

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

INDUÇÃO DE HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA E SEU EFEITO NO LEUCOGRAMA DE VACAS LEITEIRAS GESTANTES

Milena BUGONI*¹, Thaís C. da SILVA¹, Josiane de O. FEIJÓ¹ Uriel LONDEIRO¹;
Camila PIZONI¹; Wagner M. dos SANTOS¹, Eduardo SCHMITT¹, Francisco A. B.
DEL PINO¹

*Milena Bugoni: milena_bugoni@yahoo.com

¹Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

Abstract: The objective of this study was to evaluate if six hours with low plasma calcium concentrations are sufficient to interfere in the leukogram of pregnant dairy cows, simulating what occurs during delivery and recent postpartum. Eight pregnant cows of the Dutch breed were as those who received infusion of a calcium chelator (Induction group) and those who received 0.9% NaCl at 15 days prepartum for six hours (Control). Blood samples were collected for the leukocyte count and differential and total calcium measurements. During the six hours of infusion, the animals of the Induction group presented subclinical hypocalcemia, but they did not have changes in the leukogram. This suggests that animals with subclinical hypocalcemia within the first six hours do not present altered immune responses yet, and they could be treated.

Palavras-chave: cálcio, dieta aniônica, leucócitos

Introdução

A vaca leiteira possui aumento da demanda de cálcio (Ca^{2+}) com o início da produção de colostro e leite. Isso corrobora com a redução dos níveis circulantes deste mineral e conseqüentemente, aumenta a incidência de doenças, como hipocalcemia. Esta doença pode contribuir para a imunossupressão, pois, a redução

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

do Ca^{2+} circulante, apoia a menor entrada de Ca nas células de defesa, reduzindo assim sua atividade fagocitária (Leno, 2017; Martinez, 2014).

Porém não há relatos sobre o leucograma de vacas que sofrem por um curto período de tempo um quadro de hipocalcemia subclínica. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o leucograma de vacas leiteiras induzidas a hipocalcemia subclínica pelo período de 6 horas.

Material e Métodos

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Pelotas (23110), foi realizado em uma propriedade leiteira ao sul do Rio Grande do Sul, no município de Rio Grande. Foram utilizadas 8 vacas da raça holandês, nulíparas gestantes. A alimentação foi de acordo com o rebanho da propriedade, ambos os grupos receberam dieta aniônica (-41,40mEq/100g MS).

Os animais foram divididos em dois grupos: grupo Indução que recebeu infusão de um quelante de cálcio e grupo Controle que recebeu infusão de 0,9 % de NaCl. Esta administração foi realizada 15 dias antes do parto, por seis horas através de cateter na veia marginal da orelha.

As coletas de sangue foram realizadas através do complexo arterio-coccigeo, de hora em hora, até 72h após a indução, para análise do cálcio total (Ca_t), feito através de kit comercial (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil), no aparelho bioquímico automático (Lambax Pleno). E nas horas -24, 0 (infusão), 6, 12, 24, 48 e 72 horas para o leucograma, feito através do contador de células semiautomático Celm CC-530 (Celm) e esfregaços corados com Panótipo (Laborclin). A leitura foi feita no microscópio Nikon Eclipse E200 (Nikon).

Todos os dados foram analisados no programa estatístico SAS versão 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, EUA, 2009). Para tal, foi utilizada análise de variância com MIXED MODEL para comparação dos grupos coletas e sua interação (grupo x coleta) através do teste de Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Resultados e Discussão

Diferente dos demais trabalhos, este, buscou induzir a hipocalcemia subclínica (HSC) em animais gestantes. Durante o estudo nenhum animal apresentou sinais de hipocalcemia clínica. Ao longo das seis horas de infusão, o quelante de cálcio foi capaz de submeter os animais a HSC ($P < 0,001$) ($< 8,5 \text{ mg/dL}$ de cálcio; Goff, 2014), e seus níveis foram retomados após três horas do término da infusão.

A HSC causa ativação de uma cascata de eventos, como a diminuição da IMS, maior probabilidade de deslocamento de abomaso, síndrome da vaca caída, entre outras doenças, principalmente pelo Ca^{2+} estar relacionado com a contração muscular e contribuir na ativação da resposta imune, atuando como segundo mensageiro na transdução de sinal (Chapinal, 2011).

Entretanto, neste estudo, não foi observado alterações no leucograma dos animais que tiveram HSC por seis horas em comparação ao controle (Tabela 1). Sugerindo que até seis horas após o parto, é possível tratar os animais, sem ter nenhuma alteração da resposta imune destas vacas.

Porém, foi observado diferenças na interação grupo*hora, nas horas seis e doze, em que o grupo indução, em relação ao grupo controle, apresentou maior contagem de neutrófilos segmentados ($P < 0,01$; Tabela 1), estando acima do valor fisiológico (4.000 u/L). Além disso, ainda na hora seis, a contagem total de leucócitos foi maior ($P = 0,01$; Tabela 1) no grupo indução, em relação ao controle, estando acima do valor fisiológico (12.000 u/L). Provavelmente, porque durante o início do período de infusão com redução do Ca^{2+} , ocorreu ativação da cascata inflamatória e com isso aumentou a contagem de células, principalmente os neutrófilos, por serem os primeiros leucócitos recrutados para a defesa (FRATRIC et al., 2012).

Entretanto, na hora 72, todos os parâmetros analisados, com exceção dos linfócitos, apresentaram diferenças na interação grupo*hora, sendo que os animais do grupo controle estavam com os valores acima do fisiológico, diferindo do grupo indução. Sabe-se que a redução dos níveis de Ca^{2+} plasmático, podem afetar

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

importantes funções do metabolismo, como contrações musculares, proliferação celular e ativação do sistema imune (Martinez, 2014). Com isso, a HSC pode ter reduzido a resposta de defesa do organismo, nas 72 horas após o início da infusão do produto, o que corrobora com os resultados de Martinez et al., (2014).

Tabela 1 - Contagem de células brancas por mililitro de sangue no pré-parto de animais que sofreram a indução (I) e dos animais que receberam placebo (C) aos 15 dias antes do parto.

Hora	Grupo	Total de leucócitos	Monócitos	Eosinófilos	Basófilos	Segmentados	Linfócitos
0	C	8900±2295	265,0±92,3	875,0±265,5	201,0±93,3	4038,0±1162,4	3531,0±1358,6
	I	11780±1778	261,0±71,5	1119,8±205,7	151,0±72,3	4369,8±900,4	5897,4±1052,3
6	C	8266±2295 ^a	91,7±92,3	799,7±265,5	39,3±93,3	3619,0±1162,4 ^a	3717,0±1358,6
	I	14040±1778 ^b	189,6±71,5	912,6±205,7	250,8±72,3	6733,4±900,4 ^b	5953,6±1052,3
12	C	8800±2295	217,7±92,3	498,3±265,5	354,3±93,3	3609,0±1162,4 ^a	4120,7±1358,6
	I	13760±1778	151,8±71,5	627,2±205,7	269,2±72,3	6545,0±900,4 ^b	6166,8±1052,3
24	C	10733±2295	226,7±92,3	536,7±265,5	354,7±93,3	3262,7±1162,4	6303,3±1358,7
	I	11180±1778	227,0±71,5	624,2±205,7	195,8±72,3	3856,2±900,4	6276,8±1052,3
48	C	9066±2295	76,0±92,3	733,7±265,5	166,3±93,3	4610,7±1162,4	3480,0±1358,6
	I	10240±1778	199,8±71,5	936,0±205,7	214,6±72,3	3295,2±900,4	5594,4±1052,3
72	C	22366±2295 ^a	493,0±92,3 ^a	2157,0±265,5 ^a	588,3±93,3 ^a	9418,7±1162,4 ^a	9709,7±1358,6
	I	11950±1987 ^b	247,3±79,9 ^b	762,3±229,9 ^b	222,3±80,8 ^b	4246,0±1006,7 ^b	6472,3±1176,5
Valor de P	P-G	0,51	0,74	0,5	0,18	0,9	0,2
	P-H	0,02	0,08	0,01	0,04	0,05	0,06
	P-G*H	0,01	0,32	0,01	0,04	<0,01	0,19

Valor de P ≤ 0,05 é considerado diferença significativa. P-G (Valor de P do grupo); P-H (Valor de P das horas); PG*H (Valor de P da interação do grupo com as horas).

^{Ab} Letras minúsculas indicam que houve interação grupo*hora.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Conclusão

Neste trabalho, animais gestantes induzidos à HSC até 6h, 15 dias antes do parto, não apresentaram alterações no leucograma, até 72 horas após infusão. Sugerindo que é possível tratar os animais dentro das primeiras 6 horas com HSC, sem perda ou alteração da resposta imune.

Referências

- Chapinal, N.; Carson, M.; Duffield, T. F.; Capel, M.; Godden, S.; Overton, M.; Santos, J. E. and Leblanc, S. J. 2011. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *Journal of Dairy Science* 94:897-903.
- Fratric, N.; Gvozdić D.; Vuković D.; Savić O.; Buač M.; Ilić V. 2012. Evidence that calf bronchopneumonia may be accompanied by increased sialylation of circulating immune complexes' igg. *Veterinary Immunol Immunopathol* 150:161-8.
- Goff, J. P. 2014. Calcium and magnesium disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 30:359-81.
- Leno, B. M.; Lacount, S. E.; Ryan, C. M.; Briggs, D.; Crombie, M.; Overton, T. R. 2017. The effect of source of supplemental dietary calcium and magnesium in the peripartum period, and level of dietary magnesium postpartum, on mineral status, performance, and energy metabolites in multiparous holstein cows. *Journal of Dairy Science* 100:7183-7197.
- Martinez, N.; Sinedino, L.D.P.; Bisinotto, R.S.; Ribeiro, E.S.; Gomes, G.C.; Lima, F.S.; Greco, L.F.; Risco, C. A.; Galvão, K.N.; Taylor-Rodriguez, D. 2014. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 97:874-887.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:

