

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ÁCIDOS GRAXOS NÃO ESTERIFICADOS (NEFA) NA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) NO PERIPARTO DE VACAS LEITEIRAS.

LEAL, Sofia Del Carmen Bonilla de Souza¹; SCHWEGLER, Elizabeth¹; BOLZAN, Guilherme Nunes¹, PFEIFER, Luiz Francisco Machado¹; CORRÊA, Marcio Nunes¹

*Universidade Federal de Pelotas – Faculdade de Veterinária
1-Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)
www.ufpel.edu.br/nupeec*

1 INTRODUÇÃO

A mastite é a doença que implica maiores gastos na indústria de laticínios (BRADLEY, 2002). O decréscimo na produção de leite devido a mastite (REKSEN et al., 2007) representa 70% do custo da enfermidade, o restante é representado pelos custos com tratamentos e profissionais envolvidos. A mastite é caracterizada pelo aumento da contagem de células somáticas e pode ser classificada de acordo com a manifestação dos sinais clínicos em clínica e sub-clínica. A (CCS) no leite, a qual representa o mecanismo de defesa imune primária na glândula mamária, consiste em neutrófilos, monócitos e linfócitos (SORDILLO et al., 1997). Dentre os fatores que predisõem a vaca à mastite está o aumento da concentração sérica de ácidos graxos não-esterificados (NEFA) no periparto. A elevação do NEFA ocorre devido ao balanço energético negativo decorrente da alta demanda energética no período pós-parto (MALLARD et al., 1997). Altas concentrações séricas de NEFA têm sido associadas com uma grande incidência de doenças do periparto e à imunossupressão em vacas de produção (LEBLANC et al., 2005). A imunossupressão normalmente observada durante o período de transição, como resultado da mudança do estado fisiológico, é um dos primeiros fatores associados com a grande incidência de mastite (MEHRZAD et al., 2001). O período pós-parto é também associado com a redução de glicose, o que agrava ainda mais a supressão do sistema imune. Sob condição de BEN e baixas concentrações de insulina, a secreção de hormônio lipase sensível é estimulada, desencadeando lipólise com posterior liberação de ácidos graxos na forma de NEFA para a corrente sanguínea (NELSON et al., 2000). Baseado nessas considerações, o objetivo deste estudo foi relacionar os níveis de NEFA com a CCS do leite no período do periparto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Animais e grupos experimentais

O experimento foi realizado em uma propriedade localizada no município de Rio Grande (RS). Foram utilizadas trinta e seis novilhas prenhes da raça Holandês, com cerca de dois anos de idade. As vacas foram avaliadas semanalmente a partir dos sete dias pré-parto até sessenta dias pós-parto.

Coletas de sangue e leite e análise do NEFA

Foram realizadas coletas de sangue semanalmente para a avaliação do NEFA. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3500 rpm durante dez minutos e colocadas em *ependorffs* posteriormente congelados a -80 °C até a

realização da análise. Para análise do NEFA foi utilizado kit colorimétrico da Wako NEFA-HR®.

Para análise do CCS no leite foi coletada uma amostra de leite semanalmente a partir da segunda semana pós-parto. As amostras foram refrigeradas a 10°C e encaminhadas ao Laboratório de Qualidade de Leite da Embrapa Clima Temperado. A CCS foi realizada em contador eletrônico, pela técnica de citometria de fluxo (Somacount 300, Bentley Instruments, Inc).

Definições e grupos experimentais

As vacas foram agrupadas segundo os níveis plasmáticos de NEFA. Para separação dos grupos experimentais, as vacas foram divididas de acordo com as concentrações de NEFA de acordo com Melendez et al. (2009). Vacas que apresentaram concentrações de NEFA acima de 0,9 mEq/L em pelo menos uma amostra foram classificadas como grupo Alto NEFA (GANEFA, n= 27) e as que apresentaram menores concentrações foram classificadas como grupo Baixo NEFA (GBNEFA, n=9) conforme ilustrado na Figura 1. Os dados foram alinhados conforme o pico de NEFA e conforme maiores índices de CCS. Os dados de NEFA e de CCS foram analisados por análise de variância para medidas repetidas através do MIXED procedure, para avaliar efeito de grupo, período e suas interações.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito de grupo ($P = 0,0002$) e de semana ($P < 0,001$), assim como grupo-semana interação ($p = 0,0004$) para concentração sérica de NEFA (Figura 1). No entanto, apesar de que o GANEFA apresentou número de células somáticas 3,38 vezes mais elevado do que o GBNEFA na semana 3 pós-parto, não houve efeito de Grupo, semana e interação grupo-semana ($P > 0,05$; Figura 2). Ambos os grupos tiveram seu pico de NEFA na primeira semana pós parto (Figura 1). Esses resultados corroboram com dados de outros estudos, os quais citam que vacas com altos níveis de NEFA possuem maior predisposição à mastite (MOYES, 2009). Tendo em vista que o aumento de NEFA é indicador de maior lipólise, vacas que desenvolvem mastite durante a primeira semana de lactação, mobilizaram maiores reservas de gordura do que aquelas que não desenvolvem a doença (MOYES, 2009). Esses resultados indicam que maiores concentrações de NEFA no pré-parto podem intensificar a imunossupressão observada no período de transição, levando assim a um aumento nos riscos de ocorrência de mastite no pós-parto. Apesar dessas evidências, os mecanismos envolvidos nas relações entre NEFA, função imune e susceptibilidade à mastite ainda não estão totalmente compreendidos. Scalia et al. (2006), observaram que os neutrófilos sanguíneos dos bovinos incubados *in vitro* com 2mM de NEFA não tiveram a sua capacidade fagocítica diminuída, mas a viabilidade da célula foi reduzida quando comparada com células incubadas na ausência de NEFA. Além disso, a incubação de leucócitos mononucleares com NEFA inibiu a secreção de IgM e a síntese de DNA e diminuiu a produção de interferon gamma IFN- γ (LACETERA et al. , 2004). Portanto, os resultados *in vitro* indicam que maiores níveis de NEFA podem inibir a resposta imune, levando a uma maior susceptibilidade à mastite.

4 CONCLUSÕES

Com base nos dados analisados, pode-se constatar que há uma relação significativa entre o aumento dos níveis de NEFA e o posterior aumento de CCS, já que o NEFA deprimindo o sistema imune vai possibilitar a instalação de um processo inflamatório em nível de glândula mamária.

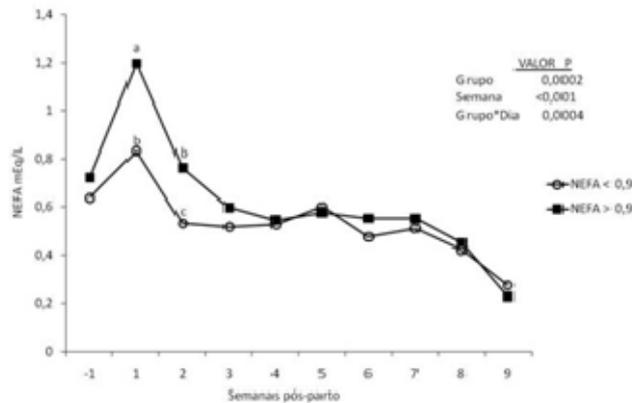


Figura 1- Concentrações plasmáticas de NEFA de acordo com a concentração de ácidos graxos não-esterificados (NEFA) durante o periparto. Coletas de sangue foram realizadas semanalmente a partir de uma semana pré-parto até nove semanas pós-parto.

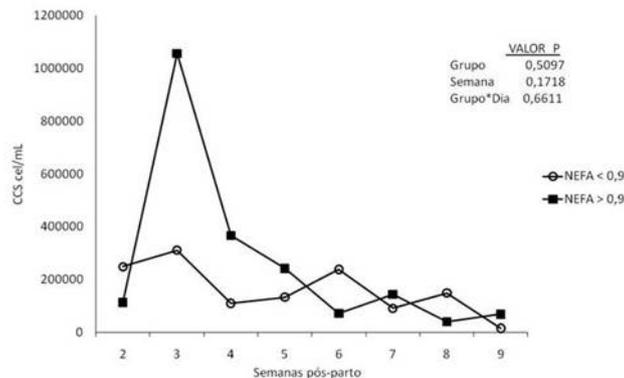


Figura 2- Contagem de células somáticas (CCS) do leite das vacas de acordo com os grupos Alto NEFA (NEFA > 0,09) e Baixo NEFA (NEFA < 0,09) durante o período pós-parto.

5 REFERÊNCIAS

BRADLEY, A. Bovine Mastitis: An evolving disease. **Vet. J.**, v. 164, p. 116-128, 2002.

LACETERA, N., D. Scalia, O. Franci, U. Bernabucci, B. Ronchi, and A. Nardone. Short communication: Effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. **J. Dairy Sci.**, v. 87, p. 1012-1014, 2004.

LEBLANC, SJ, Leslie KE, Duffield TF. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **J Dairy Sci.**, v. 88, p. 159-70, 2005.

MALLARD, B. A., L. C. Wagter, M. J. Ireland, and J. C. M. Dekkers. Effects of growth hormone, insulin-like growth factor-I, and cortisol on periparturient antibody

response profiles of dairy cattle. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 60, p. 61-76, 1997.

MEHRZAD, J., H. Dosogne, E. Meyer, R. Heyneman, and C. Burvenich. Respiratory burst activity of blood and milk neutrophils in dairy cows during different stages of lactation. **J. Dairy Res.**, v. 68, p. 399-415, 2001.

MELENDEZ, P., M. P. Marin, J. Robles, C. Rios, M. Duchens, L. Archbald. Relationship between nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows. **Sci Direct.**, v. 72, p. 826-833, 2009.

MOYES, K. M., T. Larsen, N. C. Friggens, J. K. Drackley, and K. L. Ingvarsen. Identification of potential markers in blood for the development of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle at parturition and during early lactation. **J. Dairy Sci.**, v. 94, p. 5419-5428, 2009.

NELSON DL, Cox MM. Integration and hormonal regulation of mammalian metabolism. In: Nelson DL, Cox MM, editors. **Lehninger Principles of Biochemistry. Third Edition, Worth Publishers**, p. 869-901. 2000

REKSEN, O., L. Solverod, and O. Osteras. Relationships between milk culture results and milk yield in Norwegian Dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v. 90, p. 4670-4678, 2007.

SCALIA, D., N. Lacetera, U. Bernabucci, K. Demeyere, L. Duchateau, and C. Burvenich. In vitro effects of nonesterified fatty acids on bovine neutrophils oxidative burst and viability. **J. Dairy Sci.**, v. 89, p. 147-154, 2006.

SORDILLO, L. M., K. Shafer-Weaver, and D. DeRosa. Immunobiology of the mammary gland. **J. Dairy Sci.**, v. 80, p. 1851-1865, 1997.