THIAGO NATAL CENTINI

Efeito da suplementação dietética com ácidos graxos ômega 3 e 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros

Pirassununga

2012

THIAGO NATAL CENTINI

Efeito da suplementação dietética com ácidos graxos ômega 3 e 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso

De acordo com: _____

Orientador(a)

Pirassununga

2012

Obs.; A versão original encontra-se disponível na Biblioteca FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2728
FMVZ

Centini, Thiago Natal

Efeito da suplementação dietética com ácidos graxos ômega 3 e 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros / Thiago Natal Centini. -- 2012.
83 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso.

1. Imunidade. 2. Ômega-3. 3. Ômega-6. 4. Potro. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “Efeito da suplementação dietética com ácidos graxos Ômega 3 e 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros”, protocolado sob o nº 2000/2010, utilizando 20 (vinte) éguas, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da “Comissão de Ética no uso de animais” da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 29/09/2010.

We certify that the Research “Effect of dietary supplementation with fatty acids, Omega 3 and 6 on the composition of colostrum and milk of mares and foals for immune transfer”, protocol number 2000/2010, utilizing 20 (twenty) mares, under the responsibility Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by “Ethic Committee in the use of animals” of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 09/29/2010.

São Paulo, 30 de setembro de 2010

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira”
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757
Fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CENTINI, Thiago Natal

Título: Efeito da suplementação dietética com ácidos graxos ômega 3 e 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico esta obra à minha Família e Noiva, amo tes.

Agradecimentos

À Deus, em primeiro lugar.

Sei que ninguém chega a lugar algum ou realiza algo sozinho, portanto agradeço:

Aos meus pais, Paulo e Eliane, meus irmãos, Ivo e Leonardo.

A minha noiva Júlia pela paciência, amor incondicional e apoio em todos os momentos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso agradeço a oportunidade de realizar este trabalho, pela paciência, apoio, convívio e por todos os ensinamentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo financiamento do projeto de pesquisa e incentivo à experimentação animal.

A Capes pela bolsa a mim destinada, durante o programa de Mestrado.

Aos 36 animais utilizados nesse estudo, e aos outros muitos que me proporcionaram conhecimento.

Ao programa de Pós-graduação em Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização desse curso.

E aos colegas de laboratório, Iaçanã, Rafael, Fernanda Taran e Paulo José Sanchez

Aos estagiários: Fernanda Panseri, Júlia Rizzo e Camila Moreira e a todos os graduandos que estiveram em Pirassununga ajudando em todos os momentos.

Aos funcionários do CEPTOX e Ester e Paulo César, pelo ajuda e apoio aos equipamentos utilizados no laboratório.

À Carolina Porto, pela amizade e apoio nas análises imunológicas e todo apoio incondicional.

Ao amigo, Paulo Gilpelo apoio e amizade e apoio durante o mestrado.

Aos funcionários da Equideocultura, Valdir, Maicon, Roberley, que estiveram presentes em todas as horas.

A todos os meus amigos de pós-graduação do VNP, e aos meus grandes amigos Tiago Tomasi e Dannylo Oliveira pelo apoio e horas boas que passamos juntos.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, estiveram presentes em mais essa etapa de minha vida, agradeço de coração.

RESUMO

CENTINI, T. N. **Efeito da suplementação dietética com ácidos graxos ômega 3 e 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros.** [Effect of dietary supplementation with fatty acids omegas 3 and 6 on the composition of colostrum and milk of mares and foals for Immune Transfer]. 2012. 83 f Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

Com a utilização de 18 éguas, adultas, sem raça definida, com peso médio de 521 ± 56 Kg, em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e seis repetições por tratamento com medidas repetidas no tempo. Os objetivos deste trabalho foi verificar os efeitos da suplementação dietética com ácidos graxos ômega 3 e ômega 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros. Diferenças significativas encontradas foram na qualidade do leite das éguas onde foi observado efeito de tempo (semanas) sobre as variáveis de gordura, proteína, lactose e sólidos totais. Para a variável sólidos totais observou-se efeito do tratamento, semana e da inclusão de óleo na dieta. Observou-se nos potros uma atividade linfoproliferativa, no grupo óleo de soja semelhante ao encontrado no grupo controle, em ambos os períodos analisados. O grupo óleo de linhaça apresentou atividade linfoproliferativa maior do que a encontrada nos dois outros grupos no dia sete. No dia trinta, o grupo de linhaça continuou a apresentar uma maior atividade proliferativa, no entanto sem diferença estatística. A suplementação fonte de óleo aumentou a energia dietética disponível e a resposta proliferativa das éguas do dia sete. Observou-se que a suplementação com óleo de linhaça promoveu um aumento das concentrações dos isótopos IgGa e IgGb no colostro. A concentração média de IgGa no grupo óleo de linhaça foi quase 4 vezes superior aquela encontrada no colostro das éguas do grupo controle e quase 3 vezes superior aquela encontrada no grupo suplementado com óleo de soja com uma significância de. Assim concluímos que o ômega 3 melhorou a posta linfoproliferativa e aumentou a concentração de IgGb, porem não alterou os componentes do leite.

Palavras-chave: Imunidade. Ômega-3. Ômega-6. Potro.

ABSTRACT

CENTINI, T. N. **Effect of dietary supplementation with fatty acids omegas 3 and 6 on the composition of colostrum and milk of mares and foals for Immune Transfer.** [Efeito da suplementação dietética com ácidos graxos ômega 3 e 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros]. 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

With the use of 18 mares, adult mongrel with a mean weight of 521 ± 56 kg in completely randomized design with three treatments and six replicates per treatment with repeated measures. The objectives of this study was to determine the effects of dietary supplementation with fatty acids omega 3 and omega 6 on the composition of colostrum and milk of mares and foals for immune transfer. Significant differences were found in milk quality mares where was no effect of time (weeks) on the variables of fat, protein, lactose and total solids. For variable total solids was observed effect of treatment week and oil inclusion in the diet. It was observed in foals lymphoproliferative activity in the soybean oil group similar to that found in the control group in both periods analyzed. The group linseed oil lymphoproliferative showed activity greater than that found in the other two groups on day seven. On the thirtieth day, the flaxseed group continued to show a higher proliferative activity, however no statistical difference. The source of oil supplementation increased dietary energy available and the proliferative response of mares of day seven. It was observed that supplementation with flaxseed oil promoted increases in concentrations of isotopes and IgGa IgGb in colostrum. The average concentration of IgGa group in linseed oil was almost 4 times higher than that found in colostrum of mares in the control group and almost 3 times higher than that found in the group supplemented with soybean oil with a significance. Thus we conclude that omega 3 put lymphoproliferative improved and increased the concentration of Ig, but it does not change the components of milk.

Keywords: Foals. Immunity. Omega-3. Omega-6.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura dos ácidos graxos ômega 3 e ômega 6.....	22
Figura 2 -	Metabolização dos ácidos graxos poli-insaturados.....	32
Figura 3 -	Curva de ganho de peso no pré-parto e pós-parto.....	58
Figura 4 -	Resposta linfoproliferativa dos potros contra APTX das células mononucleares do sangue periférico em relação aos tratamentos.....	62
Figura 5 -	Representação da mensuração de diferentes isótopos de imunoglobulina do colostro equino obtido dos animais suplementados ou não com fontes equilibradas de ômega-3 e ômega-6 durante os tempos experimentais.....	64
Figura 6 -	Representação da mensuração da imunoglobulina IgGa no soro dos potros nascidos de éguas suplementadas ou não com fontes equilibradas de ômega 3 e ômega 6 durante os tempos experimentais.....	64
Figura 7 -	Representação da mensuração da imunoglobulina IgGa no soro dos potros nascidos de éguas suplementadas ou não com fontes equilibradas de ômega 3 e ômega 6 durante os tempos experimentais.....	67
Figura 8 -	Representação da mensuração da imunoglobulina IgGb no soro dos potros nascidos de éguas suplementadas ou não com fontes equilibradas de ômega 3 e ômega 6 durante os tempos experimentais.....	68
Figura 9 -	Representação da mensuração da imunoglobulina IgA no soro dos potros nascidos de éguas suplementadas ou não com fontes equilibradas de ômega 3 e ômega 6 durante os tempos experimentais.....	69
Figura 10 -	Representação da mensuração da imunoglobulina IgM no soro dos potros nascidos de éguas suplementadas ou não com fontes equilibradas de ômega 3 e ômega 6 durante os tempos experimentais.....	70
Figura 11 -	Valores médios da concentração no pré-parto de progesterona sérica no pré-parto.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição bromatológica da dieta das éguas.....	45
Tabela 2 -	Composição bromatológica do concentrado do potro.....	46
Tabela 3 -	Valores médios de pesagem das éguas no pré-parto e pós-parto	57
Tabela 4 -	Composição do leite de éguas suplementadas com óleo de soja e óleo de linhaça.....	59
Tabela 5 -	Prevalência de agentes causadores de mastite nas éguas do grupo (C) e suplementadas com óleo de soja (OS) e óleo de linhaça (OL) durante o período experimental.....	61
Tabela 6 -	Contraste ortogonal das dietas em comparação a proliferação linofocitária.....	63
Tabela 7 -	Contraste ortogonal das dietas comparando as imunoglobulinas colostro.....	65
Tabela 8 -	Contraste ortogonal das dietas comparando as imunoglobulinas séricas.....	71
Tabela 9 -	Médias erro padrão da média (EPM) e valores de P para a taxa de percentagem de peso, altura de cernelha e perímetro de canela de acordo com o tratamento.....	73
Tabela 10 -	Concentração de progesterona, erro padrão da média e valor de P para D0, D30, D60 de acordo com os tratamentos.....	74

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

°C – graus Celsius

µL – microlitros

AA – Ácido araquidônico

ACC – acetilcoAcarboxilase

AMPC – monofosfatocíclico de adenosina

AGPI – Ácido graxo poliinsaturado

AGPI-n3 – Ácido graxo poliinsaturado ômega 3

AGPI-n6 – Ácido graxo poliinsaturado ômega 6

AGCL – Ácido graxo de cadeia longa

AGCM – Ácido graxo de cadeia média

AGCC – Ácido graxo de cadeia curta

AGCML – Ácido graxo de cadeia muito longa

ATP – trifosfato de adenosina

C 18:0 – ácido esteárico

C 16:0 – ácido palmítico

C 18:1 – ácido oléico

C 18:2 – ácido linoleico

C 18:3 – ácido linolênico

C 18:2 n-6 – ácido linolênico ômega 6

C 18:3 n-6 – ácido alfa-linolênico ômega 6

C 20:4 n-6 – ácido araquidônico ômega 6

C – dieta controle

CH₂ – carbono metilênico

C1 - contraste da dieta controle conta fontes de óleo

C2 - contraste da dieta óleo de soja contra óleo de linhaça

CCS – contagem de células somáticas

DPA - docosapentaenóico

DHA – Docosa-hexapentaenóico

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA – teste imunoenzimático

EFA – ácido graxo essencial

EPA – Eicosapentaenóico
ESD – extrato seco desengordurado
HDL – lipoproteína de alta densidade
KOH – hidróxido de potássio
NK – *natural killers*
ng/ml – nanogramas por mililitro
LA – ácido linolênico
LNA – ácido alpha linolênico
n-3 – ômega 3
n-6 – ômega 6
n-9 – ômega 9
g – gramas
g/L – gramas por litros
Ig – imunoglobulina
IgG - imunoglobulina G
IgGa - imunoglobulina Ga
IgGb - imunoglobulina Gb
IgA - imunoglobulina A
Kcal – quilocaloria
kg – quilograma
L – litros
ml - mililitros
OL – óleo de linhaça
OS – óleo de soja
PBS – fosfato salino tamponado
pH – potencial de hidrogênio
ppm – partes por milhão
PV – Peso Vivo
POS – positivo
PKA – proteína quinase
PP1 – proteína fosfatase 1
rpm – rotações por minuto
SCN – *staphylococcuscoagulase negativa*

SFB – soro fetal bovino

% - percentagem

® - marca registrada

VLDL – proteína de baixa densidade

5 α DHP - 5 α dihidro-progesterona

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 LÍPIDIOS.....	19
2.2 FUNÇÕES.....	20
2.3 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS.	20
2.4 COLOSTRO E LEITE	23
2.5 TRANSFERÊNCIA DE IMUNOGLOBULINAS DO COLOSTRO PARA O POTRO	24
2.6 ÁCIDOS GRAXOS NA ALIMENTAÇÃO.....	26
2.6.1 Óleo de linhaça.....	26
2.6.2 Óleo de soja	26
2.7 REGULAÇÃO DO METABOLISMO DO ÁCIDO GRAXO.....	27
2.8 METABOLISMO DE LÍPIDIOS.....	28
2.9 DIGESTÃO DE LÍPIDIOS	29
2.10 ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS.....	31
2.11 PROGESTERONA.....	32
2.12 SUPLEMENTAÇÃO DE EQUINOS.....	34
3 OBJETIVO	42
4 HIPÓTESE	43
5 MATERIAIS E MÉTODOS	44
5.1 LOCAL.....	44
5.2 ANIMAIS E INSTALAÇÕES	44
5.3 DELINEAMENTO E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	44
5.3.1 Dietas.....	45
5.3.2 Dietas experimentais.....	46
5.3.3 Pesos.....	47
5.3.4 Peso e avaliação dos potros	47
6 METODOLOGIA DE COLETA E PROCEDIMENTOS DE AMOSTRA	48
6.1 COLHEITA DE AMOSTRA PLASMÁTICA E SOROLÓGICA	48
6.1.1 Proliferação Linfocitária	48

6.1.2	Ensaio imunoenzimático (ELISA) para determinação da concentração de imunoglobulinas sericas.....	49
6.1.3	Progesterona	50
6.2	COLETA DE LEITE	51
6.2.1	Análise microbiológica	51
6.2.2	Composição, CCS, Características físico-químicas do leite	52
6.2.3	Ensaio imunoenzimático (ELISA) para determinação da concentração de imunoglobulinas no leite	53
7	METODOLOGIA ESTATISTICA	55
7.1	QUALIDADE DO LEITE	55
7.2	PROLIFERAÇÃO LINFOCITÁRIA.....	55
7.3	DESENVOLVIMENTO DOS POTROS.....	55
7.4	PROGESTERONA	56
8	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
8.1	GANHO DE PESO PRÉ-PARTO E PÓS-PARTO	57
8.2	QUALIDADE DO LEITE	58
8.3	PROLIFERAÇÃO LINFOCITÁRIA.....	61
8.4	IMUNOGLOBULINAS.....	63
8.4.1	Imunoglobulinas colostrais.....	63
8.4.2	Imunoglobulinas sericas	66
8.5	CRESCIMENTO DOS POTROS	72
8.6	PROGESTERONA	73
9	CONCLUSÃO.....	75
	REFERÊNCIAS.....	76

1 INTRODUÇÃO

O cavalo além de sua função na agricultura é amplamente utilizado para recreação e esporte e o leque de atividades está sendo cada vez mais diversificado. O grande desafio de se criar cavalos hoje é produzir animais saudáveis e resistentes, visto que com o crescimento do setor, os animais estão sendo cada vez mais exigidos. Além das exigências no campo esportivo, onde animais cada vez mais jovens estão sendo inseridos em programas de treinamento, a crescente utilização de técnicas de biotecnologia da reprodução tem levado a manutenção de éguas com mais idade nos programas reprodutivos dos criatórios, o que aumenta o risco de falhas na transferência de imunidade passiva, seja por insuficiente produção de colostro, seja por produção de colostro de má qualidade.

Os neonatos equinos nascem agamaglobulinêmicos, sendo totalmente dependentes da ingestão de imunoglobulinas contidas no colostro e falhas nessa transferência podem levar a muitas infecções neonatais. Os potros começam a desenvolver as suas funções imunes durante a gestação, porém de maneira pouco satisfatória. O desenvolvimento da resposta imune só é realmente estimulado após o nascimento, quando os potros entram em contato com os micro-organismos do ambiente. Até que os animais respondam de uma maneira eficaz aos desafios ambientais, eles permanecem em um período crítico com maior suscetibilidade as infecções neonatais.

Existe relação inversamente proporcional entre níveis séricos de IgG e infecções neonatais, havendo uma incidência de infecção e mortalidade significativamente maior em potros com níveis séricos de IgG inferiores. Já a incidência de falha na transferência de imunidade passiva tem sido estimada entre 2,9 e 25%, sendo dependente do desafio ao qual o neonato está exposto. Sendo assim há uma grande importância na melhora da resposta imune do neonato.

Os ácidos graxos essenciais, recentemente, têm recebido atenção, como terapia nutricional para uma série de distúrbios em seres humanos, cães, gatos e cavalos. Grande parte das investigações tem sido conduzidas em outras espécies, mas utilização de dietas ricas em lipídeos como profilaxia e terapia de enfermidades na espécie equina apresenta um grande potencial de crescimento.

Os ácidos graxos polinsaturados (AGPI) essenciais compõem uma classe de moléculas que não podem ser geradas pelo organismo, mas que são necessárias ao seu funcionamento. Neste grupo encontram-se os ácidos graxos poli-insaturados, ômega-3 e ômega- 6.

Mamíferos não possuem as enzimas necessárias para gerar o ômega 3 e ácidos graxos ômega 6. Por conseguinte, eles devem ser fornecidos na dieta e são classificados como ácidos graxos essenciais. Estas duas classes de ácido graxos essenciais não são convertidas entre si, são metabolicamente e funcionalmente distintos, e muitas vezes têm importantes funções fisiológicas opostas. Existem varias fontes de lipídeos com elevado quantias em ácidos graxos ômega 6 de ácidos graxos ômega 3.

Uma das principais fontes na dieta de ácidos graxos polinsaturados ômega 3 é o pescado, rico em ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosa-hexaenóico (DHA). Os óleos das sementes oleaginosas, particularmente o óleo de linhaça é rico em ácido α -linolênico, precursor destes ácidos graxos.

O ácido linoleico é o ácido graxo ômega 6 da origem as substâncias como o ácido araquidônico (AA) é o precursor importante para 2-série prostaglandinas e tromboxano através da via ciclooxigenase e 4-série leucotrienos por meio da via da lipoxigenase.

O ácido linolênico é o ácido graxo da família ômega 3 e é desaturado e alongado (EPA) e (DHA). EPA é o precursor para a prostaglandina H 3 e tromboxano A 3 (3 série), que são menos potentes mediadores inflamatórios do que os produzidos a partir do AA. Portanto, a suplementação com fontes alimentares ricas em ácidos graxos ômega 3 podem limitar as reações inflamatórias do organismo frente as doenças.

Os ácidos graxos essenciais têm grande importância atualmente pelo seu papel farmacológico, participando de reações inflamatórias e diretamente relacionadas à melhora imunológica.

Trabalhos recentes demonstraram que a suplementação com ômega 3, advindo de óleo de peixe encapsulado aumentou as concentrações dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), ácido eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), tanto no plasma quanto nas células vermelhas do sangue. Porém, nos

equinos suplementados com semente de linhaça, não foram observados os mesmos níveis de ácidos graxos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LIPÍDEOS

Os Lípidos ou lipídeos são termos normalmente usados para indicar, de uma forma pouco exata, uma ampla variedade de produtos orgânicos que possuem a característica comum de não serem solúveis em água e sim em solventes apolares (hexano, éter, clorofôrmio, etc). Junto com os carboidratos e proteínas, os lípidos são um dos mais importantes nutrientes, que fornecem ao corpo a energia e mantêm outros processos celulares vitais. Os principais lípidos incluem triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos, colesterol, ésteres do colesterol e fosfolípidos (SALEM, 1999). Outros lípidos, embora presentes em quantidades relativamente pequenas, participam de papéis importantes como cofatores enzimáticos, carregadores de elétrons, pigmentos, agentes emulsificantes, hormônios e mensageiros intracelulares (LEHNINGER et al., 1993). Sua característica fundamental é a de possuírem uma parte ácida de natureza carboxílica e hidrofílica, e uma cadeia parafínica e hidrofóbica (CORREA; CORREA, 1985).

Na composição química dos óleos e gorduras vegetais encontram-se traços de hidrocarbonetos, ceras, esteroides, vitaminas e alguns outros compostos. As frações majoritárias, que correspondem a uma faixa de 85 a 95% do total dos componentes presentes nos óleos e gorduras, são compostas pelos triacilgliceróis (TAGs), o que faz com que as propriedades de um determinado óleo ou gordura sejam diretamente dependentes da sua composição em TAGs. As misturas triacilglicerídicas sólidas à temperatura ambiente são referidas como gorduras, e as líquidas são usualmente denominadas de óleos (FILHO, 1995).

De acordo com Grundy (1996), os TAGs são compostos por três moléculas de ácidos graxos esterificados com uma molécula de glicerol, podendo ser derivados de fontes naturais (gordura animal e vegetal) e fontes modificadas industrialmente para alimentos especiais.

2.2 FUNÇÕES

Os lipídeos possuem um número grande de funções, entre elas:

Energética: provêm uma energia de 9 calorias por grama, que são armazenados pelo corpo, principalmente como triglicerídeos, até sua utilização.

Outras funções que os lipídeos tem como forma de utilização são:

Estrutural: os lipídeos são um dos principais componentes das membranas celulares e são vitais para manter a integridade celular, forma, flexibilidade e permeabilidade (SALEM, 1999).

Processos fisiológicos: os lipídeos da dieta são decisivos para o funcionamento de cada órgão e tecido, por estarem diretamente envolvidos na produção de eicosanóides (substâncias parecidas aos hormônios, que regulam muitos sistemas do organismo). Participam na manutenção da parede vascular e nas respostas imunes (SALEM, 1999).

Absorção de vitaminas: os lípides atuam como transportadores de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), ajudando na sua absorção (LEWIS, 2000).

2.3 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS

Os ácidos graxos podem ser classificados de acordo com a cadeia em: ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), com 16 a 20 átomos de carbono na molécula; ácidos graxos de cadeia média (AGCM), com 6 a 10 átomos de carbono; e os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), variando de 2 a 5 átomos de carbono (CORREA; CORREA, 1985). Os ácidos graxos com número de átomos de carbono ≥ 20 são denominados ácidos graxos de cadeia muito longa (AGCML) (MARTINS et al., 2006).

Existe outra classificação baseada na presença ou ausência de duplas ligações, sendo: ácidos graxos saturados, quando estes não possuem duplas ligações, por exemplo, os ácidos esteáricos (18:0) e ácido palmítico (16:0); os ácidos graxos monoinsaturados, quando possuem somente uma dupla ligação, como o ácido oléico (18:1); e ainda, em ácidos graxos poliinsaturados, quando possuem

duas ou mais duplas ligações, como o ácido linoléico (18:2) e o ácido linolênico (18:3) (YOU DIM et al., 2000).

De acordo com Correa e Correa (1985) os ácidos graxos também podem ser classificados em função da localização da primeira dupla ligação na cadeia, contando a partir do grupamento metil, os ácidos graxos classificam-se em ômega-3, ômega-6 e ômega-9 (n-3, n-6 ou n-9) e assim por diante. Os principais representantes da série ômega-6 são os ácidos linoléico (C18:2 n-6), abundante nos óleos vegetais, e o araquidônico (C20:4 n-6), usualmente sintetizado no fígado e em outros órgãos, tendo como precursor o ácido linoléico.

Os ácidos graxos n-3 e -n6 possuem vários efeitos sobre a resposta imune e inflamatória. O balanço na ingestão destes ácidos graxos, e consequentemente a incorporação dos AGPI na membrana das células imunes, é importante para determinar a severidade do processo inflamatório. Os AGPI n-3 possuem efeitos supressores, como inibição da proliferação de linfócitos, produção de anticorpos e citocinas, expressão de moléculas de adesão e ativação das células *Natural Killers*(NK). No entanto, os AGPI n-6 possuem ambos os efeitos, tanto inibitório quanto estimulatório da resposta imune (ANDRADE et al., 2006; CALDER et al., 2009).

Os AGPI apresentam insaturações separadas por um carbono metilênico (CH₂). Dentre estes ácidos destacam-se aqueles pertencentes à família ômega-6, como os ácidos linoléico (18:2n-6, LA) e o araquidônico (20:4n-6, AA) e à família ômega-3 como os ácidos alfa-linolênico (18:3n-3, LNA), eicosapentaenóico (20:5n-3, EPA) e docosahexaenóico (22:6n-3, DHA), como demonstrado na figura 1.

Figura 1 - Estruturas dos ácidos ômega 3 e 6

Fonte: Adaptado de Rev. Nutr., Campinas, 23(6):1075-1086, nov./dez., 2010

A figura 1 ilustra a existência da primeira insaturação no sexto carbono, enumerado a partir do grupo metil terminal, para um ômega-6 e no terceiro carbono para um ômega-3. Os ácidos LA e LNA são precursores dos AGPI-CML pertencentes às famílias ômega-6 e ômega-3, respectivamente, através dos processos de alongação (enzimas elongases) e dessaturação (enzimas dessaturases) da cadeia carbônica.

2.4 COLOSTRO E LEITE

A égua apresenta placenta do tipo epitélio corial, ou seja não permite a transferência transplacentária de macromoléculas para a circulação fetal (CHUCRI, 2010). Sendo assim, a proteção transitória conferida ao potro recém-nascido é obtida através da absorção de anticorpos colostrais por células especializadas do intestino delgado (TIZARD, 2002), que confere a imunidade passiva. A secreção de colostro é rápida e os níveis de imunoglobulinas diminuem drasticamente em 24 horas (JEFFCOTT, 1974; BLOOD; RADOSTITIS, 1991).

Em todas as espécies nas quais os anticorpos maternos são transferidos após o nascimento, através do colostro, esse processo ocorre através do epitélio do intestino delgado do recém-nascido (SIMPSON-MORGAN; SMEATON, 1972; TIZARD, 2002). Os anticorpos produzidos pela égua são transmitidos, para a circulação do recém nascido, e alcançam concentrações em seu soro que equivalem aos de um animal adulto (BRUNER et al., 1948; JEFFCOTT, 1974).

Os potros privados da ingestão do colostro nas primeiras horas de vida apresentam menor absorção de imunoglobulinas (JEFFCOTT, 1971; RAIDAL et al., 2000) e, conseqüentemente, são mais susceptíveis a infecções que aqueles que receberam altas quantidades (ROSSDALE, 1972; KAUFMAN, 1973; POPPIE. MCGUIRE, 1976; LESTER, 2005).

O colostro é a primeira secreção que se forma na glândula mamária e, em éguas, a imunoglobulina predominante é a IgG, constituindo a principal fonte de imunidade do recém-nascido. O colostro contém grande quantidade de imunoglobulinas sendo produzido sob a influência dos mecanismos hormonais, mas a seleção e concentração do sangue circulante Ig (principalmente IgG em éguas). A concentração de Ig na circulação sanguínea é altamente específica e explica a diferença em relação IgGa/IgGb colostrais observada entre colostro e plasma. Os receptores de IgG foram claramente identificados nas membranas basais de células epiteliais glandulares ((UNANIAN et al., 1994; BARRINGTON et al., 1997).

Lang et al. (2007) relataram que não existe equivalência entre a concentração de IgG no soro de éguas e respectivo colostro imediatamente após o parto.

O aumento na concentração de Ig começa durante o último mês de gravidez, a maioria ocorrendo nas duas últimas semanas, quando o nível de estrógeno cai e se eleva o de progesterona (SMITH et al., 1971; JEFFCOTT, 1974).

A produção média de colostro é de $2,5 \pm 1,5$ litros ($n = 27$) como avaliado em 200 por Clément et al. (2000).

A composição média do leite equino é: 6,5% de lactose, 1,8% de proteína, 1,0% de gordura e 440 kcal/kg de energia (SANTOS et al., 2005).

Spers et al. (2006), suplementando éguas em lactação com óleo de babaçu, observaram diminuição do teor de acidez e elevação do teor de gordura do leite, com efeito linear. Quanto ao teor de colesterol no leite, esse não foi afetado. O óleo de babaçu se destaca por apresentar grande quantidade de ácidos graxos de cadeia carbônica curta e média (C8:0 e C12:0).

2.5 TRANSFERÊNCIAS DE IMUNOGLOBULINA DO COLOSTRO PARA O POTRO

O motivo pelo qual os potros nascem hipo ou agamaglobulinêmicos se deve à placenta do tipo epiteliocorial difusa da égua, que apresenta seis camadas teciduais entre a circulação sanguínea materna e a fetal, compreendendo o endotélio capilar materno, tecido conjuntivo uterino, epitélio uterino, epitélio coriônico, tecido conjuntivo fetal e endotélio capilar fetal, que promovem uma barreira na transferência transplacentária de anticorpos (JEFFCOTT, 1974; MCGUIRE et al., 1975; KOTERBA et al., 1990; TIZARD, 2002). Os mecanismos de transferência de Ig no colostro têm sido bem estudados em ratos (SILIM et al., 1990). Graças ao mecanismo de endocitose mediada nas células intestinais imaturas as globulinas colostrais fazem o seu caminho para o sistema linfático e finalmente a circulação do sangue (JEFFCOTT, 1973; KRUSE, 1983). Este fenômeno pode ser reforçada por um aumento da fluidez das membranas de células intestinais, relacionado com a composição de ácido graxo de cadeia mais longa. No entanto não conseguiu demonstrar a melhoria de IgG, na transferência pós-parto, aumentando a oferta de ácido graxo C18: 3 no final da gravidez (DUVAUX-PONTER et al., 2004).

Genin (1990) mostrou que o nível de IgG do potro está correlacionada com a quantidade de IgG ingerida ($r = 0,31$, $n = 241$, $p < 0,05$), confirmando que a absorção intestinal de IgG é ativa, mas não seletiva.

Esta capacidade dos enterócitos para absorver grandes moléculas é muito eficiente, mas por causa da elusiva rápida substituição destas células imaturas por adequadas células epiteliais do intestino, tornando-se impermeável a moléculas de Ig. Este fechamento “fenômeno” das células epiteliais começa logo após o nascimento.

Como consequência, a absorção de Ig diminui rapidamente: Quando potros é alimentam com o colostro logo após o nascimento, a absorção de Ig diminui a partir de 12 a 18 horas de vida, e impossível após 24 horas (PEARSON et al., 1984).

Se o potro recebe colostro de boa qualidade dentro dos 2 primeiras horas após o nascimento, IgG pode ser detectada no seu soro 4 horas mais tarde e atingir o seu nível máximo após 12-24 horas. Por causa do catabolismo rápido das imunoglobulinas maternas, este nível inicial cai drasticamente a partir dos dois primeiros meses de vida. Onde este é o tempos médios, desenvolvendo sistema imune do potro (ORLANDI; CURADI, 2006).

Como consequência, o nível sanguíneo de IgG nos potros saudáveis é de no mínimo 8mg aos 2 meses de vida (JEFFCOTT, 1974; PERRYMAN et al., 1980; RUMBAUGH; ARDANS, 1983).

A menor transferência passiva leva a uma maior é a síntese endógena, a maior transferência passiva causa um maior o catabolismo da IgG maternos. Como consequência, potros com nível elevado de IgG às 24 horas ($> 16 \text{ g / l}$) são agora mais superiores aos de nível inferior (8 g / l , 24 horas) após 2 a 3 semanas de vida (T'OUBOUL et al., 1997; CHAVATTE-PALMER et al., 2001).

Em media a capacidade de absorção de IgG pelo potro é igual a 62,3%, para potros saudáveis que tiveram uma absorção mínima (DROGAUL et al., 2006). Em comparação com a qualidade do colostro das éguas é muito variável, porem a variabilidade entre os potros o após o nascimento é baixa (CLÉMENT et al., 2002).

Estes autores demonstraram que a capacidade de absorção parece aumentar à medida que aumenta a quantidade de IgG ingeridas, sugerindo que, contrariamente ao que tem sido observada em bezerro, a não saturação da eficiência de absorção de IgG que é observado em potro.

2.6 ÁCIDOS GRAXOS NA ALIMENTAÇÃO

2.6.1 Óleo de Linhaça

A semente mais estudada atualmente é a de linhaça, sendo a espécie mais rica em ômega-3, praticamente constituída em sua totalidade por ácido linolênico (C18:3 n-3). Esta semente contém cerca de 25 % de proteínas e 35% de lípides totais. Sua gordura é constituída em sua maioria por ácidos graxos insaturados (80-90%) com 20-30% de ácido oléico e linoléico e 40-60% de linolênico. Em geral, a linhaça também é rica em selênio (MEYER, 1995; MORI, 2001).

A linhaça é uma das sementes oleaginosas tradicionais, por causa da utilização de suas fibras em produtos têxteis, e também porque o óleo obtido a partir de sua semente possui um alto teor de ácido linolênico, sendo que as tortas obtidas podem ser utilizadas para balanceamento de ração animal (TURATTI et al., 2002). Sendo uma das fontes mais concentradas de ácidos graxos poliinsaturados, especialmente o linolênico (LNA), e seu óleo contendo de 50-55% de linolênico, é precursor biológicos dos ácidos eicosapentaenóico (EPA), docosapentaenóico (DPA) e docosahexaenóico (DHA), através de processos de dessaturação e alongamento (MAZALLI, 2000).

Em trabalho realizado por Soncin et al. (2009), onde se suplementou éguas com inclusão de 10% de semente de linhaça na dieta, não foram observadas alterações na concentração de metabólicos sanguíneos (glicose, triglicerídeos, progesterona, colesterol total, HDL, LDL e VLDL).

2.6.2 Óleo de soja

O óleo de soja, rico em ácidos graxos poliinsaturados, contém 38,72 % de ácido linoléico (C18:2), do qual pode ser originado o ácido araquidônico (C20:4) e 11,47 % de ácido linolênico (C18:3), do qual por alongamento e dessaturação, são

gerados os ácidos eicosapentaenóico (EPA – C20:5) e ácido docosahexaenóico (DHA – C22:6), aos quais se atribuem benefícios ao organismo humano (MISSÃO, 2006).

O óleo de soja possui elevados níveis de ácidos graxos livres, devido à ruptura da ligação dos triglicerídios em seu processamento, liberando glicerol e ácidos graxos (GAIOTTO et al., 2000).

Freitas (2007) suplementando cavalos atletas com até 24% de inclusão de óleo de soja na dieta durante 48 dias, não observou alteração no perfil sanguíneo de lípidos. Também não ocorreu influência da ingestão de concentrado com óleo de soja sobre parâmetros bioquímicos, hematológicos e fisiológicos relacionados ao desempenho.

2.7 REGULAÇÃO DO METABOLISMO DO ÁCIDO GRAXO

Para o entendimento da necessidade de síntese ou degradação de gordura pode ser regulada, o organismo deve ser visto como um todo. O sangue é o portador de triacilgliceróis na forma de VLDLs e quilomicrons, ácidos graxos acoplados a albumina, aminoácidos, lactato, corpos cetônicos e glicose. O pâncreas é o órgão primário com a função de detectar o estado dietético e energético do organismo, monitorando as concentrações de glicose no sangue. Baixa concentração de glicose no sangue estimula a secreção de glucagon, considerando que, altas quantidades deste substrato (glicose), condiciona a secreção de insulina. O metabolismo de gordura é regulado através de dois mecanismos distintos. A regulação rápida, atribuída a substratos hormônios-sensíveis, e lenta que acontece devido à alteração da taxa da rotatividade para síntese enzimática. A produção de lipase de lipoproteína no tecido adiposo, também é aumentada com a diminuição da insulina no jejum. O tecido adiposo contém lipase hormônio-sensível que é ativada através de fosforilação de PKA-dependente, esta ativação aumenta a liberação de ácidos graxos no sangue. Isso conduz a um aumento da oxidação de ácidos graxos em outros tecidos como músculo e fígado. No fígado, o resultado líquido (devido ao aumento da concentração de acetil-CoA) é a produção de corpos cetônicos, isto acontece sob condições nas

quais o carboidrato armazenado e precursor da via gliconeogênica disponível no fígado não é suficiente para permitir a produção de glicose. Os níveis maiores de ácidos graxos disponíveis com respeito ao glucagon ou epinefrina estão completamente protegidos de serem oxidados, porque a PKA também fosforila a ACC, deste modo a síntese de ácido graxo é inibida.

A insulina tem o efeito oposto ao glucagon e epinefrina, aumentando a síntese de triacilgliceróis e indiretamente o glicogênio. Um dos muitos efeitos da insulina é diminuir os níveis de acoplamento que conduzem a defosforilação pelo aumento da atividade fosfatase proteína como PP-1. A reação de defosforilação do ácido graxo, inativa a lipase hormônio-sensível. O metabolismo de gordura também pode ser regulado por inibição malonil-CoA-mediada por aciltransferasecarnitina I. Tal regulação serve para prevenir que ácidos graxos recém-sintetizados entrem na mitocôndria onde então seriam oxidados (VOET et al., 2000; KING, 2004).

2.8 MOBILIZAÇÃO DA GORDURA

As fontes primárias de ácidos graxos para oxidação são dietéticas ou, mobilizadas dos estoques no organismo. Ácidos graxos da dieta podem ser carregados das células intestinais por transporte no sangue. Os ácidos graxos são armazenados principalmente na forma de triacilgliceróis nos adipócitos do tecido adiposo. Com respeito a demanda de energia, os ácidos graxos podem ser mobilizados dos triacilgliceróis armazenados para utilização nos tecidos periféricos. A liberação de energia metabólica, na forma de ácidos graxos, é controlada por uma série complexa de etapas relacionadas, que resultam na ativação de lipases hormônio-sensíveis (HINEY, 1996).

O estímulo para ativar estas etapas, nos adipócitos, é devido principalmente ao glucagon. Este hormônio ativa os receptores de superfície da membrana plasmática dos adipócitos, que são acoplados a adenilil-ciclase que transforma o ATP em AMPc. O aumento da concentração deste complexo, induz a ativação da proteína-cinase, que em troca, fosforila e ativa as lipases hormônio-sensíveis. Esta enzima hidrolisa os ácidos graxos a partir do átomo de carbono 1 ou 3 do

triacilglicerol. O diacilglicerol resultante será substrato para as lipases hormônio-sensíveis ou para outra enzima, diacilglicerol lipase. Finalmente o monoacilglicerol será substrato para a monoacilglicerol lipase. O resultado líquido da ação destas enzimas são três moléculas de ácido graxo livre e uma molécula de glicerol. Os ácidos graxos livres se difundem através da membrana das células adiposas, combinam com albumina no sangue, e são transportados a outros tecidos por uma proteína transportadora de ácidos graxos que associados ao transporte ativo do sódio, adentram nas células. Ao contrário da ativação hormonal da adelinil-ciclase, a mobilização de gordura destes tecidos, é inibida por estímulos, sendo o mais importante através do aumento da concentração de insulina quando o indivíduo é alimentado (WATSON, 1991).

2.9 DIGESTÃO DE LIPÍDEOS

A utilização de lipídeos é muito utilizada pelos equinos, diferentemente dos ruminantes, ao qual não suporta altos níveis de gordura na dieta. Como os lipídeos são absorvidos no intestino delgado, a ação hidrogenante da microflora que esta localizada no intestino grosso, não pode ser exercida sobre os ácidos graxos insaturados da dieta. Dessa forma nos equinos, os lipídeos da dieta podem influir no tipo de gordura corporal do animal (FRAPE, 1986).

A maior parte dos lipídeos que entram na composição dos alimentos dos animais são triglicerídeos e são hidrolisados por diversas lipases do tubo digestivo, liberando ácidos graxos e glicerol. Em particular, para os equinos, não há presença de colesterol na dieta (CORREA; CORREA, 1985).

A primeira etapa da digestão das gorduras é a sua emulsificação e consiste no desdobramento dos glóbulos de gordura em partículas de tamanho menor, de modo que as enzimas digestíveis hidrossolúveis possam atuar sobre a superfície dos glóbulos, por intermédio da bile. A bile contém grandes quantidades de sais biliares e o fosfolípido lecitina. As partes polares das moléculas de ácidos biliares e lecitina são altamente solúveis em água, enquanto a maior parte das porções restantes dessas moléculas é muito solúvel em gordura. Por conseguinte, as

porções lipossolúveis dissolvem-se na camada superficial do glóbulo de gordura, enquanto as porções polares que se projetam para fora são solúveis nos líquidos circundantes. Os glóbulos de gordura se tornam rapidamente fragmentáveis por agitação no intestino delgado, aumentando a área de superfície total das gorduras (ARGENZIO, 1996).

A enzima mais importante para a digestão dos triglicerídeos é a lipase pancreática, existente no suco pancreático. A maior parte dos triglicerídeos da dieta é desdobrada por esta enzima em ácidos graxos livres e 2-monoglicerídeos (BEITZ, 1996).

Os sais biliares quando em concentrações suficientemente altas, tem propensão a formar micelas, que consistem em pequenos glóbulos cilíndricos e esféricos. Os núcleos esteróis de sais biliares da micela sofrem agregação formando um pequeno glóbulo de gordura no meio da micela. Durante a digestão dos triglicerídeos, as porções gordurosas (tão rapidamente quanto a formação dos monoglicerídios e ácidos graxos livres) dissolvem-se na porção gordurosa central das micelas, reduzindo imediatamente a concentração desses produtos finais da digestão. As micelas então atuam como meio de transporte desses produtos até a borda-em-escova das células epiteliais intestinais, na borda em escova os monoglicerídios e os ácidos graxos livres sofrem difusão imediata através da membrana celular do enterócito para o interior da célula. Após liberar essas substâncias os sais biliares retornam ao quimo para serem repetidamente utilizados nesse processo de transporte (ARGENZIO, 1996).

Os ácidos graxos e monoglicerídios são reesterificados para triglicerídeos dentro do epitélio. Os triglicerídeos são então associados com colesterol, ésteres de colesterol, fosfolipídios e pequenas quantidades de proteína para formar quilomícrons (BEITZ, 1996).

As secreções biliares têm as funções de fornecer uma fonte de ácidos biliares que são necessários para a digestão e absorção de gorduras, fornecer uma rota de excreção para certos metabólitos e drogas e fornecer um tampão adicional para a neutralização de íons no duodeno. Os sais biliares são sintetizados no fígado a partir do colesterol sob a ação da enzima 7α -hifroxilase. A atividade da enzima é inversamente proporcional à quantidade de sais biliares presentes. Portanto, quando

a concentração de sais biliares que perfunde o fígado cai, ocorre aumento da atividade da enzima (ARGENZIO, 1996).

2.10 ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS

Os ácidos graxos linoléico e α -linolênico são precursores dos AGPI n-6 e n-3 de cadeia mais longa, respectivamente. Estes ácidos não podendo ser biosintetizados em animais, incluindo o homem, e sendo necessários para a saúde, são considerados essenciais EFA (do inglês “essential fatty acids”) (HORNSTRA, 2001). No entanto, uma vez consumidos, os ácidos linoléico e α -linolênico podem ser alongados até cadeias de pelo menos 20 ou 22 carbonos.

O ácido linoléico pode ser metabolizado em outros ácidos n-6, incluindo os ácidos γ -linolênico, dihomo- γ -linolênico e araquidônico. O ácido α -linolênico é metabolizado em outros da série n-3, entre eles EPA e DHA.

Este processo metabólico é mediado pelas enzimas chamadas elongases e dessaturases, as quais participam na formação dos AGPI, n-6 e n-3, resultando em uma competição metabólica entre os dois grupos (SALEM, 1999), Como demonstrado na figura 2.

Um excesso de ácido linoléico vai impedir a transformação do γ -linolênico em seus derivados EPA e DHA, o mesmo acontecerá no caso contrário, com um menor consumo do ácido linoléico haverá uma diminuição da formação do ácido araquidônico. A concorrência entre os ácidos linoléico e γ -linolênico está determinada pela afinidade da enzima delta 6dessaturase por ambos ácidos graxos.

Figura 2 – Metabolização dos AGPI

Como a enzima tem maior especificidade pelos ácidos graxos ômega 3, precisará de menores quantidades destes ácidos que dos ômega 6 para produzir a mesma quantidade de produto (MADSEM et al., 1999). Isto significa que deve existir uma proporção maior de ácido linoleico que de α -linolênico. Portanto, é necessário um equilíbrio entre o aporte dos dois ácidos graxos através da dieta.

2.11 PROGESTERONA

A progesterona é um hormônio de importância primordial para a regulação do funcionamento do sistema reprodutor feminino e é produzida, principalmente, pelo

corpo lúteo, advindo da reorganização das células foliculares após o processo ovulatório.

O colesterol é o substrato utilizado pelas células luteínicas para a síntese de progesterona, a lipoproteína de alta densidade (HDL) é a principal fonte deste metabólito (GRUMMER; CARROL, 1988), por ser esta, a mais abundante no plasma e no fluido folicular (GRUMMER; CARROL, 1991).

A inflamação é acompanhada por proteólise aumentada, e inibição da protease, podendo modificar o processo inflamatório (BONTA et al., 1970)

A administração de inibidores de protease, como o inibidor de tripsina da soja e apoprotinina, tiveram supressão na reação inflamatória (SPILBERG et al., 1970; HIADOVRC et al., 1978). A ação supressora desta forma trabalhos vêm demonstrando a ação antiinflamatória que a progesterona pode exercer através do aumento da atividade de proteases e inibição de macroglobulinas, tendo isso de uma forma irreversível (LAUREL; JEPPSON, 1975).

Segundo Lewis et al. (1976) a inibição de protease endógena, teve papel de proteção a disposição de artrite-induzida em ratos, demonstrando que a progesterona inibiu a permeabilidade vascular e formação de tecidos de granulação induzido pela carragenina, esta ação antiinflamatória da progesterona pode ser responsável por uma remissão temporária de sintomas na artrite reumatoide durante a gestação, logo que o nível de progesterona no soro e tecidos são elevados.

A progesterona (P4) é o hormônio fundamental para a manutenção da prenhez (ALLEN, 2001; HAFEZ, 2004). Todos os animais domésticos necessitam da constante produção de P4 e de seus ativos metabólicos biológicos, como as 5α – dihidroprogesteronas (5α DHP), para manter adequado ambiente uterino para o desenvolvimento do feto. Diferentemente da cabra, porca, vaca e cadela, que apresentam a produção total de progesterona da gestação a partir do prolongamento da funcionalidade do corpo lúteo, a égua necessita de quatro componentes que se combinam para gerar a produção total de progesterona e progestágenos (Ex.: 5α -pregnonas) necessários à manutenção da gestação, sendo estes o corpo lúteo primário, os corpos lúteos suplementares, o alantocório e as glândulas adrenais do feto (ALLEN, 2001).

Os progestágenos são hormônios que colaboram com a manutenção da prenhez (Allen, 1993). No início da gestação eles são em sua maioria de origem

ovariana, atingindo um pico aos 25 dias de prenhez e outro em torno de 90 dias (formação dos corpos lúteos secundários). A partir dos 150 dias os progestágenos têm origem na placenta e apresentam aumento significativo nas proximidades do parto (HOLTAN et al., 1975; NETT et al., 1976; CALDAS et al., 1990).

O ensaio da progesterona sorológica também tem sido usado para verificar a eficiência da indução da ovulação, monitorar a terapêutica de reposição de progesterona e para detectar e avaliar pacientes em risco de aborto nas primeiras semanas de gestação. Por outro lado, embora os níveis de progesterona aumentem durante a gestação (HERNANDEZ et al., 1977; RADWANSKA et al., 1978; HENSLEIGH, 1979).

Em 2009, Socin et al., não observaram diferença estatística nos parâmetros sorológicos de progesterona, avaliados com a adição de semente de linhaça ($p > 0,05$) na alimentação de éguas prenhes. Os valores obtidos apresentaram compatibilidade com os valores relatados por (ALEXANDER IRVINE, 1994).

Já em experimentos realizados com vacas Holandesas avaliando fontes de ômega 6 e ômega 3, foi observado que os animais alimentados com fonte de linhaça em grão apresentaram menor concentração de progesterona (PETIT et al., 2008).

2.12 SUPLEMENTAÇÕES DE EQUINOS

Os lipídios presentes nas dietas dos equinos são altamente digestíveis, no entanto, existem diferenças na absorção dos ácidos graxos e/ou glicerídeos no intestino delgado, destacando-se os fatores como o comprimento da cadeia do ácido graxo (o aumento do número de carbonos na cadeia do ácido graxo reduz a absorção), o número de insaturação (a presença de maior número de insaturações parece favorecer a sua absorção), a ordem de distribuição do ácido graxo na molécula do glicerol, a idade do animal (os animais mais jovens possuem menor capacidade de digerir as gorduras do que os adultos), a relação ácidos graxos insaturados com ácidos graxos saturados na ração (a presença de AG insaturados favorece a absorção dos saturados), e o ponto de fusão, onde a digestibilidade é

maior em gorduras com ponto de fusão baixo, como os óleos vegetais, em relação à gordura animal saturada (MEYER, 1995).

Considerando que equinos digerem eficientemente dietas que contenham até 30% da energia digestível sob a forma de gordura, a adição de óleos vegetais ou gordura animal é um excelente meio de aumentar a energia da dieta sem aumentar o volume de alimento (MARQUESE et al., 2001).

O propósito do aumento da densidade energética na ração consiste em aumentar o consumo de energia e/ou diminuir a quantidade de alimento exigido para proporcionar as exigências energéticas aumentando o desempenho atlético, produção leiteira, eficiência reprodutiva, taxa de crescimento e manter ou aumentar o peso corporal durante o clima quente e úmido e quando as exigências energéticas são altas (LEWIS, 2000).

A energia nas dietas dos equinos é fornecida através de diferentes fontes como carboidratos não-estruturais, carboidratos estruturais, gorduras e proteínas. Os carboidratos não-estruturais são utilizados como fonte primária de energia. Entretanto, a atividade da amilase intestinal é bastante limitada na espécie equina e, pelo fato da capacidade estomacal ser bastante reduzida, o fornecimento de grandes quantidades de amido na dieta compromete a digestão no intestino delgado, aumentando o aporte de carboidratos rapidamente fermentáveis no cólon e ceco, o que pode concorrer para complicações metabólicas como endotoxemias, cólicas e laminites (NRC, 2007). A capacidade crítica para a sobrecarga da digestão dos carboidratos hidrolisáveis é de aproximadamente 0,4% do peso vivo dos eqüinos (POTTER et al., 1992).

O uso de óleo na dieta de equinos é uma boa alternativa quando se pretende aumentar a densidade energética da ração, sem o correspondente aumento no nível de ingestão de matéria seca, permitindo diminuir o percentual de carboidratos hidrolisáveis e rapidamente fermentáveis na dieta ou reduzir a quantidade total de alimento ingerido mantendo o cavalo em equilíbrio energético positivo, que é extremamente importante em cavalos de alto desempenho que não podem ingerir grande quantidade de uma dieta tradicional para satisfazer as suas necessidades energéticas (LAWRENCE, 1990, 1995; HINEY; POTTER, 1996). Além disso, Frape (2004) afirma que dietas contendo óleo, além de reduzir os distúrbios metabólicos nos equinos, promovem o metabolismo de lipídios no fígado e no músculo, bem

como não sofrem fermentação microbiana e favorecem a menor produção de CO_2 por mol de ATP gerado.

Segundo Konh et al. (1996), a inclusão de lipídios na dieta também pode favorecer o desempenho de equinos exercitados em regiões de clima quente, por reduzir o incremento calórico, visto que aproximadamente 3% a mais de calor é produzido durante a formação de ATP via oxidação da glicose, quando comparado a oxidação dos ácidos graxos. Scott et al. (1993) verificaram redução de 14% na produção de calor corporal em cavalos da raça Puro Sangue Inglês submetidos ao exercício quando suplementados com óleo nas dietas. StulleRodiek (1997) reiteraram a capacidade de redução da sobrecarga térmica quando existe a inclusão de óleo na dieta de equinos. De acordo com Duren (2000), quando se substitui 100g/Kg (10%) de óleo na dieta, a produção de calor cai de 77% para 66% da energia digestível durante o exercício, contribuindo para reduzir o estresse térmico.

O propósito do aumento da densidade energética na ração consiste em aumentar o consumo de energia e/ou diminuir a quantidade de alimento exigido para proporcionar as exigências energéticas aumentando o desempenho atlético, produção leiteira, eficiência reprodutiva, taxa de crescimento e manter ou aumentar o peso corporal durante o clima quente e úmido e quando as exigências energéticas são altas (LEWIS, 2000).

As gorduras ou óleos podem ser adicionados à ração dos equinos para reduzir a poeira; lubrificar e, conseqüentemente, diminuir o desgaste dos equipamentos nas indústrias de concentrados; como ligante para a peletização dos mesmos, e para aumento energético da dieta (POTTER et al., 1990).

O propósito do aumento da densidade energética na ração consiste em aumentar o consumo de energia e/ou reduzir a quantidade de alimento exigido para atender as exigências energéticas necessárias, melhorando o desempenho atlético, produção leiteira, eficiência reprodutiva, taxa de crescimento e manter o peso corporal durante o clima quente e úmido, quando a exigência é maior (LEWIS, 2000).

Os lipídios dietéticos, além de fornecer energia para as células, constituem a maior reserva energética corporal para crianças e recém-nascidos. Eles são componentes estruturais de todos os tecidos e são indispensáveis para a síntese das membranas celulares. Nos últimos anos, despertou-se o interesse pela

qualidade dos lipídios fornecidos na alimentação infantil, uma vez que já se sabe que este é um fator determinante no crescimento, no desenvolvimento visual e neural, e na manutenção da saúde (UAUY; CASTILLO, 2003). Assim, considera-se hoje que a seleção do lipídio dietético durante a infância em humanos tem grande importância para o crescimento e o desenvolvimento.

Nosso conhecimento atual sobre os ácidos graxos n-3 aponta sua essencialidade para o desenvolvimento neonatal. Na realidade, existem dois períodos críticos durante o desenvolvimento nos quais os ácidos graxos n-3 são extremamente importantes: o período fetal e o período que vai do nascimento até o término do desenvolvimento bioquímico completo do cérebro e da retina, que em humanos ocorre aos 2 anos de idade (CONNOR, 2000). Esses ácidos graxos são componentes estruturais das membranas dos fosfolipídios dos tecidos do corpo, estando presentes em níveis especialmente altos na retina e cérebro, nos quais o DHA constitui mais de 35% do total dos ácidos graxos (CONNOR, 2000). Exemplo típico de um tipo de fosfolipídio, presente nas membranas do cérebro e retina é a fosfatidiletanolamina, em que o DHA apresenta-se em maior quantidade. Outro fosfolipídio no qual o DHA está presente de maneira importante é a fosfatidilcolina ou lecitina (CRAWFORD, 2000).

Durante a gestação, tanto os estoques maternos quanto a ingestão dietética materna de ácidos graxos n-3 são de importância fundamental para assegurar ao neonato o fornecimento adequado de ácidos graxos n-3. Todos estes ácidos graxos poliinsaturados, incluindo DHA, são transferidos através da placenta em direção ao sangue fetal (HORNSTRA et al., 1995). Além disso, os triglicerídeos armazenados no tecido adiposo materno, contendo DHA, podem ser mobilizados, e estes ácidos graxos liberados e disponibilizados ao feto através do transporte placentário. Recentemente, Crawford (2000) sugeriu que ocorre pouca conversão, na placenta, dos precursores essenciais, linoleico e linolênico, para araquidônico (AA; C20:4 n-6) e docosahexaenóico (DHA; C22:6 n-3), respectivamente. Ademais, a análise da atividade das enzimas dessaturases, na placenta, revelou que, neste órgão, a atividade dessas enzimas apresentou-se significativamente menor em comparação às observadas nos fígados materno e fetal.

Assim, durante o período intrauterino, a placenta extrai AA e DHA seletivamente e substancialmente a partir da mãe e enriquece a circulação fetal com

estes ácidos graxos. Esta intensa captação e acumulação de DHA pelo feto significa para a mãe uma considerável redução de suas reservas de DHA, motivo pelo qual ela deve suplementar sua dieta com este ácido graxo, principalmente em casos de pequeno intervalo entre partos (AL; VAN HOUWELINGEN; HORNSTRA, 2000).

Uma característica importante do cérebro e retina em desenvolvimento é a baixa concentração de LA e LNA, geralmente menor que 2% dos ácidos graxos totais, em contraste com a maior concentração de seus produtos, AA e DHA, respectivamente (HAAG, 2003).

Por outro lado, em outros tecidos, o percentual de LA pode ser maior que 20% do total dos ácidos graxos, e esta concentração aumenta de acordo com a maior concentração deste ácido graxo na dieta. Uma vez que grandes quantidades de AA e DHA são incorporadas no sistema nervoso durante o desenvolvimento, uma importante questão em estudo atualmente trata do modo pelo qual o cérebro e a retina adquiririam estes ácidos graxos. Ou seja, seria pela captação e posterior metabolismo dos precursores LA e LNA, ou pela captação direta dos metabólitos AA e DHA da circulação? Estudos em animais demonstram que todas as enzimas necessárias para a síntese de AA e DHA estão presentes no fígado e no cérebro (INNIS, 2000). Outros estudos evidenciaram que tecidos como coração e rins podem apresentar menor atividade de algumas dessaturases (HAGVE; SPRECHER, 1989; SPRECHER et al., 1994), portanto estes tecidos dependem da captação de AA e DHA da circulação para manter os níveis adequados destes ácidos graxos nas membranas fosfolipídicas. Estudos com eritrócitos de humanos prematuros revelaram que a atividade das enzimas envolvidas na dessaturação é baixa, principalmente a Δ^4 dessaturase, responsável pela conversão do EPA para DHA (CARLSON et al., 1987).

Mais recentemente, estudos com isótopos estáveis demonstraram que tanto os recém-nascidos a termo como recém-nascidos pré-termo são capazes de converter LA para AA e LNA para DHA, de forma similar à que ocorre com animais (DEMMELMAIR, 1997).

Entretanto, os dados derivados destes estudos com isótopos estáveis envolvem apenas análise em plasma, podendo ou não refletir o mesmo processo de dessaturação e alongamento que está ocorrendo nos órgãos, como, por exemplo, no cérebro (INNIS, 2000). Portanto, até o momento não está totalmente esclarecido se

a taxa de síntese de AA e DHA em neonatos é suficiente para satisfazer as necessidades dos tecidos em desenvolvimento.

Nos últimos 25 anos, estudos realizados sobre a função dos ácidos graxos n-3, particularmente DHA, em ratos e macacos, indicam que a restrição dietética desses compostos, durante a gestação e a lactação interfere, com a função visual normal e pode até mesmo comprometer o processo de aprendizagem dos lactentes (LEES; KAREL, 1990). Carlson et al. (1990) evidenciaram, em prematuros, correlação significativa entre os testes de inteligência e os níveis de DHA nos eritrócitos.

Quando a ingestão dietética de ácidos graxos n-3, incluindo DHA e α -linolênico, é restrita durante a gestação e a lactação, a incorporação de DHA nas membranas do cérebro e da retina diminui (CARLSON, 1997). A diminuição do DHA devido a deficiência dietética de ácidos graxos n-3 é acompanhada por um aumento compensatório na concentração do ácido graxo docosapentaenoico ou ácido "osbond" (DPA, 22:5 n-6) em vários tecidos, podendo este último servir como indicador de deficiência dietética de ácidos graxos n-3 (UAUY, 1990). A deficiência dietética de DHA também pode ser confirmada através dos testes de amplitude do eletroretinograma e de exames de acuidade visual (BIRCH et al., 1992).

Em estudos em macacos alimentados com dieta restrita em ácido graxo n-3, e que receberam suplementação dietética com óleo de peixe, observou-se a normalização dos níveis de DHA nos eritrócitos e nos tecidos da retina e do cérebro. No entanto, o eletroretinograma permaneceu alterado (CONNOR et al., 1990). Estes estudos mostram que a composição da retina e do cérebro é influenciada pela concentração de DHA dietético, e que a deficiência deste ácido graxo é acompanhada por alterações funcionais que podem ser irreversíveis.

Portanto estudos em humanos denotam que é crucial importância assegurar quantidade suficiente de ácidos graxos poliinsaturados n-3 para gestantes, lactantes e crianças, em especial para prematuros.

Dada a importância dos ácidos graxos da série n-3 para o cérebro e a retina, é importante saber em que teores eles devem ser oferecidos, respeitando-se as particularidades de cada caso. Neste sentido, muito progresso já foi alcançado nesta área, mas muitas questões ainda restam para serem elucidadas.

Durante o último trimestre da gestação, a necessidade dos ácidos graxo araquidônico e DHA estão especialmente aumentada no feto, para atender à síntese acelerada dos tecidos cerebrais (AL; VAN HOUWELINGEN; HORNSTRA, 2000). Para obter esses ácidos graxos, o feto depende primariamente da transferência placentária e, portanto, do suprimento destes pela mãe. Diferentes estudos mostram a dificuldade no estabelecimento da quantidade adequada de PUFA n-3 a ser ingerida pela mãe durante a gestação (AL; VAN HOUWELINGEN; HORNSTRA, 2000; MAKRIDE; GIBSON, 2000), devido à grande capacidade corporal materna de estocar esses ácidos graxos, bem como à capacidade de síntese de AA e DHA a partir do ácido α -linolênico. De qualquer forma, seria prudente o consumo materno regular de alimentos que contenham DHA, como, por exemplo, a ingestão de peixes de 2 a 3 vezes por semana durante a gestação (SIMOPOULOS, 1990).

Sabe-se que as famílias de ácidos graxos (n-3), (n-6), (n-7), (n-9) competem entre si pelas vias metabólicas de alongamento e desnaturação, uma vez que compartilham dos mesmos sistemas enzimáticos (CALDER, 2001). Assim, é importante mencionar que há necessidade de equilíbrio entre os integrantes das séries dos ácidos graxos essenciais, o que implica em alguma relação ômega n-6: ômega 3 (SIMOPOULOS, 2002). Embora as exigências quantitativas para os ácidos graxos ômega 3 ainda não tenham sido estabelecidas, admite-se que a relação possa variar de 5:1 a 10:1 (SIMOPOULOS, 2002). Assim, se o ácido linoleico representar 6 a 8% da ingestão calórica da dieta usual, seria recomendado consumir 1% dessas calorias sob forma de ácidos graxos omega-3.

A lactação também tem sido reconhecida como uma etapa no período reprodutivo de grande demanda metabólica tecidual materna, aumentando os requerimentos de proteína e energia para a adequada produção do leite (MAKRIDE et al., 2000).

De forma similar ao que ocorre na gestação, estabelecer os requerimentos de PUFA n-3 durante a lactação é complicado, devido a capacidade da mãe em prove-los através dos seus estoques e por síntese endógena. Assim, estima-se que para alcançar balanço positivo de DHA na lactação, vários fatores devem ser considerados, juntamente com a amenorreia locacional, que seria um fator poupador de DHA neste período (MAKRIDE; GIBSON, 2000).

Na prática, para assegurar quantidade adequada de DHA recomenda-se o consumo de ômega 3. Para o lactente, o leite humano, que contém EPA, DHA e α -linolênico, continua sendo considerado o alimento ideal para satisfazer suas necessidades de AGPI n-3 durante o período pós-natal (MAKRIDE; GIBSON, 2000).

O metabolismo dos ácidos graxos do ponto de vista do desequilíbrio energético em equinos, especialmente no início do último trimestre de gravidez e até 8-10 semanas de período de lactação, não está totalmente elucidada. Em trabalhos onde a suplementação de éguas prenhas no terço final da gestação com óleos vegetais ricos em ácidos oleicos, linoleicos e linolênicos, Mocholet al. (2009), concluíram que o fornecimento de óleo vegetal pode constituir um importante componente de profilaxia contra o saldo de energia negativo, evitando transtornos em éguas durante o período da gestação e início da lactação.

Com relação ao perfil de ácidos graxos, os mesmos autores concluíram que as diferenças entre as proporções de ácidos graxos no sangue jugular ao nascimento e às 48 horas pós-parto podem ser explicadas pelo fato de que durante a gestação, os ácidos graxos de cadeia longa, fornecidos pela égua atravessam a placenta e o fígado, onde são metabolizados e incorporados, preferencialmente, para o cérebro. Após o nascimento, os ácidos graxos de cadeia longos fornecidos pelo leite passam livremente pelo fígado, porque eles são transportados na linfa, portanto, se opõem a qualquer metabolização hepática antes da utilização pelos tecidos.

3 OBJETIVOS

Objetivou-se verificar o efeito da suplementação dietética com fontes de ácidos graxos ômega 3 e 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros.

4 HIPÓTESE

- Que a suplementação com fontes ácidos graxos ômega 3 e ômega 6, podem alterar a composição do colostro e do leite das éguas.
- Que a suplementação de éguas prenhes com ácidos graxos ômega 3 e ômega 6, podem melhorar a transferência imunitária para os potros, com mudança nos componentes imunes.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 LOCAL

O experimento foi desenvolvido nas instalações do Laboratório de Pesquisas em Alimentação e Fisiologia do Exercício em Equinos (LABEQUI), pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), na cidade de Pirassununga/SP.

5.2 ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Para a realização do experimento foram utilizadas 18 éguas prenhes, sem raça definida com peso médio inicial de 521 ± 56 Kg. Os animais foram mantidos em piquetes sem forragem. As éguas foram imunizadas com vacinas comerciais contra tétano, encefalomielite viral equina e influenza (Lexington-8® no 10º mês de gestação e Herpes Horse nos meses 5, 6 e 8 e vermifugadas periodicamente.

Os partos ocorreram entre os meses de outubro de 2010 a janeiro de 2011.

5.3 DELINEAMENTO E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e seis repetições por tratamento com medidas repetidas no tempo.

5.3.1 Dietas

Foi adotado o consumo diário individual de 2% do peso corporal, em matéria seca, sendo 50% concentrado e 50% volumoso, divididos em duas refeições diárias com intervalos constantes as 7:00 h e 16:30 h, sendo a dieta total dividida em (feno + concentrado + fonte de óleo) dividido em partes iguais entre os dois horários. O concentrado foi fornecido em comedouros individuais acrescido de 0,05% do peso corporal de fonte de óleo, em sistema tipo “lanchonete”, enquanto que o feno foi distribuído em manjedouras no piquete, sem forragem. As dietas foram compostas de feno de gramínea *Cynodonsp*, variedade tifton - 85 e concentrado comercial (Tabelas 1), além de sal mineral e água *ad libitum*, seguindo as recomendações mínimas estabelecidas no Nutrient Requirements of Horse – NRC (2007).

A dieta dos potros foi composta pelo aleitamento materno a crescido de um concentrado comercial para potros (Tabelas 2), em creep-feeding, onde foram oferecidos aos potros a partir dos 10 dias de nascimento, variando de 0,25% do peso corpóreo no primeiro mês a 0,5% do peso corpóreo após trinta dias de vida.

Tabela 1 – Composição bromatológica dos componentes da dieta das éguas e potros

Itens	Concentrado Volumoso	
	Concentrado	Volumoso
PB	20%	11,62%
EE	3%	2,22%
FDA	94%	26,37%
Fósforo	6g	0,34g
Cálcio	12 g	0,1g
Mat. Fibrosa	7%	63,10%
Mat. Mineral	8%	8,40%

Tabelas 2 – Composição bromatológica dos componentes do concentrado dos potros

Itens	Concentrado
PB	20%
EE	7%
FDA	70%
Fósforo	4000 mg
Cálcio	16 g
Mat. Fibrosa	4,50%
Mat. Mineral	9%

5.3.2 Dietas experimentais

As éguas foram divididas em três grupos de 6 animais, sendo um grupo controle sem o recebimento da fonte de óleo e dois grupos recebendo óleo no concentrado sendo um Óleo de Linhaça, como fonte rica em ômega 3 e Óleo de Soja como fonte rica em ômega 6, assim constituídos:

Grupo I – Controle – 6 reprodutoras utilizadas, não suplementadas com óleo;

Grupo II – Óleo de Soja - 6 reprodutoras, suplementadas com 0,05% do P.V./dia com fonte de ômega 6 (óleo de soja) como fonte rica em ômega 6, sendo a principal fonte de ômega-6, adicionado ao concentrado individualmente, durante os três últimos meses de gestação e dois meses iniciais de lactação;

Grupo III – Óleo de Linhaça - 6 reprodutoras, suplementadas com 0,05% do P.V./dia com fonte de ômega 3 (óleo de linhaça) como fonte rica em ômega 3, sendo uma principal fonte ômega-3 e ômega-6, adicionado ao concentrado individualmente, durante os três últimos meses de gestação e dois meses iniciais de lactação;

A divisão dos grupos das reprodutoras foi baseada nas datas de previsão de partos, portanto a partir do mês de agosto foi iniciada a suplementação. As éguas

que se aproximarem da data prevista do parto, foram transferidas para piquete maternidade, onde foram observadas.

5.3.3 Pesos

Os animais foram avaliados para controle do peso corporal em balança digital (Toledo® modelo MGR-3000 júnior) a cada 15 dias, sendo considerados os tempos D0 (início do experimento), D15, D30, D45, D60, D75, D90, D105, D120 e D135 dias após o início do experimento, respectivamente.

5.3.4 Peso e avaliação dos potros

Os animais foram avaliados após o nascimento, semanalmente até completarem 60 dias, como forma adicional de avaliação da higidez.

A avaliação consistiu em pesagem em balança digital (Toledo® modelo MGR-3000 júnior), medição do perímetro torácico, perímetro de canela através de fita métrica.

A medição de altura foi feita por meio da cernelha, com auxílio do hipometro.

6 METODOLOGIA DE COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

6.1 COLHEITA DE AMOSTRAS PLASMÁTICAS E SOROLÓGICAS

Foram colhidas amostras, plasmáticas e sorológicas das éguas nos dias: D0, D15, D30, D45, D60. Para os potros foram colhidas amostras plasmáticas e sorológicas, nos dias D0 (imediatamente após o nascimento), D15 dias de vida, D30 dias de vida, D45 dias de vida, D60 dias de vida.

O sangue foi colhido através de punção jugular utilizando agulhas 25 x 0,8 mm e tubos em sistema a vácuo (B-D Vacutainer®) sem anticoagulante para amostras destinadas à obtenção de soro e com anticoagulante (K_3 EDTA) para amostras destinadas à obtenção de plasma.

Os tubos contendo EDTA e tubo sem anticoagulante foram centrifugados a 4000RPM durante cinco minutos, sendo realizada a separação do plasma ou soro, de acordo com a amostra, sendo acondicionado em microtubos de 2mL e congelados a -20°C para análise.

6.1.1 Proliferação linfocitária

Para as análises de proliferação linfocitária tanto das éguas como dos potros, foram colhidos amostras sanguíneas em tubos em sistema a vácuo (B-D Vacutainer®) contendo heparina sódica, para obtenção de plasma, nos dias 7 e 30 após o parto (D7 e D30). E imediatamente após a coleta em uma capela estéril foi diluído o plasma de cada animal em uma proporção de 1:1 em soro fisiológico em 2 tubos tipo falcon de 50mL. O plasma diluído foi adicionado a metade do volume de Ficoll. As amostras foram centrifugadas em centrífuga Eppendorf® 5810-R por 20 minutos a 6º Celsius na velocidade de 1800 rpm (800g), com 3 minutos de aceleração e 4 minutos de desaceleração. Após a centrifugação, com um pipeta Pasteur foi aspirado o anel de leucócitos para um tubo tipo falcon de 50mL, neste mesmo tubo foi acrescido soro fisiológico até 50mL, onde foi centrifugado

novamente por 10 minutos a uma temperatura de 6° Celsius a 1200rpm com 3 minutos de aceleração e 3 minutos de desaceleração. Foi descartado o líquido e resuspenso o pellet em 10 mL de soro fisiológico, foi retirada uma alíquota de 100µL em um tubo tipo eppendorf de 2mL. Em outro tubo tipo eppendorf de 2mL, foi retirada uma alíquota de 100µL e feita uma diluição de 1:1 em Azul de Trypan. Enquanto as células foram centrifugadas foi calculado as células com Azul de Trypan em câmara de newbauer:

[Alíquota] = média de células / quadrante da câmara $\times 10^3 \times 10$.

Com a alíquota foi retirada em um volume total de 10mL o volume de resuspensão foi calculado da seguinte forma:

C.V. = C'.V'. onde [Alíquota] $\times 10 = 5 \times 10^6$ células/ mL de volume de soro fetal bovino (SFB).

Após os cálculos estimativos foi resuspenso o pellet em soro fetal bovino, acrescido de 1 mL no tubo tipo eppendorf de 2mL, acrescido de 100µL de DMSO.

Após a separação das células e o ajuste do número de células, os linfócitos foram corados com o corante *carboxi fluorescein succinimidyl ester* (CFSE) (Molecular Probes-Invitrogen, Eugene, OR, USA). A suspensão celular foi distribuída, num volume de 200 µL/poço, em placas de 96 poços (2×10^6 células/poço) e cultivada com extrato total de parede da bactéria *Rhodococcus equi* (APTX) em diferentes concentrações, Con-A (5,0 µg/mL) (Sigma, St, Louis, MO, USA) ou somente meio de cultura por 6 dias a 37°C na presença de 5% de CO₂. As amostras foram submetidas à análise no citômetro de fluxo (FACS Calibur, Becton, Dickinson and Company, San Jose, CA, USA). Os dados foram analisados pelo programa Cell Quest Pro Software (Becton, Dickinson and Company, San Jose, CA, USA), e a linfoproliferação determinada segundo o decaimento da fluorescência verde do reagente CFSE (ASQUITH et al., 2003).

6.1.2 Ensaio imunoenzimático (ELISA) para determinação da concentração de imunoglobulinas séricas

Visando determinar a concentração de IgA, IgM, IgGa e IgGb contidas no soro dos potros nos dias 0, 15, 30, 45 e 60 de vida, os mesmos foram submetidos ao ELISA.

Placas de poliestireno de 96 poços (NUNC, Inc. Naperville USA) foram incubadas com o anticorpo de interesse (Bethyl Laboratories INC, Montgomery, Texas, USA), na concentração de 1,0 µg por poço. A diluição foi feita em tampão carbonato de sódio 0,2 M, pH 9,6 (50 µL/poço). Após 24 horas de incubação a 4°C, o conteúdo líquido de cada poço foi removido através de lavagens sucessivas com PBS contendo 0,05% de Tween-20 (PBS-T) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA), seguindo-se bloqueio (100 µL/poço) com gelatina a 3% diluída em PBS-T, por 1 hora a 37°C. As placas foram lavadas cinco vezes com PBS-T e incubadas com as amostras de soro em diferentes diluições na solução de amostra, por 2 horas a 37°C. Após cinco lavagens com PBS-T, seguiu-se incubação com anticorpos anti-isotipos de imunoglobulinas de eqüinos conjugados a peroxidase (Bethyl Laboratories INC, Montgomery, Texas, USA). Após 1 hora de incubação a 37°C, os poços foram lavados cinco vezes com PBS-T e em seguida a reação antígeno-anticorpo foi revelada pela adição de 100 µL/poço da solução reveladora [peróxido de hidrogênio 0,1% (30 vol, 19 µL) (Merck S.A., Rio de Janeiro, Br), ortofenilenodiamina (5 mg), ácido cítrico 0,1 M (3 mL), fosfato de sódio 0,2 M (3,2 mL) pH 5,5 e água destilada (6,25 mL)], com incubação por 10 minutos ao abrigo da luz. A reação enzimática foi bloqueada pela adição de 50 µL de ácido sulfúrico 2 M. A leitura de absorbância foi feita em comprimento de onda de 490 nm em leitor automático de ELISA (Multiskan MMC/340 P, Version 2.20).

6.1.3 Progesterona

Para as análises de progesterona foram colhidas mostras plasmáticas em sistema a vácuo (B-D Vacutainer®) com anticoagulante (K₃ EDTA), nos dias D30, D60, D90 antes do parto. Sendo feito uma curva em cada dia de coleta com cinco tempos com intervalo de 1 hora sendo iniciando às 7 horas da manhã (T7), T8, T9, T10 e T11.

As amostras foram imediatamente centrifugadas a 4000RPM durante cinco minutos, sendo realizada a separação do plasma, sendo acondicionado em microtubos de 2 mL e congelados a -20°C para análise.

Foi utilizado kit comercial Coat-A-Count, utilizando a técnica de radioimunoensaio fase sólida, através da leitora PERKIN ELMER modelo COBRA II AUTO-GAMA. O procedimento da Progesterona Coat-A-Count consiste, no qual a Progesterona marcada com ^{125}I compete por um período fixo de tempo com a Progesterona da amostra do paciente para os sítios do anticorpo.

Em razão de o anticorpo estar imobilizado na parede do tubo de polipropileno, uma simples decantação do sobrenadante é suficiente para terminar a competição e isolar a fracção ligada ao anticorpo de Progesterona radio marcada. Contando-se o tubo em um contador gama, irá gerar um número, o qual converte-se pela curva de calibração na medida de Progesterona presente na amostra.

6.2 COLETA DE LEITE

Para análise microbiológica, Composição do leite, Contagem de células somáticas, características físico-químicas do leite e quantificação de imunoglobulinas no leite, foram colhidas amostras da primeira (S1) como sendo o colostro até a oitava (S8) semanas de lactação.

6.2.1 Análise microbiológica

Para o procedimento de isolamento e identificação de patógenos foi utilizada a metodologia proposta pelo *National Mastitis Council* (NMC, 2004). As amostras de leite cru, de cada teto mamário foram transportadas em caixas de isopor com gelo (à 4,5°C), para o Laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (VNP-FMVZ/USP).

No laboratório, para o isolamento primário de microrganismos, foi utilizado o meio de cultura Agar Sangue (5% de sangue bovino) em uma placa de Petri descartável estéril (90x15mm), onde foram inoculadas amostras de leite com auxílio de alça de platina calibrada, para estriamento. As placas foram incubadas a uma temperatura de 37°C por 24 horas e 48 horas. Decorrido o tempo de incubação, o crescimento microbiano foi avaliado segundo as características morfológicas das culturas bacterianas (cor, aspecto, tamanho e presença de hemólise).

Foram utilizadas provas bioquímicas para identificação das bactérias, como coloração de Gram, hidróxido de potássio (KOH), catalase, coagulase, Camp, esculina, indol, citrato, VM/VP. Os patógenos foram classificados, como descrito, pelo National Mastitis Council: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcusuberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactae*; cepas Gram-negativas (*Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*; *Enterobacter sp.*, *Salmonella sp.*, *Proteus sp.*), *Staphylococcus* coagulase negativo, *Corynebacterium sp.*

6.2.2 Composição, CCS, Características físico-químicas do leite

Foram coletadas amostras para a determinação da composição (gordura, proteína bruta, caseína, lactose e sólidos totais) e contagem de células somáticas do leite.

As amostras foram coletadas em frascos plásticos (20 mL) contendo conservante bronopol e enviadas para análise no Laboratório Clínica do Leite – Departamento de Produção Animal da ESALQ-USP (Piracicaba-SP).

As concentrações de gordura, lactose, sólidos totais, proteína bruta e caseína foram analisadas por absorção infravermelha por meio de um equipamento analisador MilkoScan™ FT+ (FOSS, 2008). A contagem eletrônica de células somáticas foi realizada por citometria de fluxo (Fossomatic™ FC, FOSS, 2008).

6.2.3 Ensaio imunoenzimático (ELISA) para determinação da concentração de imunoglobulinas no leite

Para a obtenção de soro lácteo descaseinado, foi utilizada um volume de 2ml de colostro de cada animal foi acrescido de 0,1% de acida sódica e a mistura foi centrifugada a 2000 rpm por 1 hora a 4°C para descartar o lipídeo. Para descaseinação o colostro foi diluído em NaCl 0,15 M v/v e acidificado com ácido acético glacial até alcançar pH 4.6 (ponto isoelétrico de caseína). A mistura foi centrifugada a 12.000 rpm por 15 minutos e a caseína contida no soro lácteo precipitada. O sobrenadante constituiu o soro lácteo descaseinado (soro lácteo). Para finalizar, o pH foi elevado a 7.2 com PBS 10X.

Após estes procedimentos foi feita a precipitação de proteínas com sulfato de amônio, onde imediatamente antes do uso, o pH de uma solução saturada de sulfato de amônio foi ajustado a 7.8 com hidróxido de sódio 2N. O soro lácteo foi colocado sob agitação constante e a solução de sulfato de amônio, adicionada gota-a-gota (vol/vol). A suspensão permaneceu sob agitação a 4 °C, durante uma noite. Foi centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos e o primeiro sobrenadante desprezado. O precipitado foi ressuspenso em PBS para o volume inicial do soro. Foram feitas mais duas precipitações e o último precipitado, após ser ressuspenço em PBS, foi ultradiafiltrado em sistema Amicon, utilizando membrana YM 10 (Amicon Div. W. R. Grace CO. Danvers, MA, USA), para remoção do sulfato de amônio.

Para a precipitação das proteínas com sulfato de amônio, imediatamente antes do uso, o pH de uma solução saturada de sulfato de amônio foi ajustado a 7.8 com hidróxido de sódio 2N. O soro lácteo foi colocado sob agitação constante e a solução de sulfato de amônio, adicionada gota-a-gota (vol/vol). A suspensão permaneceu sob agitação a 4 °C, durante uma noite. Foi centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos e o primeiro sobrenadante desprezado. O precipitado foi ressuspenso em PBS para o volume inicial do soro. Foram feitas mais duas precipitações e o último precipitado, após ser ressuspenço em PBS, foi ultradiafiltrado em sistema Amicon, utilizando membrana YM 10 (Amicon Div. W. R. Grace CO. Danvers, MA, USA), para remoção do sulfato de amônio.

Visando determinar a concentração de IgA, IgM, IgGa e IgGb contidas no soro lácteo provenientes do colostro eqüino, os mesmos foram submetidas ao ELISA. Placas de poliestireno de 96 poços (NUNC, Inc. Naperville USA) foram incubadas com o anticorpo de interesse (Bethyl Laboratories INC, Montgomery, Texas, USA), na concentração de 1,0 µg por poço. A diluição foi feita em tampão carbonato de sódio 0,2 M, pH 9,6 (50 µL/poço). Após 24 horas de incubação a 4°C, o conteúdo líquido de cada poço foi removido através de lavagens sucessivas com PBS contendo 0,05% de Tween-20 (PBS-T) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA), seguindo-se bloqueio (100 µL/poço) com gelatina a 3% diluída em PBS-T, por 1 hora a 37°C. As placas foram lavadas cinco vezes com PBS-T e incubadas com as amostras de soro em diferentes diluições na solução de amostra, por 2 horas a 37°C. Após cinco lavagens com PBS-T, seguiu-se incubação com anticorpos anti-isotipos de imunoglobulinas de equinos conjugados a peroxidase (Bethyl Laboratories INC, Montgomery, Texas, USA). Após 1 hora de incubação a 37°C, os poços foram lavados cinco vezes com PBS-T e em seguida a reação antígeno-anticorpo foi revelada pela adição de 100 µL/poço da solução reveladora [peróxido de hidrogênio 0,1% (30 vol, 19 µL) (Merck S.A., Rio de Janeiro, Br), ortofenilenodiamina (5 mg), ácido cítrico 0,1 M (3 mL), fosfato de sódio 0,2 M (3,2 mL) pH 5,5 e água destilada (6,25 mL)], com incubação por 10 minutos ao abrigo da luz. A reação enzimática foi bloqueada pela adição de 50 µL de ácido sulfúrico 2 M. A leitura de absorbância foi feita em comprimento de onda de 490 nm em leitor automático de ELISA (Multiskan MMC/340 P, Version 2.20).

7 METODOLOGIAS ESTATÍSTICAS

7.1 QUALIDADE DE LEITE DE ÉGUAS

Os animais foram agrupados aleatoriamente nos tratamentos com delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram analisados pelo PROC MIXED do SAS v 9.1 (SAS Institute Inc.), por contrastes ortogonais, onde C1 (compara a dieta controle com as dietas contendo óleo de soja e óleo de linhaça), C2 (comparando as dietas de óleo de soja e óleo de linhaça) e estes foram obtidos a partir LS means nível de significância que foi de 5 % ($p = 0,05$).

7.2 PROLIFERAÇÃO LINFOCITÁRIA

Os animais foram agrupados aleatoriamente nos tratamentos com delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram analisados pelo PROC MIXED do SAS v 9.1 (SAS Institute Inc.), por contrastes ortogonais, onde C1 (compara a dieta controle com as dietas contendo óleo de soja e óleo de linhaça), C2 (comparando as dietas de óleo de soja e óleo de linhaça) e estes foram obtidos a partir LS means nível de significância que foi de 5 % ($p = 0,05$).

7.3 DESENVOLVIMENTO DE POTROS

Os potros foram divididos de acordo com os correspondentes grupos tratamento das éguas. Os dados foram analisados pelo PROC MIXED do SAS v 9.1 (SAS Institute Inc.), as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey e teste F, entre os tempos ao nível de significância que foi de 5 % ($p = 0,05$).

7.4 PROGESTERONA

Os animais foram agrupados aleatoriamente nos tratamentos com delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram analisados para a progesterona por meio do comando PROC MIXED do SAS v 9.1 (SAS Institute Inc.), por contrastes ortogonais, onde: C1 compara a dieta controle com as dietas contendo óleo de soja e óleo de linhaça; e C2 compara as dietas de óleo de soja e óleo de linhaça. Os dados foram obtidos a partir LS means ao nível de significância de 5 % ($P=0,05$).

8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.1 GANHO DE PESO PRÉ E PÓS PARTO

Foi observado neste trabalho que no período pós parto, as éguas mantiveram o seu peso pós parto demonstrando que estavam recebendo uma dieta adequada para o seu suprimento energético. Demonstrando que não houve balanço energético negativo como demonstrado na tabela 3 e figura 4, corroborando com Mochol et al. (2009).

Tabela 3 – Valores médios de pesagem das éguas no pré e pós-parto

Tempo	Pré-parto		
	Controle	Linhaça	Soja
D0	502,28 ±63,02	543,66 ±27,4	549,83 ±77,12
D15	514,14 ±72,16	572,33 ±31,83	563,16 ±81,41
D30	525,85 ±76,32	594,16 ±44,33	584,83 ±78,32
D45	539,85 ±77,8	603,33 ±39,23	598,66 ±75,7
D60	527,33 ±60,51	610,66 ±41,37	599,83 ±69,77

Tempo	Pós-parto		
	Controle	Linhaça	Soja
D15	491,85 ±65,29	538,6 ±13,81	561,5 ±65,9
D30	492,71 ±66,35	539,4 ±14,98	548,16 ±62,29
D45	495 ±66,75	547,2 ±22,92	548,66 ±68,74
D60	491,71 ±70	549,8 ±29,53	547,33 ±69,45

Figura 3 – Curva de ganho de peso no pré-parto e pós-parto

Uma das falhas mais comuns cometidas na criação de equinos, tanto pelos proprietários como pelos próprios nutricionistas, é a de subalimentar as fêmeas durante a lactação. Torna-se indispensável, atender às necessidades através dos alimentos e seus nutrientes, a começar pelo provimento energético, aumentando a eficiência reprodutiva e diminuindo a predisposição a várias enfermidades como assegura Martin, Mcmeniam e Dowset (1992).

Entretanto a manutenção e as condições de produção da lactante e do potro não são suas únicas necessidades a serem atendidas através das fontes energéticas. No entanto, poucos estudos foram realizados a respeito das diferentes fontes de suplementação energética para éguas na fase de lactação.

8.2 QUALIDADE DE LEITE DE ÉGUAS

Não foi observado efeito da inclusão de óleos (soja e linhaça) sobre a CCS e extrato seco desengordurado (ESD) no leite. Da mesma forma, não foi observado efeito dos contrastes para as variáveis estudadas, com exceção do C1 para sólidos totais (Tabela 4). A não presença do efeito da inclusão de óleos sobre a CCS deve-se a maior incidência de infecções intramamárias por agentes secundários da mastite (*Corynebacterium* spp e *Staphylococcus* coagulase negativa) que não causam aumentos significativos na CCS (Santos e Fonseca, 2006) e pela baixa CCS

média observada entre os tratamentos, mesmo em infecções por agentes primários (*S. aureus* e *Streptococcus* spp.) (Tabela 4).

Com relação aos constituintes do leite as médias das dietas controle, óleo de soja e óleo de linhaça foram respectivamente: 1,39, 1,27 e 1,17 para a gordura; 2,22, 2,26 e 2,15 para proteína; 6,24, 6,27 e 6,38 para lactose; e 10,77, 10,60 e 10,39 para sólidos totais. No entanto, foi observado efeito de tempo (semanas) sobre as variáveis de gordura ($P<0,05$), proteína ($P<0,0001$), lactose ($P<0,0001$) e sólidos totais ($P<0,01$). Para a variável sólidos totais observou-se efeito do tratamento ($P<0,05$), da semana ($P<0,01$) e da inclusão de óleo na dieta ($P<0,05$) (Tabela4).

Tabela 4 – Composição do leite de éguas suplementadas com óleo de soja e óleo de linhaça

Item	Dietas experimentais ^a			EPM ^b	Valor de P				
	C	OS	OL		Trat ^c	Semana	T*S ^d	C1 ^e	C2 ^f
CCS (log ₁₀) ^g	1,26	1,25	1,20	0,032	0,8492	0,3020	0,8839	0,6872	0,6779
Gordura (%)	1,39	1,27	1,17	0,063	0,3980	0,0491*	0,5614	0,2250	0,5125
Proteína (%)	2,22	2,26	2,15	0,028	0,3199	<.0001***	0,7086	0,7928	0,1417
Lactose (%)	6,24	6,27	6,38	0,031	0,3524	<.0001***	0,1541	0,3118	0,2800
ST (%) ^h	10,77	10,60	10,39	0,528	0,0239*	0,004**	0,6457	0,0171*	0,1102
ESD (%) ⁱ	9,40	9,34	11,42	0,616	0,3215	0,3563	0,3168	0,4447	0,1844

¹Controle (C); ²Óleo de soja (OS); ³Óleo de linhaça (OL); C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, óleo linhaça); C2= óleo de soja versus óleo de linhaça; ^bErro padrão da média; *($P<0,05$). **($P<0,01$); ***($P<0,001$).

Os resultados observados para gordura e proteína foram superiores aos encontrados por Caroprese et al. (2006) (1,85 e 1,06, respectivamente), enquanto o teor de lactose foi inferior ao encontrado por estes autores (7,04%). O teor inferior de lactose observado neste estudo pode ser explicado pelo menor período de coletas, já que este componente aumenta com o avanço da lactação. Outro fato que pode justificar as diferenças nos componentes do leite é a variação que pode ocorrer entre as raças (PINTO et al., 2001). O leite de égua é caracterizado por baixos teores de

gordura, os resultados encontrados neste trabalho encontram-se dentro da faixa normal (1 a 2%) proposta por Doreau e Martuzzi (2006).

Tanto os teores de gordura quanto de lactose demonstraram redução ao passar do tempo (semanas), enquanto o teor de lactose aumentou com o tempo, no entanto não foi observado efeito da inclusão de óleos sobre estas variáveis, de acordo com a fisiologia da lactação das éguas (DOREAU; MARTUZZI, 2006; MARTUZZI; DOREAU, 2006). Em dietas com alto teor energético, ocorre uma redução significativa no teor de gordura do leite devido à redução dos precursores responsáveis pela síntese de novo na glândula mamária (DUREAU et al., 1992) e redução nos teores de proteína bruta do leite (MARTUZZI; DOREAU, 2006). Isto pode explicar o efeito ($P < 0,05$) da inclusão de óleos sobre os sólidos totais do leite.

De acordo com a (Tabela 5), foram analisados 274 tetos onde 89,42% foram negativos e 10,58% positivos. Sendo *Staphylococcus aureus* (*Staph. aureus*) representando 1,46% dos tetos, como cultura positiva 13,79%. O *Bacillus* spp., representando 1,09 dos tetos, como cultura positiva 10,34%. O *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), representando 2,19% dos tetos, como cultura positiva 20,69%. O *Corynebacterium* sp, representando 3,65% dos tetos, como cultura positiva 34,48%. O *Streptococcus uberis* (*Strep. Uberis*), representando 0,73% dos tetos, como cultura positiva 6,90%. O *Streptococcus dysgalactiae* (*Strep. dysgalactiae*), representando 1,82% dos tetos, como cultura positiva 17,24%. O *Streptococcus agalactiae* (*Strep. agalactiae*), representando 0,36% dos tetos, como cultura positiva 3,45.

Os patógenos da mastite podem ser divididos em patógenos primários (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis* e agentes ambientais), e patógenos secundários (*Staphylococcus coagulase negativa* e *Corynebacterium* spp.).

Patógenos primários: Alta contagiosidade, aumentos consideráveis da CCS (> 200.000 cells/mL), lesões nos tecidos mamários, causadores de mastites clínicas; Patógenos secundários: Podem ou não ser contagiosos, aumentos moderados da CCS, pouca ou nenhuma agressão ao tecido mamário, podem causar casos de mastite clínica moderada (BLOWEY; EDMONDSON, 2010).

Tabela 5 - Prevalência de agentes causadores de mastite nas éguas dos grupos controle (C), e suplementadas com óleo de soja (OS) e óleo de linhaça (OL) durante o período experimental

Microrganismo	Tratamentos				TETOS (%)	CULTURA POS. (%)
	C	OS	OL	TOTAL		
Tetos analisados	103	91	80	274		
Cult. Neg. (n)	94	83	68	245	89,42	
Cult. Pos. (n)	9	8	12	29	10,58	
<i>Staph. aureus</i>	2	0	2	4	1,46	13,79
<i>Bacillus spp.</i>	0	2	1	3	1,09	10,34
SCN ^a	1	2	3	6	2,19	20,69
<i>Corynebacterium</i> <i>sp.</i>	4	4	2	10	3,65	34,48
<i>Strep. uberis</i>	0	1	1	2	0,73	6,90
<i>Strep.</i> <i>dysgalactiae</i>	1	0	4	5	1,82	17,24
<i>Strep. agalactiae</i>	1	0	0	1	0,36	3,45

^aSCN = *Staphylococcus* coagulase negativa.

8.3 PROLIFERAÇÃO LINFOCITÁRIA

Observou-se nos potros uma atividade linfoproliferativa no grupo óleo de soja (OS) semelhante ao encontrado no grupo controle (C), em ambos os períodos analisados. O grupo óleo de linhaça (OL) apresentou atividade linfoproliferativa maior do que a encontrada nos dois outros grupos no dia sete. No dia trinta, o grupo

de linhaça continuou a apresentar uma maior atividade proliferativa, no entanto sem diferença estatística (Figura 4).

Há um número significativo de leucócitos presentes no colostro e, em menor grau, no leite de várias espécies de animais de criação. Em bovinos, estes leucócitos são funcionais e mostram aumento da expressão de marcadores de superfície celular indicativos de ativação. Tem sido sugerido que os linfócitos colostrais preferencialmente migram para os nódulos linfáticos e as superfícies da mucosa onde podem contribuir para as defesas imunitárias do recém-nascido (LE JAN, 1996).

Figura 4 - Resposta linfoproliferativa dos potros contra APTX das células mononucleares do sangue periférico em relação aos tratamentos

De acordo com a (Tabela 6) foram encontradas diferenças no dia sete para as éguas, nas médias das dietas controle, óleo de soja e óleo de linhaça. A suplementação de óleo de soja e de linhaça aumentou a energia dietética disponível e a resposta proliferativa, corroborando com resultado encontrado por Mochol et al. (2009).

Tabela 6 - Contraste ortogonal das dietas em comparação a proliferação linfocitária

Item	Dietas experimentais ¹				Valor de P	
	C	OS	OL	EPM ^b	C1	C2
Potros						
PL (dia 7)	16,92	14,86	34,15	4,09	0,356	0,042*
(dia 30)	17,12	21,74	24,25	2,72	0,368	0,714
Éguas						
PL (dia 7)	5,99	15,72	15,37	2,06	0,025*	0,939
(dia 30)	16,62	20,22	14,00	2,52	0,930	0,368

¹Controle (C); óleo de soja (OS); óleo de linhaça (OL); C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, óleo linhaça); C2 óleo de soja versus óleo de linhaça; ^bErro padrão da média; *(P<0,05).

8.4 IMUNOGLOBULINAS

8.4.1 Imunoglobulinas colostrais

A nutrição materna influencia diretamente a qualidade do colostro e do leite disponível para os potros (MIRANDA et al., 1983). O colostro fornece a prole imunoglobulinas (Ig) necessárias para imunidade passiva, promovendo resistência a infecções e conseqüentemente aumenta as chances de sobrevivência (KHALAF et al., 1979). A dosagem de imunoglobulinas colostrais foi realizada com a finalidade de determinar se a suplementação com diferentes fontes de óleo (ômega 3 e ômega 6) pode promover um aumento na qualidade imunológica do colostro. Estudos prévios sugerem que além da alimentação, a idade e o número de lactações podem influenciar na qualidade do colostro (LEBLANC, 1990; LEBLANC et al., 1992),

devido a esse fato, esses fatores devem ser considerados na avaliação dos constituintes do colostro.

Pela análise das concentrações de imunoglobulina contidas no colostro, observou-se que o isótopo IgGb foi o isótopo predominante no colostro das éguas dos três grupos analisados, seguido pela IgGa (Figura 5 e Tabela 7), concordando com resultado observado por Sheoran et al. (2000).

Figura 5 - Representação da mensuração de diferentes isótopos IgGa e IgGb de imunoglobulinas do colostro equino obtidas dos animais suplementados ou não com fontes de ômega 3 e ômega 6 durante os tempos experimentais

Figura 6 - Representação da mensuração de diferentes isótopos IgM e IgA de imunoglobulinas do colostro equino obtidas dos animais suplementados ou não com fontes de ômega 3 e ômega 6 durante os tempos experimentais

Tabela 7 - Contraste Ortogonal das dietas comparando Imunoglobulinas no colostro

Item	Dieta experimental ¹				Valor de P	
	C	OS	OL	EPM	C1	C2
IgGa	50,41	73,60	183,57	23,898	0,0872	0,0811
IgGb	130,38	155,30	239,63	193,798	0,0716	0,0968
IgA	61,74	58,74	100,81	73,734	0,4229	0,1836
IgM	0,0192	0,0269	0,0347	0,00040	0,1727	0,4910

¹Controle (C); Óleo de soja (OS); Óleo de linhaça (OL); C1 = controle vs. Fontes de óleo (óleo de soja, óleo de linhaça); C2 = Óleo de soja vs. Óleo de linhaça.

Com relação ao efeito da suplementação com óleo de soja ou óleo de linhaça pode-se observar que a suplementação com óleo de linhaça promoveu um aumento das concentrações dos isótopos IgGa e IgGb. A concentração média de IgGa no colostro das éguas suplementadas com esse óleo foi quase 4 vezes superior aquela encontrada no colostro das éguas do grupo controle (50.4 mg/ml e 183.5 mg/ml) e quase 3 vezes superior aquela encontrada no grupo suplementado com óleo de soja (73.6 mg/ml e 183.5 mg/ml) com uma significância de ($P=0,08$). A concentração média de IgGb no colostro das éguas suplementadas com esse fontes de óleo foi óleo de linhaça quase 2 vezes superior aquela encontrada no grupo suplementado com óleo de soja (239,63 mg/ml e 155,3 mg/ml) com uma significância de ($P=0,09$). Quando somente a fonte de óleo observou uma significância de ($P=0,07$).

Quanto aos outros isótopos analisados, não foi possível encontrar diferenças nas concentrações medias entre os diferentes grupos.

8.4.2 Imunoglobulinas séricas

A dosagem de imunoglobulinas séricas foi realizada com o intuito de avaliar se a suplementação com diferentes fontes de ômega 3 e ômega 6, poderiam promover um aumento da eficiência da transferência passiva. Apesar de ser observado um aumento da concentração de Ig no colostro das éguas suplementadas com óleo de linhaça, não foi possível observar diferenças nas concentrações dos diferentes isótopos no soro dos potros (Figuras 6, 7, 8 e 9).

De acordo com Duvaux-Ponteret al. (2004) em trabalho com suplementação de éguas no terço final da gestação com colza ou linhaça extrusadas, concluíram que o tratamento dietético não afetou as concentrações plasmáticas de IgG nos potros

Figura 7 - Representação da mensuração da imunoglobulina IgGa no soro dos potros nascidos de éguas suplementadas ou não com fontes equilibrada de ômega-3 e ômega-6, durante os tempos experimentais

Figura 8 - Representação da mensuração da imunoglobulina IgGb no soro dos potros nascidos de éguas suplementadas ou não com fontes equilibrada de ômega-3 e ômega-6, durante os tempos experimentais

Figura 9 - Representação da mensuração da imunoglobulina IgA no soro dos potros nascidos de éguas suplementadas ou não com fontes equilibrada de ômega-3 e ômega-6, durante os tempos experimentais

Figura 10 - Representação da mensuração da imunoglobulinas IgM no soro dos potros nascidos de éguas suplementadas ou não com fontes equilibrada de ômega-3 e ômega-6, durante os tempos experimentais

Não foi possível realizar a coleta de soro dos potros, com 6 e 12 horas após a primeira mamada, o que provavelmente melhoraria a investigação sobre a passagem de imunoglobulinas via colostro, já que o nível de catabolismo da IgG é alta nas primeiras 4 semanas de vida e a meia vida da IgG adquirida passivamente é em média de 20 a 40 dias no potro (VANMAANEN et al., 1992; HULLINGER et al., 1998), com variações entre os isótopos. Já os anticorpos produzidos pelos potros podem ser detectados a partir dos 10 dias de vida, mas só consegue atingir os níveis de produção dos adultos a partir de 1 ano de vida (KNOTTENBELT et al., 2004). Com isso, com resultados de 15 dias de vida não é possível afirmar que já não existam imunoglobulinas produzidas pelo próprio potro. Em outros trabalhos realizados suplementando éguas prenhas, também não foi possível observar diferenças nas concentrações séricas de imunoglobulinas nos potros (THORSON et al., 2009), tanto quando não houve aumento de imunoglobulinas no colostro, quanto quando foi observado aumento, Spearman (2004) apesar de observarem uma maior concentração de IgA e IgG no colostro não conseguiram observar uma maior transferência dessas imunoglobulinas para o potro, observadas 6 e 10 horas após o parto, foi possível apenas constatar uma maior concentração de IgA nos potros nascidos de éguas suplementadas com mana oligossacarídeo.

Porem durante este estudo podemos observar efeito ($P=0,07$), para a imunoglobulina IgGb, no contraste (C2), onde a utilização de uma fonte equilibrada de ômega 3 (OL) como observado na (Tabela-8).

Tabela 8 - Contraste Ortogonal das dietas comparando imunoglobulinas séricas

Item	Dietas experimentais ¹			EPM	Valor de P				
	C	OS	OL		Temp	Trat	T*T	C1	C2
IgGa	88,42	815,75	836,02	60,84	<.0001	0,7588	0,8064	0,5879	0,6337
IgGb	132,56	115,32	134,40	10,21	<.0001	0,1302	0,1129	0,3470	0,0749
Iga	4,3097	4,3227	4,0536	0,321	<.0001	0,5843	0,8785	0,6059	0,3670
IgM	0,4463	0,4436	0,4375	0,030	<.0001	0,5843	0,8785	0,6059	0,3670

¹ Controle (C); Óleo de Soja (OS); Óleo de Linhaça (OL). C1= Controle Versos Fontes de Gordura (Óleo de Soja, Óleo de Linhaça); C2= Óleo de Soja Versos Sais Óleo de Linhaça.

8.5 CRESCIMENTO DOS POTROS

Concordando com os resultados de Saastamoinen (1990) e Pinto (2003), os potros apresentaram valores mais elevados de desenvolvimento do que as potras. As medidas de cada potro foram transformadas em taxa percentual de crescimento semanal, porque havia diferentes raças e os animais não foram divididos conforme o sexo. Neste estudo, os resultados demonstraram não haver diferenças estatísticas entre os grupos.

O desenvolvimento do potro está ligado à nutrição égua, produção de leite, qualidade do leite, eliminação e ingestão de leite, condições ambientais, raça e outros fatores (SANTOS, 2005). Considerando Tabela 9, que mostra a taxa de crescimento média por tratamento para equinos, demonstrou-se que não houve grande relevância em cada parâmetro. Peso ($p < 0,0001$) e perímetro torácico ($P=0,0006$) mostrou uma forte relação com o tempo. Relacionado com a tabela 9, que mostra a taxa de crescimento média para mulas, algo semelhante ocorreu.

Santos (2005) estabeleceu uma taxa de ganho diário de peso de forma mais intensa nos primeiros 20 dias de potros da raça Mangalarga Marchador, devido aos níveis mais elevados de proteína, gordura e energia no leite. Ellis e Lawrence (1979) e Lawrence (1991) concluíram que a dieta tem pouca influência na altura de cernelha como foi observado na presente pesquisa.

Rezende (2000) demonstrou que a produção de leite ao desmame pode influenciá-lo desenvolvimento dos potros. Potros suplementados com gordura ou carboidratos não apresentaram diferença em GH e secreção de hormônios IGF, que são responsáveis pelo ganho de massa muscular (PAGAN, 2009). Esta informação pode indicar que os ácidos graxos não estimulou um maior desenvolvimento em equinos jovens.

Tabela 9 - Médias, erros padrão das médias (EPM) e valores de P para a taxa de percentagem de peso, altura na cernelha, perímetro torácico e perímetro canela de acordo com o tratamento

Variável	Tratamento			Média	EPM ^d	Valor de P		
	C ^a	OL ^b	OS ^c			Trat. ^e	Tempo	Inter ^{f*}
Peso	13.42	11.58	12.51	12.61	1.122	0.730	<0.0001	0.979
Altura de cernelha	4.25	3.25	3.58	3.76	0.470	0.975	0.407	0.682
Perímetro torácico	5.06	4.58	5.08	4.94	0.488	0.707	0.0006	0.329
Perímetro de canela	8.14	9.21	8.42	8.54	0.704	0.936	0.766	0.706

^aControle (C); ^bÓleo de Soja (OS); ^cÓleo de Linhaça (OL); ^dErro padrão da média; ^eTratamento; ^fInteração

8.6 PROGESTERONA

O início da gestação em qualquer espécie, e em particular na equina, é marcado por vários acontecimentos. Durante esse período o útero e os ovários da égua, assim como o embrião, passam por várias modificações, adaptando-se à nova condição. Entre essas modificações cita-se a alteração dos níveis séricos de progestágenos.

Nas últimas 4 a 6 semanas de gestação, as glândulas adrenais em crescimento e em processo de maturação do feto secretam quantidades crescentes de pregnenolona, a qual é convertida à progestágeno pelo alantocório (THORBURN, 2003).

De acordo com os resultados obtidos neste estudo (Tabela 10) houve um crescimento nos valores médio de progesterona para todos os tratamentos ao longo do tempo.

Estudos demonstram a possibilidade de que a progesterona pode exercer ação anti-inflamatória de modo através do aumento da atividade de protease de inibição de macroglobulinas Isso irreversivelmente banir a maioria das proteases associadas com inflamação (LAURELL; JEPPSSON, 1975). No presente estudo como demonstrado na tabela 10 e figura 7, a concentrações médias de progesterona

no grupo óleo de soja (OS) foram maiores, com estes dados podemos indagar a melhora nos processos inflamatórios no uso de fontes de Soja, onde a presença de tripsina (inibidor de protease), contido no óleo de soja (HLADOVEC et al., 1958).

Tabela 10 - Concentrações de progesterona, erros padrão das médias (EPM) e valores de P para D0, D30 e D60 de acordo com os tratamentos

Variável	Tratamento			Média	EPM	Valor de P		
	C	OL	OS			Trat.	Tempo	Inter*
D0	7.40	7.36	8.10	7.7	0,45	0.942	0.101	0.007
D30	11.99	12,11	14.37	11.95	0.96	0.888	0.019	0.401
D60	20.63	16,63	19.12	17.76	1.62	0.907	0.007	0.281

*Controle (C); Óleo de Soja (OS); Óleo de Linhaça (OL). C1= Controle Versos Fontes de Gordura (Óleo de Soja, Óleo de Linhaça); C2= Óleo de Soja Versos Sais Óleo de Linhaça

A interação demonstra que ao longo do tempo as curvas dos tratamentos se cruzaram isso mostra que de alguma forma os tempos de coleta sofreram influência da dieta, ou seja, possibilitou um comportamento biológico diferente ao longo do tempo para as concentrações de progesterona, como demonstrada na figura 11.

Figura 11 - Valores médios da concentração pré-parto de progesterona sérica

9 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos podemos concluir que a inclusão de óleo de soja e óleo de linhaça como fontes equilibradas de ômega 6 e ômega 3 na dieta de éguas não teve efeito sobre os teores de composição e contagem de células somáticas do leite. Sugere-se que as alterações observadas tem ocorrido devido a fatores fisiológicos da lactação de éguas.

Os resultados sugerem que a suplementação com óleo de linhaça ao final da gestação de éguas, pode promover uma maior resposta proliferativa in vitro contra APTX para seus potros. A inclusão da fonte de óleo melhorou a resposta linfoproliferativa das éguas, devido ao aumento energético na dieta e com estes estudo podemos observar que a fonte de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, aumentou a concentração de imunoglobulina Gb e imunoglobulina Ga no colostro e IgGb sérico.

Neste estudo podemos observar que a concentração de progesterona no grupo óleo de soja foi maior durante o tempo experimental, quando comparada com os outros grupos experimentais, o que sugere, uma possível melhora na modulação inflamatória como sugerida através de inibidores de tripsina.

REFERÊNCIAS

- AL, M. D. M.; VAN HOUWELINGEN, A. C.; HORNSTRA, G. Long-chain polyunsaturated fatty acids, pregnancy, and pregnancy outcome. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 471, p. 285S-91S, 2000. Supplement.
- ALLEN, R. B.; PASCAL, O.; LITTMAN, M. An interface for navigating clustered document sets returned by queries. In: ACM COOCS: CONFERENCE ON ORGANIZATIONAL COMPUTING SYSTEMS, 1993, Milpitis, CA. **Proceedings...** 1993.
- ANDRADE, P. M. M.; CARMO, M. G. T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. **MN –Metabólica**, v. 8, n. 3, p. 88, 2006.
- ARGENZIO, R. A. Digestão e absorção dos carboidratos, gorduras e proteínas. In: SWENSON, M. J. (Ed.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 331-351.
- BARRINGTON, G. M.; BESSER, T. E.; DAVIS, W. C.; GAY, C. C.; REEVES, J. J.; MCFADDEN, T. B. Expression of immunoglobulin G₁ receptors by bovine mammary epithelial cells and mammary leukocytes. **J. Dairy Sci.**, v. 80, p. 86–93, 1997.
- BEITZ, D. C. Metabolismo Lipídico. In: SWENSON, M. J. (Ed.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.412-429.
- BLOWEY, R. W.; EDMONDSON, P. Mastitis control in dairy herds. 2. ed. Winslow, UK:CAB international, 2010. p. 266.
- CALDER, P. C.; ALBERS, R.; ANTOINE, J. M.; BLUM, S.; BOURDET-SICARD, R.; FERNS, G. A.; FOLKERTS, G.; FRIEDMANN, P. S.; FROST, G. S.; GUARNER, F.; LOVIK, M.; MACFARLANE, S.; MEYER, P. D.; M'RABET, L.; SERAFINI, M.; VAN EDEN, W.; VAN LOO, J.; VAS DIAS, W.; VIDRY, S.; WINKLHOFFER-ROOB, B. M.; ZHAO, J. Inflammatory Disease Processes and Interactions with Nutrition. **Br J Nutr.**, v. 101, p. S1-S45, 2009. Supplement, 1.
- CALDER, P. C.; FIELDS, C. J.; GILL, H. S. **Nutrition and imune function**. London: CAB international, 2001. 426 p.
- CARLSON, S. E.; RHODES, P. G.; RAO, V. S.; GOLDGAR, D. E. Effect of fish oil supplementation on the n-3 fatty acid content of red blood cell membranes in pre-term infants. **Pediatr. Res.**, v. 21, p. 507-510, 1987.
- CARLSON, S. E.; WERKMAN, S. H.; COOKE, R. J.; PEEPLES, J. M.; TOLLEY, E. A. Docosahexaenoate (DHA) and eicosapentaenoate (EPA) status of preterm infants: relationship to the Fagan Test of infant Intelligence and the Bayley Scale of Mental Development. **FASEB. J.**, v. 4, p. A1156, 1990
- CHAVATTE – PALMER, P. C.; DUVAUX – PONTER, M.; PIOT, J. L.; MAUBOIS, J-F.; GRONGNET, L.; BRUGÈRE, F.; CLÉMENT, F. G. Absortion of IgG in ther foals:

Efficiency of a freeze-dried colostral immunoglobulin product: effect of the first suckling time. In: FEZ MEETING LA HAYA, 52., 2000, Budapest, Hungary. 2001.

CHUCRI, T. M. A review of immune transfer by the placenta. **J. Reprod. Immunol.**, v. 87, p. 14–20, 2010.

CLÉMENT, F.; DUVAUX-PONTER C. G.; ARNAUD, M. PIOT, J. L.; MAUBOIS, J. F.; GRONGNET, L.; BRUÈRE, M.; TOURNIÉ, L.; DETROMONT, P. CHAVATTE PALMER, L. Efficiency of IgG absorption in the foal. **Theriogenology**, v. 58, p. 805-808, 2002.

CLÉMENT, F. G.; ARNAUD, C.; DUVAUX- PONTER, P.; CHAVATTE PALMER, P. C. Colotest and equine colostrum. In: FEZ MEETING LA HAYA, 52., 2000, The Netherlands.

CONNOR, W. E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 7, p. 171S-175S, 2000. Supplement.

CORREA, A. A. D.; CORREA, J. H. R. **Bioquímica animal**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Guibenkian, 1985. 1249 p.

CRAWFORD, M. A. Placental delivery of arachidonic and docosahexaenoic acids: implications for the lipid nutrition of preterm infants. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, p. 275S-84S, 2000. Supplement.

DEMMELMAR H.; SANCRWALD T.; KOLETZKO, B.; RICHTER, T. New insights into lipid and fatty acid metabolism via stable isotopes. **Eur. J. Pediatr.**, v. 156, p. 4-12, 1997. Supplement, 70

DOREAU, M. Effects of supplementation with hydrogenated fish on digestion in dairy cows. **Ann. Zootech.**, v. 41 p. 137-143, 1992.

DOREAU, M.; MARTUZZI, F. Fat content and composition of mare's milk. In: MIRAGLIA, N.; MARTIN-ROSSET, W. **Nutrition and feeding of the broodmare**. Campobasso: EAAP Publication, 2006. p. 77-87.

DROGOUL, C.; BRIGAND, G. Bilan technico – économique de la jumenterie expérimentale du GIS << lait de jument >>. In: JOURNÉE DE L'RECHERCHE ÉQUINE, 22., 1996, Paris, France. **Proceedings...** Paris, France, 1996. p. 128-133.

DUVAUX-POUTER, C. M.; TOURNIÉ, L.; DETROMONT, F.; CLEMENT, C.; FICHEUX, A. A. PONTER A. A Effect of a supplemented rich in linolenic acid added to the diet of mares on fatty supply acid composition of mammary secretations and the acquisition of passive immunity in the foal. **Animal Science**, v. 78, p. 399-407, 2004.

FRAPE, D. Ingredients of horse feeding. In: FRAPE, D. **Equine nutrition and feeding**. Essex: LongmanScientific e Technical, 1986. 373 p.

FREITAS, E. V. V. **Variáveis fisiológicas em eqüinos submetidos a dietas com adição de óleo vegetal e a exercício físico de longa duração**. 2007. 54 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.

GAIOTTO, J. B.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; IAFIGLIOLA, M. C. Óleo de Soja, Óleo Ácido de Soja e Sebo Bovino Como Fontes de Gordura em Rações de Frangos de Corte. **Revista Brasileira Ciência Avícola**, v. 2 n. 3, p. 219-227, 2000.

GENIN, C. Le transfert de l'immunité passive chez le poulain nouveau-né. Thèse Vétérinaire. EVN de Toulouse.

GRUMMER, R. R.; CARROLL, D. J. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. **J Anim Sci.**, v. 66, p. 3160-3173, 1988.

GRUMMER, R. R.; CARROLL, D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive of dairy cattle. **J Anim Sci**, v. 69, p. 3838-3852, 1991.

GRUNDY, S. M. Dietary fat. In: ZIEGLER, E. E.; FILER JR., L. J. (Ed.). **Present knowledge in nutrition**. 7. ed. Washington: ILSI, 1996. p. 44-57.

HAAG, M. Essential fatty acids and the brain. **Can. J. Psychiatry.**, v. 48, p.195-203, 2003.

HAMBLETON, P. L.; SLADER, L. D.; HAMAR, D. W. Dietary fat and exercise conditioning effect on metabolic parameters in the horse. **Journal of Animal Science**, v. 51, n. 6, p. 1330-1339, 1990.

HERNANDEZ HORTA, J. L.; FERNÁNDEZ, J.G.; DE LEÓN, B. S.; CORTÉS-GALLEGOS, V. Direct evidence of luteal insufficiency in women with habitual abortion. **Obstet Gynecol.**, v. 49, p. 705-708, 1977.

HLADOVEC, J. Effect on burn and further anti-inflammatory activity. **Cesk Fisiology**, v. 7, p. 467, 1985.

HORNSTRA, G. Essential fatty acids in mothers and their neonates. **American Society for Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1262S-1269S, 2001. Supplement.

HULINGER, P. J.; WILSON, W. D.; ROSSITO, P. V. Passive transfer rate of decay and protein specificity of antibodies against equine arteritis virus in horse from a standardbred herd with high seroprevalence. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, v. 213, p. 839-842, 1998.

INNIS, S. M. Fatty acids and early human development. **Early Hum Dev.**, v. 83, n. 12, p. 761-766, 2000.

JEFFCOTT, L. B. Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. **Biol Rev.**, v. 47, p. 439-464, 1971.

JEFFCOTT, L. B. Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 6, p. 109-115, 19974.

KAUFMAN, W. C. Pediatric medicine. **Vet. Clin. North Am.**, v. 3, p. 251-254, 1973.

KING, M. W. **Regulation of Fatty Acid Metabolism**. Medical Biochemistry Page, IU School of Medicine.1999. Disponível em:
<<http://web.indstate.edu/thcme/mwking/lipid-synthesis.html>>. Acessoem: 12 jul. 2004.

KNOTTENBELT, D. C.; HOLOSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. Neonatal syndrome. In: HOLDSTOCK, N. **Equine neonatology medicine and surgery**. Nova Iorque: The Veterinary Record, 2004. p. 155-363.

KOTERBA, A. M. **Equine clinical neonatology**. Philadelphia:, Lea & Febiger, 1990.

KRUSE, P. E. The importance of colostral immunoglobulins and their absorption from the intestine of the newborn animals. **Annales de Recherche Vétérinaire**, v. 14, p. 349-353, 1983.

LANG, A.; SOUZA, M. V.; SALCEDO, J. H. P.; SOSSAI, S.; ARAÚJO, R. R.; LOURENÇO, G. G.; MAIA, L. Imunidade passiva em equinos: comparação entre a concentração de igg do soro materno, colostro e soro do neonato. **Revista Ceres**, v. 54, n. 315, p. 405-411, 2007.

LAUREFJ, C. B.; JEPPSSON, J. O. falta título do capítulo In: PUTNAM, F. W. (Ed.). **The Pasmufroteins**. New York: Academic Press, 1975. v. 1, p. 229.

LAWRENCE, L. M. Nutrition and fuel utilization in athletic horse. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, v. 6, p. 1 93-198, 1990.

LAWRENCE, L. M. Nutrition for competition: preventing weight loss. **Equine Vet. Educ.**, v. 7, p. 325-329, 1995.

LAURENCE, L. M.; MURPHY. M.; BUMP, R Growth response in thand reared on naturally reared quarter horse. **Equine Pract.**, v. 13, n. 2, p. 19-26, 1991.

LE JAN, C. Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: A review. **Vet. Res.**, v. 27, n. 4-5, p. 403-417, 1996.

LEBLANC, M. M. Immunologic considerations. In: KOTERBA, A. M.; DRUMMOND, W. H.; KOSCH, P. C. **Equine clinical neonatology**. Philadelphia: Lea &Febiger, 1990.

LEBLANC, M. M.; TRAN, T.; BALDWIN, J. L.; PRITCHARD, E. L. Factors thatinfluence passive transfer of immunoglobulins in foals. **JAVMA**, v. 200, p. 179-183, 1992.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Principles of biochemistry**. 2. ed. New York: Worth Publishers, 1993. 1013 p.

LESTER, G. D. Maturity of the neonatal foal. **Vet Clin Equine**, v. 21, p. 333–355, 2005.

LEWIS, L. D. Minerais para os eqüinos. In: LEWIS, L. D. **Nutrição clínica equina: alimentação e cuidados**. São Paulo: Rocca, 2000. p. 29-73.

MAKRIDE, M.; GIBSON, R. Long-chain polyunsaturated fatty acid requirements during pregnancy and lactation. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, p. 307S-3011S, 2000. Supplement.

MAKRIDE, M.; NEUMANN, M.; JEFFREY, B.; LIEN, E. L.; GIBSON, R. A randomized trial of different ratios of linoleic to α -linolenic acid in diet of term infants: effects on visual function and growth. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, p. 120-129, 2000.

MARQUESE, A.; KESSLER, A. M.; BERNARDI, M. L. Aumento do nível de óleo em dietas isoenergéticas para cavalos submetidos a exercício. **Ciência Rural**, v. 31, n. 3, p. 491-496, 2001.

MARTIN, R. G.; MCMENIAM, N. P.; DOWSET, K. F. Milk and water intakes of foal sucking grazing mares. **Equ. Vet.Jour.**, v. 24, n. 4, p. 295-299, 1992.

MARTINS, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MARTUZZI, F.; DOREAU, M. Mare milk composition: recent findings about protein fractions and mineral content. In: MIRAGLIA, N.; MARTIN-ROSSET, W. **Nutrition and feeding of the broodmare**. Campobasso: EAAP Publication, 2006. v. 120, p. 65-76.

MARZALI AS, N. G.; KWAI-HANG, K. F. Effect of milk composition and genetic polymorphism on coagulation properties of milk. **J. Dairy Sci.**, v. 69, p. 1793–1799, 1986

MEYER, H. **Alimentação de Cavalos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995.

MIRANDA, J. R. **introduction à l'étude de l'hépetofaune de larégion d'ouricuri – PE**. 1982. 81 f. Université des sciences et techniques du languedoc, 1982.

MISSÃO, M. R. Soja: origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. **Revista de Ciências Empresariais**, Maringá, v. 3, n. 1, p. 7-15, 2006.

MOCHOL, J.; LUTNICKI, K.; KUREK, L. Influence of Mineral and fatty acid diet supplementation on the energy balance in mares in pregnancy and lactation periods. **Bull Vet Inst Pulawy**, v. 53, p. 53-57, 2009.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL (NMC). **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality**. 4. ed. Madison; Wi, NMC Inc., 2004. 47 p.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of horses**. 6. ed. Washington D. C.: NRC, 2007. 341 p.

PAGAN, J. D. **Nutritional management of metabolic disorders**. Versailles, KY: Kentucky Equine Research, 2009. v. 4.

PAGAN, J. D.; HINTZ, H. F.; ROUNSAVILLE, T. R. The digestible energy requirements of lactating pony mares. **Jour. Ani. Sci.**, v. 58, n. 6, p. 1382-1387, 1984.

PEARSON, R. C.; HALLOWELL, A. L.; BAYLEY, W. M.; TORBECK, R. L.; PERRYMAN, L. E. Times of appearance and disappearance of colostral IgG in the mare. **Am J Vet Res.**, v. 45, n. 1, p. 186-190, 1984.

PERRYMAN, L. E.; MC GUIRE, T. C.; TORBECK, R. L. Ontology of lymphocyte function in the equine fetus. **Am J Res.**, v. 41, p. 1197-1200, 1980.

PETIT, H. V.; DEWHURST, J. G.; PROULX, J. G. Milk yield and reproduction of dairy cows fed saturated or unsaturated fat. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 302, 1998. Supplement. 1.

POPPIE, M. J.; MCGUIRE, T. C. Combined immunodeficiency with failure of colostral immunoglobulins transfer in foals. **Vet Rec.**, v. 99, p. 44-46, 1976.

POTTER, G. D.; HUGHES, S. L.; JULEN, T. R.; SWINNEY, D. L. A review of research on digestion and utilization of fat by the equine. *Pferdeheilkunde*. In: EUROPEAN EQUINE NUTRITION CONFERENCE, 1., 1992, Hannover, Germany. 1992. p. 119-123.

RADWANSKA, E. **Fertil. Steril.**, v. 30, p. 398-402, 1978.

RAIDAL, S. L. Effect of withholding macromolecules on the duration of intestinal permeability to colostral IgG in foals. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 46., 2000. p. 263.

REZENDE, A. S. C.; SAMPAIO, I. B. M.; LEGORETTA, G. L. Efeito de dois diferentes programas nutricionais sobre o desenvolvimento corporal de potros mangalarga marchador. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 29, n. 2, p. 495-501, 2000.

ROSSDALE, P. D. Modern concepts of neonatal disease in foals. **Equine Vet. J.** v. 4, p. 117-128, 1972.

RUMBAUGH, G. E.; ARDANS, A. A. Immunologic diseases. In: ROBINSON, N. E. (Ed.). **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1983. 47-54.

SALEM JR., N. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Background**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 1999.

SANTOS, E. M.; ALMEIDA, F. Q.; VIEIRA, A. A.; PINTO, L. F. B.; CORASSA, A.; PIMENTEL, R. R. M.; SILVA, V. P.; GALZERANO, L. Lactação em éguas da raça

mangalarga marchador: produção e composição do leite e ganho de peso dos potros lactentes. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 34, n. 2, p. 627-634, 2005.

SHEORAN, A. S. et al. Immunoglobulin isotypes in sera and nasal mucosal secretions and their neonatal transfer and distribution in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 9, p. 1099-1105, 2000.

SILIM, A.; REKIK, M-R.; ROY, R. S.; SALOMON, H.; PASTORIET, P. Imunité chet le fectus el le nouveau – né. In PASTORET, P-P.; GOVAERTS, A.; BAZIN, H. (Ed.). **Imunologieanimale**. Paris, France: Médecine-Sciences Flammarion, 1990.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in growth and development. In: LEES, R. S.; KAREL, M. **Omega-3 fatty acids in health and disease**. New York, USA: Marcel Dekker, 1990. p. 115.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomed. Pharmacother.**, v. 56, p. 365-379, 2002.

SIMPSON-MORGAN, M. W.; SMEATON, T. C. The transfer of anti-bodies by neonates and adults. **Adv. Vet. Sci. Comp. Med.**, v. 16, p. 355-386, 1972.

SMITH, K. L.; MUIR, L. A.; FERGUNSON, L. C. Selective transport of IgG into the mammary gland: role of estrogen and progesterone. **J. Dairy. Sci.**, v. 54, p. 1889-1894, 1971.

SONCIN, M. R. S. P.; FURTADO, C. E.; SILVA, A. A.; RIGOLON, L. P.; CAVALIERI, F. L. B.; MORAES, G. V. Digestibilidade aparente, crescimento folicular e concentração de metabólitos sanguíneos de éguas recebendo concentrado com semente de linhaça integral (*Linum usitatissimum* L.). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 191-197, 2009.

SPERS, R. C.; SPERS, A.; FERNANDES, W. R.; VISINTIN, J. A.; GARCIA, C. A. Efeito da suplementação da dieta com óleo de babaçu sobre a composição do sangue e leite de éguas em lactação. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 43, p. 109-119, 2006. Suplemento.

SPRECHER, H.; LUTHERIA D.; GEIGER, M.; MOHAMMED, B. S; REINHART, M. Intercellular communication in fatty acid metabolism. **World Rev. Nutr. Diet.**, v. 75, p. 1-7, 1994.

STULL, C.L.; RODIEK, A. Fat metabolism. In: THOMPSON, K.N. (Ed.). **Basic Equine Nutrition and its Physiological Functions**. St. Louis: Purina Mills Inc., 1997. p. 43-51.

TIZARD, I. R. Imunidade no feto e no recém-nascido. In: **Imunologia veterinária: uma introdução**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002. Cap. 19, p. 233-246.

TOUBOUL, M.; GRONGNET, C.; DROGOUL, 1997. Inlérêt de l' administration de colostrumLynophilisé ou d'um extrait de plasma sanguin pour l' acuisition de l' immunité passive par lepoulainnouveau-né. In: JORNÉE DE LARECHERCHE ÉQUINE, 23., 1997, Paris, France. 1997. p. 107-113.

TURATTI, J.; GOMES, R. A. R.; ATHIE, I. **Lipídeos: aspectos funcionais e novas tendências**. Campinas: ITAL, 2002. 78 p.

UAUY, R.; CASTILLO, C. Lipid requirements of infants: implications for nutrient composition of fortified complementary foods. *J Nutr.*, v. 133, n. 9, p. 2962S-2972S, 2003.

UNANIAN, M. M.; SILVA, A. E. D. F.; PEREIRA, A. C. **Colostro de égua no aleitamento artificial**. São Carlos : EMBRAPA - CPPSE, 1994. 21 p. (EMBRAPA-CPPSE.Circular Técnica, 08).

VINEYARD, K. R.; WARREN, L. K.; KIVIPELTO, J. Effect of dietary omega-3 fatty acid source on plasma and red blood cell membrane composition and immune function in yearling horses. *Jour. Ani. Sci.*, v. 88, p. 248-257, 2010. doi:10.2527/jas.2009-2253, 2010.

VOET, D.; VOET, J. D.; PRATT, C. W. **Fundamentos de bioquímica**. Porto Alegre: Artmed, 2000. p. 562-610.

WATSON, T. D. G.; BURNS, L.; LOVE, S.; PACKARD, C. J.; SHEPHERD, J. The isolation, characterization and quantification of the equine plasma lipoproteins. *Equi. Vet. Jour.* v. 25, n. 5, p. 353-359, 1991.

YOUDIM, K. A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci.*, v. 18, p. 383-399, 2000.