metrite e perda da condição corporal (SOUZA *et al.*, 2006).

Nos últimos 50 anos o controle das mastites tem sido alvo de grande preocupação e investimentos, por parte da indústria leiteira, em grande contraste com a atenção dada à prevenção de claudicações (ARCHER *et al.*, 2010; HUXLEY, 2012; BICALHO & OIKONOMOU, 2013). Mesmo em países desenvolvidos, como a Holanda, embora os produtores de leite valorizem o bem-estar dos animais, não o consideram como relacionado à melhoria da saúde podal e à claudicação, motivo pelo qual não tem sido possível eliminar as claudicações das explorações leiteiras.

No entanto, este panorama começa a modificar, pois as claudicações já são largamente reconhecidas como uma das principais preocupações deste setor, em todo o mundo (ITO *et al.*, 2010).

2.2 Estresse oxidativo

As lesões de cascos podem também estar associadas ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo é definido como o excesso de formação e/ou remoção insuficiente de moléculas reativas, tais como: espécies reativas de oxigênio (EROS) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs) (SIES, 1993; TURKO *et al.*, 2001). Durante a redução do oxigênio molecular, EROS são formados e existe a necessidade permanente de inativar estes radicais livres. Os danos induzidos por esses podem afetar muitas moléculas biológicas, incluindo o DNA, o RNA, os lipídios, as proteínas e os carboidratos (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

As EROS incluem radicais livres, como: superóxido (O_2^-), hidroxil (OH), peroxil (RO_2), hidroperoxil (HRO_2^-), assim como espécies não radicalares, que apesar de não possuírem elétrons desemparelhados são muito instáveis, como por exemplo: peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso (HOCL). As ERNS incluem radicais livres que incluem o óxido nítrico (ON) e dióxido de nitrogênio (NO_2^-), assim como espécies não radicalares, por exemplo: peroxinitrito ($ONOO^-$), óxido nitroso (HNO_2) e peroxinitrato (RONOO) (TURKO *et al.*, 2001; EVANS *et al.*, 2002).

A remoção dos radicais livres do organismo ocorre a partir de mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos. O conjunto enzimático inclui a SOD, a catalase, a GPx e a glutathione redutase (GSH). Os processos não enzimáticos incluem a glutathione tripeptídeo e as vitaminas A, C e E (SIES, 1997). A ausência ou falha na defesa antioxidante permite uma ação mais intensa da peroxidação lipídica, podendo acelerar suas reações prejudiciais à célula (POSSENTI, 2013).

O papel do estresse oxidativo no desenvolvimento de condições patológicas crônicas em várias espécies animais tem sido investigada exaustivamente. O estresse oxidativo tem sido envolvido em várias patologias, incluindo condições que são relevantes na produção animal e bem-estar do indivíduo (AL-QUDAH & ISMAIL, 2012).

Assim, doenças comuns, tais como broncopneumonia em bezerros (AL-QUDAH, 2009), intoxicação por nitrito em bovinos (AL-QUDAH, 2010), obstrução das vias respiratórias recorrentes em equinos (DEATON *et al.*, 2005), pneumonia e septicemia em suínos (BASU & ERIKSSON, 2001; LAURITZEN *et al.*, 2003), tem demonstrado alteração do equilíbrio redox.

Estudo conduzido por Al-Qudah & Ismael (2012) indica que o sistema de defesa antioxidante está comprometido, em vacas que apresentam claudicação, evidenciado pelo aumento no plasma da concentração de TBARS, e uma redução significativa nos níveis da glutathione reduzida, além da diminuição da atividade da SOD. Estes resultados fornecem uma forte evidência para o potencial papel do perfil oxidativo na patogênese da claudicação em bovinos. Uma forte associação foi encontrada entre a biotina e seu antioxidante, perfis oxidantes em vacas com distúrbios no casco.

Para proteger-se do estresse oxidativo a célula possui um sistema de defesa que pode atuar em duas linhas. Uma delas atua como detoxificadora do agente antes que ele cause lesão. Esta linha é constituída pelas enzimas GSH, SOD,

catalase, GPx e pela vitamina E (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

As enzimas antioxidantes, catalase e SOD, constituem um importante sistema de defesa no combate as EROS *in vivo*. Apesar de quase todos os organismos possuírem defesa antioxidante e sistemas de reparo que são designados a protegê-los dos danos oxidativos, esses sistemas, muitas vezes, são insuficientes para prevenirem tal dano por si só (MADHAVI & SALUNKHE, 1995), necessitando de substâncias que forcem suas atividades.

A peroxidação lipídica inicia quando as EROS atacam ligações duplas ou triplas de ácidos graxo poliinsaturado alterando sua conformação química inicial, estas reações após iniciarem se autoperpetuam. Como consequência tem alterações na coesão, fluidez, permeabilidade e funções metabólicas das células (CHIHUAILAF *et al.*, 2002).

O fígado é um importante sítio de produção e armazenamento de substâncias antioxidantes, entre elas a glutathione. Alterações hepáticas que levam a uma diminuição da produção ou exaustão da glutathione promovem um aumento da peroxidação lipídica e conseqüentemente dano ao tecido hepático (NICOLA, 1996; VENDEMIALE, 2001; CZUCZEJKO *et al.*, 2003).

Fornecer evidência sólida da relação de causalidade entre o aumento do estresse oxidativo e alterações fisiopatológicas que ocorrem durante o curso das causas mais comuns de claudicação em gado leiteiro, e, portanto, encontrar um regime de tratamento potencial não foi investigado anteriormente (AL-QUDAH & ISMAIL, 2012).

Nesse contexto, o Zn atua diretamente na estrutura da SOD, além de ser um potente estabilizador das membranas celulares, de proteínas estruturais e da sinalização celular (CLARKSON e THOMPSON, 2000). No entanto, apesar do Zn estar atrelado a qualidade do casco, não há na literatura trabalhos relacionados a suplementação com Zn por via parenteral e ocorrência de lesões podais.

As proposições até então encontradas justificam, portanto, a busca por evidências de uma sólida relação de causalidade entre o aumento do estresse oxidativo e as causas mais comuns de claudicação em gado leiteiro, possibilitando, assim, encontrar um regime de tratamento potencial, ainda não investigado (AL-QUDAH & ISMAIL, 2012).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 56 vacas leiteiras da raça Holandesa, sendo 28 de uma propriedade leiteira localizada no município de Santo Augusto, e 28 de uma propriedade localizada em Cachoeira do Sul, ambos no estado do Rio Grande do Sul.

Todos os animais envolvidos no estudo recebem alimentação à base de silagem de milho, concentrado à base de soja e milho, pastagem cultivada de aveia e azevém, e água *ad libitum*.

Os animais foram selecionados e estratificados de acordo com o grau de claudicação, segundo método descrito por Sprecher *et al.* (1997), e avaliados clinicamente para a ocorrência de outras enfermidades. A avaliação do grau de claudicação foi determinada apenas em um momento experimental.

Foi colhida uma amostra de sangue através de venopunção da veia coccígea média, por sistema *vacutainer*, e separada em três tubos, sendo dois heparinizados, e um tubo contendo EDTA, para a realização da contagem total e diferencial de leucócitos, de acordo com a técnica descrita por Schons e Fan (1971). Realizou-se, também, a avaliação do fibrinogênio dos animais, visando descartar processos inflamatórios secundários (JAIN, 1993).

Os testes estatísticos foram realizados com ajuda do software GraphPad Prism, versão 5.01, utilizado também para a confecção dos gráficos. Foi realizado o teste normalidade (Kolmogorov-Smirnov) em todos os dados obtidos, verificando que as variáveis malondialdeído (MDA), glutathione peroxidase, fibrinogênio e leucócitos totais apresentaram distribuição gaussiana, sendo os dados submetidos à ANOVA, seguida do teste de Tukey. Os dados não paramétricos como superóxido dismutase foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis. Também foram realizados testes de correlação de Pearson e Spearman, para dados paramétricos e não-paramétricos, respectivamente. Os dados foram considerados significativamente diferentes, com uma probabilidade (*P*) menor que 5%.

O presente trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com animais nº: 004/2014.

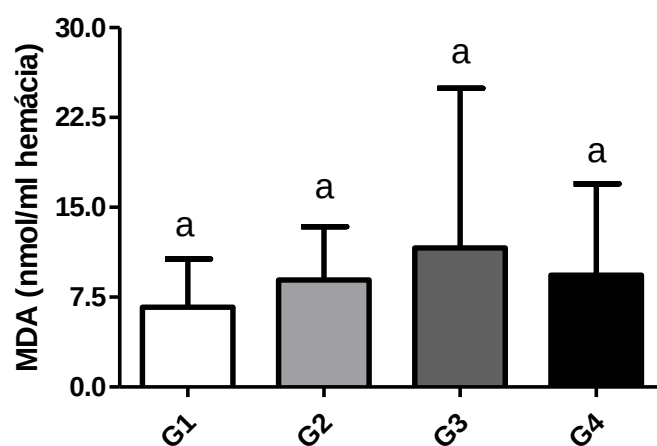
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em cavalos atletas, o estresse oxidativo, decorrente de uma atividade física, leva a peroxidação lipídica de membranas celulares, além de danos protéicos e em ácidos nucleicos, e um dos produtos finais desta reação é o malondialdeído (MDA), a glutathiona reduzida (GSH), considerada um antioxidante multifuncional, está presente no plasma e principalmente nas hemácias, e tem importância pelo fato de ser um dos índices da capacidade total antioxidante do corpo após um estresse oxidativo.

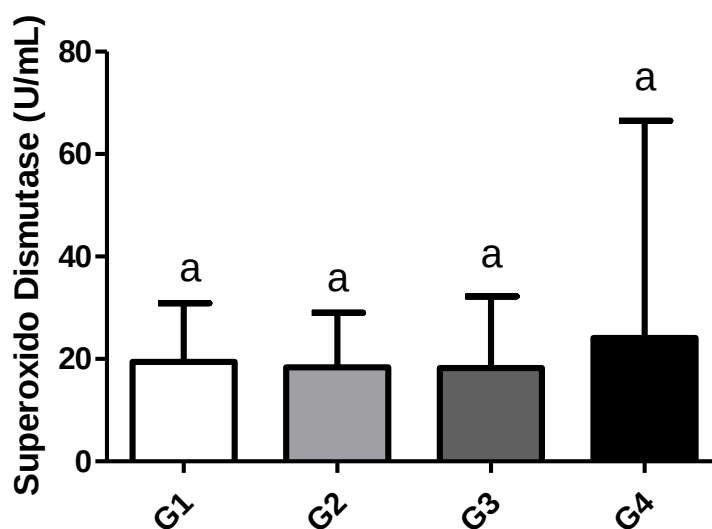
Observou-se que o MDA teve um valor significativamente menor em animais sem treinamento físico, mas houve uma aparente tendência a maiores valores em animais com seis meses de treinamento, no qual o sistema antioxidante está em fase de adaptação ao treinamento físico constante e suas consequentes injúrias, concluindo que a atividade física acarreta danos celulares frente ao estresse oxidativo, mas o sistema antioxidante tem papel fundamental nesta homeostasia observando uma adaptação às injúrias causadas pelos radicais livres (FERNANDES *et al.*, 2012), corroborando ao encontrado neste estudo, onde na comparação entre grupos de vacas apresentando algum grau de claudicação, somente foi observada diferença significativa na atividade da glutathiona peroxidase dos grupos G3 e G4, comparada aos demais grupos.

Nesses grupos (G3 e G4) há um visível aumento na glutathiona peroxidase, o que poderia indicar maior atividade enzimática da glutathiona peroxidase na conversão do peróxido de hidrogênio em água, e, de forma indireta, mudanças nas defesas antioxidantes devido a um aumento na produção de radicais livres.

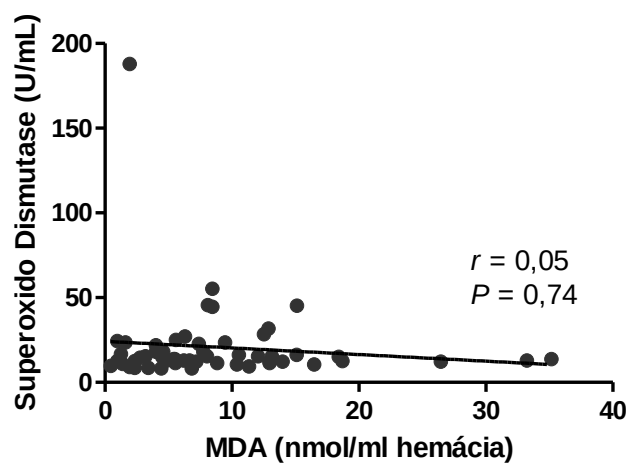
Entretanto, não foram constatadas correlações entre as variáveis testadas, uma vez que não foi observada diferença significativa entre as mesmas (P se apresentou maior do que 0,05, além dos valores de r serem próximos de 0,00). Assim, em nenhum caso se observou relação positiva ou negativa entre os dados, levando a acreditar em uma adaptação do sistema antioxidante as lesões frequentes.



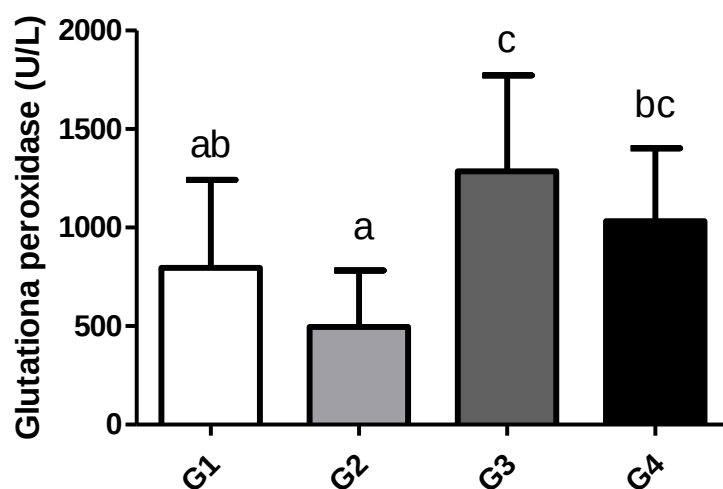
Dados expressos em Medias (colunas). ANOVA, Teste de Tukey
Letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).



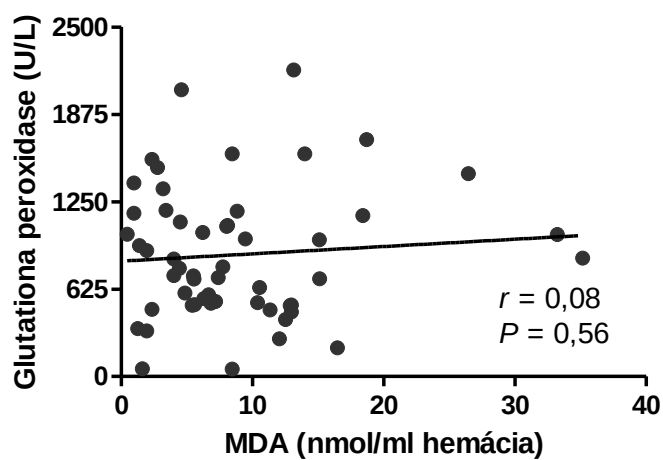
Dados expressos em Medias (colunas). Kruskal-Wallis, Teste de Dunn
Letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).



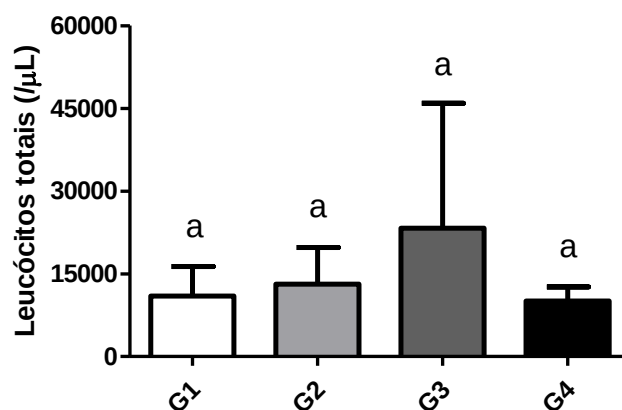
Dados expressos em dispersão. Teste de correlação de Spearman.



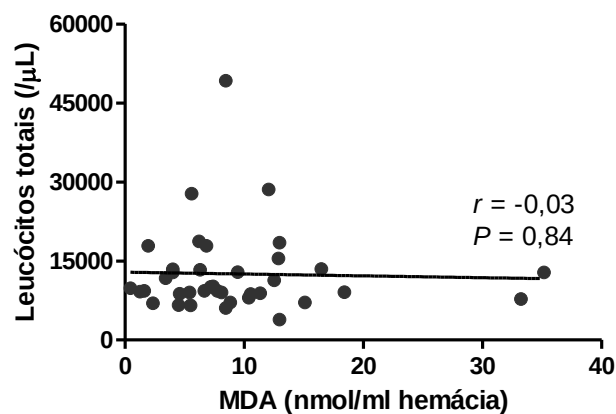
Dados expressos em Medias (colunas). ANOVA, Teste de Tukey
Letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).



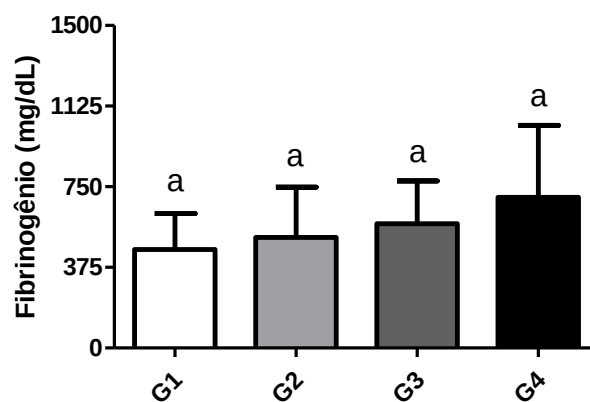
Dados expressos em dispersão. Teste de correlação de Pearson.



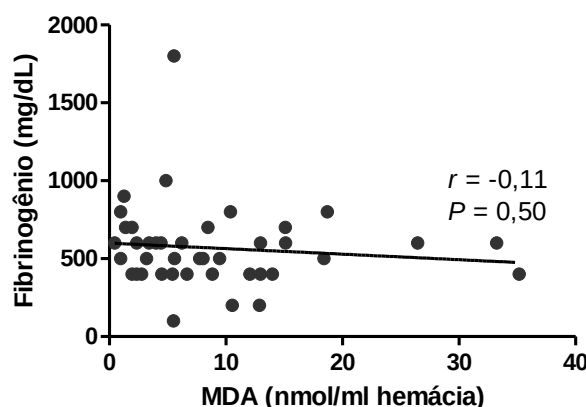
Dados expressos em Medias (colunas). ANOVA, Teste de Tukey
Letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).



Dados expressos em dispersão. Teste de correlação de Pearson.



Dados expressos em Medias (colunas). ANOVA, Teste de Tukey
Letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).



Dados expressos em dispersão. Teste de correlação de Pearson.

CONCLUSÃO

As concentrações de MDA e GPx foram ligeiramente maiores em animais apresentando um escore de claudicação mais evidente (G3 e G4), porém MDA não representa ser um biomarcador específico e GPx mostra-se com maior resposta quando existe um estímulo de proteção antioxidante concluindo que a atividade física acarreta danos celulares frente ao estresse oxidativo, mas o sistema antioxidante tem papel fundamental nesta homeostasia observando uma adaptação às injúrias causadas pelos radicais livres.

REFERÊNCIAS

- AL-QUDAH, K.M.; ISMAIL, Z.B. The relationship between serum biotin and oxidant/antioxidant activities in bovine lameness. **Research in Veterinary Science**. v.92, p.138-141, 2012.
- AL-QUDAH, K.M.; RASHDAN, Y. Role of dexamethasone in reducing pain after endoscopic sinus surgery in adults: a double-blind prospective randomized trial. **Ann otol rhinol laryngol**, v.119, p.266-269, 2010.
- AL-QUDAH, K.M. Oxidative stress stress in calves with acute chronic bronchopneumonia. **Revue de Medicine Veterinaire**, v.160, n.5, p.231-236, 2009.
- ARCHER, S. C.; GREEN, M. J.; HUXLEY, J. N. Association between milk yield and serial locomotion score assessments in UK dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.9, p.4045–4053, 2010.

BASU, S., ERIKSSON, M. Retinol palmitate counteracts oxidative injury during experimental septic shock. **Annals of the Academy of Medicine**, v. 30, p. 265–269, 2001.

BELL, N. Lameness Control in Dairy Herds. Part 8. Animal Health Skills. [on line]. Disponível em: <<http://www.nadis.org.uk/bulletins/lameness-control-in-dairy-herds/part-8-cow-tracks.aspx?altTemplate=PDF>>. Acesso em: 14 set. 2014.

BIANCHI, M.; ANTUNES, L. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BICALHO, R.C.; OIKONOMOU, G. Control and prevention of lameness associated with claw lesions in dairy cows. **Livestock Science**, v.156, n.1-3, 96-105, 2013.

CANESIN, R.; ROCHA, J.R.; SANTOS, L.M.; PICININ, A. Laminite: prejuízos econômicos na bovinocultura leiteira. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, n.10, p.1-7, 2008. [on line]. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/KIUepJ2oHRSJm8w_2013-5-29-10-6-22.pdf>. Acesso em: 21 set 2014.

CLARKSON, P. M., THOMPSON, H. S.; Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **American Journal Clinica Nutrition**. v. 72, p.637-47, 2000.

COOK, N.B.; MENTINK, R.L.; BURGI, K. The effect of heat stress and lameness on time budgets of lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 90, n.4, p.1674-82, 2007.

COOK, N.B. Casco: doenças, custos, fatores de risco e prevenção. Novos enfoques na produção de bovinos. Conapec, Uberlândia, 2002. p.8-14.

CZUCZEJKO, J.; ZACHARA, B.A.; STAULBACH, E.; HALOTA, W.; KEDZIORA, J. Selenium, glutathione and glutathione peroxidases in blood of patients with chronic liver diseases. *Acta Biochim Pol*, v.50, n.4, p.1147-54, 2003.

CHIHUAILAF, R.H.; CONTRERAS, P.A.; WINTER, F.G. Pathogenesis of oxidative stress: Consequences and evaluatuion in animal health. **Vet. Mex.**, v.33, n.3. p.265-283, 2002.

DEATON, C.M.; MARLIN, D.J.; ROBERTS, C.A; HARRIS, P.A. Antioxidant and inflammatory responses of healthy horses and horses affected by recurrent airway obstruction to inhaled ozone. **Equine Veterinary Journal**, v.37, n.3, p.243-249, 2005.

DIAS, R. O. S. O efeito do período de transição sobre a ocorrência de lesões no casco. 2003. Radares Técnicos. MilkPoint. [on line]. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/medicina-da-producao/o-efeito-do-periodo-de-transicao-sobre-a-ocorrencia-de-lesoes-no-casco-37073n.aspx>>. Acesso em: 14 set. 2013.

ESPEJO, L.A.; ENDRES, M.I.; SALFER, J.A. Prevalence of Lameness in High-Producing Holstein Cows Housed in Freestall Barns in Minnesota. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.8, p.3052–3058, 2006.

EVANS, J.L.; GOLDFINE, I.D.; MADDUX, B.A.; GRODSKY, G.M. Oxydative stress and stress-activated signalling pathways: a unifying hypotesis of type 2 diabetes. **Endocrinology Reviews**, v.23, p.599-622, 2002.

FERNANDES, W.R.; RODRIGUES, J.A.; MICHIMA, L.E.; SIQUEIRA, R.F. Avaliação do estresse oxidativo em cavalos de trote através da mensuração de malondialdeído (MDA) e glutatona reduzida (GSH) eritrocitária. **Pesq. Vet. Bras.**, v.32, n.7, p. 677-680, 2012.

FERREIRA, A. Custo e resultados do tratamento de seqüelas de laminite bovina: relato de 112 casos em vacas em lactação no sistema free-stall. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.56, n.5, p.589-594, 2004.

FERREIRA, A.L.A., MATSUBARA, L.S. **Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo**. Rev. Ass. Med. Brasil, v.43(1): 61-68, 1997.

FERREIRA, P. M.; CARVALHO, A. U.; FILHO, E. J. F.; FERREIRA, M. G.; FERREIRA, R. G. Afecções do sistema locomotor de bovinos. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA, 2, 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Associação de Buiatria de Minas Gerais, 24p, 2005.

FERREIRA, M.P. Custos e resultados do tratamento das sequelas de laminate bovina: relato de 112 casos em vacas de lactação no sistema free-stall. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v,56, p.589-594, 2004.

HUXLEY, J. N. Lameness in cattle: an ongoing concern. **The Veterinary journal**, v.193, n.3, p.610–611, 2012.

ITO, K.; VON KEYSERLONGK; LEBLANC, S.J.; WEARY, D.M. Lying behavior as an indicator of lameness in dairy cows. **Journal of dairy science**, v.93, n.8, p.3553–60, 2010.

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

LAURITZEN, B., LYKKESFELDT, J., FRIIS, C. Evaluation of a single dose versus divided dose regimen of danofloxacin in treatment of Actinobacillus pleuropneumoniae infection in pigs. **Research in Veterinary Science**, v. 74, p. 271–277, 2003.

LEAN, I. J., WESTWOOD, C. T., GOLDER, H. M., VERMUNT, J. J. Impact of nutrition on lameness and claw health in cattle. **Livestock Science**, v.156, n.3, p.71-87, 2013.

MADHAVI, D. L.; SALUNKHE, D. K. In: MAGA, J.; TU, A. T. **Antioxidants**. New York: Marcel Dekker eds, p. 89, 1995.

MARTINS, I.S.; FERREIRA, M.M.G.; ROSA, B.R.T.; BEBEDETTE, M.F.; FILADELPHO, A.L. Laminite Bovina. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, n.10, p.1-5, 2008. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/DGad40m5v8S4Egc_2013-5-29-11-9-38.pdf>. Acesso em 39 ago. 2014.

MÜLLING, C.K.; GREEN, L.; BARKER, Z.; SCAIFE, J.; AMORY, J.; SPEIJERS, M. Risk factors associated with foot lameness in dairy cattle and a suggested approach for lameness reduction. 2006. World Buiatrics Congress [on line]. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/mulling2.pdf?LA=1>>. Acesso em 21 set. 2014.

NICOLA, M. Association between reactive oxygen species and disease activity in chronic hepatitis C. **Free Rad Biol Med.**, v. 21, p.291-295, 1996.

PETERS, M.D.P. **Mastitis evaluation and its impact upon sensibility to pain for dairy cows**. 2012. 99 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

PEDREIRA, M.S.; BERCHIELLI, T.T. Minerais, In: **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. 583 p.

POSSENTI, C.R.; SOSTISSO, C.R.; DIAZ, J.D.; KOEFENDER, J.; HORN, R. Avaliação dos níveis de estresse oxidativo de vacas com e sem mastite bovina. 2013, Unicruz. [on line]. Disponível em: <<http://www.unicruz.edu.br/seminario/anais/2014/CCS/CIENCIAS%20BIOLOGICAS/C.%20Oral/AVALIA%20C7%20DOS%20N%20CDVEIS%20DE%20ESTRESSE%20OXIDATIVO%20DE%20VACAS%20COM%20E%20SEM%20MA.pdf>>. Acesso 17 ago. 2014.

SCHONS, J.A.B.; FAN, L.C.R. Eritrócitos, hemoglobina, hematócrito e índices hematimétricos em 100 bovinos da raça holandesa no município de Santa Maria no Rio Grande do Sul. **Revista de Medicina Veterinária**, v.6, p.151-158, 1970.

SIES H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, p. 213-219, 1993.

SOUZA, R.C.; FERREIRA, P.M.; MOLINA, L.R.; CARVALHO, A.U; FACURY FILHO, E.J. Perdas econômicas ocasionadas pelas enfermidades podais em vacas leiteiras confinadas em sistema *free stall*. **Arg. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.6, p.982-987, 2006.

SPRECHER, D.J.; HOSTETLER, D.E.; KANEENE, J.B. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. **Theriogenology**, v.47, p.1179-1187, 1997.

VENDEMIAS, G.; GUERRIERI, F.; GRATAGLIANO, I.; DIDONNA, D.; MUOLO, L.; ALTOMARE, E. Mitochondrial oxidative phosphorylation and intracellular glutathione compartmentation during rat liver regeneration. **Hepatology**, v.21, n.5, p.1450-1454, 1995.