

# Ação imunomoduladora da vitamina E na imunidade sistêmica e da glândula mamária de bovinos leiteiros alimentados com silagem

## Immunomodulatory action of vitamin E in systemic immunity and mammary gland of dairy cows fed silage

Heloisa Godoi Bertagnon<sup>1\*</sup>; Elisangela Barboza da Silva<sup>2</sup>;  
Mariana Marcantonio Conneglian<sup>1</sup>; Mikael Neumann<sup>1</sup>;  
Greyson Vitor Zanatta Esper<sup>3</sup>; Guilherme Pepino Bastos<sup>4</sup>; Juliana ramos Pereira<sup>4</sup>

### Resumo

Regiões como o sul do Brasil convivem com mudanças meteorológicas drásticas entre inverno e verão, redundando em transtornos diretos na pastagem, impedindo mudança gradativa entre gramíneas, gerando períodos de vazio forrageiros, fato que diminui a oferta de forragem, bem como seu o valor nutricional. Nestes momentos torna-se comum a suplementação intensiva com alimentos conservados na forma de silagem, processo que pode reduzir em até 50% os teores de vitamina E do alimento, nutriente integrante do sistema antioxidante celular, responsável pela diminuição do estresse oxidativo e funções imunológicas como fagocitose, quimiotaxia e metabolismo oxidativo nos ruminantes. Assim, o presente estudo procurou mensurar a atividade imunomoduladora da vitamina E em vacas leiteiras no meio do estágio da lactação, suplementadas com silagem de milho e mantidas em pasto de transição não adubado. Efetuou-se avaliações do hemograma, função neutrofilica sanguínea e celularidade das glândulas mamárias antes e após a aplicação de duas doses de alfa tocoferol parenteral. Observou-se no grupo tratado, aumento significativo para as variáveis da série vermelha do sangue, bem como para os leucócitos sanguíneos principalmente por aumento de neutrófilos. No leite, observou-se aumento da celularidade, principalmente por elevação de mononucleares. Como verificou-se aumento de neutrófilos positivos ao teste de NBT, acredita-se que o alfa tocoferol reduziu o estresse oxidativo celular, aumentando a fagocitose e metabolismo oxidativo de neutrófilos, e diminuiu a lipoperoxidação das membranas celulares aumento da meia vida das células sanguíneas e lácteas.

**Palavra-chave:** Alfa tocoferol, neutrófilos, NBT, celularidade láctea

### Abstract

Regions such as southern Brazil live with drastic weather changes between winter and summer, resulting in direct disorders in the pasture, avoiding gradual change between grasses, creating periods of forage empty, a fact that diminishes the supply of forage, as well as its nutritional value. In these moments it becomes common to supplementation with intensive foods preserved as silage, a process that can reduce

<sup>1</sup> Profs. da Universidade Estadual do Centro Oeste, UNICENTRO, Guarapuava, PR. E-mail: hbertagnon@unicentro.br; ma\_veterinaria@hotmail.com; mikaelneumann@hotmail.com

<sup>2</sup> Prof<sup>a</sup> da Universidade Estadual de Santa Cruz, UESC, Ilhéus, BA. E-mail: elisangelavet@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Pesquisador da Universidade de São Paulo, FMVZ/USP, São Paulo, SP. E-mail: greyson@usp.br

<sup>4</sup> Discentes da Universidade Estadual do Centro Oeste, UNICENTRO, Guarapuava, PR. E-mail: 13guibastos@gmail.com; julianapereira.mv@hotmail.com

\* Autor para correspondência

up to 50% levels of vitamin E from food, nutrient integrate cellular antioxidant system, responsible for the reduction of oxidative stress and immune function such phagocytosis, chemotaxis and oxidative metabolism in ruminants. Thus, the present study sought to measure the immunomodulatory activity of vitamin E in dairy cows in the middle of the stage of lactation, supplemented with corn silage and maintained on transition pasture not fertilized. We conducted assessments of hemogram, blood neutrophil function and cellularity of mammary glands before and after application of two parenteral doses of alpha tocopherol. It was observed in the treated group a significant increase for the series variable red blood, and to blood leukocytes mainly by an increase in neutrophils. In milk, there was increased cellularity, mainly by mononuclear elevation. As there was an increase of neutrophils positive to NBT test, it is believed that alpha tocopherol reduced cellular oxidative stress, enhancing phagocytosis and respiratory burst of neutrophils and decreased lipoperoxidation of cell membranes increases the half-span of blood cells and milk.

**Key words:** Alfa tocopherol, neutrophils, NBT, milk cellularity

## Introdução

O rebanho brasileiro conta com 209,5 bilhões de bovinos, e uma produção leiteira de aproximadamente 30,7 bilhões de litros de leite/ano, sendo um dos seis produtos mais importantes da economia brasileira (IBGE, 2011). Para que este cenário se mantenha, torna-se necessário a hígidez, a boa nutrição e o adequado manejo destes bovinos.

A funcionalidade de mecanismos de defesa física, celular e humoral é responsável por garantir a sanidade dos bovinos, pois evita que fatores agressores culminem em enfermidades nestes bovinos. Dentre os agentes agressores, os mais incriminados são os microrganismos bacterianos, que ao entrarem em contato com um tecido, desencadeiam-se uma série de sinalização entre células imunes intencionadas em eliminar o patógeno, sendo as principais protagonistas deste evento: macrófagos, linfócitos e neutrófilos. Durante o desencadimento da resposta imunológica há produção de metabólitos do oxigênio por meio de reações de oxirredução que destruirão os patógenos e potencialmente as células sadias do tecido infectado, pois alteram sua conformação, estrutura e função (SORDILLO; SHAFER-WEAVER; DEROSA, 1997).

O equilíbrio entre os agentes oxidorreductores gerados e os sistemas antioxidantes celulares previne danos às células sadias, controlando ou evitando uma inflamação (RIEGEL, 2002; LAMBETH,

2004). Dentre os sistemas antioxidantes, a vitamina E (tocoferol) é o mais importante e o único inserido nas membranas lipídicas (MEYDANI, 1995). Possui ainda outras ações imunoestimulantes, como auxílio na produção de anticorpos, proliferação celular, produção de citocinas e auxilia a função neutrofílica aumentando quimiotaxia, fagocitose e atividade bactericida, gerando interesse científico quanto a sua ação imunoestimulante em ruminantes (POLITES et al., 2004; FERREIRA et al., 2007; LOPES et al., 2009; LEAL et al., 2011).

Os primeiros estudos sobre o tocoferol buscaram associar a maior susceptibilidade de mastite bovina no período puerperal, às baixas concentrações séricas desta vitamina (WEISS et al., 1992). Estes resultados alavancaram pesquisas que versaram sobre a influência de diferentes formas de suplementação da vitamina na atividade dos fagócitos sanguíneos e lácteos, verificando que a vitamina resultou em menor estresse oxidativo, maior atividade fagocítica e bactericida destas células no animal sadio (BOUWSTRA et al., 2008; PASCHOAL; ZANETTI; CUNHA, 2003; URBAN-CHMIEL et al., 2009). Lopes et al. (2009) estudaram a suplementação do tocoferol na severidade da inflamação na mastite em cabras e verificaram uma atividade neutrofílica mais eficiente, menor processo inflamatório da glândula mamária, menor contagem de células somáticas e maior metabolismo oxidativo de neutrófilos sanguíneos.

No entanto, alguns autores não encontraram

benefícios da suplementação desta vitamina, sugerindo que a própria alimentação, quando composta por forragens frescas e concentrado, seria a responsável por atingir o requerimento deste nutriente no animal (FERREIRA et al., 2007; POLITIS, 2012).

Na região sul do Brasil, rotineiramente, existe períodos de vazio forrageiro, dadas às mudanças climáticas regionais entre inverno e verão, às quais diminuem a oferta de forragem, bem como o valor nutricional das pastagens, sendo muito comum nestes momentos, a suplementação intensiva com alimentos conservados na forma de silagem, processo que pode reduzir em até 50% os teores de vitamina E do alimento (McDOWELL et al., 1996). Assim sugere-se a hipótese de que bovinos alimentados exclusivamente com volumosos podem ter uma diminuição da concentração sérica desta vitamina neste período.

Esse trabalho teve como objetivo verificar se a administração parenteral de vitamina E (acetato de alfa tocoferol) alteraria a imunidade de bovinos leiteiros alimentados a pasto e suplementados com silagem de milho no período de vazio forrageiro.

## Material e Métodos

Foram estudados dois grupos com cinco vacas Jersey cada um, suplementadas ou não com vitamina E (acetato de alfa tocoferol - Monovin E®, Bravet), alimentadas com silagem de milho e pasto de aveia e azevém não irrigado, nem adubado durante toda a execução do projeto.

Os animais estavam entre o segundo e quarto mês de lactação, eram pluríparas e produziam em média 10 litros de leite por dia, em duas ordenhas mecânicas, com intervalo de 12 horas. Um grupo foi chamado controle (GC) e não recebeu suplementação de vitamina e o outro, grupo tratamento (GT), recebeu duas administrações Monovin E® na dose de 4000 UI por animal via intramuscular, no momento zero (M0) e no momento dois (M2). As avaliações do

hemograma, metabolismo oxidativo neutrofílico e a citologia da glândula mamária foram realizadas em cinco momentos, sendo M0 (antes da aplicação da vitamina), momento um (M1) no terceiro dia do experimento; M2 no quinto dia; momento três (M3) no oitavo dia e momento quatro (M4) no décimo terceiro dia.

Para avaliação da higidez, as vacas foram submetidas a exame físico geral, exame dos quartos mamários, ao teste Califórnia Mastitis Test (CMT) e ao exame microbiológico do leite. Qualquer alteração nestes exames foi considerada como critério de exclusão.

Para a realização do hemograma, as amostras de sangue foram coletas por venopunção da veia jugular, utilizando-se tubos a vácuo com EDTA e para o teste de metabolismo oxidativo dos neutrófilos usou-se tubos heparinizados. Este teste foi realizado pela técnica de tetrazólio nitroazul (NBT) com kit comercial, estimulado ou não com 50µl de zimosan, conforme descrito por Ciarlini et al. (2002). Qualificaram-se cem neutrófilos em esfregaços sanguíneos em positivos ou negativos, sendo considerados os positivos, aqueles que apresentaram grânulos citoplasmáticos de cor violácea ou enegrecida (cristais de formazan), independente do número e tamanho das granulações, em microscópio óptico com aumento de 1000X.

As amostras de leite dos quatro quartos foram coletadas individualmente, sendo homogenizadas e submetidas à contagem total de acordo com as recomendações de Prescott e Breed (1910) em microscopia óptica (1000X), contando-se 100 campos. O resultado obtido foi multiplicado pelo fator de trabalho do microscópio, determinando-se assim o número de células por mililitro de leite. Para a análise diferencial, as amostras de leite foram centrifugadas e sendo o precipitado lavado com solução fisiológica por 3 vezes e ressuspensionado posteriormente com 2 ml de solução fisiológica. A partir desta etapa confeccionaram-se esfregaços em lâmina de microscopia óptica em quadruplicata

corando-as com Panótico rápido e qualificando 400 células em microscópio óptico (1000X) de acordo com a morfologia e características tintoriais.

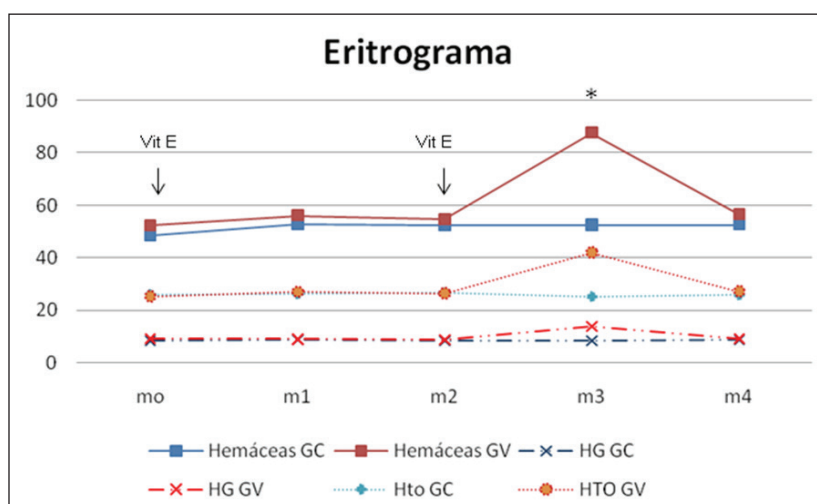
O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por dez tratamentos, com cinco repetições, onde cada repetição foi uma vaca em lactação, em um esquema fatorial 2 x 5, sendo dois sistemas de suplementação, com ou sem vitamina E, e cinco momentos de avaliação (M0 ao M4). Os dados coletados para cada variável foram submetidos à análise de variância com comparação

das médias, a 5% de significância, por intermédio do programa estatístico SAS (1993).

## Resultados e Discussão

Os resultados obtidos revelaram que houve diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre o grupo controle e o grupo tratado, com elevação significativa das variáveis: hemácia, hemoglobina e hematócrito no M3 e queda dos valores para os níveis basais em seguida (Figura 1).

**Figura 1.** Valores médios de hemáceas ( $\times 10^5$  células/ul), hemoglobina (HG mg/dL) e hematócrito (HTO %) de vacas suplementadas (GV) ou não (GC) com vitamina E (Vit E), Guarapuava-PR, 2012. (M0 –primeiro dia; M1- terceiro dia; M2- quinto dia; M3- oitavo dia e M4-no décimo terceiro dia do experimento).



\* Diferença estatística entre os grupos no M3 para todas as variáveis ( $P \leq 0,05$ )

Fonte: Elaboração dos autores.

A suplementação com 2 administrações de tocoferol melhorou a atividade eritrocitária, o que corrobora com os resultados encontrados por Lopes et al. (2009) ao estudarem cabras suplementadas com esta mesma vitamina. Segundo estes autores, isso pode ter beneficiado o processo de produção dos eritrócitos na medula óssea, assim como mantido uma maior quantidade de eritrócitos

íntegros na circulação periférica, por redução da lipoperoxidação da membrana eritrocitária.

O valor absoluto de leucócitos, neutrófilos segmentados e porcentagem de neutrófilos estimulados e não estimulados positivos ao teste do NBT, se elevaram no M1 ( $P \leq 0,05$ ) e permaneceram elevados até o final do experimento (Tabela 1 e Figura 2).

**Tabela 1.** Valores médios de neutrófilos sanguíneos positivos ao teste do NBT com estímulo (E) e sem estímulo (NE) em vacas leiteiras suplementadas (GV) ou não (GC) com vitamina E, Guarapuava-PR, 2012.

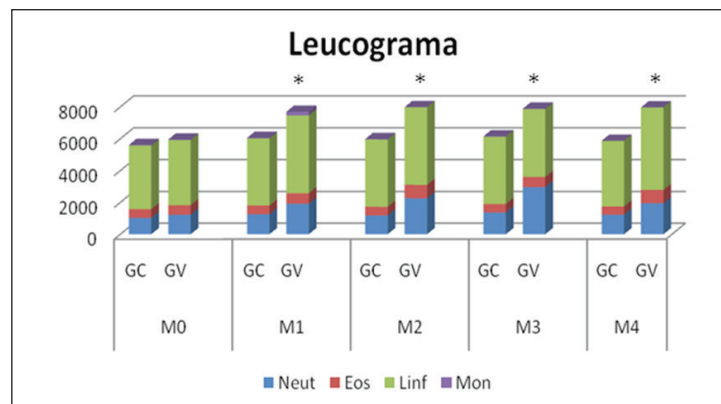
Provas	Grupos	Momentos				
		M 0	M 1	M 2	M 3	M 4
NE positivo (%)	GC	29,6 <sup>a</sup>	29,6 <sup>a</sup>	29,6 <sup>a</sup>	29,6 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>
	GV	29,6 <sup>a</sup>	48b <sup>c</sup>	52,8 <sup>c</sup>	51,2 <sup>c</sup>	40,4 <sup>b</sup>
E positivo (%)	GC	44 <sup>a</sup>	44,4 <sup>a</sup>	43,2 <sup>a</sup>	44 <sup>a</sup>	43,2 <sup>a</sup>
	GV	44 <sup>a</sup>	59,6 <sup>b</sup>	62 <sup>b</sup>	65,6 <sup>b</sup>	61,0 <sup>b</sup>

Letras diferentes indicam diferença estatística  $P \leq 0,05$ .

(M0 –primeiro dia; M1- terceiro dia; M2- quinto dia; M3- oitavo dia e M4-no décimo terceiro dia do experimento)

**Fonte:** Elaboração dos autores.

**Figura 2.** Valores médios das diferentes populações de leucócitos de vacas leiteiras suplementadas (GV) ou não (GC) com vitamina E, Guarapuava-PR, 2012. (Neut-Neutrófilos segmentados; Eos-eosinófilos; Linf- linfócitos; Mon-monócitos: expressos em células/uL ; M0 –primeiro dia; M1- terceiro dia; M2- quinto dia; M3- oitavo dia e M4-no décimo terceiro dia do experimento).



\* Diferença estatística para leucócitos e neutrófilos segmentados entre os momentos M0 e os demais (M1, M2, M3 e M4) e entre os grupos (GC) e (GV), considerando  $P \leq 0,05$ .

**Fonte:** Elaboração dos autores.

A elevação dos leucócitos por neutrófilos no grupo tratado a partir do M1, indica uma melhora na função imunológica destes animais, uma vez que a vitamina E diminui a intensidade da peroxidação e aumenta a capacidade antioxidante do bovino. Esta ação reduz às formas reativas de oxigênio, impedindo que haja acúmulo destes metabólitos no meio celular, aumentando a viabilidade dos leucócitos (URBAN-CHMIEL et al., 2009), em especial os neutrófilos, pois são os principais fagócitos da corrente sanguínea.

A elevação da porcentagem de neutrófilos

positivos ao teste do NBT no grupo tratado indica maior atividade fagocítica e bactericida dos neutrófilos (PARK; GOOD, 1970; PEIXOTO et al., 2002). Tais achados corroboram com os encontrados por Mukherjee (2008), ao relatar aumento de fagocitose e poder microbicida de polimorfonucleares em búfalas com mastite, tratadas com antibiótico, vitamina E e selênio.

O fato da vitamina E funcionar como antioxidante resultou em menor estresse oxidativo e evitou-se gasto de outros sistemas antioxidantes celulares, como a glutathione peroxidase. Em situações de

estresse oxidativo, há um gasto exagerado da glutatona ativa, que será restaurada pelo NADPH gerado pela via hexose monofosfato. Se este NADPH não fosse consumido, forneceria energia para célula, pela via cadeia respiratória. Tanto este menor aporte energético celular, como o acúmulo da glutatona inativa diminuem a fagocitose durante o estresse oxidativo (YAN et al., 2012), portanto a minimização deste estresse no grupo tratado, evitou a diminuição da fagocitose, processo que culmina diretamente no incremento do metabolismo oxidativo (LAMBETH, 2004). Vale ressaltar, que a vitamina E também estimula citocinas, tais como Interleucina-1, fator de necrose tumoral (TNF) e interferon-gama, que ativam as células endoteliais e/ou fibroblastos a secretarem os fatores estimuladores de colônias de granulócitos (G-CSF e GM-CSF),

responsáveis pelo aumento da produção e função neutrofílica (SORDILLO; SHAFER-WEAVER; DEROSA, 1997).

Quando se fez a avaliação do leite, notou-se que a contagem de células somáticas (CCS) dos animais selecionados para o experimento, mantiveram-se entre 30.000 a 350.000 células/mL (tabela 2), o que segundo Fonseca e Santos (2000) são achados compatíveis com ausência de mastites (subclínicas), no entanto Paschoal, Zanetti e Cunha (2003) consideram um limite de até 300.000 células/mL para uma glândula mamária sem infecção. Os exames realizados garantiram a higidez da glândula mamária, mesmo nos casos em que a CCS foi acima de 300.000 células/mL, vistos os resultados negativos para os exames de CMT e de cultura microbiológica.

**Tabela 2.** Valores das medianas (números mínimos e máximos) das diferentes populações celulares do leite de vacas leiteiras suplementadas (GV) ou não (GC) com vitamina E, expressos em número absoluto, Guarapuava-PR, 2012.

Citologia láctea	Grupos	Momentos				
		M 0	M 1	M 2	M 3	M 4
Cél epiteliais (x10 <sup>3</sup> /mL)	GC	12,92 <sup>a</sup> (4,8-36,0)	11,75 <sup>a</sup> (2,5-40,0)	23,35 <sup>a</sup> (5,4-48,0)	18,25 <sup>a</sup> (3,0-53,0)	13,5 <sup>a</sup> (2,4-72,0)
	GV	14,1 <sup>ab</sup> (2,7-60,0)	20,7 <sup>ab</sup> (0,2-56,0)	33,5 <sup>b</sup> (1,2-113,7)	6,7 <sup>a</sup> (0,0-41,6)	6,3 <sup>a</sup> (0,0-26,2)
Neutrófilos segmentados (x10 <sup>3</sup> /mL)	GC	5,4 <sup>a</sup> (0,8-48,4)	10,45 <sup>a</sup> (1,2-22,0)	5,5 <sup>a</sup> (1,5-35,0)	9,4 <sup>a</sup> (2,0-55,0)	14,5 <sup>a</sup> (1,5-60,0)
	GV	7,15 <sup>a</sup> (1,0-43,0)	30,5 <sup>a</sup> (0,0-75,0)	4,25 <sup>a</sup> (0,0-66,0)	3,22 <sup>a</sup> (0,0-20,4)	11,55 <sup>a</sup> (0,0-66,5)
Linfócitos (x10 <sup>3</sup> /mL)	GC	4,4 <sup>a</sup> (1,9-21,6)	3,92 <sup>a</sup> (1,6-16,0)	6,50 <sup>a</sup> (1,0-16,0)	5,12 <sup>a</sup> (2,0-18,0)	5,8 <sup>a</sup> (1,5-25,2)
	GV	5,1 <sup>a</sup> (0,6-34,1)	9,07 <sup>ab</sup> (1,7-47,2)	12,5 <sup>b</sup> (1,5-51,0)	6,67 <sup>ab</sup> (0,5-23,7)	11,4 <sup>ab</sup> (1,5-77,0)
Macrófagos (x10 <sup>3</sup> /mL)	GC	53,6 <sup>a</sup> (21,3-155,7)	56,2 <sup>a</sup> (35,0-142,0)	79,80 <sup>a</sup> (31,8-173,0)	72,5 <sup>a</sup> (29,0-167,5)	71,75 <sup>a</sup> (31,0-225,0)
	GV	58,15 <sup>a</sup> (17,1-225,0)	64,45 <sup>ab</sup> (32,5-246,7)	91,15 <sup>ab</sup> (26,7-246,5)	57,55 <sup>a</sup> (6,6-145,3)	110,9 <sup>b</sup> (23,4-266,0)
Total CCS (x10 <sup>3</sup> /mL)	GC	120,0 <sup>a</sup> (70,300,0)	90,0 <sup>a</sup> (80,0-200,0)	95,0 <sup>a</sup> (70,0-350,0)	120,0 <sup>a</sup> (100-350,0)	100,0 <sup>a</sup> (80,0-300,0)
	GV	90,0 <sup>a</sup> (30,0-300,0)	120,0 <sup>ab</sup> (50,0-142,0)	150,0 <sup>b</sup> (31,8-173,0)	75,0 <sup>a</sup> (10,0-190,0)	140,0 <sup>b</sup> (30-350,0)

Letras diferentes indicam diferença estatística  $P \leq 0,05$ .

(M0 –primeiro dia; M1- terceiro dia; M2- quinto dia; M3- oitavo dia e M4-no décimo terceiro dia do experimento).

**Fonte:** Elaboração dos autores.

Na citologia láctea observou aumento significativo da CCS no grupo suplementado com vitamina E nos momentos 2 e 4. As populações celulares desta citologia que apresentaram maiores magnitudes foram linfócitos e macrófagos, sendo o aumento significativo para linfócitos no M2 e macrófagos no M4. As células epiteliais elevaram gradativamente, com significância apenas no M2 e diminuição drástica posterior à segunda aplicação da vitamina E (Tabela 2).

Como as células somáticas são leucócitos residentes e migrados do sangue para o local, o fato da vitamina E aumentar a longevidade dos leucócitos sanguíneos também se aplicaria as células lácteas, porém em proporções menores e com intervalo entre dose e efeito diferentes, já que existe uma redistribuição da vitamina do sangue para os diferentes tecidos (MEYDANI, 1995). Bouwstra et al. (2008) verificaram que o estresse oxidativo foi reduzido no fígado e sangue de vacas suplementadas com vitamina E, mas não no leite, permitindo levantar a hipótese de que há um menor aporte da vitamina para a glândula mamária. Como os efeitos imunomoduladores deste suplemento pode ser dose dependente (POLITIS, 2012), a dose, a via de administração e intervalo entre as aplicações do suplemento foram suficientes para aumentar a celularidade láctea diferentemente do relatado por Paschoal, Zanetti e Cunha (2003) e Politis et al. (2004) que verificaram uma diminuição destas células após a suplementação pela via oral.

Como os macrófagos são a principal célula encontrada no leite da glândula mamária sadia, é esperado que o aumento da sobrevivência das células lácteas reflita na sua elevação, tornando, provavelmente, a glândula mais protegida contra possíveis patógenos, inferindo-se uma melhora na imunidade da glândula mamária.

Uma possível explicação para a elevação dos linfócitos lácteos no M2 seria o efeito da vitamina E em estimular a capacidade proliferativa de específicas subpopulações de linfócitos,

especialmente os linfócitos T (LEE; WAN, 2002). Tal fato foi verificado por Leal et al. (2011) ao atribuírem o aumento de linfócitos sanguíneos em carneiros suplementados com vitamina E e selênio, sugerindo que estes dois nutrientes aumentariam a resposta linfocitária. Na presente pesquisa utilizou-se apenas a vitamina E, que tem um efeito antioxidante apenas extracelular (MEYDANI, 1995), portanto mais fraco, sugerindo que este tratamento provocou aumento de linfócitos T, visualizado apenas na glândula mamária, local em que se provavelmente promoveram concentração sérica satisfatória desta vitamina. Contudo, pretendemos avaliar os animais em um período de transição das pastagens de verão e inverno, por isso houve a necessidade da suplementação com silagem de milho, visto que esta forragem é carente em vitamina E (McDOWELL et al., 1996; MARTIN et al., 2004). Nestas condições apenas uma dose de 4.000 UI deste nutriente por animal, foi suficiente para melhorar a função dos leucócitos no sangue. Com duas doses obteve-se efeito na série vermelha, estabilidade nos leucócitos sanguíneos e alteração na citologia do leite, sugerindo que este tratamento melhora a imunidade dos animais.

Diante dos resultados obtidos, é possível concluir que o uso de vitamina E contribuiu de forma positiva na imunidade e na série vermelha do hemograma de vacas sadias no meio da lactação, suplementadas com silagem de milho visto pelo aumento da fagocitose e metabolismo oxidativo de neutrófilos, provavelmente pela redução do estresse oxidativo no sangue e glândula mamária, o que pode resultar em aumento da meia vida das células.

## **Agradecimento**

Apoio financeiro Fundação Araucária, Projeto 18.606-2010.

Brasvet- MONOVIN E- alfa tocoferol, Rio de Janeiro-RJ.

## Referências

- BOUWSTRA, R. J.; GOSELINK, R. M. A.; DOBBELAAR, P.; NIELEN, M.; NEWBOLD, J. R.; VAN WERVEN, T. The relationship between oxidative damage and vitamin E concentration in blood, milk, and liver tissue from vitamin E supplemented and nonsupplemented periparturient heifers. *Journal Dairy Sciences*, Nova Iorque, v. 91, n. 3, p. 977-987, 2008.
- CIARLINI, P. C.; CIARLINI, L. D.; ALENCAR, N. X.; HOHAYAGAWA, A.; RODRIGUES, C. F. Metabolismo oxidativo de neutrófilos em ovelhas naturalmente infectadas por nematódeos gastrintestinais e correlação entre nível sérico de cortisol e carga parasitária. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 54, n. 3, p. 1-7, 2002.
- FERREIRA, A. M.; COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P.; BRITO, O. S.; CASSETARI, M. L.; NETO, A. O. Suplementação com vitamina E e a ocorrência de mastites em vacas da raça Jersey. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, v. 8, n. 2, p. 71-82, 2007.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. *Qualidade do leite e controle da mastite*. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175 p.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Estatística da produção pecuária. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\_Pecuaria/Producao\_da\_Pecuaria\_Municipal/2011/ppm2011.pdf>. Acesso em: 23 ago. 2011.
- LAMBETH, J. D. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nature Reviews Immunology*, Londres, v. 4, n. 3, p. 181-189, 2004.
- LEAL, M. L. R.; NICOLODI, P. L. R.; SOARES, J. F.; AIRES, A. R.; MONTEIRO, S. G.; LOPES, S. T. A.; ORTOLANI, E. L. Hematological parameters of lambs infected experimentally with *Haemonchus contortus* and supplemented with selenium and vitamin E. *Comparative Clinics Pathology*, Nova Iorque, v. 20, n. 4, p. 369-374, 2011.
- LEE, J.; WAN, J. M. Immunoregulatory and antioxidant performance of  $\alpha$ -tocopherol and selenium on human lymphocytes. *Biological Trace Element Research*, San Diego, v. 86, n. 2, p. 123-136, 2002.
- LOPES, S. T. A.; PAES, P. R. O.; KOHAYAGAWA, A.; LOPES, R. S.; LANGONI, H.; BULLA, C.; LANGRAFE, L. Metabolismo oxidativo dos eritrócitos e eritrograma na mastite induzida por *Staphylococcus aureus* em cabras suplementadas com vitamina E. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 10, n. 4, p. 1171-1176, 2009.
- MARTIN, B. V.; FEDELE, A.; FERLAY, P.; GROLIER, E.; ROCK, D.; GRUFFAT, Y.; CHILLIARD, Y. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. *Grassland Science in Europe*, Londres, v. 9, n. 2, p. 876-886, 2004.
- McDOWELL, L. R.; WILLIAMS, S. N.; HIDIROGLOU, N.; NJERU, C. A.; HILL, G. M.; OCHOA, L.; WILKINSON, N. S. Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science and Technology*, California, v. 60, n. 3, p. 273-296, 1996.
- MEYDANI, M. Vitamina E. *Lancet*, Londres, v. 345, n. 8943, p. 170-175, 1995.
- MUKHERJEE, R. SELENIUM AND VITAMIN E INCREASES POLYMORPHONUCLEAR CELL PHAGOCYTOSIS AND ANTIOXIDANT LEVELS DURING ACUTE MASTITIS IN RIVERINE BUFFALOES. *VETERINARY RESEARCH COMMUNICATION*, NOVA IORQUE, V. 32, N. 4, P. 305-13, 2008.
- PARK, B. H.; GOOD, R. A. NBT test stimulated. *Lancet*, Londres, v. 19, n. 1, p. 616, 1970.
- PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. A.; CUNHA, J. A. Suplementação de selênio e vitamina E sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça holandesa. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Botucatu, v. 32, n. 6, p. 2032-2039, 2003. Suplemento 2.
- PEIXOTO, A. P. C.; COSTA, J. N.; KOHAYAGAWA, A.; TAKAHIRA, R. K.; SAITO, M. E. HEMOGRAMA E METABOLISMO OXIDATIVO DOS NEUTRÓFILOS DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA - INFLUÊNCIA DOS FATORES ETÁRIOS. *BRASILEIRA DE SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL*, SALVADOR, V. 3, N. 1, P. 16-20, 2002.
- POLITIS, I.; BIZELIS, I.; TSIARAS, A.; BALDI, A. Effect of vitamin E in dairy cows in a commercial herd. *Journal of Dairy Research*, Nova Iorque, v. 71, n. 3, p. 273-278, 2004.
- POLITIS, I. Reevaluation of vitamin E supplementation of dairy cows: bioavailability, animal health and milk quality. *Animal*, Cambridge, v. 6, n. 9, p. 1427-1434, 2012.
- PRESCOTT, S. C.; BREED, R. S. The determination of the number of body cells in milk by a direct methods. *Journal of Infection Disease*, Oxford, v. 1, n. 7, p. 632-640, 1910.
- RIEGEL, R. E. Radiais livres. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Bioquímica*. 3. ed. São Leopoldo: Unisino, 2002. p. 507-536.



SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. *Journal Dairy Science*, Nova Iorque, v. 80, n. 8, p. 1851-1865, 1997.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE. SAS/STAT User's guide: statistics. Version 6. 4. ed. North Caroline, v. 2, 1993. 943 p.

URBAN-CHMIEL, R.; KANKOFER, M.; WERNICKI, A.; ALBERA, E.; PUCHALSKI, A. The influence of different doses of  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid on selected oxidative stress parameters in in vitro culture of leukocytes isolated from transported calves. *Livestock Science*, Dinamarca, v. 124, n. 1-3, p. 89-92, 2009.

WEISS, W. P.; HOGAN, J. S.; SMITH, K. L.; TODHUNTER, D. A.; WILLIAMS, S. N. Effect of supplementing periparturient cows with vitamin E on distribution of a-tocopherol in blood. *Journal of Dairy Science*, Nova Iorque, v. 75, n. 12, p. 3479-3485, 1992.

YAN, J.; MENG, X.; WANCKET, L. M.; LINTNER, K.; NELIN, L. D.; CHEN, B.; FRANCIS, K. P.; SMITH, C. V.; ROGERS, L. K.; LIU, Y. Glutathione reductase facilitates host defense by sustaining phagocytic oxidative burst and promoting the development of neutrophil extracellular traps. *The Journal of Immunology*, Bethesda, v. 188, n. 5, p. 2316-2327, 2012.

