Ciência Animal Brasileira
Brazilian Animal Science

DOI: 10.1590/1809-6891v26e-80457P

e-ISSN 1809-6891
Medicina Veterinária | Artigo científico

Dinâmica da imunidade de bezerros holandeses no período neonatal: avaliação do leucograma, expressão gênica de citocinas e linfócitos T

Dynamics of immunity in holstein calves during the neonatal period: evaluation of leukogram, cytokine gene expression, and T lymphocytes

Carolina de Lara Shecaira[1]*, Milton Ricardo Azedo[1], Caroline Harumi Seino[1], Juliana Aparecida Bombardelli[1], Gabriela Alves Reis[1], Paulo Eduardo Brandão[1], Sueli Akemi Taniwaki Miyagi[1], Fernando José Benesi[1]

1 Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), São Paulo, São Paulo, Brasil.
*autor correspondente: carolina.shecaira@gmail.com

Recebido: 11 de setembro, 2024. Aceito: 06 de dezembro, 2024. Publicado: 21 de março, 2025. Editor: Luiz Augusto B. Brito

Resumo: O sistema imunológico dos bezerros neonatos é imaturo e altamente suscetível a doenças, o que representa desafios para sua sobrevivência. Este estudo teve como objetivo avaliar a resposta imune de bezerros nos primeiros 30 dias de vida, com foco no leucograma, na imunofenotipagem dos linfócitos T (CD3+, CD4+ e CD8+) por citometria de fluxo e na expressão gênica das citocinas IL-10 e IL-12 por PCR em tempo real. Os resultados indicaram que o sistema imunológico dos bezerros passa por um processo de adaptação pós-natal, evidenciado por variações nos leucócitos totais e diferenciais, com aumento gradual de linfócitos até o 30º dia e flutuações em granulócitos e monócitos. As menores porcentagens de linfócitos T e a relação CD4+/CD8+ mais baixa ocorreram no terceiro dia de vida, com recuperação gradual. A expressão de IL-10 foi detectada nos dias 1, 3, 10 e 25, enquanto a IL-12 foi observada nos dias 1, 3 e 30. Essas citocinas indicam um equilíbrio dinâmico entre respostas Th1 (pro-inflamatórias) e Th2 (anti-inflamatórias), sugerindo uma regulação imunológica eficiente para controlar inflamações excessivas e combater patógenos. Conclui-se que o sistema imunológico do bezerro passa por uma fase de adaptação e maturação, com modulação da resposta imune observada nas variações nos leucócitos e na expressão das citocinas.

Palavras-chave: bovinos; citometria de fluxo; desenvolvimento imunológico; RT-qPCR

Abstract: The immune system of neonatal calves is immature and highly susceptible to diseases, which poses significant challenges to their survival. This study aimed to evaluate the immune response of calves during the first 30 days of life, focusing on leukogram analysis, T lymphocyte immunophenotyping (CD3+, CD4+, and CD8+) via flow cytometry, and cytokine gene expression of IL-10 and IL-12 through real-time PCR. The findings revealed that the calf immune system undergoes a postnatal adaptation process, as evidenced by variations in total and differential leukocyte counts, with a gradual increase in lymphocytes by day 30 and fluctuations in granulocytes and monocytes. The lowest percentages of T lymphocytes and the lowest CD4+ to CD8+ ratio were observed on the third day of life, followed by a gradual recovery. IL-10

Copyright: Este é um artigo em acesso aberto distribuído nos termos da Creative Commons Attribution License que permite o uso irrestrito, a distribuição e reprodução em qualquer meio desde que o artigo original seja devidamente citado.

expression was detected on days 1, 3, 10, and 25, whereas IL-12 expression was observed on days 1, 3, and 30. These cytokines indicate a dynamic balance between Th1 (pro-inflammatory) and Th2 (anti-inflammatory) responses, suggesting efficient immunological regulation to mitigate excessive inflammation and combat pathogens. Therefore, the calf immune system undergoes an adaptation and maturation phase, as evidenced by immune response modulation observed in leukocyte variations and cytokine expression.

Key-words: cattle; flow cytometry; immune development; RT-qPCR

1. Introdução

Estima-se que nasçam cerca de 44,6 milhões de bezerros/ano no Brasil [(1)]. Segundo Radostits et al. [(2)], nas duas primeiras semanas de vida os bezerros correm maior risco de morte. No Brasil, as taxas de mortalidade em bezerros podem chegar a 25%, tendo como causas principais as doenças do trato respiratório e diarreias. As características do sistema imune do bezerro em seu período neonatal fazem com que este fique muito suscetível a doenças [(3)], sendo que essa ocorrência de enfermidades diminui a rentabilidade na cadeia produtiva seja pela morte do animal ou pelo custo do atendimento e tratamento, diminuindo também o bem-estar do neonato [(2)]. Cada vez mais têm-se pesquisado acerca do comportamento imunitário dos bezerros em seu período neonatal. No entanto, existem mais pesquisas a respeito da atividade imune do bezerro em condição de doença ou em resposta a estímulos vacinais, sendo a atividade imune do bezerro hígido não muito estudada [(4;5;6;7,8;9;10)].

Conhecer o comportamento imunitário dos bezerros recém-nascidos auxilia a diminuir a incidência de doenças e o custo desse animal além de aumentar o bem-estar. Pois o conhecimento sobre o comportamento imunológico de bezerros recém-nascidos é crucial para reduzir a incidência de doenças, diminuir custos e melhorar o bem-estar animal. Entender o desenvolvimento imunológico permite implementar práticas adequadas, como a administração correta do colostro, que fornece anticorpos essenciais e promove a imunidade passiva, protegendo os bezerros contra infecções neonatais graves, como diarreia e doenças respiratórias [(11,12)]. Tais práticas diminuem a necessidade de intervenções e, consequentemente, os custos com tratamentos veterinários e medicamentos, além de evitar as perdas econômicas relacionadas à alta mortalidade [(13)]. Paralelamente, a redução da incidência de doenças melhora o bem-estar dos bezerros, minimizando o estresse e o sofrimento e promovendo um crescimento saudável em um ambiente mais seguro e confortável [(14)]. Assim, um manejo imunológico eficaz não só otimiza os recursos, mas também garante condições mais adequadas para o desenvolvimento desses animais, alinhando-se às práticas de bem-estar.

Assim sendo, nesse estudo propôs-se avaliar a dinâmica de resposta imunitária do neonato bovino nos primeiros 30 dias de vida, por meio de avaliações: de leucograma total e seus diferenciais; da relação entre as quantidades de linfócitos T CD4+ e CD8+ circulantes e da produção de citocinas de perfil Th1 e Th2.

2. Material e métodos

2.1 Comitê de ética

Esse trabalho teve sua execução aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, e sua autorização registrada em 22/01/2014 em documento CEUA n° 2372210114.

2.2 Animais

Foram utilizados 20 bezerros machos, da raça Holandesa Preta e Branca, hígidos, nascidos de parto eutócico. A partir do dia 1 pós-nascimento os animais foram alojados no Biotério da Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes (CBPR), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), em São Paulo/SP, permanecendo até os 30 dias de vida.

2.3 Manejo alimentar

Os animais receberam colostro, proveniente de um banco de colostro de boa qualidade, avaliado por meio de colostrômetro (lactodensimetro), exclusivo para o experimento, no volume de 10 % de peso vivo, distribuído em duas mamadas via mamadeira, sendo a primeira mamada na primeira hora de vida, e a segunda nas primeiras 12 horas de vida. O fornecimento de colostro continuou nos primeiros 3 dias de vida a fim de garantir a adequada transferência de imunidade passiva e, então, sucedâneo lácteo, até os 30 dias, em volume equivalente a 10% do seu peso vivo, distribuídos em duas alimentações diárias via mamadeira, além disso, tinham disponíveis para consumo feno, ração comercial e água *ad libitum*. A sanidade dos animais durante o experimento foi monitorada por meio de exame físico e hemograma.

2.4 Coleta de amostras

Foram coletadas amostras de sangue de cada animal, nos tempos 1 e 3 pós nascimento (período em que os animais receberam o colostro) e posteriormente, a cada 5 dias a partir do dia do nascimento até os 30 dias de vida.(5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias pós-nascimento) tal escolha foi feita visando tentar observar mudanças no comportamento das variáveis observadas no primeiro mês de vida dos animais, por venopunção jugular, utilizando-se sistema a vácuo em tubo siliconizado com heparina, que foram identificadas e transportadas, sob refrigeração, até o laboratório Departamento de Clínica Médica da FMVZ/USP.

2.4 Avaliações

As avaliações foram feitas por meio da avaliação das contagens totais e diferenciais de leucócitos em contador eletrônico de partículas (Mindray® BC-2800 Vet); da relação entre as quantidades de linfócitos T CD4+ e CD8+ circulantes, utilizando-se de citometria de fluxo.oram

analisados cinquenta mil leucócitos de cada amostra em citômetro de fluxo FACSCalibur® (Becton Dickinson Immunocytometry System™, San Diego, CA). Os dados assim obtidos foram avaliados utilizando-se do programa FlowJo® (Tree Star™, Inc., Ashland, OR).

Avaliou-se a expressão do RNAm, por leucócitos circulantes, de IL-12 que indica resposta de perfil Th1, e de IL-10 indicativa de resposta de perfil Th2, utilizou-se da reação em cadeia da polimerase (PCR) quantitativa em tempo real seguindo os protocolos descritos pelo fabricante (TaqMan® MGB probes, FAM™ dye-labeled, Applied Biosystems®, Foster City, CA). Para a análise dos resultados de expressão gênica relativa utilizou-se o método descrito por Pfaffl [15]. Os valores foram calculados com base na proporção entre os Ciclos Limite (treshold cycle-CT) de cada gene alvo e o do gene de referência (Beta-actina), corrigidos pela eficiência da reação.

2.5 Análise estatística

Estatísticas descritivas foram geradas para avaliar o comportamento de cada variável ao longo dos 30 primeiros dias pós-nascimento (p.n.) de bezerros holandeses com 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias de vida. Para as variáveis normalmente distribuídas, modelos de medidas repetidas [16] foram construídos para comparar a média de cada variável ao longo tempo. O pós-teste de Tukey foi utilizado para ajustar os valores P resultantes de comparações múltiplas. O teste de Friedman foi utilizado para comparar as medianas das variáveis com distribuição não-normal ao longo dos 30 dias p.n. De forma semelhante, o pós-teste de Dunn foi utilizado para ajuste do valor P.

3. Resultados

Os resultados obtidos das contagens de leucócitos totais, granulócitos, linfócitos e monócitos (tabela 01) mostraram diferença ao longo dos momentos estudados. A contagem de leucócitos totais apresentou diminuição abrupta no dia 15 (6,70 x 10^3/µL), posteriormente a maior contagem ocorreu no dia 10: (11,50 x 10^3/µL). Nos granulócitos os maiores números foram encontrados no dia 01 (8,50 x 10^3 /µL) e no dia 10 (8,05 x 10^3 /µL), e sua menor contagem foi aos 15 dias p.n. (3,55 x 10^3 /µL). A contagem de monócitos apresentou diferenças, sendo suas menores contagens aos 3 dias p.n. (0,65 x 10^3 /µL) e suas maiores aos 30 dias (1,10 x 10^3 /µL). Os linfócitos apresentaram aumento significativo com a evolução da idade, obtendo valores máximos aos 30 dias p.n. (3,0 x10^3/µL).

Tabela 1. Valores medianos (com intervalo interquartil: Q1-Q3) da contagem total e diferencial de leucócitos observados no leucograma de 20 bezerros da raça Holandesa, durante o primeiro mês de vida.

Variável	Leucócitos (10^3/µL)			Linfócitos (10^3/µL)			Monócitos (10^3/µL)			Granulócitos (10^3/µL)		
	Q1	Med	Q3	Q1	Med	Q3	Q1	Med	Q3	Q1	Med	Q3
Dias pós nascimento												
1	7,55	10.95^{b}	14,65	1,05	1,45^{a}	1,90	0,60	0,80^{abc}	0,95	5,70	8,50^{b}	12,30
3	6,35	7,80^{a}	8,95	1,20	1,50^{a}	1,85	0,60	0,65^{a}	0,70	4,60	5,60^{ac}	6,90
5	6,60	7,15^{a}	8,6	1,55	2,00^{ab}	2,45	0,60	0,80^{abc}	1,00	3,60	4,30^{a}	5,35
10	7,95	11,50^{b}	14,75	1,80	2,00^{ab}	2,55	0,80	1,00^{c}	1,30	5,25	8,05^{a}	11,90
15	5,55	6,70^{a}	11,05	1,75	2,55^{bc}	3,20	0,60	0,80^{abc}	1,15	2,55	3,55^{abc}	6,60
20	7,40	9,15^{ab}	11,15	2,00	2,45^{bc}	2,80	0,80	1,00^{bc}	1,15	3,85	5,5^{ac}	7,20
25	7,25	8,45^{ab}	10,55	2,60	2,90^{c}	3,75	0,65	0,90^{abc}	1,10	3,50	4,60^{bc}	6,10
30	8,70	10,75^{b}	13,2	2,75	3,00^{c}	3,25	0,80	1,10^{c}	1,60	5,00	7,05^{c}	9,60
Geral	6,95	8,70	11,6	1,60	2,30	2,90	0,70	0,85	1,10	3,90	5,55	8,30
Valor-P		<0,001			<0,001			<0,001			<0,001	

Letras minúsculas diferentes representam medianas diferentes em função da idade.

Na tabela 02 estão dispostas as quantificações de linfócitos CD3+, suas subpopulações (CD3+ CD4+ e CD3+ CD8+) e a relação entre linfócitos CD4+ e CD8+. As quantificações de linfócitos CD3+, CD4+ e CD8+ apresentaram diferença ao longo dos tempos estudados (P=0,014; P<0,001 e P<0,005, respectivamente). A relação entre linfócitos CD4+ e CD8+ também apresentou diferença ao longo dos dias analisados (P<0,001). A menor porcentagem de linfócitos CD3+ foi observada aos 3 dias p.n.. Os linfócitos do tipo CD4+ e CD8+ também apresentaram suas menores porcentagens neste dia.

Por sua vez, a maior porcentagem de linfócitos CD3+ foi observada aos 20 dias p.n., enquanto para os linfócitos CD3+ CD8+, as maiores porcentagens foram nos dias 5, 15 e 25 p.n.. Os linfócitos CD3+ CD4+ apresentaram maiores porcentagens nos dias 25 e 30 p.n.. Quanto à relação CD4+/CD8+, a menor relação foi verificada nos dias 3 e 5 p.n. e a maior aos 30 dias.

Tabela 2. Valores medianos (com intervalo interquartil Q1-Q3) da quantificação das subpopulações de linfócitos T (CD3+) circulantes, obtidos de 20 bezerros da raça Holandesa, durante o primeiro mês de vida.

Variável	$CD3^+$ (%)			$CD3^+$ $CD4^+$ (%)			$CD3^+$ $CD8^+$ (%)			Relação CD4/CD8		
	Q1	Med	Q3	Q1	Med	Q3	Q1	Med	Q3	Q1	Med	Q3
Dias após o nascimento												
1	39,48	48,00^{ab}	61,41	14,68	21,28^{ab}	40,13	13,56	16,80^{ab}	19,07	0,88	1,32^{a}	1,98
3	39,37	45,94^{a}	57,39	4,82	12,06^{a}	20,43	10,28	13,82^{a}	18,77	0,59	0,89^{a}	1,24
5	49,68	54,09^{ab}	59,95	14,35	21,19^{abc}	26,17	14,63	18,43^{b}	22,32	0,79	1,03^{ab}	1,71
10	32,96	55,71^{ab}	63,41	11,72	16,02^{ab}	25,91	13,48	15,83^{ab}	19,44	0,68	1,04^{a}	2,03
15	43,64	50,63^{ab}	61,60	12,04	21,17^{bc}	31,67	16,32	18,40^{ab}	20,23	0,74	1,22^{a}	1,43
20	52,61	66,35^{b}	72,43	16,99	22,32^{abc}	30,70	16,14	16,79^{b}	20,50	1,01	1,38^{ab}	1,57
25	52,79	59,15^{ab}	65,29	16,04	25,30^{bc}	38,12	13,59	18,46^{ab}	20,25	0,89	1,37^{ab}	1,98
30	51,98	52,96^{ab}	57,35	28,63	34,53^{c}	43,03	12,92	14,79^{ab}	16,84	1,67	2,71^{b}	3,06
Geral	43,18	53,90	62,73	12,56	21,28	30,66	13,81	16,73	19,57	0,84	1,23	1,85
Valor P		0,014			<0,001			<0,005			<0,001	

[1] *p.n.: pós-nascimento. Letras minúsculas diferentes representam medianas diferentes em função da idade, com p indicado na linha inferior.*

Para a avaliação da expressão gênica das citocinas utilizou-se o modelo descrito por Pfaffl [15]: Os valores foram calculados com base entre a proporção dos ciclos limite (*Threshold Cicle*) de cada gene alvo e o gene de referência, corrigidos pela eficiência da reação. Havendo apenas um grupo experimental, considerou-se como controle o tempo 1, os valores encontrados nos demais tempos foram considerados amostras. Os resultados obtidos estão expressos em *fold* (vezes). Para a expressão gênica de citocinas IL-10 e IL-12 pelos leucócitos, não se observou diferença ao longo dos dias estudados. Em alguns momentos não foi possível detectar tal expressão pela técnica empregada. A expressão de interleucina 10 foi detectada nos dias 1 (controle); 3; 10 e 25 p.n. Enquanto a expressão de interleucina 12 foi detectada nos dias 1 (controle), 3 e 30 p.n. (tabela 03).

Tabela 3. Medianas (com intervalo interquartil:Q1-Q3) da expressão gênica de citocinas IL-10 e IL-12, em função da expressão observada no primeiro mês de vida, por leucócitos obtidos de 20 bezerros da raça Holandesa, durante o primeiro mês de vida.

Variável	IL-10			IL-12		
	Q1	Med	Q3	Q1	Med	Q3
Dias p.n.						
1		(1,00) Controle			(1,00) Controle	
3	0,726	1,673	3,955	0,776	1,221	1,631
5		—			—	
10	0,574	1,706	2,494		—	
15		—			—	
20					—	
25	1,839	3,597	3,927		—	
30		—		1,0435	1,939	1,947
Valor P		0,098			0,833	

No dia 3 p.n. observou-se que os linfócitos apresentaram suas menores contagens no leucograma; nas quantificações das subpopulações de linfócitos T, verificou-se uma diminuição das porcentagens de CD3+, CD4+e CD8+, e uma diminuição da relação CD4+ e CD8+; juntamente com a detecção da expressão das interleucinas 10 e 12 neste dia.

No dia 10.p.n., observou-se um aumento de monócitos e diminuição de granulócitos no leucograma, um aumento da porcentagem de CD8+ e uma diminuição da relação CD4+ e CD8+, momento este onde também foi detectada a expressão de IL-10.

No dia 25 p.n., detectou-se a expressão de IL-10 e também se observou um aumento na contagem de linfócitos no leucograma. Juntamente com a expressão gênica de IL-10, também pôde-se visualizar maior variação numérica da subpopulação de linfócitos CD8+.

Aos 30 dias p.n., detectou-se expressão de IL-12 e concomitantemente um aumento de todas as subpopulações de leucócitos, as porcentagens de CD4+ e a relação CD4+ e CD8+ também tiveram um aumento neste dia.

4. Discussão

Os valores reduzidos de linfócitos CD3+, CD3+ CD4+ e CD3+ CD8+, assim como a menor relação CD4/CD8, observados aos 3 dias pós-nascimento, podem ser atribuídos à exposição abrupta a um ambiente extrauterino, que impõe um desafio significativo ao sistema imunológico do neonato. Esse fenômeno é comumente associado a um aumento inicial de neutrófilos e uma diminuição dos linfócitos, como encontrado no leucograma deste estudo, refletindo uma resposta inflamatória aguda e um período de adaptação ao ambiente [17,18]. A recuperação gradual nos níveis de linfócitos CD3+, CD3+ CD4+ e CD3+ CD8+ após os 5 dias pós-nascimento indica uma maturação contínua do sistema imunológico dos bezerros, em resposta ao contato contínuo com antígenos ambientais e microrganismos [19].

Considerando as variações do leucograma, pode-se observar uma tendencia da inversão da relação de granulócitos: linfócitos, aos 30 dias p.n., fato esperado para a idade dos animais. As flutuações no leucograma no primeiro mês de vida são comuns e relacionam-se com diversos fatores tais como: glicocorticóides exógenos provenientes do trabalho de parto, saúde materna, fornecimento de colostro além de fatores de manejo e ambientais [20].

As detecções da expressão gênica de IL-12 sugerem uma ativação da resposta Th1, provavelmente como resultado da exposição a antígenos microbianos após o nascimento. Isso pode ser endossado pelos resultados visualizados no leucograma, no qual maiores contagens de leucócitos totais são evidentes (dia 1 e 30) por grande quantidade de granulócitos circulantes.

Isto é consistente com os resultados de outros estudos que observaram um aumento na atividade Th1 em fases semelhantes do desenvolvimento neonatal quando desafiados por infecções bacterianas [21]. A IL-12 é crucial para a polarização das células T para um perfil Th1, essencial para a defesa contra patógenos infecciosos iniciais [22]. Ou seja, apesar de não estar totalmente funcional, o sistema imune do neonato é capaz de montar respostas quando desafiados por patógenos.

Por outro lado, a expressão de IL-10 (dia 3 p.n.), seguido por uma diminuição subsequente (dia 5 p.n.), demonstra uma resposta regulatória para equilibrar a ativação das células Th1. Um estudo recente demonstrou que a ingestão de colostro auxilia na modulação imunitária dos bezerros, induzindo a produção de IL-10, pois a produção desregulada de citocinas pró-inflamatórias no intestino é responsável por desencadear processos inflamatórios no local e podem conduzir à inflamação sistêmica e danos teciduais [23,24]. Outro aumento de IL-10 foi observado aos 10 dias p.n., juntamente com um aumento de leucócitos totais. A referida citocina em seu caráter anti-inflamatório tem a capacidade de diminuir a atividade de células leucocitárias, com o proposito de tentar impedir um efeito exacerbado desta inflamação [25].

O aumento gradual subsequente na expressão de IL-10 pode ser indicativo do desenvolvimento de uma resposta Th1/Th2 equilibrada à medida que o sistema imunológico dos bezerros amadurece e se adapta ao seu ambiente [26], no entanto, alguns estudos demonstram que essa inclinação para resposta Th2 seja proveniente de efeitos imunomoduladores que afetam o bezerro a termo: hormônios placentários como a prostaglandina e progesterona, além do cortisol da mãe e do bezerro. O efeito cumulativo destes hormônios faz com que a resposta imune se desloque para o perfil Th2, suprimindo Th1 e estimulando a produção de anticorpos, especialmente, IgM [27].

A interação entre as respostas das citocinas Th1 e Th2 durante o primeiro mês de vida parece ser crucial para o desenvolvimento de um sistema imunológico equilibrado e eficaz em bezerros [27,28]. Os padrões de expressão de citocinas observados sugerem que, embora uma resposta Th1 precoce seja essencial para a defesa inicial, a modulação subsequente pelas citocinas Th2 é necessária para prevenir a inflamação excessiva e promover uma resposta imunitária equilibrada e eficaz, com produção de anticorpos, à medida que o sistema imunológico dos bezerros se desenvolve e se ajusta ao ambiente externo [27,29].

Estratégias de manejo e intervenções terapêuticas podem ficar mais assertivas com o entendimento de tal equilíbrio imunológico. Por exemplo, o manejo de colostro pode ser ajustado para otimizar a transferência de imunoglobulinas e influenciar positivamente as respostas Th1/Th2 [21,22, 27]. Além disso, intervenções nutricionais, como a suplementação com ácidos graxos ou probióticos, têm sido exploradas para modular as respostas imunes de forma benéfica [30]. No caso de terapias, o uso direcionado de imunomoduladores pode ajudar a corrigir desequilíbrios específicos, promovendo uma resposta mais eficaz contra patógenos sem causar danos por inflamação exacerbada [27, 31,32].

5. Conclusão

Os resultados evidenciam que o sistema imunológico dos bezerros passa por uma fase de adaptação e maturação na vida extrauterina, e que, apesar de não estar totalmente funcional ao nascimento, apresenta modulação da resposta imune demonstrada pelas variações em quantidades de leucócitos e seus diferenciais, taxas de linfócitos T e variações na expressão das citocinas. As expressões de IL-12 e de IL-10 sugerem uma regulação eficaz entre as respostas Th1 e Th2 evitando uma resposta inflamatória exacerbada**.**

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Declaração de disponibilidade de dados

Os dados serão fornecidos mediante solicitação ao autor correspondente.

Contribuições do autor

Conceituação: C.L. Shecaira, F.J. Benesi, M.R. Azedo; Curadoria de dados: C.L. Shecaira, M.R. Azedo; Analise formal: C.L. Shecaira, C.H. Seino; Aquisição de financiamento: C.L. Shecaira, F.J. Benesi; Administração do projeto: F.J. Benesi, M.R. Azedo; Supervisão: F.J. Benesi, M.R. Azedo, P.E. Brandão, S. T. A. Miyagi; Investigação: C.L. Shecaira, M.R. Azedo, C.H. Seino, J.A Bombardelli, G.A. Reis; Validação: P.E. Brandão, S. T. A. Miyagi; Redação (rascunho original): C.L. Shecaira; Redação (revisão e edição): C.L. Shecaira.

Agradecimentos

Os autores expressam sua gratidão ao Professor Benesi (in memoriam), cuja orientação foi crucial para este e muitos outros trabalhos. Agradecem também à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da bolsa de doutorado (Processo nº 2014/02418-5) e pela bolsa de pesquisa (Processo nº 2013/25323-7).

Referências

1. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Bovinos e bubalinos [Internet]. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/febre-aftosa/educacao-e-comunicacao-febre-aftosa/material-de-divulgacao/rebanho-nacional-de-bovinos-e-bubalinos

2. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Clínica veterinária. 9th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p. 56-59.

3. Tizard I. Veterinary Immunology. 8th ed. St. Louis: Elsevier; 2008

4. Mena A, Ioannou XP, Van Kessel A, Van Drunen Little-van den Hurk S, Popowych Y, Babiuk LA, Godson DL. Th1/Th2 biasing effects of vaccination in cattle as determined by real-time PCR. Journal of Immunological Methods

[internet]. 2002 [citado 2025 jan 8]; 263(1-2):11-21. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0022-1759(02)00029-7

5. Claerebout E, Vercauteren I, Geldhof P, Olbrechts A, Zarlenga DS, Godderis BM. Cytokine response in immunized and non-immunized calves after Ostertagia ostertagi infection. Parasite Immunology [internet]. 2005 [citado 2025 jan 8]; 27(7):325-31. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2005.00780.x

6. Meeusen EN, Balic A, Bowles V. Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. Veterinary Immunology and Immunopathology [internet]. 2005[citado 2025 jan 8]; 108(1-2):121-5. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.07.002

7. Antonis AF, de Jong MC, Van Der Poel WH, Van Der Most RG, Stockhofe-Zurwieden N, Kimman TG, Schrijver RS. Age-dependent differences in the pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus infections related to the development of natural immunocompetence. The Journal of General Virology [internet]. 2010 [citado 2025 jan 8]; 91(10): 2497-506. Disponível em: https://doi.org/10.1099/vir.0.020842-0

8. Ibelli AMG; Nakata LC; Andréo R; Coutinho LL; Oliveira MCS; Amarante AFT, Furlong J; Zaros LG, Regitano LCA. mRNA profile of Nellore calves after primary infection with Haemonchus placei. Veterinary Parasitology [internet]. 2011 [citado 2025 jan 8]; 176: 195-200. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.013

9. Almería S, Serrano B, Yàñez JL, Darwich L, López-Gatius F. Cytokine gene expression profiles in peripheral blood mononuclear cells from Neospora caninum naturally infected dams throughout gestation. Veterinary Parasitology [internet]. 2012[citado 2025 jan 8]; 183(3-4): 237-243. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.038

10. Bertagnon, HG; Batista CF; Santos KR; Gomes RC; Bellinazzi JB; Della Libera AMMP. Alveolar macrophage functions during the transition phase to active immunity in calves. Journal of animal Science [internet]. 2018[citado 2025 jan 8]; 96: 3738-3747. Disponível em: https://doi.org/10.1093/jas/sky261

11. Godden S. Colostrum management for dairy calves. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice [internet]. 2008 [citado 2025 jan 8]; 24(1): 19-39. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.005

12. Weaver DM, Tyler JW, VanMetre DC, Hostetler DE, Barrington GM. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. Journal of Veterinary Internal Medicine [internet]. 2000 [citado 2025 jan 8]; 14(6): 569-577. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2000.tb02278.x

13. Soberon F, Raffrenato E, Everett RW, Van Amburgh ME. Preweaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. Journal of Dairy Science [internet]. 2012 [citado 2025 jan 8]; 95(2): 783-793. Disponível em: https://doi.org/10.3168/jds.2011-4391

14. Mee JF. Newborn dairy calf management. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice [internet]. 2008[citado 2025 jan 8]; 24(1): 1-17. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.002.

15. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research [internet]. 2001[citado 2025 jan 8]; 29(9). Disponível em: https://doi.org/10.1093/nar/29.9.e45

16. SAS Institute. SAS user's guide: statistics. Cary: SAS Institute; 2001. 956 p. (https://support.sas.com/documentation/cdl/en/stat/8.2/HTML/StatIntro.htm)

17. Marcato F, Brand HD, Kemp B, Reenen KV. Evaluating Potential Biomarkers of Health and Performance in Veal. Frontiers Veterinary. Science[internet]. 2018 [citado 2025 jan 8] 5: 01-18. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00133

18. Yang M, Zou Y, Wu ZH, Li SL, Cao ZL. Colostrum quality affects immune system establishment and intestinal development of neonatal calves. Journal of Dairy Science [internet]. 2015[citado 2025 jan 8]; 98(10): 7153-7163. Disponível em: https://doi.org/10.3168/jds.2014-9238

19. Miller J, Jones K, Smith S, et al. Immune maturation in neonatal calves: A review of the immune system's development and function. Veterinary Immunology and Immunopathology [internet]. 2020 [citado 2025 jan 8]; 227: 110-118. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.11.001

20. Benesi FJ, Teixeira C, Leal ML, Lisboa JA, Mirandola R, Shecaira CL, et al. Leukograms of healthy Holstein calves within the first month of life. Pesquisa. Veterinária. Brasileira [internet]. 2012 [citado 2025 jan 8]; 32: 352–356. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000400013

21. Lopes MG, Alharthi AS, Lopreiato V, Abdel-Hamied E, Liang Y, Coleman DN, Dai H, Corrêa MN, Fernandez C, Loor JJ. Maternal body condition influences neonatal calf whole-blood innate immune molecular responses to ex vivo lipopolysaccharide challenge. Journal of Dairy Science [internet]. 2021 [citado 2025 jan 8]; 104(2): 2266–2279. Disponível em: https://doi.org/10.3168/jds.2020-18948

22. Vlasova AN, Saif LJ. Bovine Immunology: Implications for Dairy Cattle. Frontiers of Immunology[internet].2021 [citado 2025 jan 8]; 29 (12): 643206. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.643206.

23. Adkinn B. Development of Neonatal Th1/Th2 Function. International Reviews of Immunology [internet]. 2000 [citado 2025 jan 8]; 19(2-3): 157–171. Disponível em: https://doi.org/10.3109/08830180009088503

24. Magombedze G, Eda S, Stabel J. Predicting the role of IL-10 in the regulation of the adaptive immune responses in Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infections using mathematical models. PLoS One [internet].2015 [citado 2025 jan 8]; 30;10(11):e0141539. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141539

25. Rojas JM, Avia M, Martín V, Sevilla N. IL-10: A Multifunctional Cytokine in Viral Infections. Journal of Immunology Research [internet]. 2017[citado 2025 jan 8]; 6(10)40-54. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2017/6104054

26. Ohtsuka H, Kobayashi H, Kinouchi K, Kiyono M, Maeda Y. Comparison of cytokine mRNA expression in peripheral CD4(+), CD8(+) and γδ T cells between healthy Holstein and Japanese Black calves. Animal Science Journal [internet]. 2014 [citado 2025 jan 8]; 85(5):575-580. Disponível em: https://doi.org/10.1111/asj.12175

27. Chase CCL, Hurley DJ, Reber AJ. Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice [internet]. 2008 [citado 2025 jan 8]; 24(1): 87–104. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.11.001

28. Laidlaw B, Cui W, Amezquita R. Production of IL-10 by CD4+ regulatory T cells during the resolution of infection promotes the maturation of memory CD8+ T cells. Nature Immunology [internet]; 2015 [citado 2025 jan 8]; 16: 871–879 Disponível em: https://doi.org/10.1038/ni.3224

29. McGill JL, Nonnecke BJ, Lippolis JD, Reinhardt TA, Sacco RE. Differential chemokine and cytokine production by neonatal bovine γδ T-cell subsets in response to viral toll-like receptor agonists and in vivo respiratory syncytial virus infection. Immunology [internet]. 2013 [citado 2025 jan 8]; 139(2): 227-244. Disponível em: https://doi.org/10.1111/imm.12075

30. Du Y, Gao Y, Hu M. et al. Colonization and development of the gut microbiome in calves. *Journal of Animal Science Biotechnology* [internet]. 2023[citado 2025 jan 8]; 14;46. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s40104-023-00856-x

31. Spickler AR; Roth JA. Adjuvants in Veterinary Vaccines: Modes of Action and Adverse Effects. Journal of Veterinary Internal Medicine, [internet]. 2003 [citado 2025 jan 8]; 17: 273-281. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02448.x

32. Yao Y, Zhang Z, Yang Z. The combination of vaccines and adjuvants to prevent the occurrence of high incidence of infectious diseases in bovine. Frontiers Veterinary Science [internet]. 2023[citado 2025 jan 8]; 11; 10:1243835. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1243835