

AVALIAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM VACAS LEITEIRAS COM HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA

THAÍS CASARIN DA SILVA^{1,2}; JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ¹; PAULA MONTAGNER¹; RUBENS ALVES PEREIRA¹; MARCIO NUNES CORRÊA¹; FRANCISCO AUGUSTO BURKERT DEL PINO^{1,3}

¹Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)
Faculdade de Veterinária - Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Campus Universitário – 96010 900 – Pelotas/RS – Brasil
nupeec@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/nupeec
²thaís_casarin@hotmail.com; ³fabelpino@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A hipocalcemia é uma doença metabólica comum em vacas leiteiras de alta produção, caracterizada pelo declínio das concentrações de cálcio total e ionizado no sangue (LEAN et al. 2006). Vacas que possuem de 8 a 5mg/dL de cálcio, são consideradas com hipocalcemia subclínica (HS) (BROZOS; REINHARD et al. (2011)

A HS causa diminuição da motilidade gastrointestinal, redução da ingestão de matéria seca, além de prejudicar a resposta imune e favorecer o desenvolvimento de outras patologias, como: retenção de placenta, deslocamento de abomaso (CHAPINAL et al. 2011), cetose (KARA, 2013) e síndrome da vaca caída (BROZOS et al. 2011). O grande impacto econômico associado a este扰动 deve-se principalmente a ausência de sinais clínicos, dificultando o diagnóstico (KOCH, 2013).

Alguns mediadores inflamatórios conhecidos como proteínas de fase aguda (PFA), como paraoxonase (PON), albumina (ALB) e haptoglobina (HAP), são úteis para detecção antecipada de doenças subclínicas. A síntese de PON e ALB diminui em resposta ao processo inflamatório (BIONAZ et al. 2007), já as concentrações séricas de HAP, aumentam em resposta à inflamação (SCHNEIDER et al. 2013).

Contudo, acredita-se que vacas com HS apresentam alterações nos níveis de PFA, comparadas com vacas com níveis normais de cálcio no sangue. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da HS sobre os níveis séricos de proteínas de fase aguda durante o periparto de vacas leiteiras.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas 20 vacas da raça Holandês, com mais de três partos. Todos os animais eram provenientes de uma fazenda comercial do sul do Brasil (32° 16' S, 52° 32' O), mantidos sobre as mesmas condições ambientais e recebiam a mesma dieta.

Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a média dos níveis séricos de cálcio total (Ca_t) no pré-parto: o grupo Normocalcêmicas continha vacas com níveis de cálcio acima de 8,5 mg/dL (NC, n = 13) e as que possuíam cálcio menor ou igual à 8,5 mg/dL foram consideradas com hipocalcemia subclínica (HS, n = 7).

Para determinar as concentrações séricas de Ca_t , PON, ALB e HAP foram coletadas amostras de sangue nos dias -21, -14, -7, -3, 0, 3, 6, 9, 16 e 23 em

relação ao parto. Através de punção do complexo coccígeo, utilizando tubos sem anticoagulante (10 mL Vacuplast® - Shandong, China) para obtenção do soro, sendo centrifugados a 1.000 xg durante 15 minutos, e criopreservadas a -80°C para posteriores análises.

A atividade da PON foi determinada por técnica enzimática utilizando kit comercial (Zepto Metrix® Corporation, Buffalo, NY, EUA). As concentrações de cálcio e ALB foram mensuradas em espectrofotômetro colorimétrico (Biospectro®, SP-220, Curitiba PR, Brazil) usando kits comerciais (LabTest Diagnóstica®, Lagoa Santa, MG, Brasil) (TABELAÖ et al. 2008).

A concentração de HAP foi analisada utilizando um leitor de microplacas (Thermo Plate® TP-Reader, São Paulo, Brasil) pela técnica colorimétrica descrita por Jones e Mould (1984) e adaptada por Schneider et al. (2013). Os coeficientes de variação (CV) intra e inter-ensaio de Ca_t, PON, ALB e HAP foram menores que 10%.

A análise estatística foi realizada através do procedimento ANOVA com procedimento MIXED, avaliando o efeito de grupo, tempo (dias) e sua interação (Littell et al., 1998), pelo programa SAS (SAS® Institute Inc., Cary, NC, EUA). Valores de $P<0,05$ foram considerados como significativos.

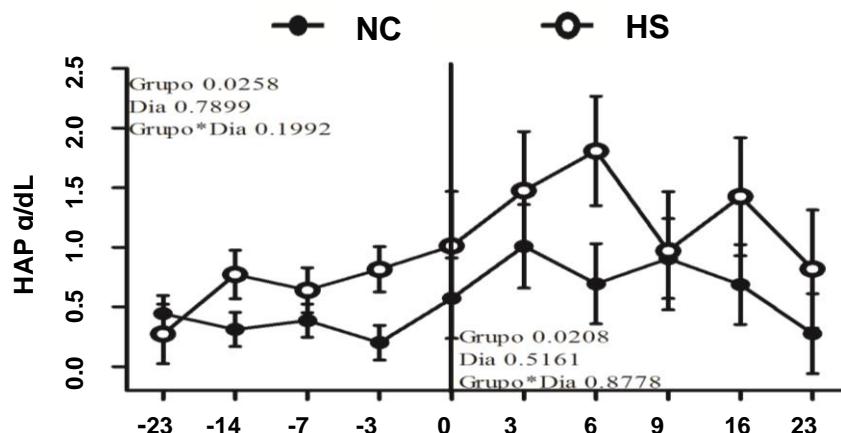
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração sanguínea de Ca_t nas vacas com HS se mantiveram nos níveis subclínicos, mesmo após o parto ($P<0,001$). Nas vacas do grupo NC, a média de Ca_t foram 9,4 mg/dL e nas com HS foi 8,5 mg/dL no pré-parto e no pós-parto, as médias foram de 8,75 e 7,9 mg/dL respectivamente.

A importância do cálcio no organismo já é bastante conhecida, porém ainda não havia trabalhos que tivessem relacionado HS com as PFA em vacas leiteiras. Os resultados deste estudo demonstram a importância do cálcio no sistema imune. Na Figura 1, é possível observar que as vacas com HS no pré-parto, apresentaram maiores concentrações de HAP ($P=0,02$) e menores concentrações de ALB ($P=0,001$).

Já no pós-parto, os animais com HS tiveram um aumento dos níveis séricos de HAP ($P=0,02$) e diminuição da PON ($P=0,0007$) e ALB ($P<0,0001$) (Figura 1), demonstrando que os animais com HS podem estar mais susceptíveis a doenças inflamatórias.

A utilização das PFA como mediadores inflamatórios é bastante estudada, para predizer doenças de forma precoce e já foram relacionadas com diversos tipos de doenças, principalmente uterinas como se observa nos trabalhos de Schneider et al. (2013) e Krause et al. (2014).



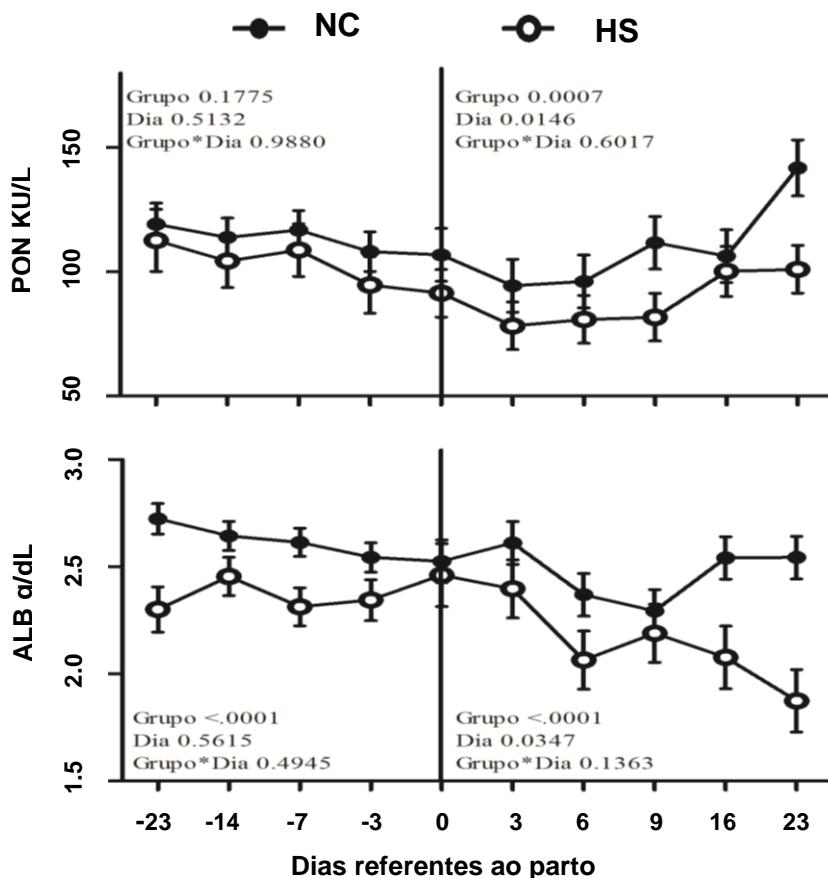


Figura 1. Níveis séricos de proteínas de fase aguda, haptoglobina (HAP-g/dL), (ALB-g/dL), paraoxonase (PON-KU/L) no periparto de vacas leiteiras da raça holandês com hipocalcemia subclínica (HS) e normocalcêmicas (NC).

4. CONCLUSÕES

O nível sérico de Ca_t abaixo de 8,5 mg/dL no período de transição de vacas leiteiras, pode alterar a síntese das proteínas de fase aguda já no pré-parto, podendo estes animais estarem suscetíveis a doenças inflamatórias como mastite e metrite.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liverfunction in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 90, p.1740–1750, 2007.

BROZOS, C.; MAVROGIANNI, V.S.; FTHENAKIS, G.C. Treatment and control of peri-parturient metabolic diseases: pregnancy toxemia, hypocalcemia, hypomagnesemia. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.27, n.1, p.105-113, 2011.

CHAPINAL, N.; CARSON, M.; DUFFIELD, T.F.; CAPEL, M.; GODDEN, S.; OVERTON, M.; SANTOS, J.E.; LEBLANC, SJ. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.4897-4903, 2011.

CHAPINAL, N.; CARSON, M.E.; LEBLANC, S.J.; LESLIE, K.E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J.E.; OVERTON, M.W.; DUFFIELD, T.F. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.1301–1309, 2012.

KRAUSE, A.R.T.; PFEIFER, L.F.M.; MONTAGNER, P.; WEHSCENFELDER, M. M. SHCWEGLER, E.; LIMA, M.E.; XAVIER, E.G.; BRAUNER, C.C.; SHCMITT, E.; DEL PINO, F.A.B.; MARTINS, C.F.; CORRÊA, M.N.; SCHNEIDER, A. Associations between resumption of postpartum ovarianactivity, uterine health and concentrations of metabolites andacute phase proteins during the transition period in Holsteincows. **Animal Reproduction Science**, v.145, p.8-14, 2014.

KARA, Ç. Physiological and Metabolic Changes During the Transition Period and the Use of Calcium Propionate for Prevention or Treatment of Hypocalcemia and Ketosis in Periparturient Cows. **Journal of Environmental Sciences**, v.7, p. 9-7, 2013.

KOCH, G.M.S. **Incidência E Consequências Da Hipocalcémia Subclínica No Pós-Parto De Vacas Leiteiras**. 2013. 69f. Dissertação (Mestrado integrado em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa.

LEAN, I.J.; DEGARIS, P.J.; MCNEIL, D.M.; BLOCK, E. Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p.669-349, 2006.

OETZEL, G. R. Management of dry cows for the prevention of milk fever and other mineral disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.16, p.369-386, 2000.

REINHARDT, T.A.; TIMOTHY, J.D.; MCCLUSKEY, B.J.; GOFF, J.P; HORST, R.L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, v.188, p.122-124, 2011.

SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M.N.; BUTLER, W.R. Short communication: Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. **Research in Veterinary Science**, v.95, p.269–271, 2013.

TABELEÃO, V.C.; DEL PINO, F.A.B.; GOULART, M.A.; SCHWEGLER, E.; MOURA, S.V.; CORRÊA, M.N. Influência da monensina e levedura sobre parâmetros Influência da monensina e levedura sobre parâmetros ruminais e ruminais e metabólicos e metabólicos em cordeiros semiconfinados cordeiros emconfinados cordeiros semiconfinados. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 181-186, 2008.