

## MARCADORES HEPÁTICOS EM BOVINOS DESAFIADOS COM LIPOPOLISSACARÍDEOS

MURILO SCALCON NICOLA<sup>1</sup>; LETÍCIA ALVES MARTINS DUARTE<sup>1</sup>;  
ANDRESSA STEIN MAFFI<sup>1</sup>, JOAO ALVEIRO ALVARADO RINCÓN<sup>1</sup>, ANTONIO  
AMARAL BARBOSA<sup>1</sup>, CÁSSIO CASSAL BRAUNER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) – [muriloscalconnicola@hotmail.com](mailto:muriloscalconnicola@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas, Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) – [cassiocb@gmail.com](mailto:cassiocb@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

Em bovinos leiteiros, as doenças do trato reprodutivo, sistema digestório e da glândula mamária, estão entre as principais causadoras de prejuízos dentro dos sistemas produtivos (ACOSTA et al., 2015). O período de maior ocorrência destas enfermidades se dá no peri-parto, momento em que os animais são expostos a diversos desafios, sendo que aproximadamente 75% das enfermidades em vacas leiteiras ocorrem no primeiro mês após o parto (LEBLANC et al., 2006).

De acordo com MCGAVIN; ZACHARY (2009) doenças infecciosas como mastite, metrite e endometrite são causadas por bactérias, algumas delas gram-negativas. Quando este tipo de bactérias morre ou se multiplica liberam endotoxinas denominadas Lipopolissacarídeos (LPS). Além disso, doenças de âmbito nutricional como a acidose ruminal, também faz com que essas endotoxinas sejam liberadas (SCHAUMBERGER; REISINGER, 2014). O LPS faz parte da composição de bactérias gram negativas, sendo encontrado na membrana celular externa (TUIN et al., 2006). Este, por sua vez, é composto por polissacarídeos principais, uma cadeia lateral e o lipídeo A, tendo este último, um alto nível de toxicidade (ANDERSEN, 2003).

Ao ingressar na corrente circulatória, essa endotoxina desencadeia uma resposta sistêmica, até ser eliminada do organismo. Segundo GUYTON (1997), uma das funções do fígado é capturar, metabolizar e excretar através da bile, toxinas como o LPS, porém se este estiver em concentrações elevadas, pode gerar lesões hepáticas, alterando, a nível sérico, alguns marcadores, como as enzimas fostatase alcalina (FA), aspartato transaminase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e a proteína de fase aguda negativa albumina (THRALL, 2015). Deste modo, o objetivo desse estudo foi avaliar parâmetros hepáticos em bovinos desafiados com duas doses de 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.

As novilhas foram distribuídas 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. Foi realizada coleta de sangue através do complexo arteriovenoso da coccígea em tubos sem anticoagulante para mensuração de ALT, AST, FA e albumina. As coletas foram realizadas às 0, 4, 8, 24, 28, 32 e 48 horas, em relação ao primeiro desafio (hora 0). As análises foram feitas através de kits comerciais (Labtest Diagnóstica®, Minas Gerais, Brazil) com auxílio do equipamento Labmax Plenno (Labtest Diagnóstica®). Além disso, foi aferida a temperatura corporal dos animais nas horas 0, 4, 24 e 28, utilizando termômetro retal digital.

Todos os dados foram analisados no programa NCSS 2004 e PASS 2005 (NCSS e PASS. Number Cruncher Statistical Systems. Kaysville, Utah), através de ANOVA de medidas repetidas, em um desenho randomizado, considerando o efeito do grupo (Controle e LPS) do momento (0, 4, 8, 24, 28, 32 e 48 horas) e o aleatório (do animal). Foram considerados significativos valores de  $P \leq 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

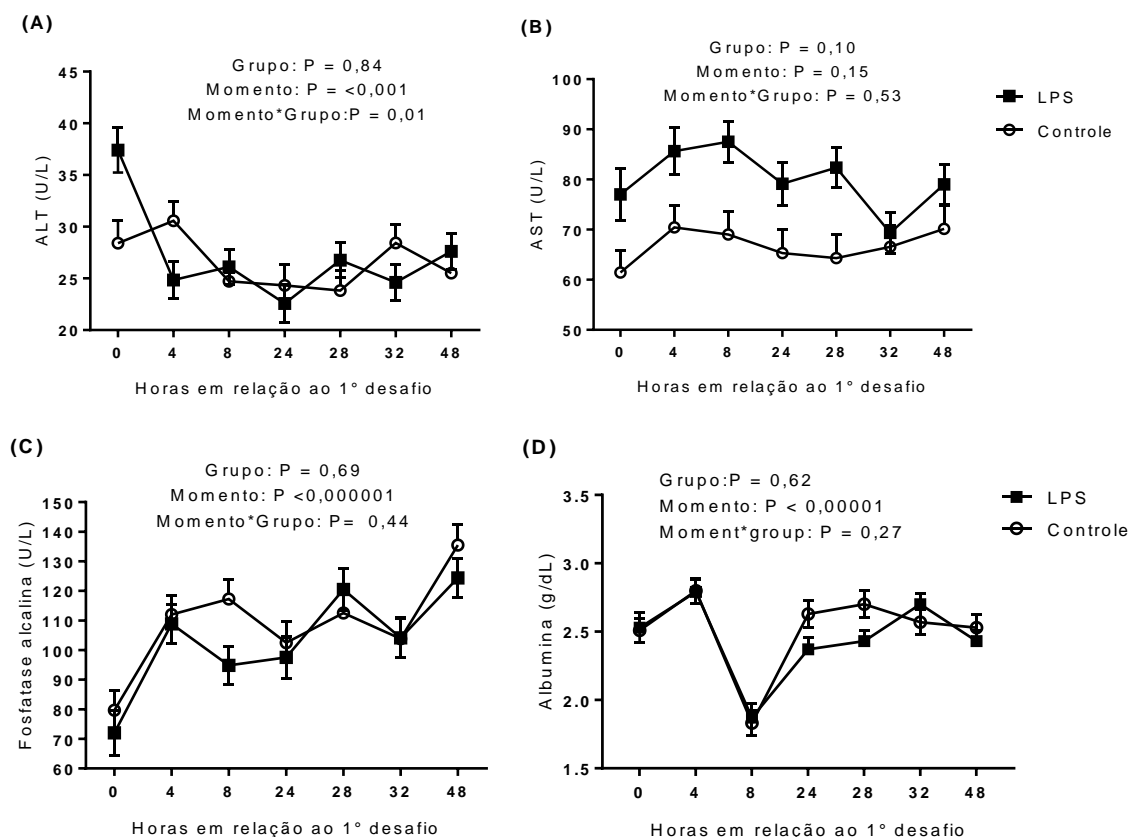
A temperatura corporal do grupo controle esteve dentro do fisiológico durante todo o experimento (38,8 à 39,2°C), já as novilhas desafiadas com LPS, apresentaram aumento de temperatura 4 horas após cada desafio (>39,6°C), caracterizando o estado febril (FEITOSA, 2014). Isto indica que as doses de LPS utilizadas foram suficientes para desencadear uma resposta sistêmica, suportada pelo aparecimento de febre (ZEBELI et al., 2003). Apesar disso, o desafio com duas doses de LPS não afetou os níveis séricos de ALT, AST, fosfatase alcalina e albumina ( $P > 0,05$ ; Figura 1).

Durante o período avaliado, os valores de ALT foram de 22,5 à 37,5 U/L (Figura 1A), de AST de 61,4 à 87,5 U/L (Figura 1B), fosfatase alcalina de 72,0 à 135,5 U/L (Figura 1C) e albumina de 1,8 à 2,8 g/dL (Figura 1D). De acordo com LacVet (2018) os valores de ALT, AST e FA encontram-se dentro dos valores fisiológicos normais em bovinos, que são de <38 U/L, <132 U/L e <196 U/L, respectivamente. Entretanto, a concentração sérica de albumina foi inferior aos níveis fisiológicos durante quase todo o experimento, porém, isto aconteceu em ambos os grupos, não estando associado ao desafio com LPS.

AST, ALT e fosfatase alcalina são parâmetros reconhecidos como marcadores confiáveis de lesão e inflamação hepática em bovinos (POELSTRA, 1997; THRALL et al, 2015). De modo geral, o aumento nos níveis séricos destes parâmetros tem sido associado à necrose de hepatócitos e à liberação dos conteúdos citoplasmáticos e mitocondriais para o sangue (PAPPAS, 1986; HOFFMANN et al., 1989). Como não foram observadas alterações nesses parâmetros, infere-se que a dose e intervalos de aplicação do LPS utilizados, apesar de ter gerado uma resposta sistêmica, não foram suficientes para causar lesão severa no fígado. Isto provavelmente, pelo curto período de exposição à toxina.

A FA tem função importante na prevenção da intoxicação causada por endotoxinas, pois possui a capacidade de desfosforilar o LPS, atenuando assim a toxicidade desta molécula (POELSTRA, 1997). Além disso, um estudo realizado em ratos mostrou aumento nos níveis de FA nos animais desafiados com LPS. Dessa forma, esperava-se que esta enzima estivesse aumentada no grupo

desafiado com LPS. Entretanto isso não ocorreu, provavelmente devido à dose e período de exposição.



**Figura 1:** Níveis séricos de ALT (A); AST (B); Fosfatase alcalina (C) e Albumina (D), em novilhas de corte desafiadas com LPS.

A manutenção dos níveis de albumina, também indica não ter havido lesão severa, visto que essa é uma proteína produzida pelo fígado, e quando esse passa por uma agressão, encontra-se reduzida. Observamos uma queda na hora 8, entretanto isto aconteceu em ambos os grupos, provavelmente por conta de um estresse causado pelo manejo (ECKERSALL, 2010). O estresse desencadeia uma liberação de grandes quantidades do hormônio cortisol na circulação (APPLE et al, 1995), este por sua vez, tem um importante papel catabólico, estimulando o fígado a transformar proteína em glicose (ELSASSER et al. 2000), isto pode explicar a queda acentuada em ambos os grupos das concentrações plasmáticas de albumina.

#### 4. CONCLUSÕES

O desafio com duas doses de LPS, com intervalos de 24 horas, não alterou as concentrações séricas dos marcadores hepáticos ALT, AST, Fosfatase Alcalina e Albumina.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, D.A.V.; MAFFI, A.S.; ROSSI, M.; SCHIMITT, E.; SCHNEIDER, A.; SCHWEGLER, E.; RABASSA, V. R.; DEL PINO, F. A. B.; CORRÊA, M. N. Alterações clínicas em bovinos leiteiros no Estado do Rio Grande do Sul. **Revista SODEBRAS** – Vol. 10. Nº 118, Outubro de 2015.

ANDERSEN, P.H. Bovine endotoxemia: Some aspects of relevance to production diseases. **Acta Vet. Scand.** 98, 141–155, 2003.

APPLE, J. K.; DIKEMAN, M. E.; MINTON, J. E.; McMURPHY, R. M.; FEDDE, M. R.; LEIGHT, D. E. Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and incidence of dark-cutting longissimus muscle of sheep. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2295–2307, 1995.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, London, v. 185, n. 1, p. 23-27, 2010.

ELSASSER, T. H.; KLASING, K. C.; FILIPOV, N.; THOMPSON, F. The metabolic consequences of stress: Targets for stress and priorities of nutrient use. In: MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. **The biological of animal stress: Basics principles and implications for animal welfare**. New York, USA, 2000, p. 377

FEITOSA, F.L.L. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. Rio de Janeiro: Elsevier, 3ª edição, c.2, 34-45, 2014.

GUYTON Arthur C., **Tratado de Fisiologia Médica**, M, 9 ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, c. 70, p. 672, 1997.

LEBLANC, S.J.; LISSEMORE, K.D.; KELTON, D.F.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Dairy Science** 89, 1267–1279, 2006.

LACVET. UFRGS. **Intervalos de referência**. Porto Alegre, 2018. Acessado em 11 set. 2019. Online. Disponível em <https://www.ufrgs.br/lacvet/servicos/tabela-de-referencias>

MCGAVIN M.D. & ZACHARY J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4ª ed. Mosby Elsevier. Rio de Janeiro. P. 89-125, 2009

POELSTRA, K; BAKKER, W.W.; KLOK, P.A.; KAMPS, J.A.; HARDONK, M.J.; MEIJER, D.K. Dephosphorylation of endotoxin by alkaline phosphatase in vivo. **Am J Pathol** 151: 1163–1169, 1997.

SCHAUMBERGER, S.; REISINGER, N. Endotoxins in cows An underestimated risk? **Science & Solutions**. Áustria, Vol. 45, 09. p. 2-5, 2014.

THRALL M.A. et. al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**, 2ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 349 a 360, 2015.

TUIN, A. et al. On the role and fate of LPS-dephosphorylating activity in the rat liver. **American Journal of Physiology**, v. 290, no. 2, p. G377-G385, 2006.

ZEBELI, Q.; SIVARAMAN, S.; DUNN, S.M.; AMETAJ, B.N. Intermittently-induced endotoxaemia has no effect on post-challenge plasma metabolites, but increases body temperature and cortisol concentrations in periparturient dairy cows. **Res Vet Sci**, v. 95, n. 3, p. 1155-62, 2013.