

## **EFEITOS DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA BOVINA EM MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE BEM-ESTAR DE NOVILHAS DA RAÇA HOLANDESA NO PERIPARTO**

**TEREZA CAXIAS DE OLIVEIRA<sup>1</sup>; WESLEY SILVA DA ROSA<sup>2</sup>; MILENE LOPES DOS SANTOS<sup>2</sup>; MARIA CAROLINA NARVAL DE ARAÚJO<sup>2</sup>; THAÍS CASARIN DA SILVA<sup>2</sup>; MARCIO NUNES CORRÊA<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas 1 – caxiasoliveira31@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – nupeec@gmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – marcio.nunescorrea@gmail.com*

### **1. INTRODUÇÃO**

No período de transição, as novilhas leiteiras passam por grandes mudanças fisiológicas e nutricionais, que levam ao estresse e outras alterações metabólicas que afetam a sua produtividade, saúde e bem-estar (HAVENKES et al., 2020),, além de enfrentar um período de adaptação intenso, devido as mudanças de manejo, dieta, primeira lactação e separação do bezerro resultando em estresse. Isso pode levar a complicações de saúde, como mastite e metrite, afetando o bem-estar e a produção de leite, além de aumentar os níveis de cortisol (WRZECIŃSKA et al., 2021). O cortisol possui várias funções, dentre elas, propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras (ROSA, 2016).

O status inflamatório no pré-parto e pós-parto recente é um dos desafios mais marcantes para vacas leiteiras de alta produção, pois apresentam alta produção de citocinas e marcadores pró-inflamatórios (CONTRERAS et al., 2012). Sendo assim, avaliação de proteínas de fase aguda (PFA) positivas e negativas podem indicar se há um processo inflamatório por alteração de seus níveis. Dentre elas, a mieloperoxidase (MPO) é uma enzima encontrada em neutrófilos jovens, tendo seus níveis aumentados quando há produção de células imunes (KOCH et al., 2021). Já a Paraoxanase-1 (PON-1) tem seus níveis diminuídos quando há um processo inflamatório (FREIRE, 2020). Além desses marcadores, a Substância P é um metabólito indicativo de dor, sendo sua avaliação, juntamente com o cortisol, utilizada para avaliar bem-estar em bovinos (LIMA et al., 2015).

Sabe-se que o feromônio apaziguador bovino, produzido pelas vacas no momento do parto, possui a finalidade de promover bem-estar aos animais e regular sua homeostase (CAPPELLOZZA et al., 2020; HERVET et al., 2021). Com isso, a substância apaziguadora bovina (SAB) é um feromônio sintético análogo ao secretado pela vaca que auxilia a aumentar a produção de leite, diminuir o cortisol e aumentar a resposta imune a doenças inflamatórias (OSELLA et al., 2018). Considerando os eventos estressores envolvidos no período de transição e seus efeitos no status inflamatório, assim como os escassos estudos avaliando a SAB em bovinos leiteiros, o objetivo deste estudo foi avaliar os marcadores inflamatórios e de bem-estar em novilhas que receberam a substância apaziguadora bovina durante o período de transição.

### **2. METODOLOGIA**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, da Universidade Federal de Pelotas sob o número 044683/2022-89. O estudo foi conduzido em uma propriedade comercial localizada no sul do estado do Rio Grande do Sul (32°, 16'S, 52 67' 32' E). As novilhas foram mantidas em sistema confinado do tipo *compost barn*, recebendo alimentação na forma de dieta totalmente misturada (TMR), fornecida em alimentadores eletrônicos (Cochão eletrônico AF 1000, Intergado®, Betim, Minas Gerais, Brasil) em dois tratos diários

e ordenhadas em ordenha espinha de peixe três vezes ao dia (DeLaval, Tumba, Botkyrka, Suécia).

Foram acompanhadas 24 novilhas nulíparas da raça Holandês, entre os 27 dias antes da data estimada para o parto e 21 dias pós-parto. Os animais foram distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado, em dois grupos: Controle (n=12) e SAB (SecureCattle®, Nutricorp®, Araras, São Paulo, Brasil; n=12). Os animais do grupo SAB receberam administração da substância na dose de 5 mL/animal via tópica na nuca aos 27 e 14 dias antes da previsão de parto e no dia do parto. Ao longo de todo o experimento, os grupos permaneceram com distanciamento de no mínimo 50 metros para evitar o contato físico devido à característica volátil do produto.

Foram coletadas amostras de sangue por punção do complexo arteriovenoso coccígeo nos dias 28 e 14 da data estimada do parto, dia do parto, 7, 14, e 21 dias pós-parto. Foram realizadas análises de PON-1 através de espectrofotometria, de acordo com protocolo previamente descrito por Browne et al. (2007). As análises de cortisol sanguíneo foram realizadas no analisador de imunoensaio (Access 2, Beckman Coulter®, Brea, Califórnia, Estados Unidos), enquanto Mieloperoxidase e Substância P foram analisadas por kit ELIZA.

As análises estatísticas foram conduzidas através do software JMP Pro 14. As variáveis dependentes foram analisadas por um modelo de ANOVA mista, através do procedimento PROC MIXED. A comparação de médias entre os grupos foi realizada pelo teste de Tukey. O nível de significância admitido foi de  $P \leq 0,05$ . Tendências foram determinadas se  $P > 0,05$  e  $P \leq 0,10$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de PON-1 foram significativamente menores no grupo tratado com SAB em comparação com o grupo Controle ( $p < 0,01$ ). Para os demais parâmetros analisados não foram encontradas diferenças entre os grupos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1:** Marcadores inflamatórios e de bem-estar analisados em novilhas leiteiras que receberam a aplicação de substância apaziguadora bovina (SAB) no periparto.

	Grupos		Valores de P		
	Controle	SAB	Grupo	Dia	Grupo*Dia
<b>Pré-parto</b>					
Paraoxonase-1	105,21±3,54	85,40±3,54	<0,01	<0,01	<0,01
Substância P	60,36±12,37	75,36±9,58	0,37	0,99	0,99
Mieloperoxidase	3,43±0,30	2,90±0,30	0,25	0,99	0,99
<b>Pós-parto</b>					
Cortisol	23,61±1,54	20,97±1,57	0,23	<0,01	0,76
Paraoxonase-1	78,12±2,15	73,56±2,06	0,13	<0,01	0,39
Substância P	71,63±20,43	64,59±15,82	0,79	0,89	0,69
Mieloperoxidase	3,27±0,16	2,91±0,17	0,12	0,76	0,81

Cortisol: ng/mL; Paraoxonase 1: U/mL; Mieloperoxidase: ng/mL;

Substância P: pg/mL.

Esperava-se que o uso da SAB diminuisse os níveis cortisol dos animais, porém isso não ocorreu, provavelmente, pelo fato de serem novilhas e por terem passado por diversos fatores estressantes e novos, como primeiro parto, primeira vez na ordenha, separação do bezerro entre outros. COOKE et al. (2019) também não detectaram efeito da SAB em reduzir as concentrações de cortisol, assim como SCHUBACH et al. (2020), durante seu estudo com bezerros ao desmame. As concentrações de cortisol sanguíneo têm sido amplamente utilizadas para avaliar

estresse em bovinos (CARROLL; FORSBERG, 2007), no entanto, os resultados podem ser influenciados pelo estresse da coleta (SCHUBACH et al., 2020).

Além disso, acreditava-se que os níveis da substância P diminuiriam nos animais tratados com a SAB, considerando seus efeitos em melhorar o bem-estar (COOKE et al., 2019), todavia, deve-se considerar que o parto é um processo fisiológico onde o animal demanda dor para expulsão do feto, sendo assim, pode justificar porquê os níveis desse marcador continuaram elevados em ambos os grupos (MELLO, 2023).

Em relação a PON-1, a diminuição no grupo SAB demonstra que houve um processo inflamatório (FREIRE, 2020). Entretanto, não houve diferença nos níveis de MPO, o que pode indicar que não houve infecção (MELLO, 2023). Era esperado que o grupo SAB apresentasse menores níveis de MPO, indicando menor risco de afecções, de acordo com Biswal (2022). Contudo, os resultados de MPO podem ter sido afetados pelos níveis de cortisol, considerando as propriedades imunossupressoras desse hormônio (ROSA, 2016).

Com isso, apesar na redução dos níveis de PON-1, a SAB demonstrou não alterar os metabólitos inflamatórios e de bem-estar das novilhas leiteiras no período de transição. Contudo, os resultados evidenciaram a complexidade da resposta imunológica e a vulnerabilidade das novilhas, destacando a necessidade de mais pesquisas sobre estresse e saúde animal.

#### 4. CONCLUSÕES

A substância apaziguadora bovina reduziu os níveis de paraoxonase-1 em novilhas leiteiras no período de transição, sem diferença entre os grupos nos níveis de cortisol, Mieloperoxidase e substância P.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BISWAL, P., LATHWAL, SS, BAITHALU, RK, NAG, P., & KUMAR, S. (2022). Total antioxidant capacity, neutrophil profile, in vitro phagocytic activity, myeloperoxidase (MPO) activity and IL-8 status in uterine infected Murrah buffaloes during peripartum period. *Indian J. Anim. Sci*, v. 92, p. 32-37, 2022.
- CAMPOS, F. T.; RINCÓN, J. A. A.; ACOSTA, D. A. V.; SILVEIRA, P. A. S.; PRADIEÉ, 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 serum and intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle. *Theriogenology*, v. 89, p. 244-49, 2017.
- CARROLL, J.A.; FORSBERG, N.E. Influence of Stress and Nutrition on Cattle Immunity. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*, v.23, p.105–149, 2007.
- Coetzee, J. F. (2013). Assessment and management of pain associated with castration in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 29(1), 75–101. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.11.012>.
- CONTRERAS, G. A.; RAPHAEL, W.; MATTMILLER, S. A., GANDY, J.; SORDILLO, L. M. Nonesterified fatty acids modify inflammatory response and eicosanoid biosynthesis in bovine endothelial cells. *Journal of Dairy Science*, v. 95, n.9. p. 5011-23, 2012.
- COOKE, R.F., MILLCAN, A., BRANDÃO, A.P., SCHUMAHER, T.F., DE SOUSA, O.A., CASTRO, T., FARIA, R.S., CAPPELLOZZA, B. I., 2019. Short communication: Administering an appeasing substance to Bos indicus-influenced beef cattle at weaning and feedlot entry. *Animal* 22, 1–4. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002490>

- FREIRE, R. M. S. **Estudo de ésteres de derivados do ácido benzóico com álcoois de cadeia longa como pró-fármacos destinados ao tratamento da tuberculose.** <http://hdl.handle.net/10451/45411>. Tese de mestrado, Química (Química) Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, 2020.
- HAVEKES, C. D.; DUFFIELD, T. F.; CARPINTERO, A. J.; DEVRIES, T. J. 2020. Efeitos da suplementação de ração líquida à base de melaço em uma dieta de vacas secas ricas em palha sobre a ingestão de ração, saúde e desempenho de vacas leiteiras durante o período de transição. *Journal of dairy science*, v. 103, n. 6, p. 5070-5089, 2020.
- KOCH, M. S.; DREWNOWSKI, B.; BUENO, B. F.; RICKLI, C.; BALZER, E. R.; NOVAK, R. S.; VELLOSA, J. C. R. Aspectos gerais da Mieloperoxidase e seu envolvimento em doenças: uma breve revisão / General aspects of Myeloperoxidase and its involvement in diseases: a brief review. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.7, n.3, p. 28677-28691, mar 2021. DOI:10.34117/bjdv7n3-536.
- LIMA, FS; OIKONOMOU, G; LIMA SF; BICALHO, ML; GANDA, EK; FILHO, JC; LORENZO, G; TROJACANE, P; BICALHOA, RC. Microbiomas do fluido ruminal pré e pós-parto: caracterização e correlação com características de produção em vacas leiteiras. 2015 Feb;81(4):1327-37. doi: 10.1128/AEM.03138-14. PMID: 25501481; PMCID: PMC4309715.
- MELLO, F. M. L. M. R., 2023. Abordagem dos médicos veterinários aos partos distócicos em bovinos, Dissertação de mestrado integrado em medicina veterinária. [<http://hdl.handle.net/10400.5/29741>]. Lisboa: FMV-Universidade de Lisboa. 2023.
- NATEL, A. B. CORRELAÇÃO ENTRE BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO E CETOSE EM BOVINOS LEITEIROS DE ALTA PRODUÇÃO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA. Mostra de Pesquisa e Extensão do Curso de Nutrição-MOPEX, 2023.
- OSELLA, M.C.; COZZI, A.; SPEGIS, C.; TURILLE, G.; BARMAZ, A.; LECUELLE, C.L.; TERUEL, E.; BIENBOIRE-FROSINI, C.; CHABAUD, C.; BOUGRAT, L.; (2018). The effects of a synthetic analogue of the Bovine Appeasing Pheromone on milk yield and composition in Valdostana dairy cows during the move from winter housing to confined lowland pastures. *Journal Dairy Research*, v.85, p.174–177, 2018.
- ROSA, T. G. Influência dos agentes estressores no aumento dos níveis de cortisol plasmático. 2016. Monografia – Bacharelado em Farmácia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Rio Verde (UniRV), 2016.
- SCHUBACH, K.M.; COOKE, R.F.; DAIGLE, C.L.; BRANDÃO, A.P.; RETT, B.; FERREIRA, V.S.M.; SCATOLIN, G.N.; COLOMBO, E.A.; D'SOUZA, G.M.; POHLER, K.G. Administering an appeasing substance to beef calves at weaning to optimize productive and health responses during a 42-d preconditioning program. *Journal of Animal Science*, v.98. p.1–10, 2020.
- SOFLAEI, S. S., BAKTASHIAN, M., MOGHADDAM, K. H., SABERI-KARIMIAN, M., KOSARI, N., HASHEMI, S. M., MOUHEBATI, M., AMINI, M., DEHGHANI, M., ESMAILY, H., EBRAHIMI, M., FALSOLEIMAN, H., NOSRATI-TIRKANI, A., SADABADI, F., FERNS, G. A., SALEHI, M., PASDAR, A., & GHAYOUR-MOBARHAN, M. (2022). Associação do Genótipo e Fenótipo da Paraoxonase-1 com Angiografia Positiva para Doença Arterial Coronariana. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*, 119(4), 593–601. <https://doi.org/10.36660/abc.20210422>.
- WRZECIŃSKA, M.; CZERNIAWSKA-PIĄTKOWSKA, E.; KOWALCZYK, A. The impact of stress and selected environmental factors on cows' reproduction. *Journal of Applied Animal Research*, v. 49, n. 1, p. 318-323, 2021.