

Relação entre hipocalcemia subclínica e mastite em vacas leiteiras¹

O leite é considerado uma importante fonte de proteínas de alta digestibilidade e outros nutrientes, figurando entre os produtos mais nobres dentre os de origem animal, especialmente pela sua importância como fonte de cálcio para idosos e crianças. A sua produção tem crescido consideravelmente nos últimos anos, favorecido pela importância nutricional na alimentação humana, crescimento populacional e outros fatores econômicos e sociais, promovendo um crescimento econômico da cadeia láctea que tomou importante papel na economia brasileira e mundial (Embrapa, 2022). Entre os principais entraves para a produção leiteira está a mastite, doença de grande ocorrência em todos os rebanhos mundiais, sendo por isso amplamente estudada na tentativa de conhecer melhor os fatores de risco associados e mitigar seu impacto econômico e no bem-estar animal (Ribeiro et al., 2016).

A mastite tem pluralidade etiológica, sendo comumente causada por microrganismos, tendo as bactérias como a principal causa, razão pela qual a doença é comumente tratada como infecção, porém pode ser causada por traumas ou outros problemas que levem à inflamação do tecido mamário. A palavra mastite vem do grego com tradução para inflamação na mama, que é o que caracteriza a doença (Ribeiro et al., 2016). A invasão por microrganismos e a lesão tecidual irão induzir a liberação de substâncias pró-inflamatórias que ativarão sistemas de defesa do animal. Os prejuízos relacionados à doença são inúmeros, estando envolvidos com perdas na produção, diminuição da qualidade industrial do leite, comprometimento da saúde e bem-estar dos animais (Santos, 2019; Ribeiro et al., 2016).

Os fatores de risco para ocorrência de mastite estão ligados à inter-relação de fatores ambientais (manejo de ordenha, condições de ambiente, fatores estressores), agente causador e animal. Em relação a este último correlaciona-se número de lactação, estágio de lactação e imunidade da vaca. O estágio de lactação, especialmente o chamado “período de transição” é marcado por uma intercorrelação dos três fatores em um momento de grande vulnerabilidade do animal, devido aos inúmeros eventos que ocorrem

¹ Marchioretto, G. P. (2022). Relação entre hipocalcemia subclínica e mastite em vacas leiteiras. Disciplina de Fundamentos Bioquímicos dos Transtornos Metabólicos, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 7 p.

nesse período (parto, lactogênese, mudanças de lote) e ao maior risco de doenças relacionadas e esses eventos. Dentre essas doenças, a hipocalcemia se caracteriza como um importante fator predisponente a casos de mastite (Santos, 2019; Ribeiro et al., 2016).

Mecanismos de proteção da glândula mamária

De acordo com Ribeiro et al. (2016), as infecções da glândula mamária ocorrem principalmente por via ascendente através do canal do teto, o que se dá principalmente através da colonização dele, da pele ou de forma mecânica. A patogenicidade do agente e seus meios de evasão do sistema imune garante uma variação em relação a cada tipo de mastite e na resolução dos casos. A complexidade etiológica da doença, a peculiaridade de sistema imune da glândula mamária e a baixa imunogenicidade da muitos patógenos causadores de mastite trazem dificuldades na criação e manutenção de uma resposta imune específica (Santos, 2019; Ribeiro et al., 2016).

A proteção da glândula mamaria é garantida pelo sistema de defesa do animal, que tipicamente é dividido em dois sistemas, conhecidos como imunidade inata e imunidade adquirida. Na primeira encontram-se sistemas de defesa inespecíficos, que agem contra qualquer tipo de agente agressor, e no segundo tem-se a imunidade adquirida, dependente de uma exposição prévia ao antígeno relacionado, atuando especificamente aos agentes para os quais foram capacitados (Santos, 2019; Ribeiro et al., 2016). A imunidade inata agirá imediatamente quando ocorrer a exposição do canal do teto a agentes patogênicos, através da barreira física formada pelo esfíncter e a camada de queratina que são a primeira linha de defesa contra a invasão da glândula mamária, o primeiro ocluindo a entrada e a segunda auxiliando a oclusão, especialmente através da sua ação bactericida e bacteriostática (Santos, 2019; Ribeiro et al., 2016). Caso a invasão ocorra, haverá a migração de células como os neutrófilos e macrófagos, além da ação de outros sistemas inespecíficos como o sistema complemento, lactoferrina e citocinas (Ribeiro et al. 2016; Moyes, 2012). A imunidade celular tem ação importante na defesa da glândula mamária, em especial os neutrófilos, que são a primeira linha de defesa da glândula mamária contra a invasão de microrganismos patogênicos e oportunistas (Santos, 2019).

A imunidade adquirida necessita de uma exposição prévia aos antígenos do agente patogênico, sendo mediada por anticorpos, macrófagos e linfócitos, contato que pode ocorrer de forma natural ou via vacinação. O sistema específico envolve os linfócitos e

as células apresentadoras de antígeno, as quais reconhecem as bactérias e as apresentam aos linfócitos tipo T que secretam citocinas ativadoras da função de linfócitos B, macrófagos e neutrófilos. Os linfócitos tipo B produzem anticorpos que funcionam como marcadores das bactérias facilitando o reconhecimento pelas células fagocíticas (neutrófilos e macrófagos) (Santos, 2019; Ribeiro et al., 2016).

Os fatores de risco à mastite relacionados ao período de lactação são devidos à diferença de produção e à exigência nutricional dos animais, além de outros fatores relacionados com a glândula mamária, o período de gestação e diferentes padrões de exposição a fatores ambientais, como variações de vácuo e contato com insufladores. O chamado período de transição é onde ocorre o maior número de novas infecções da mama, devido à grande variação de padrões metabólicos relacionados ao crescimento final do feto, mecanismos de indução ao parto e o processo de lactogênese (Santos, 2019; Ribeiro et al., 2016; Wilkens et al., 2020; Martinez, 2014)

Período de transição

Por definição o período de transição abrange o intervalo entre os 21 dias que antecedem até os 21 dias após o parto (Phillips, 2015; Sordillo & Raphael, 2013; Grummer, 1995; Drackley, 1999). Este período é caracterizado por inúmeras mudanças hormonais, metabólicas, anatômicas e comportamentais na vaca, devido à proximidade do parto. Ocorre aumento da demanda de nutrientes para a produção de colostro e leite, bem como para o crescimento fetal acelerado e o crescimento e desenvolvimento da glândula mamaria. Em contrapartida, há um decréscimo de até 30% na ingestão de matéria seca (IMS) nesse período (Huzzey et al., 2007; Gross et al., 2016). A alta demanda energética do parto, associada à queda da IMS pouco antes do parto e o seu lento aumento quando comparado ao rápido aumento na produção de leite, leva o animal a usar suas reservas corporais (gordura e proteína) para atender as exigências por nutrientes, o que é chamado de balanço energético negativo (BEN) (Phillips, 2015; Berchielli et al., 2011; Sordillo & Raphael, 2013; Koster & Opsomer, 2013; Grummer, 2009). Adaptações fisiológicas permitem que o animal adquira energia através da lipólise, liberando ácidos graxos não esterificados (AGNE) e glicerol na corrente sanguínea, que serão utilizados para obtenção de energia. A remodelação do tecido adiposo durante a lipólise está envolvida na liberação de mediadores pró-inflamatórios pelos adipócitos e macrófagos, gerando em

casos de BEN estendido, um estado inflamatório crônico, alterando o balanço inflamatório e sua resolução (Contreras & Sordillo, 2011; Contreras et al., 2017; Sordillo & Raphael, 2013). Esta alteração do balanço inflamatório que ocorre durante a mobilização lipídica, e as reações oxidativas que ocorrem para obtenção de energia através do AGNE, além de serem responsáveis pelo aumento de corpos cetônicos, podem estar ligadas a um comprometimento na função de células envolvidas na resposta imune, contribuindo dessa forma para a ocorrência de doenças infecciosas (Contreras et al., 2017; Sordillo & Raphael, 2013; Wilkens et al., 2020).

O aumento rápido da produção de leite não só eleva as demandas de glicose para síntese de lactose, como também de minerais, tais como cálcio (Ca), fósforo e magnésio. Casos de hipocalcemia clínica e subclínica são comuns (podendo no caso desta última acometer até 50% dos animais) e se devem principalmente à mobilização de Ca para a produção de colostro, leite, e contrações uterinas e abdominais para a ocorrência do parto (Wilkens et al., 2020). O direcionamento de nutrientes para o crescimento final do feto também consome uma quantidade significativa de Ca (Goff, 1997). Após o parto, uma vaca produzindo 10 L de colostro excreta 23 g de Ca, o que representa de 8 a 10 vezes as concentrações sanguíneas em uma fêmea de 600 kg (Almeida, 2011; Berchielli et al., 2011; Wilkens et al., 2020).

Fisiologia do cálcio e efeitos da hipocalcemia

A alta demanda de cálcio no periparto ocasiona uma diminuição das concentrações plasmática de cálcio e consequentemente de sua ação. Por estar envolvido na contração muscular e impulsos nervosos, a hipocalcemia clínica causa tremores musculares (o que deu o nome de febre do leite a doença) e progressivamente com o agravamento do quadro impossibilidade do animal se manter em estação e morte (Gonzales, 2017; Berchielli et al., 2011; Smith, 2008). Porém o papel fisiológico do cálcio vai além da contração muscular ou da conhecida mineralização óssea, atuando também na coagulação, no potencial de ação cardíaco, como segundo mensageiro e com ação importante no sistema imune. Em alguns estudos evidencia-se que a duração da hipocalcemia, mesmo que a com alteração pequena nos níveis de cálcio, tem mais impacto que picos de hipocalcemia, como nos casos de hipocalcemia clínica (Caixeta et al., 2017). Por tudo isso, mesmo pequenos distúrbios nos níveis de cálcio podem ter efeitos prejudiciais na função

endócrina, imunológica e muscular o que provavelmente esteja envolvido com o aumento do risco de outras doenças e distúrbios relacionados ao período de transição (Wilkens, 2020; Aleri, 2016). Além de causar a febre do leite, falhas na função muscular diminuirão o tônus do esfíncter mamário, diminuindo o poder de fechamento e produção de queratina no canal do teto (Goff, 1997; Aleri, 2016). Ainda, a falha na função muscular tem implicações significativas no parto, e na saúde uterina e digestiva. Ca extracelular atua na excitabilidade de neurônios e na contração de células musculares levando a efeitos negativos da hipocalcemia na função do músculo liso dos tratos reprodutivo e digestivo. Algumas funções digestivas ficam comprometidas devido à hipomotilidade do sistema gastrointestinal reduzindo a ingestão de alimentos, aumentando as chances de ocorrência de deslocamento/torção de abomaso e de cetose (Phillips, 2015; Berchielli et al., 2011, Wilkens, 2020). Redução do consumo e da atividade mastigatória também foram observados em casos subclínicos de hipocalcemia (Hansen et al., 2003). Baixos níveis de cálcio podem diminuir a ação da insulina, o que agravaria o risco para cetose (Martinez, 2014). A ação do cálcio como segundo mensageiro pode estar relacionada a distúrbios imunes e endócrinos, uma vez que muitos receptores de hormônios e células imunes utilizam a via de sinalização do inositol-trifosfato através do cálcio intracelular. No sistema imune, o Ca intracelular é necessário para a ativação e atuação das células imunes, e, em vacas hipocalcêmicas, mesmo subclínicas, ocorre uma ação direta dos baixos níveis de Ca sobre células mononucleadas (Wilkens, 2020; Immler et al., 2018). Em neutrófilos, por exemplo, o inositol-trifosfato liberado da hidrólise do fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato pela fosfolipase C causa a liberação de estoques de Ca no retículo endoplasmático. Como resposta estimulatória, o aumento de Ca intracelular desencadeia várias funções de neutrófilos, incluindo degranulação, quimiotaxia, reações oxidativas e fagocitose (Immler et al., 2018). Em estudos observacionais também pode-se perceber uma forte relação entre hipocalcemia subclínica e elevação dos níveis de cortisol, havendo dessa forma uma redução no número e na reatividade principalmente de neutrófilos (Martinez et al., 2014; Kimura, 2006; Aleri, 2016). De acordo com Martinez (2014), o papel do cálcio como segundo mensageiro em células imunes explica a reduzida ativação de neutrófilos e os animais ficam predispostos a desenvolverem mastite e outras doenças infecciosas (Phillips, 2015).

Conclusão

Os efeitos da hipocalcemia subclínica são relatados em vários estudos nos últimos anos. Se observa que a relação da hipocalcemia subclínica com a mastite pode se dar com vários fatores, isolados ou concomitantes, visto que o cálcio participa em várias cadeias metabólicas. Entre eles a ação direta do cálcio sobre o esfíncter (primeira barreira a ser ultrapassada pelos patógenos) e células imunes, o que predispõe a maiores riscos pra infecções mamárias. Há também efeitos indiretos, como aumento do cortisol (ação imunossupressora), diminuição da ingestão de matéria seca e sobre a ação sobre insulina, os dois últimos potencializando o BEN e seus efeitos deletérios da lipólise sobre o sistema imune. A diminuição da eficiência das barreiras físicas e do sistema imune celular contra a invasão da glândula mamária por patógenos se caracterizam como as principais causas conhecidas de associação da hipocalcemia subclínica e mastite.

Referências bibliográficas

- Aleri, J. W, et al. (2016). Peripartum immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period. *Reserch in Veterinary Science*, v. 108. p. 8-17.
- Almeida, R. (2011). Cuidados especiais para vacas especiais. *Revista Produtor LBR*, v. 25, p. 12-15.
- Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G. (2011). *Nutrição de ruminantes*. 2 ed. Jaboticabal: Funep.
- Contreras, G.A.; Sordillo, L. (2011). Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*. v. 34. p. 281-289.
- Contreras, A., Strieder-Barboza, C., Raphael, W. (2017) Adipose tissue lipolysis and remodeling during the transition period of dairy cows. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8: 41.
- Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *Journal of Dairy Science*, v. 82, p. 2259-2273.
- EMBRAPA. (2022). Anuário leite 2022: pecuária leiteira de precisão. Disponível em: <http://www.infotec.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1144110>.
- Goff J. P.; Horst R. L. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*. v. 80, p. 1260–1268.
- Gonzalez, F. H. D.; Silva, S. C. (2017). *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. 3ª edição, Porto Alegre: Editora da UFRGS.
- Gross, J.J. (2016). Rapid communication: Colostrum immunoglobulin concentration in mammary quarters is repeatable in consecutive lactations of dairy cows. *Journal of Animal Science*, v. 94, p. 1755–1760.

- Grummer, R.R. (1995). Impact of changes organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Dairy Science*, v.73, p.2820-2833.
- Grummer, R. R. (2009). Qual período é mais crítico: pré-parto vs periparto vs pós-parto? In: XIII Curso de novos enfoques na produção e reprodução de bovinos., 2009, Uberlândia. Anais... Botucatu: Universidade Estadual Paulista, p. 237-248.
- Hansen, S. S. et al. (2003). The effect of subclinical hypocalcemia induced by Na₂EDTA on the feed intake and chewing activity of dairy cows. *Vet. Res. Commun.*, v. 27. p. 193-205.
- Huzzey, J.M. et al. (2007). Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.3220-3233.
- Immler, R.,S. et al. (2018). Calcium signaling and related ion channels in neutrophil recruitment and function. *Eur. J. Clin. Invest.* v. 48 (Suppl. 2): e12964.
- Kimura, K.; Reinhardt, T.A.; Goff, J.P. (2006). Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. v 89. p. 2588-2595.
- Koster, J. D.; Opsomer, G. (2013). Insulin resistance in dairy cow. *Vet. Clin. Food*. v. 29, p. 299–322.
- Martinez, N. et al. (2014). Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v. 97, p. 874–887.
- Phillips, C. J. C. (2015). Metabolic disorders in the transition period indicate that the dairy cows' ability to adapt is overstressed. *Animals*, v. 5. p 978–1020.
- Ribeiro et al. (2016). Mastite em animais domésticos. In: Megid, J. Doenças infecciosas em animais de produção e companhia. Rio de Janeiro, Roca. p. 1154-1205.
- Santos, M. V. (2019) Controle da mastite e qualidade do leite: desafios e soluções. Pirassununga. Edição dos autores, 301 p.
- Smith, B. P. (2008). Large animal internal medicine. 4 edition, St. Louis, Missouri. Elsevier, 1821 p.
- Sordillo, L.M., Raphael, W. (2013). Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. *Veterinary Clinics Food Animal practice*. v. 29, p. 267–278.
- Wilkens, M. R. et al. (2020). Symposium review: Transition cow calcium homeostasis – Health effects of hypocalcemia and strategies for prevention. *Journal of Dairy Science*, v. 103, p. 2909-2927.