

INFLUÊNCIA DA DIETA ANIÔNICA SOBRE OS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE NOVILHAS LEITEIRAS COM HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA NO PRÉ-PARTO

CAMILA PIZONI¹; JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ²; URIEL SECCO LONDERO²; ISMAEL MATEUS CAVAZINI²; EDUARTE GULARTE XAVIER³; VIVIANE ROHRIG RABASSA⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – camila.piznonivet@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – nupeec@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – vivianerabassa@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A hipocalcemia é uma doença metabólica que afeta vacas de alta produção de leite no pré-parto e início de lactação quando há um rápido declínio nas concentrações de cálcio total e ionizado no sangue, devido à mobilização desse mineral para a formação fetal e produção de leite (LEAN et al., 2006).

A Hipocalcemia subclínica está associada a diversos distúrbios metabólicos do pós-parto. A diminuição do cálcio total e ionizado interfere em vários processos que envolvem a contração celular, refletindo na motilidade gastrointestinal diminuindo a ingestão de matéria seca (IMS), ocasionando problemas metabólicos, como, síndrome da vaca caída (BROZOS et al., 2011), cetose (KARA, 2013) e deslocamento de abomaso (CHAPINAL et al., 2011); diminuição da contração uterina, causando retenção de placenta (MARTINEZ et al., 2012). Além disso, a queda do cálcio pode reduzir a capacidade das células do sistema imune de responder a estímulos, contribuindo para infecções como a mastite e metrite (KIMURA et al., 2006; MARTINEZ et al., 2012), devido a sua função na sinalização celular.

Como estratégia preventiva, os sais aniônicos têm sido utilizados a fim de auxiliar na homeostase do cálcio e redução dos distúrbios metabólicos no pós-parto. A adição de ânions como cloro e enxofre à dieta pré-parto, induz na vaca uma acidose metabólica que auxilia a reabsorção óssea e a absorção intestinal de cálcio (HORST et al., 1997), visto que o organismo tenta compensar a acidificação do pH sanguíneo aumentando os níveis de cálcio no sangue (GAYNOR et al., 1989). Assim, dietas ricas em ânions aumentam a reabsorção osteoclástica e a síntese de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ em vacas (GOFF & HORST, 1981), os quais são controlados pelo PTH.

A resposta do organismo animal à adição de sais aniônicos à dieta é rapidamente perceptível. Em 48 horas após o início do fornecimento da dieta o pH sanguíneo já está levemente acidificado. Porém acredita-se que seja necessário de cinco a sete dias para que o efeito da redução do pH sanguíneo se manifeste nos mecanismos de homeostase do cálcio (SANTOS et al., 2011), contudo nos sistemas produtivos o uso desta dieta é geralmente indicado durante no mínimo 21 dias.

Assim, a hipótese desse estudo é que vacas que recebem dieta aniônica por um período maior respondem mais rapidamente à diminuição do cálcio sanguíneo, demonstrando menos alterações em parâmetros hematológicos.

O objetivo do estudo foi avaliar os parâmetros hematológicos de novilhas leiteiras com hipocalcemia subclínica submetidas a diferentes períodos de fornecimento de dieta aniônica.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira ao sul do Rio Grande do Sul, no município de Rio Grande, nas coordenadas geográficas 32 ° 16 'S, 52 ° 32' E.

Foram utilizadas 9 novilhas da raça Holandês, entre vinte e um e quinze dias pré-parto, com escore de condição corporal uniforme (ECC = 3) (EDMONSON et al., 1989), distribuídas aleatoriamente entre os grupos em sistema de criação semi-extensivo. Os animais foram divididos em 3 grupos de acordo com o fornecimento da dieta aniônica e todos grupos foram induzidos à hipocalcemia subclínica segundo protocolo estabelecido por Jorgensen et al. (1999). O grupo G0 (n=3) não havia recebido a dieta aniônica no momento da indução. No grupo G11 (n=3) a indução foi realizada após 11 dias de dieta aniônica. O grupo G15 (n=3), novilhas que foram induzidas à hipocalcemia subclínica após 15 dias de dieta aniônica.

As coletas de sangue foram realizadas por punção da veia coccígea, utilizando o sistema Vacutainer (BD Diagnostics, Brasil). No dia da indução foram coletadas amostras de sangue imediatamente antes do seu início (0h) até 12 horas após o início, e a média entre o momento 0, 6 e 12 caracterizou o dia 0, posteriormente as coletas foram realizadas nos dias 1, 2 e 3 a partir da indução. O sangue foi coletado em um tubo contendo EDTA 10% (5mL) para realização de leucograma por reação de impedância utilizando o analisador celular semi automático CC 530 / 550 (CELM, Brasil), proteínas totais (PPT) e fibrinogênio pela técnica de refratometria utilizando o Refratômetro Manual para determinação de proteína densidade específica em Soro ou urina (Biobrix, Brasil).

Para realização da análise estatística dos dados obtidos utilizou-se o programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Foi utilizada análise de variância com Mixed Model para comparação dos grupos, coletas e sua interação (grupo x coleta) através do teste de TukeyHSD (P < 0,05).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No leucograma foi possível observar que o G0 e o G15 tiveram maior porcentagem de neutrófilos (Figura 1) no segundo dia pós hipocalcemia subclínica quando comparados ao G11 (P<0,01).

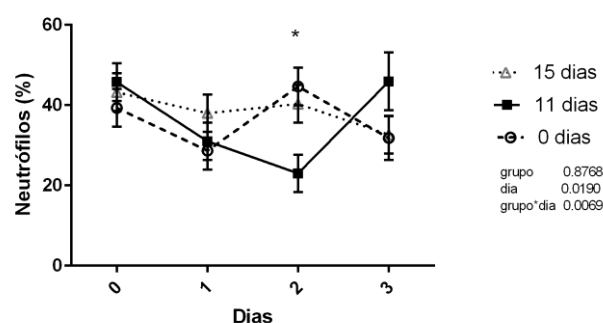


Figura 1: Porcentagem de neutrófilos segmentados de novilhas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de suplementação de dieta aniônica.

* Diferença estatística entre grupos x dia (P<0,05).

Houve diferença nos valores de monócitos e bastonetes entre os grupos durante todo período (P<0,01), sendo que o G0 apresentou os maiores valores, em comparação ao G11 e G15 durante a avaliação. Não houve diferença nos

valores de fibrinogênio, leucócitos totais, linfócitos e eosinófilos entre os grupos e entre os períodos (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros hematológicos (média \pm erro padrão da média) avaliados em novilhas pré-parto com hipocalcemia subclínica recebendo dieta aniônica por diferentes períodos.

Parâmetro	G0	G11	G15	Valor de P		
				Grupo	Dia	Grupo x Dia
Bastonetes (%)	3,20 ^a (0,30)	1,70 ^b (0,35)	1,97 ^b (0,29)	<0,01	0,57	0,16
Eosinófilos (μ L)	8,74 (1,92)	9,36 (2,02)	8,08 (1,89)	0,89	0,64	0,06
Fibrinogênio (mg/dL)	650 (69,9)	450 (84,5)	555 (69,9)	0,34	0,95	0,29
Leucócitos Totais (μ L)	12,67 (1,77)	12,60 (1,83)	10,60 (1,77)	0,66	0,05	0,96
Linfócitos (μ L)	4,88 (4,27)	4,97 (4,46)	4,97 (4,20)	0,98	0,02	0,11
Monócitos (%)	3,87 ^a (0,43)	2,51 ^b (0,49)	1,63 ^b (0,40)	<0,01	0,45	0,46
Neutrófilos (%)	36,1 (3,64)	36,4 (3,83)	38,5 (3,58)	0,87	<0,01	<0,01
Proteínas Totais (g/dL)	7,32 ^a (0,13)	6,81 ^b (0,18)	6,54 ^b (0,13)	<0,01	0,15	0,24

^{abc} Diferem entre si na mesma linha.

G0 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica sem adição de dieta aniônica

G11 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta aniônica há 11 dias.

G15, animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniônica há 15 dias.

Com relação aos monócitos o G0 apresentou valores maiores principalmente após o cálcio já ter se restabelecido, que pode ser justificado devido ao monócito auxiliar na reabsorção óssea através do estímulo da secreção de citocinas como interleucina (IL) 1 e 6 e indiretamente IL 11 e IL 17, que são responsáveis pelo desenvolvimento e reparação óssea (DONG & WEIN, 2013). Martinez et al. (2014) não observou diferença na porcentagem de leucócitos, monócitos, linfócitos e neutrófilos em vacas com hipocalcemia subclínica, mas observou diferença na atividade fagocítica dos neutrófilos, a qual não foi avaliada nesse estudo.

O uso da dieta aniônica geralmente é recomendado durante todo período pré-parto, que representa ao produtor um custo elevado, mesmo diante dos benefícios que ela gera. Nesse estudo o uso de dieta aniônica por onze ou quinze dias se mostrou eficiente na adaptação do organismo ao sistema de homeostase do cálcio, medido através do seu efeito sobre parâmetros hematológicos, sugerindo que seu uso poderia ser reduzido, mantendo sua eficiência, minimizando os danos celulares e diminuindo o custo para o produtor.

4. CONCLUSÕES

Concluimos que a dieta aniônica poderia ser incluída na dieta pré-parto de novilhas por um período inferior a trinta dias sem reduzir a capacidade imune dos animais, pois neste estudo o fornecimento da dieta por onze dias manteve a

resposta leucocitária em novilhas desafiadas a uma diminuição do cálcio sanguíneo durante todo período de avaliação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROZOS, C.; MAVROGIANNI, V.S.; FTHENAKIS, G.C. Treatment and control of peri-parturient metabolic diseases: pregnancy toxemias, hypocalcemia, hypomagnesemia. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, vol. 27, p. 105-113, 2011.
- CHAPINAL, N.; CARSON, M.E.; DUFFIELD, T.F.; CAPEL, M.; GODDEN, S.; OVERTON, M.; SANTOS, J.E.P.; LEBLANC, S.J. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 489-4903, 2011.
- DONG, L.; WEIN, C. Harnessing the power of macrophages/monocytes for enhanced bone tissue engineering. **Trends Biotechnology**, v. 31, n. 6, 2013.
- EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A Body Condition Scoring Chart For Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n.1, 1989.
- GAYNOR, P.J.; MUELLER, F.J.; MILLER, J.K. Parturient hypocalcemia in Jersey cows fed alfalfa haylage-based diets with different cation to anion ratios. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n.10, p.2525-2531, 1989
- GOFF, J.P.; HORST, R.L. Addition Of Chloride To A Prepartal Diet High In Cations Increases 1,25-Dihydroxyvitamin D Response To Hypocalcemia Preventing Milk Fever. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3863-3871, 1981.
- HORST, R.L.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; BUXTON, D.R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1269-1280, 1997.
- JORGENSEN, R.J.; NYENGAARD, N.R.; DANIEL, R.C.W.; MELLAU, L.S.B.; ENEMARK, J.M.D. Induced hypocalcaemia by Na₂ EDTA infusion: a review. **Journal of Veterinary Medicine**, a. 46, p. 389-497, 1999.
- KARA, C. 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 Biodiversity and Environmental Sciences**, v. 7, p. 9-17, 2013.
- KIMURA, K.; REINHARDT, T.A.; GOFF, J.P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signal in immune cells of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 2588-2595, 2006.
- 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. 669-684, 2006.
- MARTINEZ, N.; RISCO, C.A.; LIMA, F.S.; BISINOTTO, R.S.; GRECO, L.F.; RIBEIRO, E.S.; MAUNSELL, F.; GALVÃO, K.; SANTOS, J.E. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 7158-7172. 2012.
- 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.; DRIVER, J.P.; THATCHER, W.W.; SANTOS, J.E. P. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97 p.874-887, 2014.
- SANTOS, J.E.P. Distúrbios metabólicos. In: Berchielli T.T., Pires A.V. & Oliveira S.G. (Eds), **Nutrição de Ruminantes**. 2ª ed. Funep, Jaboticabal, 2011, p.439-450.