

## ATUAÇÃO DO LIPOPOLISSACARÍDEO SOBRE OS NÍVEIS DE GLICOSE, LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE E COLESTEROL EM BOVINOS

ANDRESSA STEIN MAFFI<sup>1</sup>; JOAO ALVEIRO ALVARADO RINCÓN, ANTONIO DO AMARAL BARBOSA, JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ, JOANA PIAGETTI, CASSIO CASSAL BRAUNER

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [-andressamaffi@gmail.com](mailto:-andressamaffi@gmail.com) 1

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – [nupeec@gmail.com](mailto:nupeec@gmail.com)

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas – [cassiocb@gmail.com](mailto:cassiocb@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O período de transição em vacas leiteiras caracteriza-se pela ocorrência de 75% das enfermidades (LEBLANC *et al.*, 2006). Destacam-se nesse período as seguintes enfermidades: mastite, metrite, endometrite e acidose ruminal (OWENS *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2004; HUZZEY *et al.*, 2007). Já na bovinocultura de corte, em sistemas confinados, os quadros de pneumonia e de acidose ruminal são os de maior relevância (OLIVEIRA; MILLEN, 2014). Essas enfermidades de caráter infeccioso e nutricional possuem em sua etiologia o envolvimento de bactérias gram-negativas, as quais caracterizam-se por possuir uma camada composta pelo lipopolissacarídeo (LPS).

O LPS, possui a capacidade de migrar do local onde é liberado para a corrente circulatória e desencadear alterações inflamatórias e metabólicas a nível sistêmico (WALDRON *et al.*, 2003). Na corrente circulatória, células imunes reconhecem a molécula de LPS através do receptor *Toll Like Receptor 4* (TLR4) e iniciam a resposta inflamatória, produzindo citocinas como a Interleucina 6 (IL6), Interleucina 8 (IL8) e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF $\alpha$ ) (WALDRON *et al.*, 2003; LECCHI *et al.*, 2009; MORESCO *et al.*, 2011). Essas interleucinas por sua vez atuam a nível hipotalâmico causando febre, a nível hepático estimulando a produção de proteínas de fase aguda e modificam o metabolismo energético (DANTZER, 2001, KELLEY, 2003). Neste sentido infecções com LPS podem desencadear alteração nos níveis de triglicerídeos e colesterol (FARSHTCH; LEWIS 1968, CABANA *et al.*, 1989, FEINGOLD *et al.*, 1993)

Um dos primeiros mecanismos que o organismo produz com o intuito de combater uma infecção é a elevação na temperatura. No entanto, a manutenção de uma resposta febril é extremamente onerosa energeticamente. De modo que o aumento de 1°C aumenta de 10 a 13% o gasto energético com o metabolismo basal do animal (CARROL; FORSBERG, 2007). Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis de glicose, lipoproteína de alta densidade (HDL) e colesterol em animais desafiados com LPS.

### 2. METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, sob o número 9364. O experimento foi realizado em uma fazenda comercial, no município de São Lourenço do Sul, RS. Foram acompanhadas 16 novilhas de corte, de raça Aberdeen Angus, saudáveis, com idade média de 14 meses, manejadas em um sistema de confinamento. A alimentação dos animais consistiu em uma dieta total misturada a base de silagem de milho, milho moído e suplemento mineral em uma proporção de 60% de volumoso e 40% de concentrado, sendo ofertada duas vezes ao dia (7:00hs e

17:00hs) e água à vontade. Os animais foram distribuídos uniformemente em dois grupos, a partir do peso corporal: o grupo LPS (n=8) recebeu 2 aplicações contendo 0,5 µg/kg de peso corporal de LPS (Sigma Aldrich®, Saint Louis, Missouri, EUA) diluídas em 2 mL de solução salina (0,9% de NaCl) via intravenosa (i.v.), com intervalo de 24 horas; o grupo controle (n=8) recebeu 2 aplicações de 2 mL de solução salina (0,9% de NaCl) via i.v., com o mesmo intervalo. A escolha da utilização de 0,5 µg/Kg de peso vivo baseou-se em um estudo piloto e na metodologia utilizada por WALDRON et al (2003) o qual demonstrou que essa dose foi capaz de desencadear uma resposta inflamatória nos animais expostos. Foi realizada coleta de sangue através do complexo arteriovenoso da coccígea em tubo sem anticoagulante para avaliação dos níveis de glicose, HDL e colesterol. As coletas foram realizadas nas seguintes horas: 0 (anterior ao desafio), 4, 8, 24, 28, 32 e 48 em relação a primeiro desafio (hora 0).

O acompanhamento da temperatura corporal foi realizado através de termômetros digitais, data logger (Ibutton®, Thermochron, Whitewater, USA), implantados via intravaginal, desde a hora 0 até 12 horas após o segundo desafio com LPS. A mensuração da temperatura foi realizada com intervalos de 30 minutos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro desafio os animais do grupo LPS apresentaram temperatura média de 39,6°C enquanto o grupo controle apresentou temperatura de 39,2°C (P=0,05). Os animais do grupo LPS apresentaram temperatura acima dos valores fisiológicos (38,5-39,5°C) da 1 às 4,5 horas com pico na hora 1 (P>0,05). No segundo desafio com LPS não foi observado diferença entre os grupos, sendo de 39,1°C no grupo LPS e de 39,3°C no grupo controle (P=0,09). No entanto, foi observado uma elevação aguda na temperatura na segunda hora após o desafio, com retorno trinta minutos após (P<0,05) O aumento de temperatura no grupo desafiado com LPS caracteriza um estado febril (FEITOSA; 2014), indicando ocorrência de resposta sistêmica.

Apesar da alteração da temperatura corporal, a glicemia não foi alterada pelo desafio com LPS ao longo de todo o período (Grupo LPS: 84,08±4,11 mg/dL; Grupo controle: 88,10±4,74 mg/dL; P=0,53), assim como entre os momentos. De forma semelhante, HORST et al., (2019) ao realizarem a exposição constante e exponencial de animais ao LPS ao longo de 8 dias, também não observaram alterações nos níveis de glicose. No entanto, ocorreu uma elevação de 140% nos níveis de insulina no grupo desafiado, indicando uma resistência periférica. Os autores defendem que esse quadro de hiperinsulinemia é uma via para a maior captação da glicose por leucócitos e melhorara da função dessas células durante a imunoativação. Isto ocorre porque as células imunológicas são sensíveis à insulina e requerem grandes quantidades de glicose (HELDERMAN, 1984; CALDER et al., 2007; MARATOU et al., 2007). Em nosso estudo ambos os grupos apresentaram concentrações acima dos limites fisiológicos (45-75 ng/dL). Uma das vias mediadoras do aumento da glicose sérica, é através do cortisol, que por sua vez pode ser estimulado pela presença de LPS. Entretanto, como não houve diferença nos níveis de glicose entre grupo, sugere-se que esse parâmetro pode ter sido influenciado pelo manejo ao qual os animais foram submetidos durante o experimento, o que desencadeou a liberação de cortisol, não estando associado ao desafio com LPS.

O metabolismo lipídico por sua vez foi alterado pela exposição, com a redução de colesterol 8 horas após o primeiro desafio (Grupo LPS: 68±4,18

mg/dL; Grupo Controle:  $93,14 \pm 4,47$  mg/dL;  $P=0,00003$ ), posteriormente ao período que os animais apresentaram elevação da temperatura. Acredita-se que essa redução se deu em função da quebra dessa molécula (TIETGE et al., 2000) para a formação de fosfolipase A2, a qual encontra-se elevada durante o processo inflamatório (NEVALAINEN, 1993). Um efeito semelhante foi observado por AMETAJ et al., 2009 onde a elevação na oferta de alimento concentrado durante 10 dias, a fim de promover acidose, desencadeou uma redução nos níveis de colesterol. Apesar da alteração nos níveis de colesterol, as concentrações de HDL, não foram afetadas pelo desafio (Grupo LPS:  $45,85 \pm 3,91$  mg/dL Grupo Controle:  $46,12 \pm 4,13$  mg/dL;  $P=0,96$ ). Diferente do observado em nosso estudo, CAMPOS et al., 2017, observou uma redução nos níveis dessa molécula 6 horas após o desafio com LPS, no entanto a dose utilizada foi superior ao de nosso estudo.

#### 4. CONCLUSÕES

Animais desafiados com LPS tem elevação na temperatura corporal, alterando os níveis de colesterol 4 horas após o desafio, no entanto sem que ocorra modificações nos níveis de glicose e HDL.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMETAJ, B., KOENIG, K., DUNN, S., YANG, W., ZEBELI, Q., BEAUCHEMIN, K. Backgrounding and finishing diets are associated with inflammatory responses in feedlot steers. **J. Anim. Sci.** v. 87, p.1314-1320, 2009.
- and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal** CABANA, V. G., SIEGEL J. N., SABESIN, S. M. Effect of the acute phase response on the concentration and density distribution of plasma lipids and apolipoproteins. **J. Lipid Res.** v.30, p. 39-49, 1989.
- CALDER, P. C., DIMITRIADIS, G., NEWSHOLME, P. Glucose metabolism in lymphoid and inflammatory cells and tissues. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v.10, p.531-540, 2007.
- CAMPOS, F. T., RINCON, J. A. A., ACOSTA, D. A. V., SILVEIRA, P. A. S., PRADIE, J., CORRÊA, M. N., GASPERIN, B. G., PFEIFER, L. F. M., BARROS, C. C., PEGORARO, L. M. C., SCHNEIDER, A. The acute effect of intravenous lipopolysaccharide injection on sérum and intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle. **Theriogenology**, v. 89, p. 244- 249, 2017.
- CARROLL, J. A., FORSBERG, N. E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice.** v. 23, p. 105- 149, 2007.
- DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behavior: Mechanisms and implications. **Ann New York acad. Sci.** v. 933, p. 222-234, 2001.
- FARSHTCH, D., LEWIS, V. J. Effects of three bacterial infections on serum lipids of rabbits. **J Bacteriol.** v.95, p.1615-1621, 1968.
- Feed Science and Technology.**v.197, p. 64-75, 2014.
- FEINGOLD, K. R., HARDARDOTTIR, I., RIAZ, M., KRUL, E. J. T., FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico.** Rio de Janeiro: Elsevier, 3º edição. 2014.
- HELDERMAN, J. H. Acute regulation of human lymphocyte insulin receptors. Analysis by the glucose clamp. **J. Clin. Invest.** v. 74, p.1428-1435, 1984.

- HUZZEY, J. M., VEIRA, D. M., WEARY, D. M. M., VON KEYSERLINGK A. G. Prepartum Behavior and Dry Matter Intake Identify Dairy Cows at Risk for Metritis. **J. Dairy Sci.** v. 90, p. 3220-3233, 2007.
- KELLEY, K. W., BLUTHE, R., DANTZER, R., ZHOOU, J., SHEN, W., JOHNSON, R. W., BROUSSARD, S. R. Cytokine-induced sickness behavior. **Brain, Behavior and Immunity.** v.17, p. S112-S118, 2003.
- LEBLANC, S., LISSEMORE, K., KELTON, D., DUFFIELD, T., LESLIE, K. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **J. Dairy Science**, v.89, p.267-1279, 2006.
- LECCHI, C., AVALLONE, G., GIUROVICH, M., ROCCABIANCA, P., CECILIANI, F. Extra hepatic expression of the acute phase protein alpha 1-acid glycoprotein in normal bovine tissues. **The Veterinary Journal**, v. 180, p. 256-258, 2009.
- MARATOU, E., DIMITRIADIS, G., KOLLIAS A., BOUTATI, E., LAMBADIAR, V., MITROU, P., RAPTISS, A. Glucose transporter expression on the plasma membrane of resting and activated white blood cells. **Eur. J. Clin. Invest.**, v.37, p. 282-290, 2007.
- MASER, A. H., TAYLOR, J. M., GRUNFELD, C. Effect of endotoxin on cholesterol biosynthesis and distribution in serum lipoproteins in Syrian hamsters. **Journal of Lipid Research.** v. 34, p.2147-2158, 1993.
- MORESCO, E. M., LAVINE, D., BEUTLER, B. Toll-like receptors. **Curr Biol**, v. 21, p. 488-493, 2011.
- NEVALAINEN T. J. Serum phospholipases A2 in inflammatory diseases. **Clin Chem.** Local de Edição, v.39, p.2453-2459, 1993.
- OLIVEIRA, C. A., MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations
- OWENS, N., SECRIST, D. S., HILL, W. J., GILL, D. R. Acidosis in cattle: a review. **J. Anim. Sci.**, v. 76, p. 275-286, 1998.
- SANTOS, J. E. P., CERRI, R. L. A., BALLOU, M. A., HIGGINBOTHAM, G. E., KIRK, J. H. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. **Animal Reproduction Science.** v. 80, p. 31-45, 2004.
- TIETGE, U. J., MAUGEAIS, C., CAIN, W., GRASS, D., GLICK, J. M., BEER, F. C. Overexpression of secretory phospholipase A (2) causes rapid catabolism and altered tissue uptake of high density lipoprotein cholesteryl ester and apolipoprotein A-I. **J Biol Chem.** v.275, p.10077-10084, 2000.
- WALDRON, M. R.; NISHIDA, T., NONNECKE, B. J., OVERTON, R. Effect of lipopolysaccharide on indices of peripheral and hepatic metabolism in lactating cows. **J Dairy Sci**, v. 86, p. 3447-3459, 2003.