

Diferenças no perfil de leucócitos, expressão gênica e status metabólico de vacas leiteiras com ou sem úlcera de sola



Pelotas, abril de 2015.



FI= 2,56



J. Dairy Sci. 98:1685–1695
<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8199>
© American Dairy Science Association®, 2015.

Keelin O'Driscoll,¹ Matthew McCabe, and Bernadette Earley

Apresentadores: Antonio Barbosa
Otavio Buchain
Laise Gheller

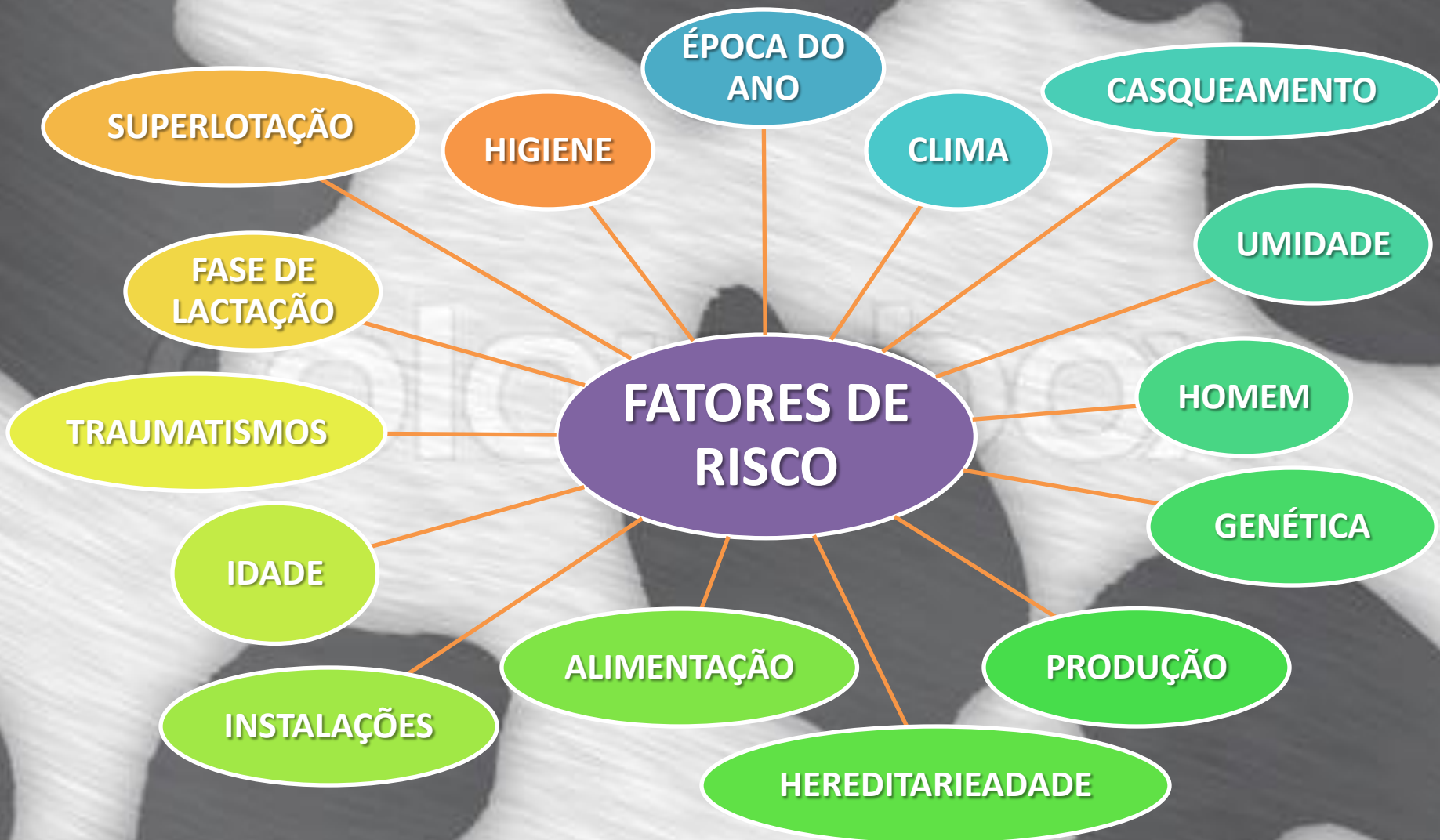


Por que este assunto?

**Dissertação Antônio,
possível projeto vacas
descarte.**

**Primeiro artigo a citar
características
fisiológicas e imunes de
vacas claudicantes.**

INTRODUÇÃO



INTRODUÇÃO



FATORES DE RISCO

SUPERLOTAÇÃO

FASE DE LACTAÇÃO

TRAUMATISMOS

IDADE

INSTALAÇÃO

CLIMA

CASQUEAMENTO

UMIDADE

HOMEM

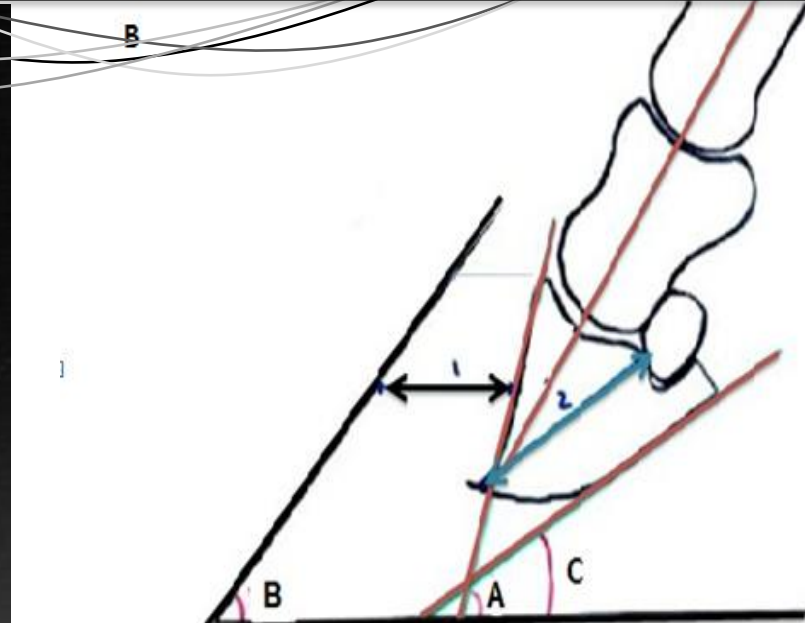
GENÉTICA

PRODUÇÃO

HEREDITARIEDADE

INTRODUÇÃO





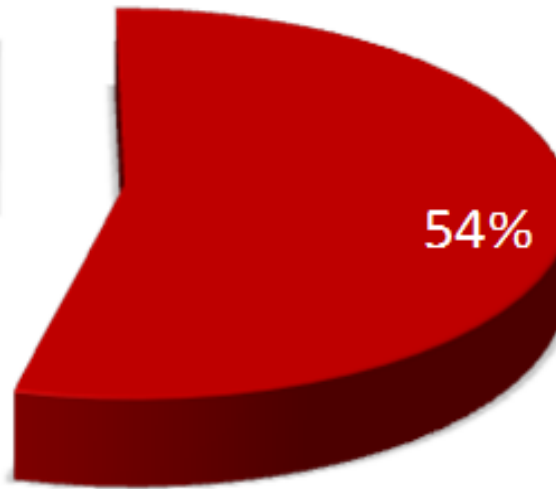
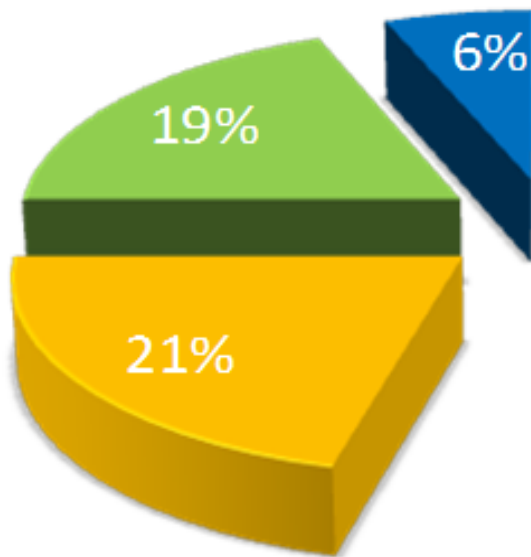
NÃO HOUE MOVIMENTAÇÃO DA F3 EM VACAS COM LAMINITE SUBCLÍNICA

Método de posicionamento radiográfico dos dígitos para obtenção das imagens radiológicas (A). Mensuração da angulação da F3 dos bovinos frente ao seu posicionamento ao estojo córneo (B)^{13,14}. Ângulos: A: ângulo entre a face dorsal da terceira falange (F3) e o chão; B: ângulo entre a face dorsal do casco e o chão; C: ângulo entre a face dorsal da F3 e o chão; 1: espessura da parede; 2: longitude palmar da F3.

INTRODUÇÃO



INTRODUÇÃO



- Descarte
- Atraso na concepção
- Perda na produção
- Custo do tratamento

Fonte: Atlas Casco em Bovinos – DIAS e MARQUES JR 2007

Vaca de 600 Kg...

Custos

Enrofloxacinina

- 2,2 mg/kg – 5 dias
- R\$ 37,15

Flunixin Meglumine

- 2,5mg/kg – 3 dias
- R\$ 39,20

Terramicina pó solúvel com Antigerm 77

- Bandagem deve ser trocada a cada 3 a 4 dias
- R\$ 6,12

Custo total

- R\$ 82,47



Perdas na produção em leite de 4% a 36% de acordo com o EL



Custo com tratamento
aproximadamente R\$ 82,5



Efeitos na reprodução e mastite



Exemplo....

Vaca com produção de 25 litros, com úlcera de sola (EL 3,
20% a menos na produção)

Perde 5 litros/dia= 150 litros/mês + 82,5= 82 litros; $82 + 150 = 232$ l/mês=



INTRODUÇÃO

	Número de animais	% de perdas L/vaca/dia	Perdas L/vaca/ dia	Perdas L/vaca/ mês	Perdas atuais R\$/mês
Score 0	526				
Score 1	249	4%	55,4	1.662	5.620,2
Score 2	114	8%	31,6	948	5.144,2
Score 3	31	16%	31,6	948	17.493,3
Score 4	1	32%	0	0	179,5
Total	921	-	118,6	3.558	28.437,2

284.372,00/ lactação



INTRODUÇÃO

Problema:
Doenças podais

Exemplos:
Úlcera de sola, hematoma de sola,
laminite



Consequências

Bem-estar-animal
Perdas econômicas
Sist. imune
Doenças concomitantes

Soluções...



Imunidade



Características da resp. imune inata

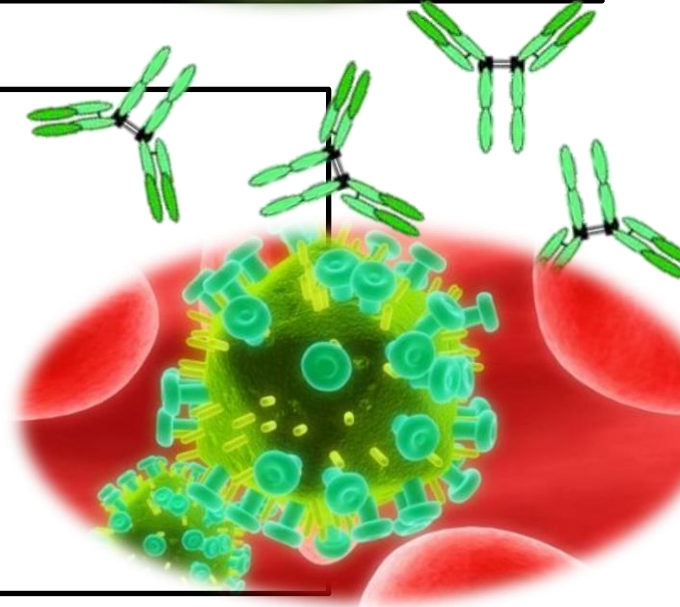
- Proteção natural do animal
- Proteção imediata
- Não é antígeno – específica
- Ativada por “sinais de perigo”

Patógenos e dano de tecidos



Características da resp. imune adquirida

- Desenvolvida após exposição ao antígeno
- Requer vários dias ou semanas
- Antígeno– específica
- Memória e Tolerância
- Ativa mecanismos de defesa Inatos



CITOCINAS

Sinal de Perigo

Por exemplo, endotoxinas (LPS)



Células sentinelas

IL 1

TNF

IL 5

IL 8

HMGB1

Citocinas pro-inflamatórias

Baixas quantidades



Monócitos/
Ativação macrófagos



Ativação células endoteliais



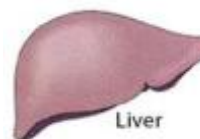
Ativação complemento

Local inflamação

Moderadas quantidades



Marcadores
de fase aguda



Liver

Efeito Sistêmico

Altas quantidades



Baixa saída cardíaca
Baixa resistência periférica



Sangue
Ferimento
Trombolismo
DIC

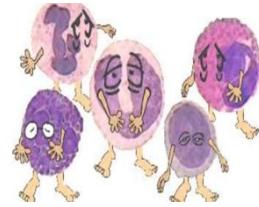


Síndrome da
respiração
aguda
(ARDS)

Choque Séptico

NEUTRÓFILOS

- Os neutrófilos desempenham um papel-chave na resistência à infecção bacteriana
- Muitos fatores podem suprimir a função de neutrófilos e aumentar a susceptibilidade à infecção
- Fatores de gestão podem ajudar a evitar a supressão da função de neutrófilos e manter ótima resistência à infecção
- As citocinas a partir dos sistemas imunitários inato e adaptativo pode melhorar a função dos neutrófilos



LINFÓCITOS

Inflamação do tecido

Produtos químicos do sistema imunitário atacar o tecido para conter a infecção

Mais inflamação

Inflamação é um ciclo vicioso

Mais dano tecidual como efeito colateral do ataque do sistema imunitário

Mais do sistema imunológico substâncias químicas liberadas

CÉLULAS IMUNES

Linfócitos

Demanda metabólica para a produção de leite é responsável por mudanças na função de linfócitos

Neutrófilos

A mudança hormonal associada ao parto causa um declínio nos neutrófilos. O stress metabólico da produção de leite após o parto, reduz o retorno da função de neutrófilos

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi caracterizar o perfil e expressão gênica de leucócitos, cortisol e aspectos do perfil do metabolismo de vacas que tem um só fator de causa de claudicação patologicamente, úlceras de sola, e comparar estas com vacas saudáveis.

Hipótese

A dor e o estresse associado com a claudicação tem um efeito negativo sistemático no estado imune e inflamatório da vaca, possuindo assim a expressão de genes específicos que sirvam de valor preditivo à claudicação.

12 VACAS CLAUDICANTES



Úlcera de sola, sem outras patologias



12 VACAS SADIAS



Tabela 1. Dados de vacas clinicamente mancas e com úlcera de sola, pareada com sua vaca saudável.

Vaca par	Nº de lactações		IMS		Peso vivo (Kg)		ECC	
	Mancas	Sadias	Mancas	Sadias	Mancas	Sadias	Mancas	Sadias
1	4	5	265	268	538	616	2,75	3,25
2	6	6	208	204	590	604	2,75	2,75
3	6	5	269	277	626	558	2,75	3,00
4	3	3	152	152	624	648	2,75	2,75
5	1	1	120	119	576	548	3,00	3,00
6	5	4	12	14	628	642	3,00	3,25
7	2	2	22	24	590	552	3,25	3,00
8	6	5	14	30	636	ND ²	ND	ND
9	3	3	39	41	666	620	3,25	3,25
10	4	3	43	36	524	534	3,00	3,00
11	5	4	75	76	453	499	2,50	2,75
12	3	3	343	353	586	744	2,75	2,75

ECC 1 (muito magro), ECC 5 (muito gordo)

ND = Não disponível

ESCORE DE LOCOMOÇÃO

- Curvatura da coluna vertebral
- Tração
- Adução e abdução
- Velocidade
- Aprumo da cabeça

1 a 5

TOTAL: Delimitação de locomoção geral por vaca
5 = locomoção perfeita
25 = claudicação extrema



O'Driscoll et al (2010)

Coleta de sangue

Cortisol e DHEA (teste de ELISA)

Isolamento de LEUCÓCITOS

↳ extração total de RNA

- Quantificação
- Avaliação de qualidade

Transcrição
para cDNA



Análise estatística

Análise de escore de locomoção e demais dados

Modelo estatístico:

- Efeitos fixos de corte (Claudicante ou saudável)
- Numero de lactação (1 ou maior que 1)

Diferenças significantes a $P \leq 0.05$.

Peso (kg), DIM, e ECC foram incluídos como co-variáveis.

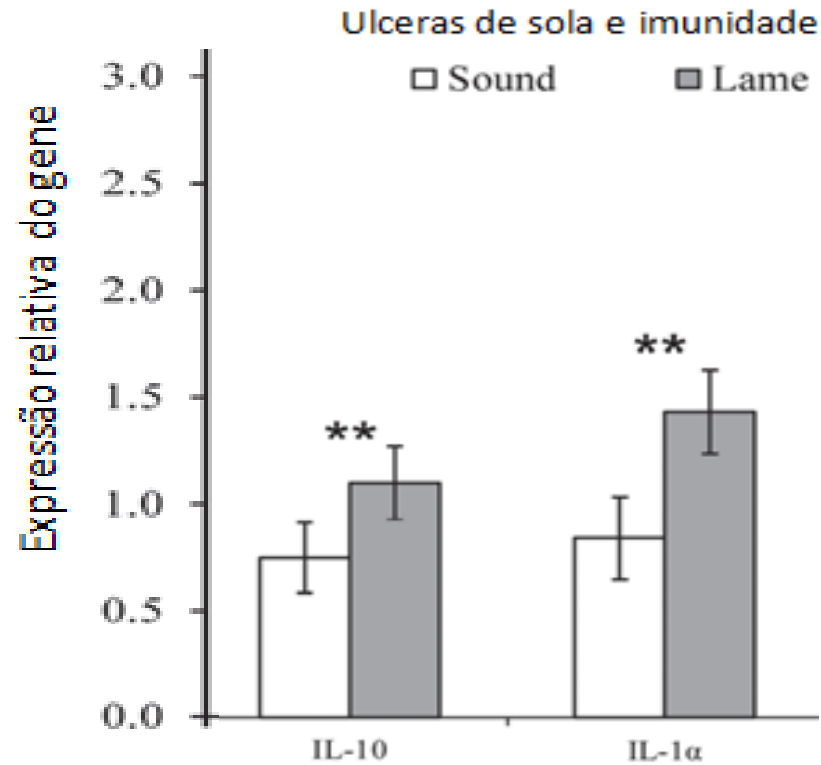
Vacas no grupo claudicante tiveram uma pontuação mais alta (13.5 ± 0.5) do que vacas saudáveis (6.7 ± 0.5 ; $P \leq 0.001$)



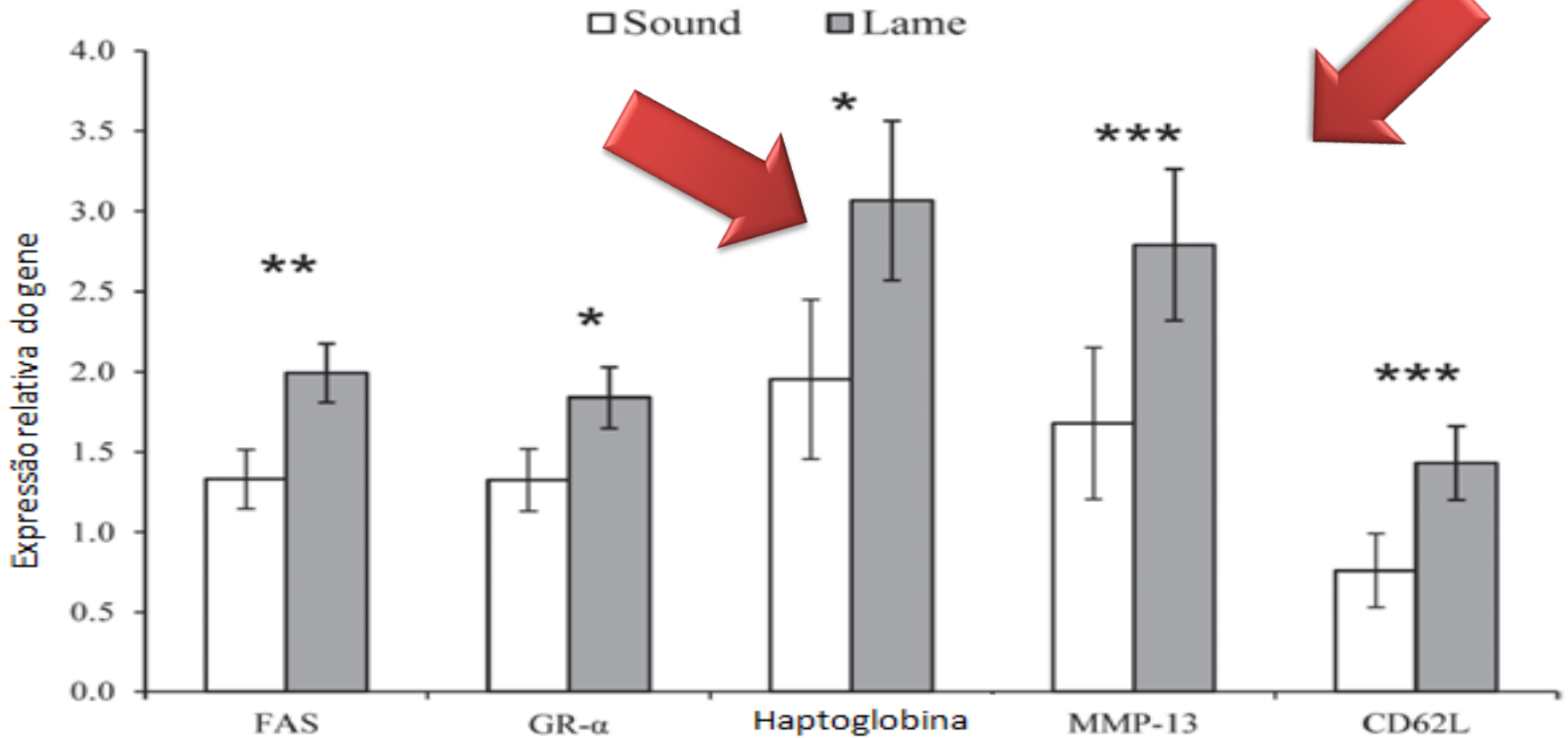
Tabela 3. Comparação do numero de leucócitos, neutrófilo: linfócito (N:L) , eosinófilos e monócitos em vacas diagnosticadas com úlcera de sola e vacas sadias.

Variáveis	Contagem(x10000 células/ μ L)			Porcentagem		
	Manca	Sadia	P-valor	Manca	Sadia	P-valor
Leucócitos totais	7,47 \pm 0,55	7,16 \pm 0,55	NS			
Neutrófilos	3,10\pm0,29	2,56\pm0,29	NS	42,9\pm2,8	35,9\pm2,8	0,03
Linfócitos	5,71 \pm 1,72	5,93 \pm 1,72	NS	42,5 \pm 2,8	48,7 \pm 2,8	0,12
Taxa N:L	1,04 \pm 0,10	0,76 \pm 0,10	0,05			
Eosinófilos	0,41 \pm 0,04	0,41 \pm 0,04	NS	8,7 \pm 1,8	9,2 \pm 1,8	NS
Monócitos	0,68 \pm 0,15	0,69 \pm 0,15	NS	5,9 \pm 0,5	5,9 \pm 0,5	NS

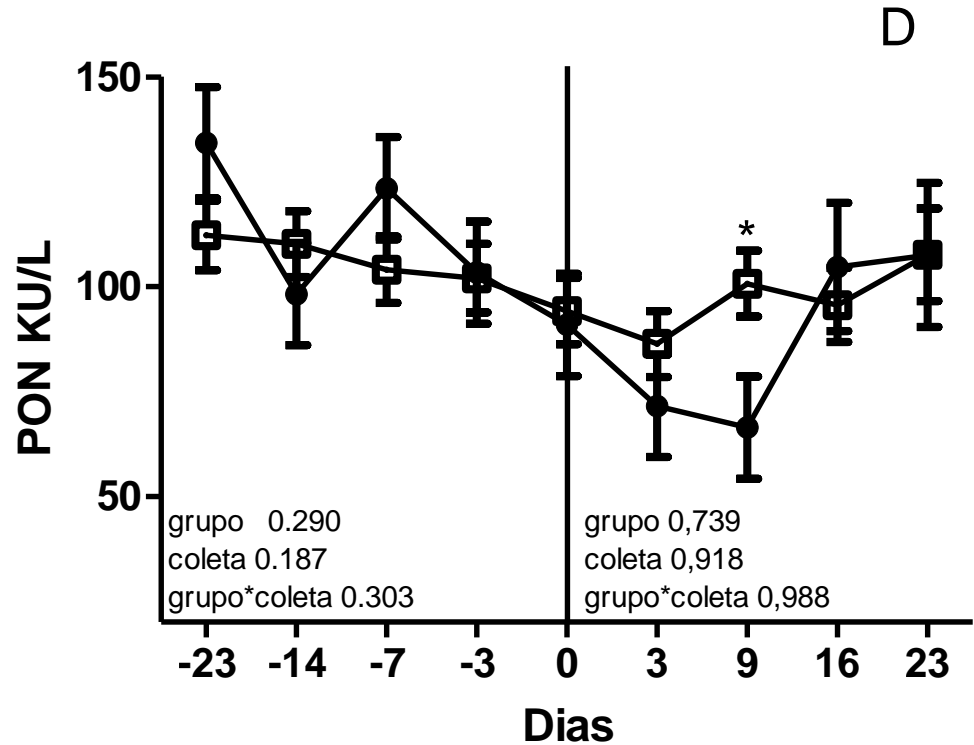
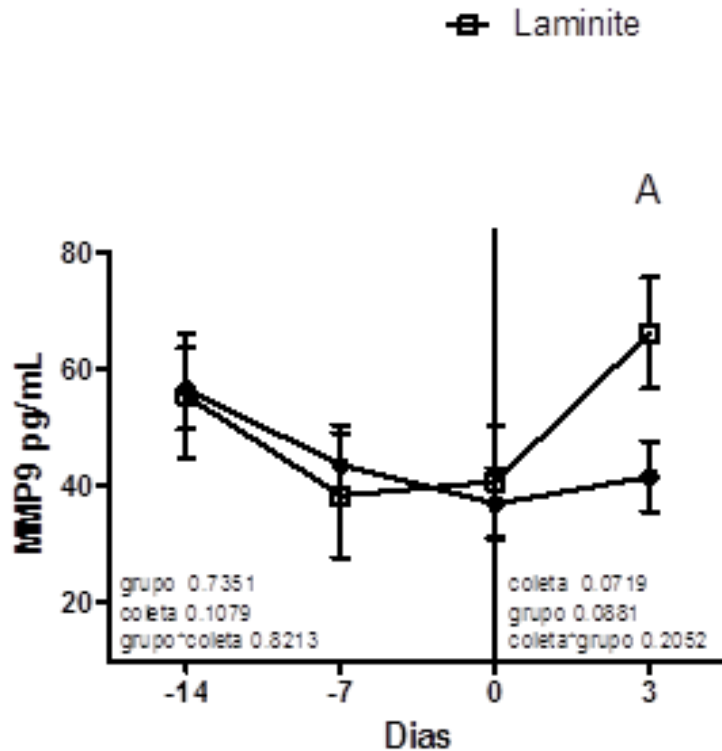
Referência (leucócitos totais: 4 a 12 cél/ml)



Almeida (2007) já encontrara tendência em IL 10 em vacas claudicantes

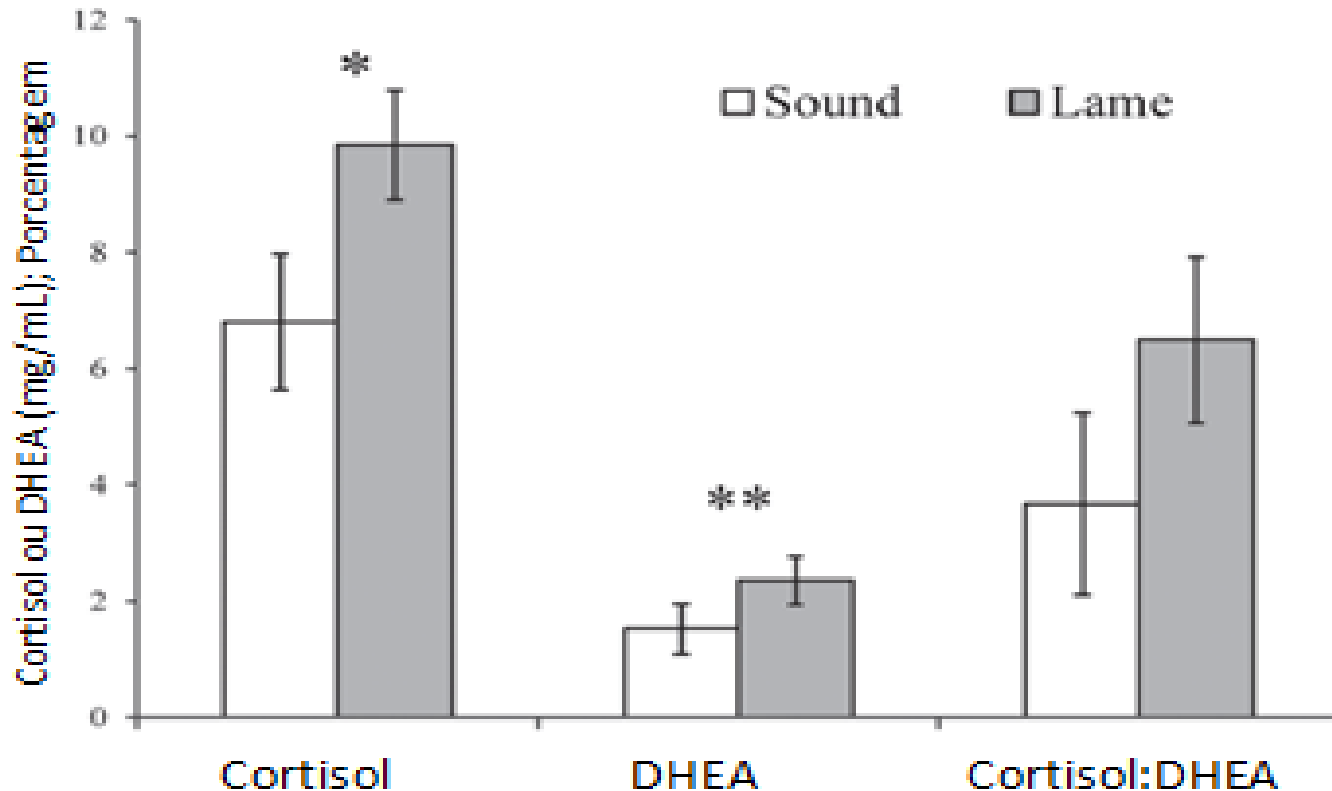


MMP9????



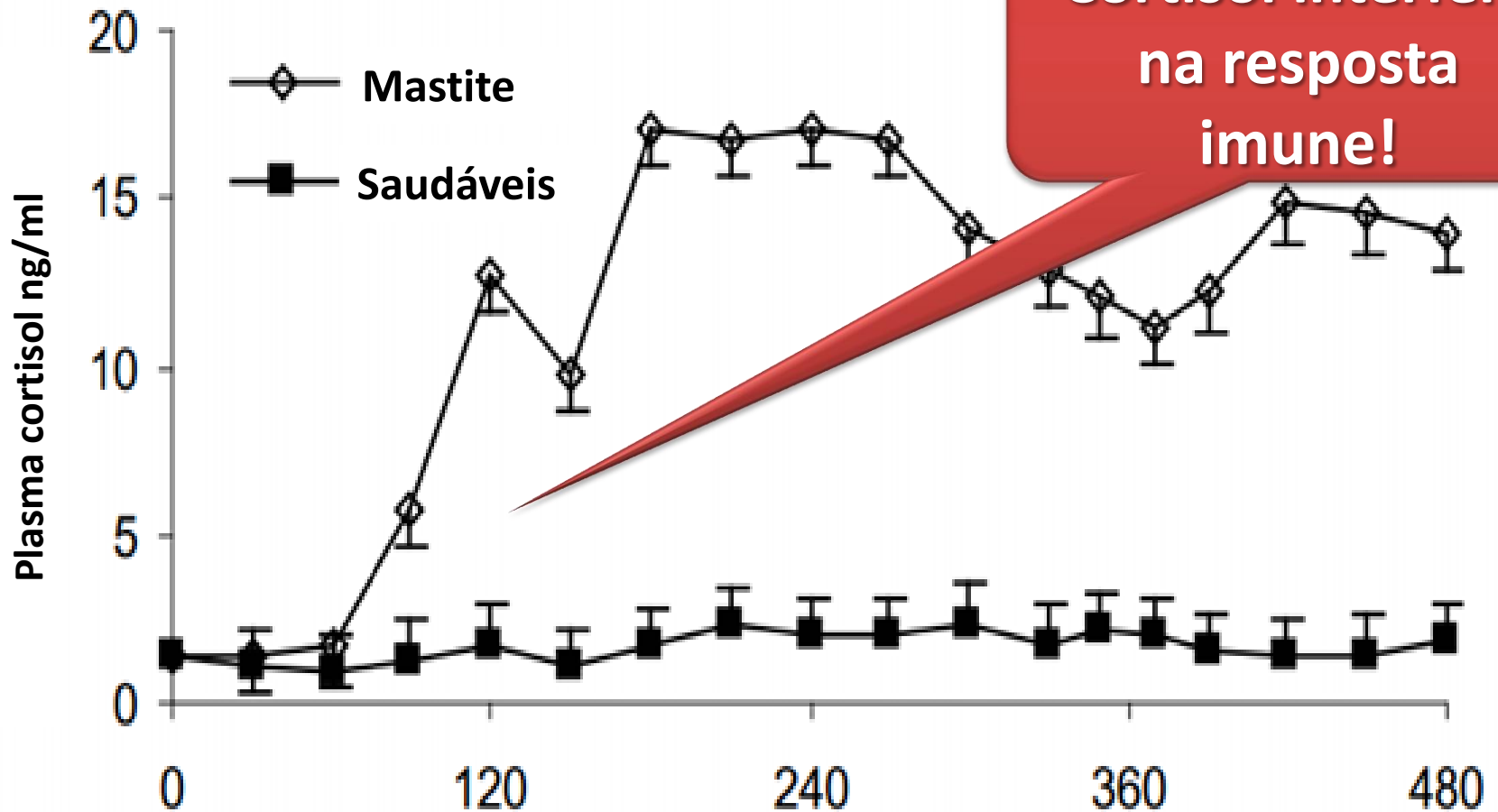
MMP9????

- DHEA- deidroepiandrosterona
- Hormônio mais abundante do organismo
- Principal precursor de testosterona e estrógeno
- Relação inversa com cortisol



Almeida (2008)
resultados inversos







**OUTROS
RESULTADOS
IMPORTANTES....**

- Vacas mancas tendiam a ter níveis mais elevados de glicose ($3,13 \pm 0,09$ vs $2,89 \pm 0,12$ mmol / L; $P \leq 0,1$).
- Os níveis de proteína também foram maiores nas mancas do que vacas sadias ($89,6 \pm 1,2$ vs $84,8 \pm 1,2$ g / L ; $P \leq 0,01$).

CONCLUSÃO



- ✓ O estudo fornece novas informações sobre os efeitos sistêmicos de úlcera de sola na vaca leiteira. Os dados indicam a ativação do sistema imunológico, bem como uma resposta ao estresse generalizado.
- ✓ Em particular, a identificação de uma expressão aumentada da MMP13 em vacas com úlcera de sola acrescenta a um corpo crescente de evidências que implicam o aumento da expressão deste gene em vacas com locomoção prejudicada.

DO QUE SENTIMOS FALTA...



- ✓ Escore de locomoção de 1 a 5;
- ✓ Ausência de **grupo** controle homogêneo;
- ✓ Cita que a principal causa de úlcera de sola é a rotação de falange, por que não utilizar o raio x??
- ✓ Limiar de dor... Cavalos x bovino.
- ✓ Nutrição?? Sistema de manejo?? Produção de leite???



Minimizar
Deficiência
nutricionais

Minimizar
impactos
metabólicos
negativos

PREVENIR
problemas!

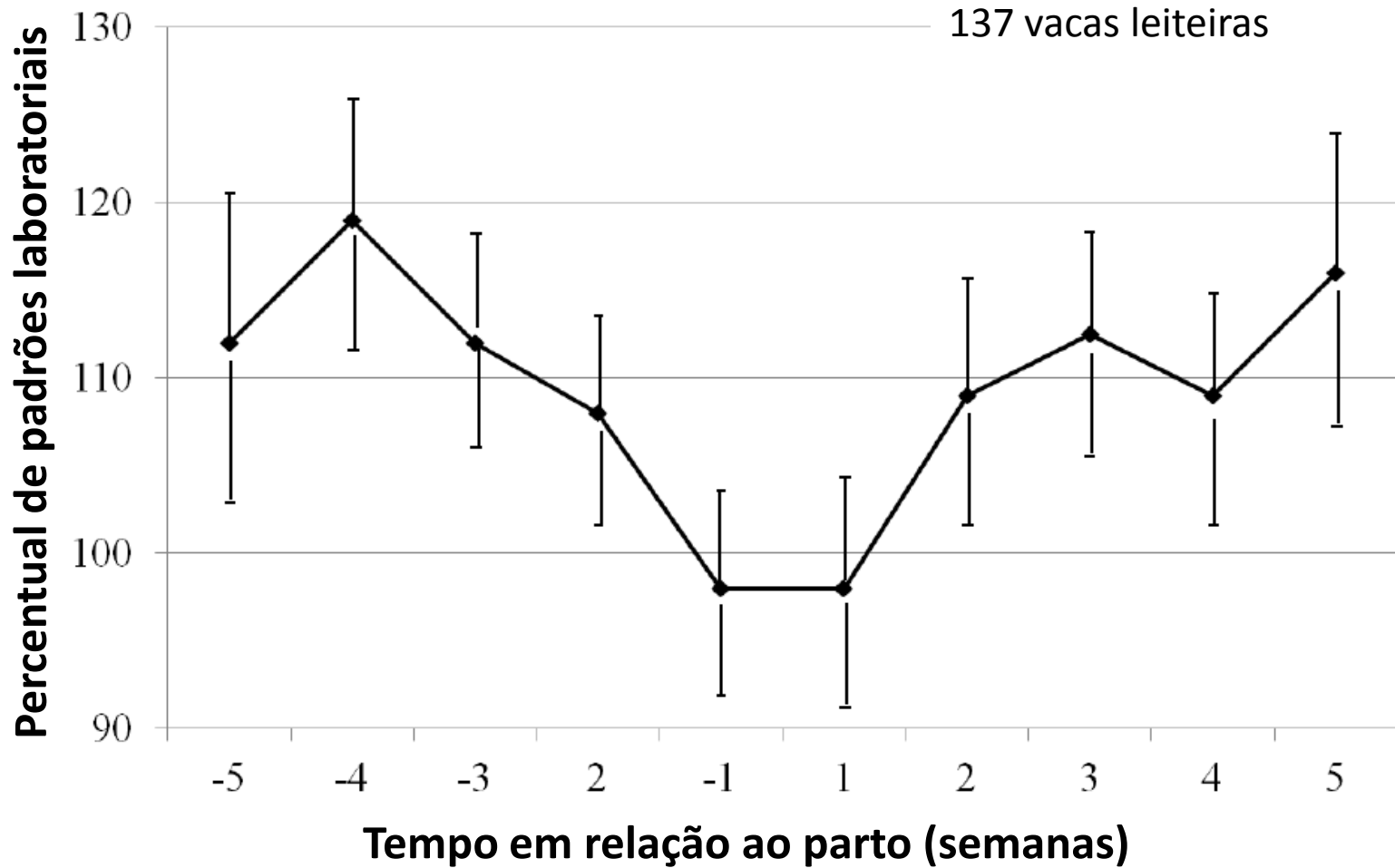
Resposta imune eficaz!!!

**“O gerenciamento da
imunidade está nos pequenos
detalhes que, em conjunto,
darão um grande resultado!”**

Algumas dúvidas e curiosidades....



Produção *in vitro* de IgM



Estação
do ano

Não existe efeito da estação do ano nos perfis hematológicos (W. Aengwanich,, 2009)

Privação de alimento em touros e novilhos (R. da C. Gomes et al.,2011).

Jejum

Limites
fisiológicos

O uso contínuo de intervalos de referência antigos poderá levar a erros de interpretação no número células imunes (Rocha et. al. 2009)

Obrigado!



antoniobarbosa.vet@hotmail.com

lagheller@gmail.com

otaviobuchain@gmail.com