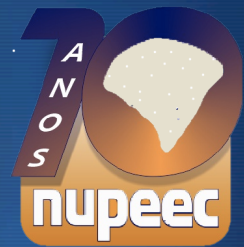




Universidade Federal de Pelotas
Faculdade de Veterinária
Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em
Pecuária



Influência da redução dos níveis de cálcio na sinalização das células do sistema imunológico em vacas leiteiras durante o período de transição

Apresentadora: Aline Marangon de Oliveira
Orientadora: Josiane de Oliveira Feijó



FATOR DE
IMPACTO: 2,564

J. Dairy Sci. 89:2588–2595

© American Dairy Science Association, 2006.

Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle¹

K. Kimura,² T. A. Reinhardt, and J. P. Goff

USDA, Agricultural Research Service, National Animal Disease Center, Periparturient Diseases of Cattle Research Unit, Ames, IA 50010-0070

ABSTRACT

The stress of parturition in the dairy cow is associated with increased susceptibility to infectious disease. During the periparturient period the demands for calcium are increased; these increased demands for calcium can result in subclinical or clinical hypocalcemia. Periparturient cows also experience significant immune suppression. Because intracellular calcium signaling is a key early feature in immune cell activation, we have hypothesized that the increased demand for calcium in

before parturition and development of hypocalcemia. This suggests that systemic calcium stress precedes measurable hypocalcemia, particularly in cows that will develop milk fever. Therefore, PBMC intracellular Ca stores are a more sensitive measure of calcium stresses in transition cow. This decrease in PBMC intracellular Ca stores before parturition and the development of hypocalcemia contributes to periparturient immune suppression.

Key words: endoplasmic reticulum, flow cytometry,

SUMÁRIO

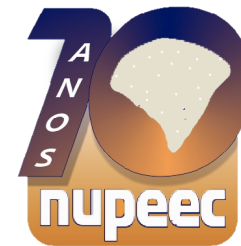


- **Introdução**
- Período de transição
- Imunossupressão
- Ca^{+2} e Sistema Imunológico
- $[\text{Ca}^{+2}]$ intracelular
- Resposta imunológica
- Ativação celular
- Hipotese

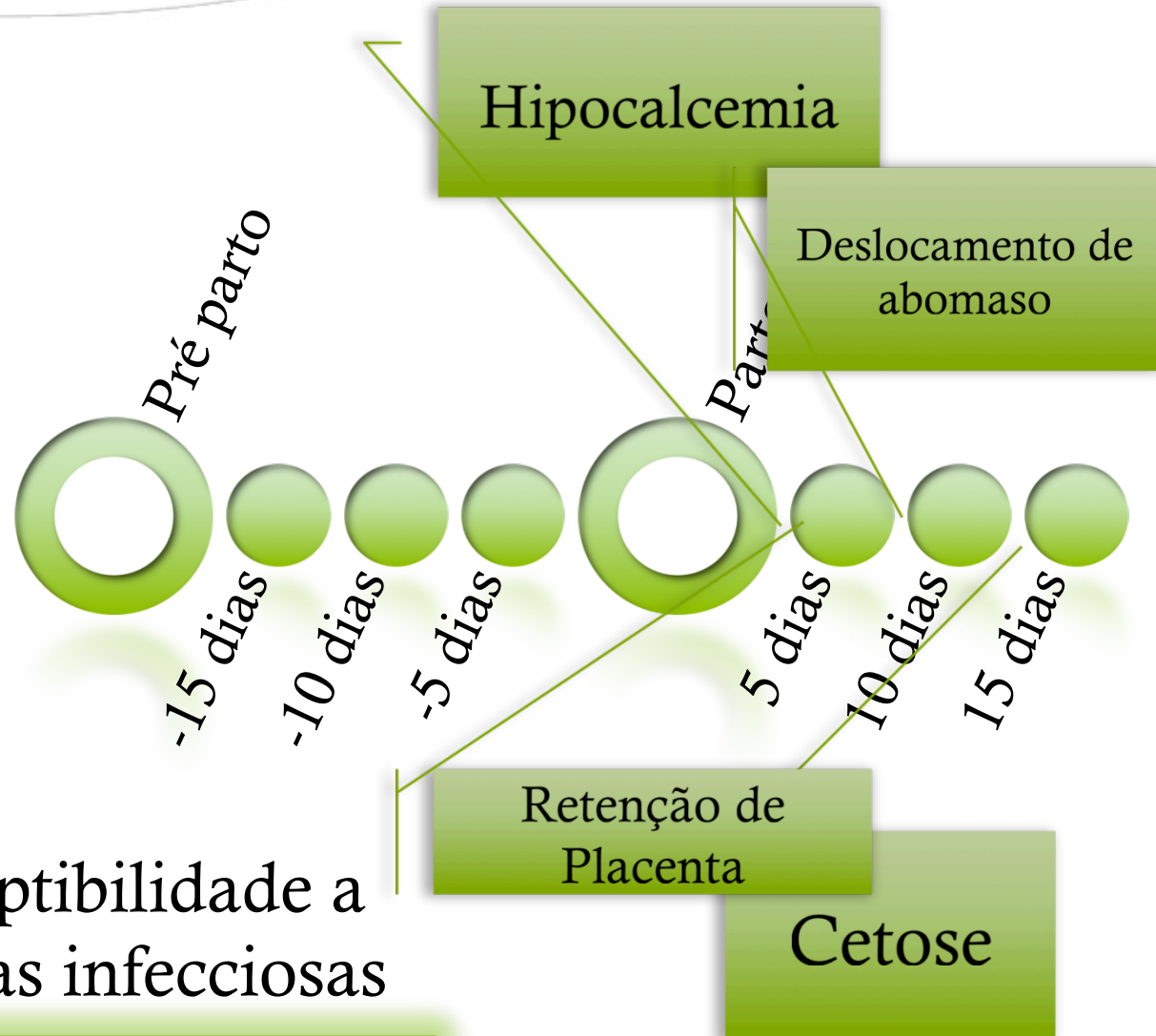
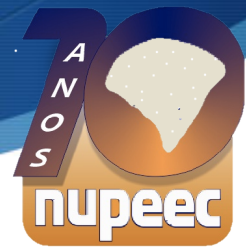
- **Metodologia**
- Animais utilizados
- Citometria de fluxo
- Determinação de $[\text{Ca}]_i$

- **Resultados**
- Ca^{+2} plasmático
- $[\text{Ca}^{+2}]$ em resposta ao parto
- Ca^{+2} como tratamento para hipocalcemia
- Armazenamento de Ca^{+2} no RE de PBMC

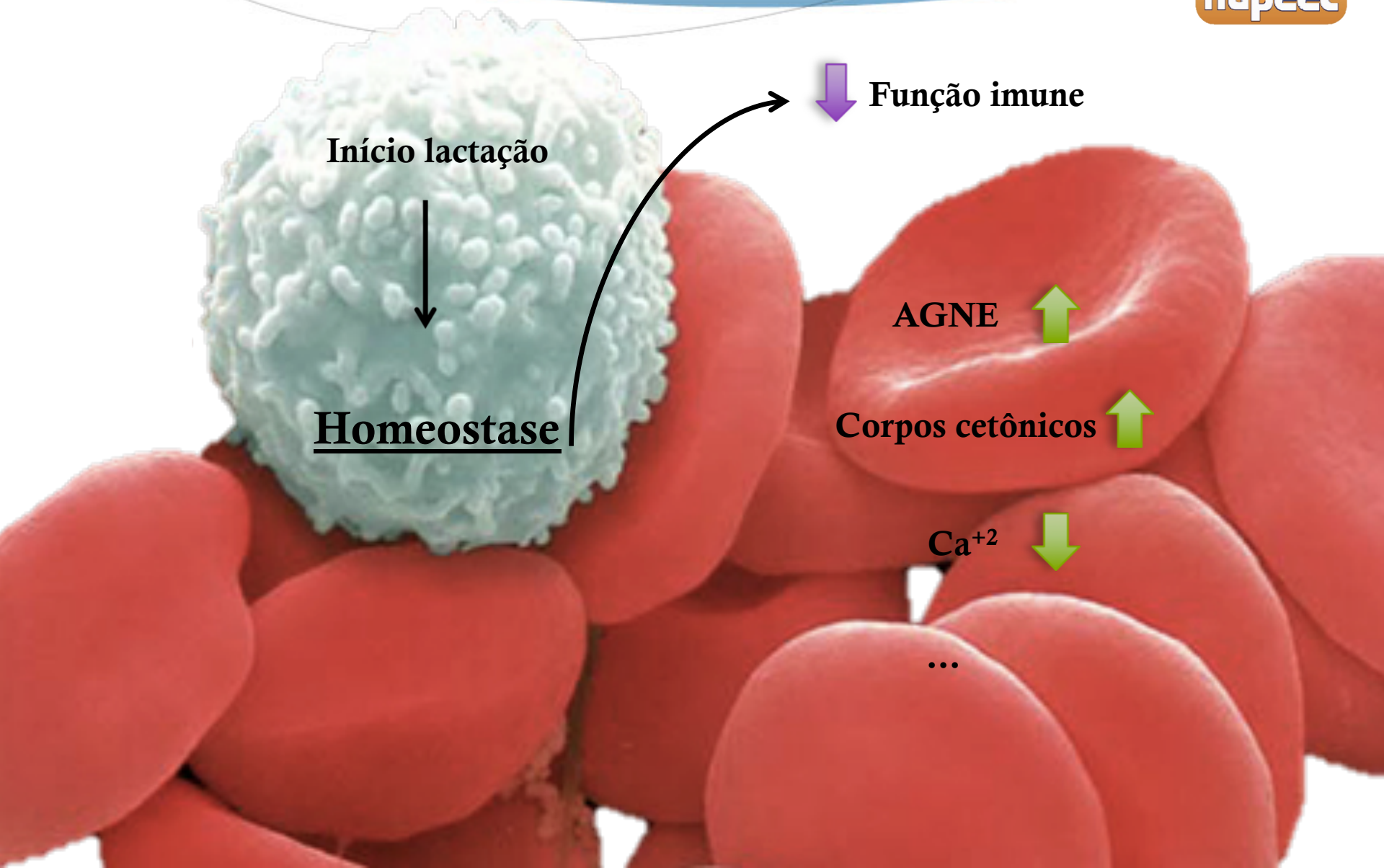
- **Conclusão**



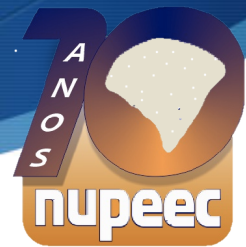
Período de Transição



Imunossupressão



Ca^{+2} e sistema imunológico



(Goff & Kimura, 2002)

Produção de leite
X
fator imunossupressor



10 Vacas Jersey mastectomizadas (GM)
8 Vacas Jersey intactas (GI)



Periodo de transição

Avaliar a atividade da
mieloperoxidase (MPO) dos
neutrófilos

Resultados



Atividade MPO pré parto



Recuperação da MPO GM

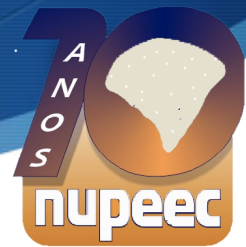
Recuperação ausente
MPO 20 dias pós parto



Linfócitos T GI



$[Ca^{+2}]$ intracelular



Hipocalcemia



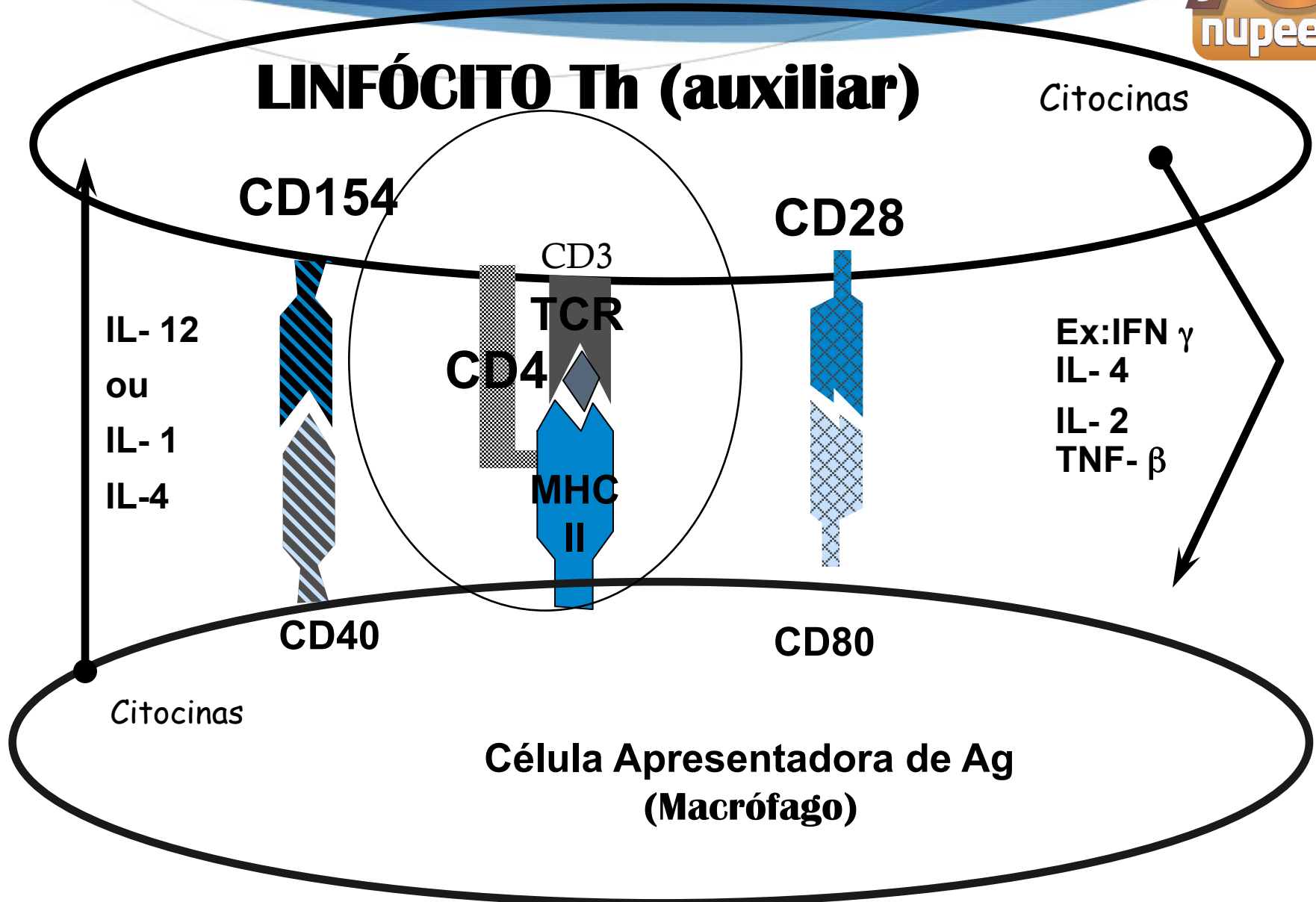
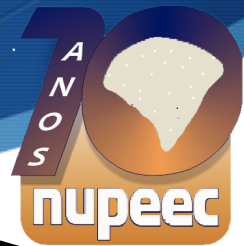
$[Ca^{+2}]$ intracelular RE ↓



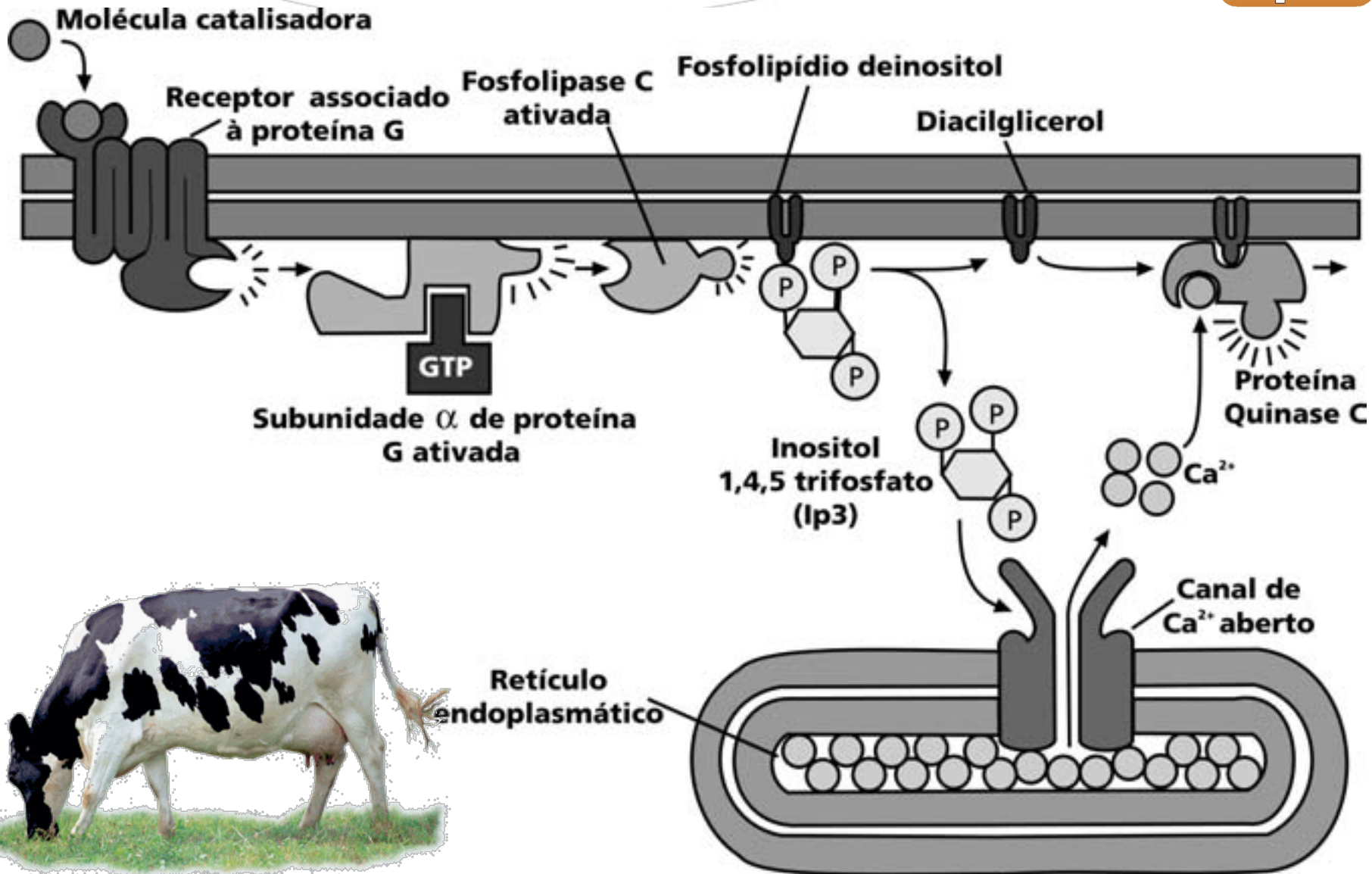
Ativação celular ↓

(Mailhot et al., 2000)

Resposta Imunológica



Ativação celular

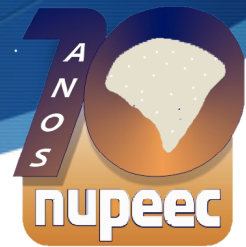


Hipótese



Os níveis reduzidos de cálcio plasmático de vacas leiteiras afetam de forma negativa as concentrações de cálcio armazenadas nas células do sistema imune, diminuindo assim sua resposta de ativação.

Animais



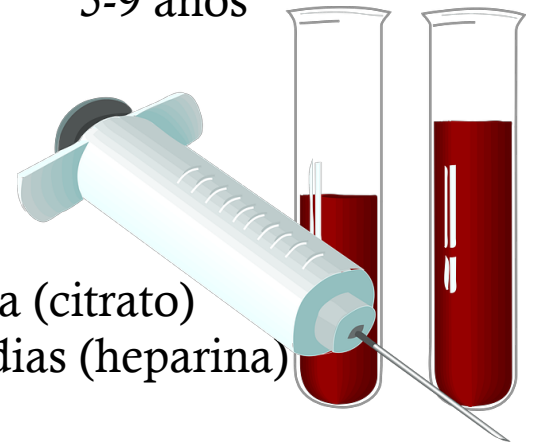
Periparto

25 Jersey

2 Holandesa

Multiparas

5-9 anos



3 x semana (citrato)
Todos os dias (heparina)

Citometria de Fluxo

Suspensão previamente preparada com anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos



CD3

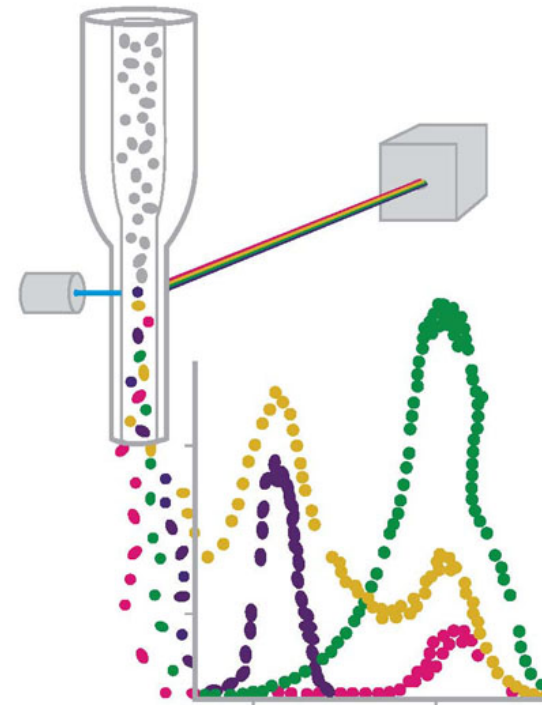
Fluo-4/ Fura Red



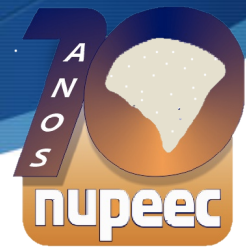
Sistema óptico



Sistema eletrônico



Determinação $[Ca^{+2}]_i$



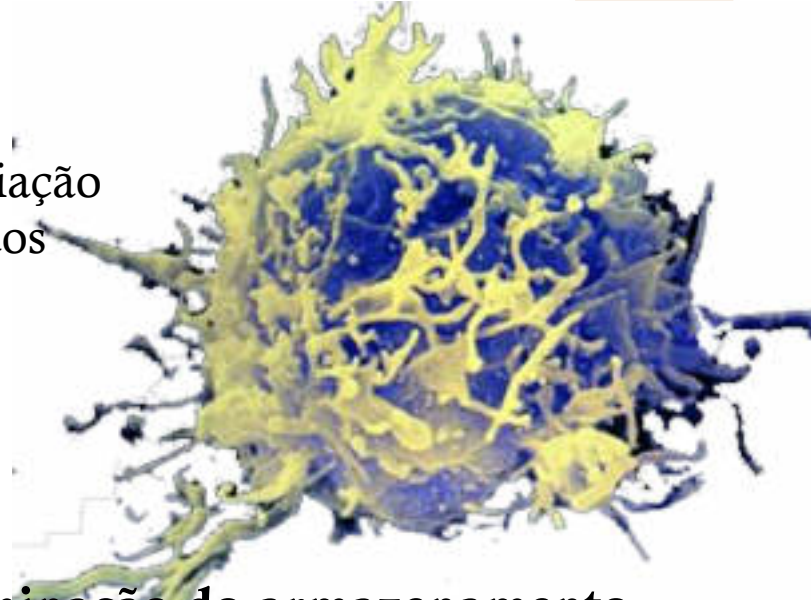
Fluo-4-
acetoxymethylester



Fura Red-AM



Menor variação
de resultados



Determinação da Liberação de Ca intracelular

Suspensão

Purificação com pervanadato,
ionomicina em tampão com EGTA

CD3 e IgG

Fluorescência

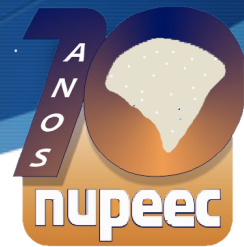
Determinação do armazenamento de Ca intracelular

Suspensão

Pervanadato e ionomicina

Liberação de cálcio citosol

Concentração de Cálcio plasmático



GH

8 vacas desenvolveram
Hipocalcemia Clínica

GnH

19 vacas não demonstraram
quadro clínico de
Hipocalcemia

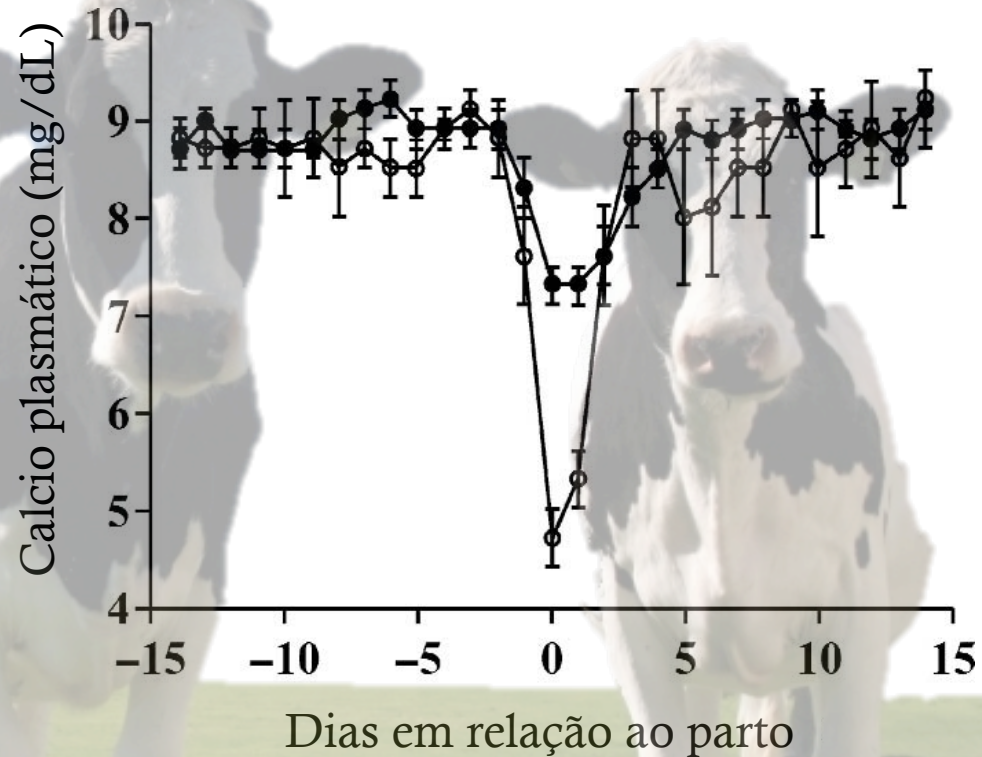


Figura 1. Concentrações de cálcio plasmático em relação ao parto, GH (○; n=8) e GnH (●; n=19), dia 0 = parto

$[Ca^{+2}]_i$ em resposta ao parto

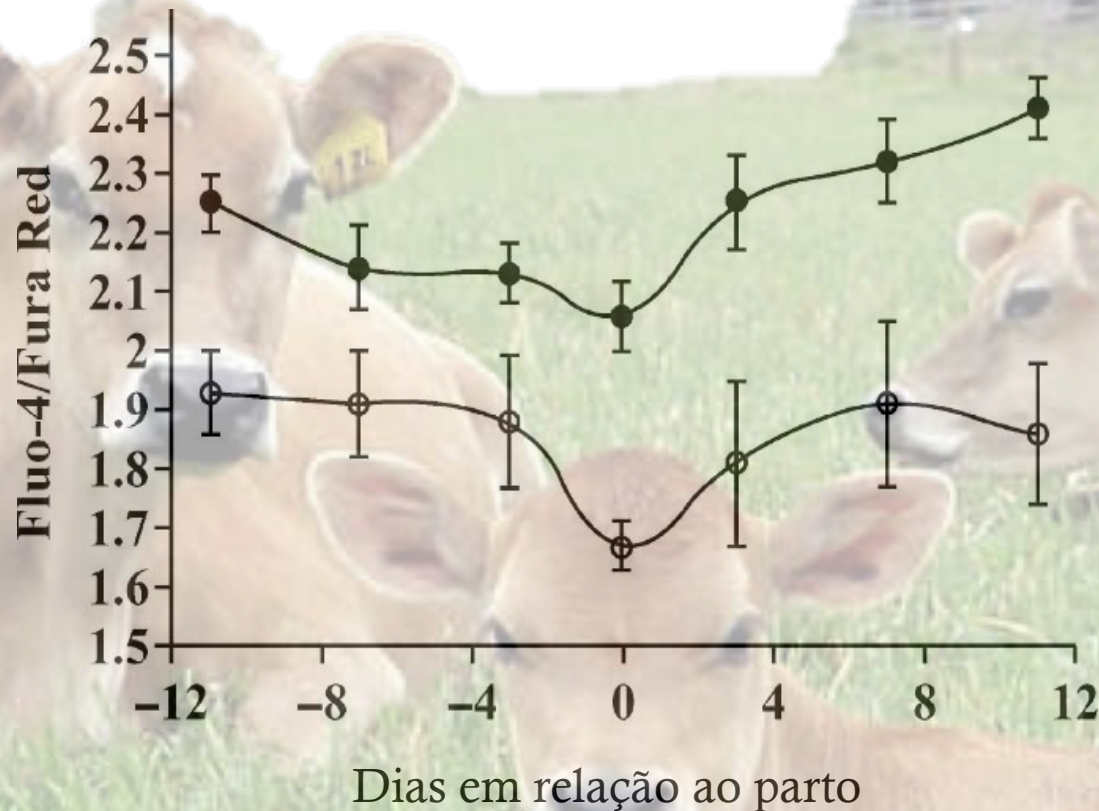


Figura 2. Fluxo da concentração de calcio ionizado $[Ca^{+2}]$ em células mononucleares. Em resposta a estimulação com anti-CD3 complexo anticorpo mAb secundário em relação ao parto, GH (○; n=8) e GnH (●; n=19). $[Ca^{+2}]$ é estimado através da relação de Fluo-4-acetoxymethylester (Fluo-4) e Fura Red-acetoxymethylester (Fura Red) emitida dia 0 \equiv parto

Ca^{+2} como tratamento

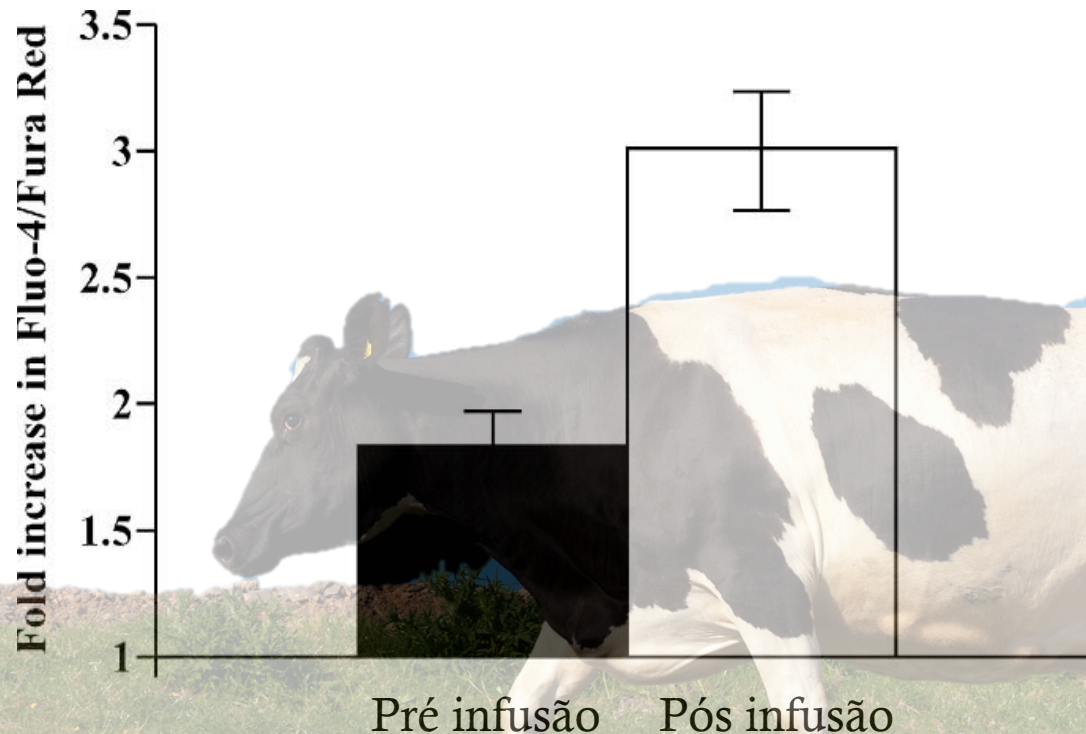


Figura 3. Média \pm SEM (n = 8) efeito da infusão intravenosa de cálcio, como tratamento, em células mononucleares periféricas (PBMC) em vacas leiteiras com hipocalcemia. $[Ca^{2+}]_i$ de fluxo em resposta a estimulação por anti-CD3 complexo anticorpo mAb secundário. $[Ca^{2+}]_i$ de fluxo é relatada como a relação de Fluo-4/Fura Red emitida.

Ca²⁺ armazenado no RE de PBMC

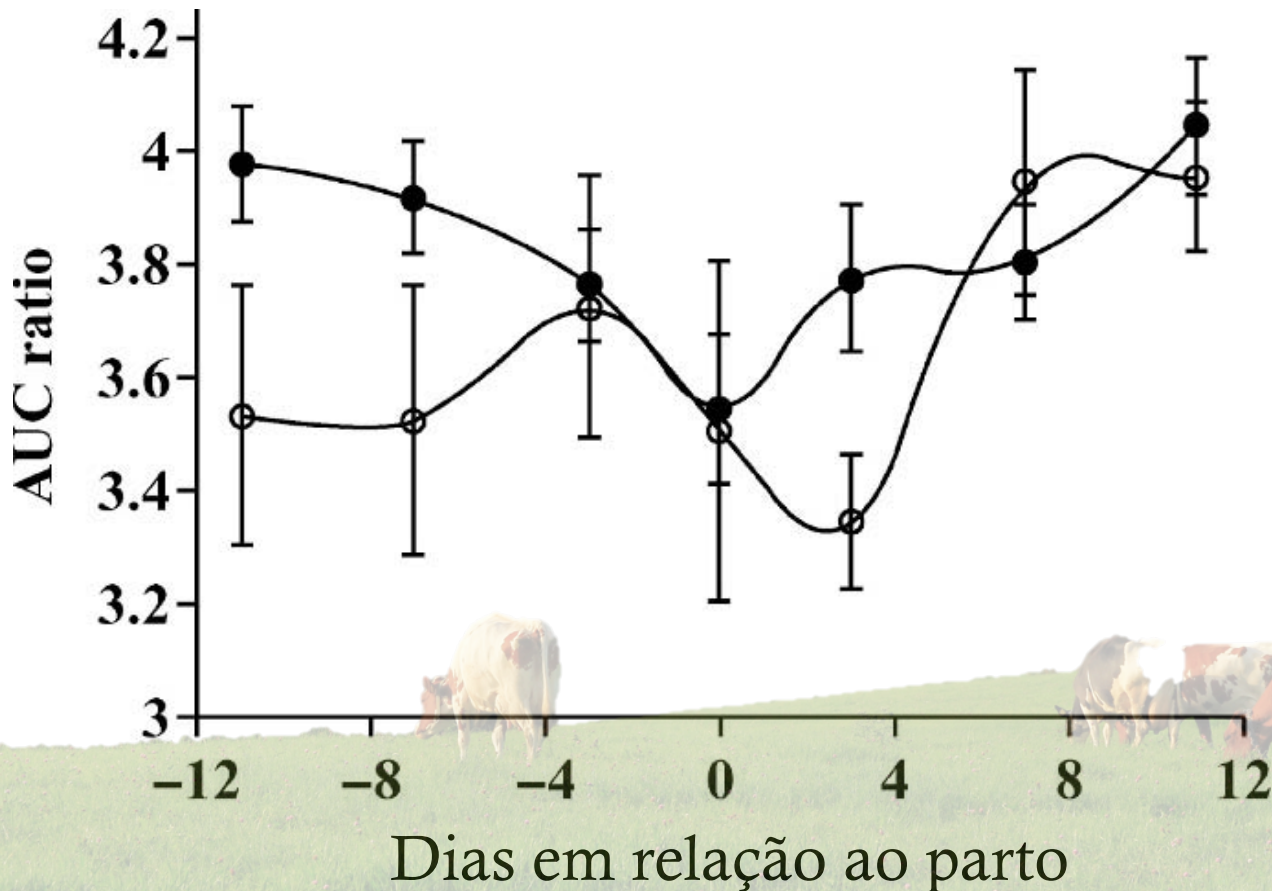
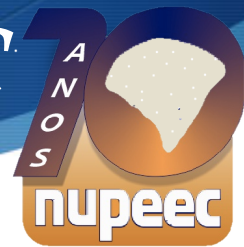
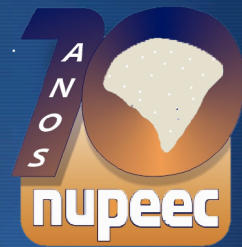
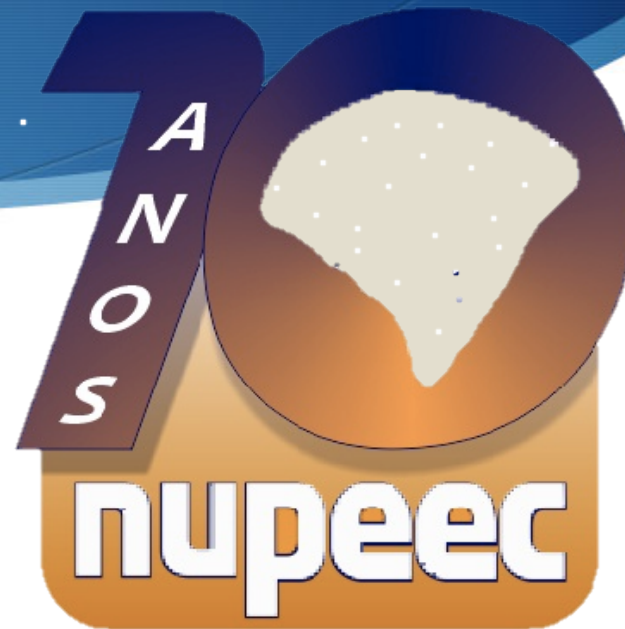


Figura 4. Tamanho do armazenamento de cálcio em relação ao parto. O tamanho foi expresso como a mudança na área sob a curva (AUC) da razão de (Fluo-4) / (Fura Red) durante o tratamento com pervanadato / ionomicina, d = 0 parto..

CONCLUSÃO

As reservas intracelulares de cálcio diminuí em células mononucleares do sangue periférico, antes do parto e do desenvolvimento do quadro de hipocalcemia e contribui para supressão do sistema imunológico em vacas leiteiras que poderão desenvolver hipocalcemia no pós parto.





*Obrigada pela
atenção.*

aline-marangon@hotmail.com