



Revista Agrária Acadêmica

[Agrarian Academic Journal](#)

Volume 4 – Número 1 – Jan/Fev (2021)



doi: 10.32406/v4n12021/69-76/agrariacad

Influência da hipocalcemia sobre o metabolismo energético e resposta imune inata de vacas leiteiras no período de transição. Influence of hypocalcemia on energy metabolism and innate immune response of dairy cows in the transition period.

[Alcione Santa Catarina](#)^{1*}, [Luana Carolina Bachmann Gregolin](#)¹, [Marla Schneider](#)¹, [Luciana Pereira Machado](#)⁷, Fernando Nogueira de Souza², [Alice Maria Melville Paiva Della Libera](#)³, Soraia Araújo Diniz⁴, Luciana Bignardi de Soares Brisola Casemiro da Costa⁵, [Marta Lizandra Rego Leal](#)⁶, [Maiara Garcia Blagitz](#)⁷

^{1*}- Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-estar Animal e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS - *campus* Realeza - PR, Brasil. Av. Edmundo Gaievski, 1000, Rodovia BR 182 - Km 466 - Caixa Postal 253, Zona Rural, Realeza - PR, 85770-000. E-mail: alcione_pp@hotmail.com.

²- Pós-Doutorando do Departamento de Clínica Médica - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo - FMVZ - USP - São Paulo - SP, Brasil.

³- Docente do Departamento de Clínica Médica - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo - FMVZ - USP - São Paulo - SP, Brasil.

⁴- Departamento de Medicina Veterinária Preventiva - Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais - EV - UFMG - Belo Horizonte - MG, Brasil.

⁵- Docente do Department of Veterinary Preventive Medicine - College of Veterinary Medicine - The Ohio State University - OSU - Columbus - OH, USA.

⁶- Docente do Curso de Medicina Veterinária - Departamento de Clínica de Ruminantes - Universidade Federal de Santa Maria - UFSM - Santa Maria - RS, Brasil.

⁷- Docente Permanente do Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-estar Animal e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul e do Curso de Medicina Veterinária da UFFS - *campus* Realeza -PR, Brasil.

Resumo

O objetivo foi avaliar a influência da hipocalcemia clínica (HC) e subclínica (HSC) no metabolismo energético e resposta imune inata de vacas. As amostras foram divididas em grupos: Grupo 1: 74 amostras (controle), Grupo 2: 142 amostras (HSC) e Grupo 3: 6 amostras (HC). Não houve diferença no BHB e resposta imune. No G2 maiores valores de AGNE foram detectados no dia do parto. No G3 observou-se maiores teores de AGNE no 15º dia pós-parto em relação ao 30º. Maiores valores de glicose foram detectados no G3 comparando ao G1 e G2. Assim, a hipocalcemia não causou alterações na resposta imune, mas alterou o metabolismo energético no período de transição.

Palavras-chave: Puerpério. Cálcio. Bovinocultura leiteira. Glicose. Sistema imunológico.

Abstract

The objective was to evaluate the influence of clinical (HC) and subclinical (HSC) hypocalcemia on the energetic metabolism and innate immune response of cows. The samples were divided into groups: Group 1: 74 samples (control), Group 2: 142 samples (HSC) and Group 3: 6 samples (HC). There was no difference in BHB and immune response. In G2 higher values of AGNE were detected on the day of delivery. In G3 higher levels of AGNE were observed on the 15th day postpartum in relation to the 30th day. Higher values of glucose were detected in G3 compared to G1 and G2. Thus, hypocalcemia did not cause alterations in the immune response but altered the energetic metabolism during the transition period.

Keywords: Puerperium. Calcium. Dairy cattle. Glucose. Immune system.

Introdução

A pecuária leiteira do Brasil é heterogênea, na qual é constituída por produtores especializados e ao mesmo tempo por produtores que utilizam o leite como a principal forma de sobrevivência. Essas diferenças geram grande variação no que se refere ao manejo alimentar, que por vezes não atende às exigências nutricionais nos diferentes estágios de produção, principalmente nas fases críticas, como o período de transição (NETO et al., 2011).

Este período, compreendido entre as três semanas antes até as três semanas após o parto, apresenta maiores alterações no perfil metabólico energético e alterações endócrinas (ALVARENGA et al., 2015; ARTUNDUAGA et al., 2018; MAZZUCO et al., 2019). Ademais, nesta fase as fêmeas apresentam quadro de imunossupressão que, no pós-parto, está associado ao balanço energético negativo (BEN). Uma vez que, neste período, há uma demanda energética aumentada para suprir a lactação inicial, que se agrava em vacas de alta produção, predispondo ao surgimento de enfermidades (NETO et al., 2011; ARTUNDUAGA et al., 2018).

As principais doenças evidenciadas nesta fase são: cetose, acidose ruminal, deslocamento de abomaso, mastite, metrite, retenção de placenta, laminite e hipocalcemia (NETO et al., 2011; TORRÃO, 2016). A hipocalcemia torna-se uma das mais preocupantes, pois sua ocorrência favorece o acontecimento de outras enfermidades (JAWOR et al., 2012). Muitos autores consideram que a concentração total de cálcio fisiológico para bovinos está entre 8,5-10,0 mg/dL. Abaixo desta concentração pode-se considerar hipocalcemia subclínica. Porém, quando os animais apresentam concentrações de cálcio menores que 5,5 mg/dL há manifestações clínicas da doença e a hipocalcemia passa a ser considerada clínica (GOFF, 2008).

Além das alterações que o metabolismo de cálcio gera nos animais, sabe-se que os níveis de cálcio são importantes para a manutenção da integridade do sistema imunológico dos animais. Portanto, vacas com hipocalcemia estão mais susceptíveis ao surgimento de novas doenças, uma vez que as reservas celulares e o fluxo intracelular de cálcio estão diminuídos, e com isso há redução na resposta imune aos estímulos (GOFF, 2008; SORDILLO; CONTRERAS; AITKEN, 2009; MAZZUCO et al., 2019). Conseqüentemente, estas alterações proporcionam menor atividade microbicida frente aos microrganismos invasores (GOFF, 2008; SORDILLO; RAPHAEL, 2013). Além disso, existe uma série de enzimas que são ativadas por concentrações crescentes intracelulares de cálcio para participar de respostas celulares (YU et al., 2004).

A resposta imune é dividida em imunidade inata e imunidade adquirida. A imunidade inata é caracterizada pela resposta inicial, através de barreiras físicas, químicas, biológicas, moléculas solúveis e por células inespecíficas como monócitos e/ou macrófagos, células dendríticas, neutrófilos e células Natural Killer (NK) (MEDZHITOV; PRESTON-HURLBURT; JANEWAY, 1997). Essa linha de defesa está presente nos indivíduos desde seu nascimento, independente do contato prévio com o agente patogênico (MEDZHITOV; JANEWAY, 2000). A imunidade adquirida é uma resposta imunológica secundária a estimulação do organismo por um antígeno. Ela é específica e possui “memória”, ou seja, responde com mais intensidade a exposições posteriores de um mesmo antígeno. Seus principais componentes são os linfócitos e seus produtos, como os anticorpos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008).

Os níveis de cálcio aquém dos parâmetros fisiológicos também interferem na secreção de insulina, desta forma, há redução da utilização de glicose pelas células. Com isso, aumenta a

mobilização de lipídios logo após o parto, evidenciando-se níveis elevados de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e BHB pelos doze dias após o advento do parto (MARTINEZ et al., 2012).

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da hipocalcemia clínica e subclínica sobre o metabolismo energético e resposta imune inata de vacas leiteiras no período puerperal.

Material e Métodos

Comissão de Ética no Uso de Animais

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (9945030214).

Animais utilizados e delineamento experimental

Avaliou-se 222 amostras de sangue provenientes de vacas da raça Holandesa criadas em sistema semi-intensivo, submetidas a produção de leite do tipo B, com produção média diária aproximada de 17 litros de leite por vaca. No período seco, os animais gestantes receberam sal aniônico. Nas propriedades não havia o controle dietético e o sal aniônico era disponibilizado *ad libitum* às vacas. Além deste, os bovinos situavam-se em piquetes com pasto e recebiam de 1 a 2 quilogramas de ração por dia.

De acordo com os níveis séricos de cálcio, dividiu-se as amostras em três grupos: Grupo controle (G1) constituído por 74/222 amostras que apresentaram níveis séricos de cálcio entre 8,5 a 10 mg/dL; Grupo com hipocalcemia subclínica (G2) composto por 142/222 amostras que apresentaram níveis séricos de cálcio entre 5,5 a 8,4 mg/dL e Grupo com hipocalcemia clínica (G3) constituído por 6/222 amostras que apresentaram níveis séricos inferior a 5,5 mg/dL.

As amostras de sangue e leite foram colhidas em sete momentos: Momento 1 (M1): no dia da secagem (aproximadamente 60 dias antes do parto); Momento 2 (M2): no dia do parto; Momento 3 (M3): terceiro dia após o parto; Momento 4 (M4): sétimo dia após o parto; Momento 5 (M5): décimo quinto dia após o parto; Momento 6 (M6): vigésimo primeiro dia após o parto; Momento 7 (M7): trigésimo dia após o parto.

Amostras de sangue

As amostras de sangue foram colhidas em 4 alíquotas. As amostras de sangue colhidas em frascos do tipo vacutainer[®] contendo EDTA foram destinadas ao hemograma. As amostras colhidas em tubos contendo anticoagulante heparina foram encaminhadas para a avaliação do metabolismo oxidativo de neutrófilos. As amostras colhidas em tubos com anticoagulante fluoreto foram destinadas para dosagem de glicose e as colhidas em frascos sem anticoagulantes para a obtenção do soro para a análise bioquímica. As amostras foram encaminhadas em refrigeração ao Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina e ao Laboratório de Análises Bioquímicas do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

No laboratório, as amostras de sangue destinadas às análises bioquímicas foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos para a obtenção do soro. Em seguida, as amostras de soro foram submetidas à dosagem de glicose (Labtest – Ref. 84) e de cálcio (Labtest – Ref. 90). Todas estas análises foram realizadas em analisador bioquímico semi-automático Drake Quick Lab II. As análises

de β -hidroxibutirato (BHB) e de ácidos graxos não esterificados (AGNE) foram realizadas em equipamento automático RX Monaco (Randox[®]) no Laboratório de Análises bioquímicas do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ-USP.

A avaliação do metabolismo oxidativo dos neutrófilos foi realizado pela técnica de *Nitroblue Tetrazolium* (NBT) com kit comercial conforme método citoquímico descrito por (PARK; FIKRIG; SMITHWICK, 1968), e modificado por (CIARLINI et al., 2005). Uma vez que 50 μ L de soro fisiológico e 1,5% de NBT são homogeneizados junto a 1mL de sangue heparinizado em um tubo de ensaio na técnica não estimulada (NBT-NE) e 50 μ L de soro fisiológico e 1,5% de NBT são homogeneizados com 1 mL de sangue heparinizado e 10 μ L de estimulante (zimosan) em outro tubo de ensaio na técnica estimulada (NBT-E). Ambos os tubos foram incubados a 37C° por 10 minutos e em seguida os esfregaços sanguíneos confeccionados em duplicata, e corados com corante Panótico rápido. Foram contados cem neutrófilos em cada um dos esfregaços sanguíneos em microscópio óptico com objetiva de imersão (100X), sendo considerados os neutrófilos que apresentarem grânulos citoplasmáticos de cor violácea ou enegrecida (cristais de formazan), independentemente do número e tamanho das granulações, e também os que tiverem em seu interior halos com ponto enegrecido considerado o estimulante (zimosan) no NBT-E característico de fagocitose, os neutrófilos com a presença do NBT e do zimosan também foram considerados positivos, e os que não continham nada em seu interior foram considerados negativos.

Amostras de leite

Após a higienização dos tetos, realização da antissepsia com solução de álcool a 70% e descarte dos primeiros jatos, colheu-se amostras de leite em duas alíquotas. A primeira foi colhida, em frascos específicos, destinada a contagem de células somáticas automática (CCSA) e a segunda foi para a contagem de células somáticas microscópica (CCSM). As amostras de leite para CCSA foram acondicionadas em frascos contendo 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol, e transportadas ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesas, em Curitiba conforme as recomendações do Laboratório.

As amostras de leite destinadas à CCSM foram avaliadas de acordo com o método de Prescott e Breed (1910) com modificações, conforme realizado por Gomes et al. (2011). As lâminas foram confeccionadas em duplicatas. Após secas e fixadas em metanol, foram coradas pelo corante de Panótico rápido. Os esfregaços de leite corados foram examinados em microscopia de campo claro, com magnitude de 1000 X. Durante a leitura das lâminas foi realizada a diferenciação das células em mononucleares e polimorfonucleares e em contagem total.

Análise estatística

Para a análise estatística primeiramente os dados foram avaliados quanto a normalidade e homocedasticidade pelo teste de Kolmogorov – Smirnov. As variáveis que apresentaram normalidade e homocedasticidade foram analisadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) para a comparação de médias entre os momentos e tratamentos. As variáveis que não apresentaram normalidade e homocedasticidade mesmo após tentativa de transformação foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis para comparação entre momentos e tratamentos. Todas as análises foram realizadas no programa Stata[®]/SE 12.0 (Stata Corp, 2012).

Resultados e Discussão

Durante a realização do estudo os proprietários relataram não observar sinais clínicos de hipocalcemia em nenhum dos animais pertencentes ao G3. Observou-se que dois animais apresentaram retenção de placenta, um deles do G1. A ausência de sinais clínicos de hipocalcemia, nos animais com teores de cálcio inferior a 5,5 mg/dL, pode estar relacionada a produção dos animais que era, em média, apenas de 17 litros por dia. Vacas com alta produção são mais propensas a apresentarem a forma clínica da hipocalcemia.

Em estudo com objetivo de avaliar a hipocalcemia em vacas leiteiras da Agricultura Familiar, Mazzuco et al. (2019), concluíram que os animais que possuíam média de produção de 12 litros foram susceptíveis à ocorrência de hipocalcemia e que a ausência de sinais clínicos estava relacionada à manutenção de cálcio ionizado. Estes autores detectaram maior ocorrência da doença na forma subclínica (63,3%). No presente estudo, 64% das vacas também apresentaram hipocalcemia subclínica.

Os valores do β -hidroxibutirato (BHB), os teores de ácidos graxos não esterificados (AGNE), metabolismo oxidativo basal (MO-NE), metabolismo oxidativo estimulado (MO-E) e fagocitose de neutrófilos estão dispostos na tabela 1. Os teores de BHB, a produção de MO-NE, MO-E e a fagocitose por neutrófilos sanguíneos não diferiram entre os grupos experimentais nos distintos momentos ($p > 0,05$). Os teores de ácidos graxos não esterificados (AGNE) foram mais elevados no M2 quando comparado ao M1 do G2. No G3 os animais exibiram os maiores valores de AGNE no M5 em relação ao M7 ($p < 0,05$).

As vacas em hipocalcemia subclínica apresentaram maiores valores de AGNE ao parto e os animais com hipocalcemia clínica 15 dias após o parto (Tabela 1). De acordo com Martinez et al. (2012), teores de cálcio aquém dos limites fisiológicos também interferem na secreção de insulina, desta forma, há redução da utilização de glicose pelas células. Como consequência, ocorre um aumento na mobilização de lipídios logo após o parto, evidenciando-se níveis elevados de ácidos graxos não esterificados (AGNE) nos primeiros doze dias após o advento do parto (MARTINEZ et al., 2012).

Na Tabela 2 sem considerar os momentos, observa-se diferença nos valores da glicose entre os grupos. Os animais do G3 apresentaram maiores teores de glicose do que os animais do G1 e G2. Esta diferença entre os grupos possui relação direta com os teores séricos de cálcio, já que o G3 foi constituído por animais que apresentaram hipocalcemia clínica. A falha da liberação de insulina pelo pâncreas está relacionada com o envolvimento do cálcio na ativação da proteína calmodulina quinase, que possui relação direta com a liberação de insulina no pâncreas e na utilização intracelular de mesma (YU et al., 2004), justificando a elevação da glicose sérica em animais com quadro de hipocalcemia mais acentuado (MARTINEZ et al., 2012).

Na tabela 3 estão expressos os valores médios totais das células mononucleares, polimorfonucleares e CCS total no leite obtidos pela CCSM. Não foram encontradas diferenças na contagem destas células entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). De acordo com Goff (2008), a hipocalcemia ocasiona redução de reservas intracelulares e do fluxo de cálcio no interior das células, o que gera redução a estímulos. O resultado obtido neste estudo pode sugerir que a hipocalcemia não afeta diretamente o número de células do leite, mas o funcionamento das mesmas, conforme observado em estudo realizado por Sordillo e Raphael (2013).

Tabela 1 – valores médios obtidos para o beta-hidroxibutirato (BHB), ácidos graxos não esterificados (AGNE), metabolismo oxidativo não estimulado dos neutrófilos (MO-NE) metabolismo oxidativo estimulado dos neutrófilos e fagocitose de neutrófilos de vacas leiteiras distribuídas em três grupos de acordo com os teores de cálcio sanguíneo.

Grupo	Momento	BHB	AGNE	MO-E	Fagocitose	MO-NE
		(mmol/L)	(mmol/L)	(%)	(%)	(%)
		Média	Média	Média	Média	Média
1	1	0,55 (± 0,06) ^a	0,25 (± 0,04) ^a	16,00 (± 2,21) ^a	48,17 (± 5,36) ^a	17,91 (± 2,05) ^a
	2	1,00 (± 0,15) ^a	0,82 (± 0,13) ^a	13,22 (± 2,08) ^a	61,00 (± 5,49) ^a	17,78 (± 2,24) ^a
	3	0,68 (± 0,08) ^a	0,51 (± 0,04) ^a	18,65 (± 3,61) ^a	54,70 (± 4,21) ^a	18,85 (± 1,94) ^a
	4	0,86 (± 0,25) ^a	0,48 (± 0,08) ^a	16,30 (± 2,22) ^a	59,10 (± 4,80) ^a	18,25 (± 2,48) ^a
	5	0,91 (± 0,22) ^a	0,43 (± 0,07) ^a	10,74 (± 1,31) ^a	68,63 (± 3,21) ^a	16,53 (± 2,30) ^a
	6	0,50 (± 0,05) ^a	0,33 (± 0,05) ^a	12,56 (± 2,07) ^a	65,44 (± 5,08) ^a	16,83 (± 2,56) ^a
	7	0,41 (± 0,03) ^a	0,28 (± 0,03) ^a	13,58 (± 2,94) ^a	66,50 (± 5,21) ^a	14,83 (± 1,89) ^a
2	1	0,50 (± 0,08) ^a	0,20 (± 0,07) ^b	17,00 (± 2,62) ^a	61,00 (± 12,43) ^a	18,83 (± 4,27) ^a
	2	1,02 (± 0,32) ^a	0,67 (± 0,08) ^a	16,00 (± 2,91) ^a	57,36 (± 5,73) ^a	16,00 (± 2,44) ^a
	3	0,85 (± 0,23) ^a	0,53 (± 0,07) ^{ab}	19,67 (± 4,14) ^a	50,67 (± 8,19) ^a	21,75 (± 3,55) ^a
	4	0,61 (± 0,11) ^a	0,34 (± 0,04) ^{ab}	16,57 (± 2,54) ^a	62,36 (± 4,71) ^a	20,93 (± 3,31) ^a
	5	0,54 (± 0,11) ^a	0,32 (± 0,06) ^{ab}	17,30 (± 3,52) ^a	56,20 (± 8,63) ^a	15,20 (± 2,84) ^a
	6	0,44 (± 0,07) ^a	0,36 (± 0,05) ^{ab}	14,91 (± 6,52) ^a	73,91 (± 3,55) ^a	19,55 (± 5,75) ^a
	7	0,36 (± 0,06) ^a	0,31 (± 0,05) ^{ab}	15,00 (± 10,31) ^a	65,43 (± 12,50) ^a	15,29 (± 1,89) ^a
3	2	0,43 (± 0,00) ^a	0,50 (± 0,00) ^{ab}	16,00 (± 0,00) ^a	72,00 (± 0,00) ^a	24,00 (± 0,00) ^a
	3	0,73 (± 0,00) ^a	0,51 (± 0,00) ^{ab}	19,00 (± 0,00) ^a	71,00 (± 0,00) ^a	27,00 (± 0,00) ^a
	5	0,40 (± 0,07) ^a	0,63 (± 0,35) ^a	13,50 (± 9,50) ^a	73,00 (± 16,00) ^a	13,50 (± 3,50) ^a
	6	0,23 (± 0,00) ^a	0,23 (± 0,00) ^{ab}	22,00 (± 0,00) ^a	50,00 (± 0,00) ^a	9,00 (± 0,00) ^a
	7	0,45 (± 0,00) ^a	0,15 (± 0,00) ^b	23,00 (± 0,00) ^a	51,00 (± 0,00) ^a	16,00 (± 0,00) ^a
P		> 0,9999	< 0,0001	0,5945	0,2260	0,8420

Grupo1: grupo controle (Níveis séricos de cálcio entre 8,5 a 10 mg/dL); Grupo 2: hipocalcemia subclínica (Níveis séricos de cálcio entre 5,5 a 8,4 mg/dL); Grupo 3: hipocalcemia clínica (Níveis séricos de cálcio inferiores a 5,5 mg/dL). Letras distintas na mesma coluna denota diferença estatística entre os grupos. P= nível de significância (<0,05).

Tabela 2 - Valores de glicose em mg/dL obtidos em cada grupo e suas respectivas análises estatísticas.

Glicose (mg/dL)	
Grupo	Média
1	56,13 (± 1,01) ^b
2	55,93 (± 1,41) ^b
3	66,00 (± 4,90) ^a
P	<0,0001

Grupo1: grupo controle (Níveis séricos de cálcio entre 8,5 a 10 mg/dL); Grupo 2: hipocalcemia subclínica (Níveis séricos de cálcio entre 5,5 a 8,4 mg/dL); Grupo 3: hipocalcemia clínica (Níveis séricos de cálcio inferiores a 5,5 mg/dL). Letras distintas na mesma coluna denota diferença estatística entre os grupos. P= nível de significância (<0,05).

Tabela 3 – Valores encontrados para células mononucleares, células polimorfonucleares e contagem de células somáticas (CCS) entre os grupos.

Grupo	Células mononucleares (Log)	Células polimorfonucleares (Log)	CCS (Log)
	Média	Média	Média
1	4,64 (\pm 0,03) ^A	3,05 (\pm 0,09) ^A	4,86 (\pm 0,03) ^A
2	4,74 (\pm 0,05) ^A	3,00 (\pm 0,12) ^A	4,93 (\pm 0,04) ^A
3	4,63 (\pm 0,17) ^A	2,60 (\pm 0,42) ^A	4,71 (\pm 0,16) ^A
P	0,1666	0,9622	0,2654

Grupo1: grupo controle (Níveis séricos de cálcio entre 8,5 a 10 mg/dL); Grupo 2: hipocalcemia subclínica (Níveis séricos de cálcio entre 5,5 a 8,4 mg/dL); Grupo 3: hipocalcemia clínica (Níveis séricos de cálcio inferiores a 5,5 mg/dL). Letras distintas na mesma coluna denota diferença estatística entre os grupos. P= nível de significância (<0,05).

Conclusão

Com base nesse estudo pode-se concluir que a hipocalcemia, em diferentes níveis, contribui para alterações fisiológicas no metabolismo energético de vacas leiteiras no período de transição, mas sem gerar alterações sobre o número e a funcionalidade das células do sistema imunológico sanguíneo. Também não foram observadas interferências da hipocalcemia sobre a celularidade do leite.

Conflito de Interesse

Os autores afirmam não haver conflito de interesses neste estudo.

Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 6^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- ALVARENGA, E. A.; MOREIRA, G. H. F. A.; FILHO, E. J. F.; LEME, F. O. P.; COELHO, S. G.; MOLINA, L. R.; LIMA, J. A. M.; CARVALHO, A. U. Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 281-290, 2015.
- ARTUNDUAGA, M. A. T.; LIMA, J. A. M.; AZEVEDO, R. A.; LANA, Â. M. Q.; FORTES, R. V. S.; FARIA, B. N.; COELHO, S. G. Diferentes fontes energéticas durante o período de transição de vacas primíparas e os seus efeitos sobre metabólitos sanguíneos e hormônios. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 38, n. 8, p. 1691-1695, 2018.
- CIARLINI, P. C.; ANTONIO, D. B. A.; BARBIERI, F.; BONELLO, F. L.; FEITOSA, F. L. F. Efeito da vacina contra brucelose bovina sobre a capacidade neutrofílica de redução do NBT. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 21, n. 2, 251-256, 2005.
- GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 50-57, 2008.
- GOMES, V.; MADUREIRA, K. M.; DELLA LIBERA, A. M. M. P.; BLAGITZ, M. G.; ALVES, M.; BAPTISTELLA, F.; BENESI, F. J. Cell dynamics of Holstein cow colostrum immediately after parturition. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1047-1053, 2011.

- JAWOR, P. E.; HUZZEY, J. M.; LEBLANC, S. J.; VON KEYSERLINGK, M. A. Associations of subclinical hypocalcemia at calving with milk yield, and feeding, drinking, and standing behaviors around parturition in holstein cows. **Journal Dairy Science**, v. 95, p. 1240-1248, 2012.
- MARTINEZ, N.; RISCO, C. A.; LIMA, F. S.; BISINOTTO, R. S.; GRECO, L. F.; RIBEIRO, E. S.; MAUNSELL, F.; GALVÃO, K. 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, n. 12, p. 7158-7172, 2012.
- MAZZUCO, D.; BONAMIGO, R.; SILVA, F. M. da; CHAMPION, T.; FRANCISCATO, C.; MACHADO, L. P. Hipocalcemia da vaca leiteira da agricultura familiar. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p.1-10, 2019.
- MEDZHITOV, R.; JANEWAY, C. Innate Immunity. **New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 5, p. 338-344, 2000.
- MEDZHITOV, R.; PRESTON-HURLBURT, P.; JANEWAY, C. A. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. **Nature**, v. 388, n. 6640, p. 394-397, 1997.
- NETO, A. C.; da SILVA, J. F. C.; DEMINICIS, B. B.; FERNANDES, A. M.; JERDIM, J. G.; AMORIM, M. M.; FILHO, C. C. G. Metabolic problems of incorrect nutritional handling of high production calved dairy cows. **Revista Electronica de Veterinaria**, v. 12, n. 11, 2011.
- PARK, B. H.; FIKRIG, S. M.; SMITHWICK, E. M. Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils: a diagnostic aid. **The Lancet**, v. 292, p. 532-534, 1968.
- SORDILLO, L. M.; CONTRERAS, G. A.; AITKEN, S. L. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. **Animal Health Research Reviews**, v. 10, n. 1, p. 53-63, 2009.
- SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 269-278, 2013.
- STATA CORP, L. Stata 12 statistical software: College Station, TX 2012.
- TORRÃO, D. F. **Medição de glicose sanguínea pós-parto e relação com tempo pós-parto, número de partições e patologias clínicas**. 58f. Dissertação – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2016.
- YU, X.; MURAO, K.; SAYO, Y.; IMACHI, H.; CAO, W. M.; OHTSUKA, S.; NIIMI, M.; TOKUMITSU, H.; INUZUKA, H.; WONG, N. C. W.; KOBAYASHI, R.; ISHIDA, T. The role of calcium/calmodulin-dependent protein kinase cascade in glucose upregulation of insulin gene expression. **Diabetes**, v. 53, 2004.

Recebido em 31 de agosto de 2020
Retornado para ajustes em 10 de dezembro de 2020
Recebido com ajustes em 20 de janeiro de 2021
Aceito em 19 de fevereiro de 2021