

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS LONGITUDINAIS NOS MARCADORES METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS DE VACAS COM E SEM LAMINITE SUBCLÍNICA NO PERIPARTO

ANTONIO AMARAL BARBOSA^{1,2}; GABRIELA BUENO LUZ²; PAULA MONTAGNER²; ELIZABETH SCHWEGLER²; FRANCISCO AUGUSTO BURKERT DEL PINO² CHARLES FERREIRA MARTINS²

¹UFPEL – antoniobarbosa.vet@hotmail.com
Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)
²Universidade Federal de Pelotas – UFPEL
nupeec@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/nupeec

1. INTRODUÇÃO

Afecções podais são a terceira maior causa de prejuízos na pecuária leiteira, estudos indicam um aumento na prevalência de problemas locomotores nas últimos anos de 5,5% em 1977 (RUSSELL et al., 1982) para mais de 80% em 2000 (SOMERS et al., 2003), estimando redução na produção de 300 kg de leite vaca/ano motivado por injúrias podais (GREEN et al., 2002).

A laminite ou pododermatite asséptica é caracterizada pela inflamação difusa das lâminas do casco, sendo responsável por cerca de 70% de todas as lesões que afetam o sistema locomotor em bovinos de leite. Sua forma subclínica, apesar de mais difícil diagnóstico, é a de grande importância, causando numerosos prejuízos (FALCÃO, 2010).

As grandes perdas na produção leiteira causada por afecções podais poderão ser reduzidas se for possível reconhecer-se a tempo e monitorar a evolução de alterações nas respostas adaptativas do casco, ou conseguir-se antecipar e identificar o desenvolvimento de condições patológicas de sinais clínicos associados à laminite. O desencadeamento inicial do processo patológico ligado à estrutura digital em bovinos pode ser precocemente reconhecido através da mensuração de marcadores biológicos que apresentam uma relação específica com os tecidos podais.

Sendo assim, alguns marcadores como NEFA (ácidos graxos não esterificados), glicose e ECC (escore de condição corporal) podem vir a ser de grande relevância no que tange a influência do metabolismo, principalmente energético, na ocorrência de pododermatite asséptica. Já a PON (paraoxanase) e MMP9 são biomarcadores que possuem bastante relação quando se trata de eventos inflamatórios envolvendo laminite.

Este estudo teve por objetivo verificar as mudanças longitudinais nas concentrações dos níveis de NEFA, MMP9, PON, glicose e ECC durante o período de periparto de vacas saudáveis e com laminite subclínica.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira comercial localizada no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Foram utilizadas 17 vacas, múltiparas, da raça Holandês, com três lactações, produção média de 30,67±5,39 litros de leite aos 70 dias em lactação (DEL) e peso vivo de 656,89±92,6 Kg. Os animais foram monitorados do dia -14 pré parto até 23 dias pós-parto. As vacas eram ordenhadas duas vezes ao dia com intervalo de 12 horas e submetidos ao mesmo manejo semi extensivo durante todo período do experimento.

As concentrações de NEFA (Wako Chemicals USA®, Richmond, EUA) foram determinadas através do método colorimétrico em leitor de placa.

A avaliação da MMP9 foi analisada no Mammalian NutriPhysio Genomics Laboratory do Departamento de Ciência Animal da Universidade de Illinois através do método de Elisa (MMP-9 Kit, USA). A atividade da PON foi determinada por técnica enzimática utilizando kit comercial (Zepto Metrix®, EUA).

A mensuração dos níveis glicêmicos foi analisada através método colorimétrico em espectrofotômetro de luz visível (kit glicose PAP, Labtest®, BR)

As avaliações de escore de condição corporal (ECC) foram feitas através de uma escala de 1 a 5, onde 1 = magra e 5 = obesa (WILDMAN, 1982).

A metodologia empregada para o diagnóstico de laminite subclínica, foi o de Ferreira (2003), onde duas ou mais lesões associadas à laminite o animal é categorizada no grupo “VCL” (vacas com laminite) e a ausência ou presença de no máximo uma lesão associada é categorizado no grupo “VSL” (vacas sem laminite), como descrito na tabela 1. Todas as vacas envolvidas no experimento não apresentavam grau de claudicação segundo método de WINCKLER AND WILLEN, 2001, onde 0 = normal e 4 = claudicação grave.

Tabela 1. Categorização utilizada para estabelecer os animais dos grupos com ou sem presença de laminite subclínica segundo Falcão (2010), aonde o grupo VCL deve apresentar duas ou mais lesões especificadas abaixo.

Hemorragia de sola/ linha branca/ da parede do casco/ talão
Úlceras de sola/ pinça
Alargamento/ fissura/ abscesso da linha branca
Abscesso de sola/ talão
Sola macia e amarelada/ dupla
Fenda na muralha/ linhas de estresse
Casco em tesoura/ saca rolha

As análises entre grupos foram comparadas por análises de variância por medidas repetidas usando o MIXED procedure para avaliar o efeito da coleta, grupo e suas interações (LITTELL et al., 1998). Quando a interação entre os grupos e as coletas foi significativa ($P < 0,05$), foram feitas comparações entre pares das médias dos grupos*coletas. O modelo estatístico e as análises dos dados foram feitos separadamente para o pré-parto e pós-parto. Valor de $P < 0,05$ foi considerado significativo e o valor entre 0,05 e $\leq 0,1$ foi considerado uma tendência. A acurácia dos parâmetros para laminite subclínica pré e pós-parto foi calculada usando a estimativa de máxima verossimilhança de uma curva de resposta do operador binormal a partir de dados classificação categórica, (análise ROC).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diferenças entre grupos VCL e VSL foram observadas no dia -3 (NEFA; $p < 0,05$, Figura 1A) e 9 (PON; $p < 0,05$, Figura 1E) em relação ao parto. Fato esse que sugere que os dez dias pré e pós parto seriam o momento de maior atenção durante o período transicional, corroborando com os resultados encontrados por BIONAZ et al. (2007) que cita a importância do NEFA e PON como preditores de laminite durante o periparto, caracterizando a importância que o equilíbrio metabólico, nutricional e inflamatório do organismo exerce sobre a prevalência da laminite.

O periparto de vacas leiteiras é o momento onde a vaca sofre o maior desafio, visto que essa fase é caracterizada por condições inflamatórias e oxidativas (SOSTAR E TURK et al., 2005) que podem ser relacionadas à patogênese da laminite. Durante a inflamação, citocinas pró-inflamatórias como

TNF α e interleucinas são produzidas em altos níveis estimulando o fígado a sintetizar proteínas de fase aguda, como a PON, justificando-se os resultados observados.

Muitos estudos relacionam altos índices de glicemia com a presença de laminite, principalmente em equinos, citando a importância do fluxo contínuo de glicose às lâminas do casco associado à insuficiência sistêmica no dígito e à diminuição da função da enzima GLUT4 no sistema digital, porém em bovinos essa teoria é muito discutida e controversa. No presente trabalho não foi encontrado diferença nas concentrações glicêmicas entre grupos (Figura 1D), fato que talvez possa ser explicado pela glicose não ser um marcador específico para ruminantes, tendo em vista o mecanismo de insulino resistência periférica criado por bovinos visando a maior produção leiteira (MOBASHERI, 2004).

A MMP9 é dependente de cobre e está diretamente relacionado com o aparecimento da pododermatite asséptica, visto que tem como função, em momentos de multiplicação desordenada, a destruição da membrana basal do casco fazendo assim com que esse perca sustentação e venha a apresentar a laminite. Nesse trabalho não foi encontrado diferença significativa entre grupos (Figura 1D), talvez, pelo fato da forma subclínica ainda não ter caracterizado uma disfunção de sustentação do aparelho suspensório do dígito (MULLING, 2002).

BICALHO et al. (2011) cita a relação do ECC com a presença de laminite e espessura de coxins digitais, citando que, vacas com laminite clínica apresentaram ECC e espessura de coxim digital inferior, visto que o coxim é formado por tecido adiposo resultando em redução da concussão do dígito ao solo, predispondo à lesões associadas à laminite. Nesse estudo foi possível detectar redução de ECC para ambos os grupos durante o período transicional (Figura 1B), porém diferença significativa ($p>0,05$) não foi observada.

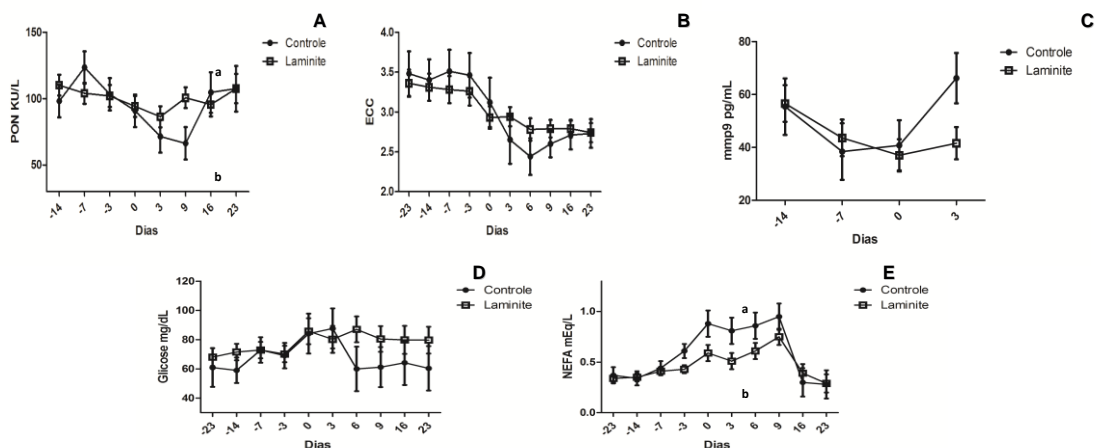


Figura 1. Variação dos níveis dos marcadores nos grupos VCL e VSL durante o período transicional. A. PON; B. ECC; C. MMP9; D. Glicose; E. NEFA.

A estimativa do valor real de cada marcador para laminite subclínica está ilustrada na Tabela 2.

Tabela 2. Percentual de acurácia individual de NEFA, glicose, MMP9, PON e ECC, durante o período de transição.

Marcador	Acurácia	
	Pré parto (%)	Pós parto (%)
NEFA	41,2	49,5
GLICOSE	47,1	42,3
MMP9	29,4	52,9
PON	52,9	58,8

Os melhores resultados de acurácia, quando foram feitas análises dos marcadores em combinação, foram encontrados com NEFA e PON no pré parto (52,9%) e NEFA ECC PON no pós parto (76,5%). Sendo assim, tais valores caracterizam a importância do uso desses marcadores no diagnóstico, possivelmente preventivo, da forma clínica da enfermidade.

4. CONCLUSÕES

Vacas saudáveis e com laminite subclínica não apresentaram diferença nos níveis de NEFA, MMP9, PON, glicose e ECC durante o período de transição.

Os marcadores ECC, PON e NEFA, quando analisados em combinação, mostraram-se mais expressivos no periparto caracterizando a associação de fatores inflamatórios e energéticos na patogênese dessas lesões associadas à laminite subclínica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BICALHO, R. C. Lameness in dairy cattle: a debilitating disease or a disease of debilitated cattle? In: **WESTERN DAIRY MANAGEMENT CONFERENCE**, 10., Reno, 2011,. Anais eletrônicos;
- BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasmaparaoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **J. of Dairy Sci.**, v. 90,p. 1740–1750. 2007;
- FALCÃO, M. F. M. **Lesões na junção derme-epiderme do casco de vacas de aptidão leiteira de descarte com e sem sinais clínicos de laminite**. 2010. 74 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, UFMG;
- FERREIRA, P.M. **Enfermidades podais em rebanho leiteiro confinado**. 2003. 79 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, UFMG;
- LITTELL, R.C.; HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. **J. Ani. Scie**, v.76, p.1216-1231, 1998.
- MOBASHERI, A.; CRITCHLOW, K.; CLEGG, P. D.; CARTER, S. D. AND CANESSA, C. M. Chronic equine laminitis is characterised by loss of GLUT1, GLUT4 and ENaC positive lamellar keratinocytes. **Equ. Vet. J.** v.36, n.3, p. 248-254, 2004;
- MULLING, C. K. W. Theories on the pathogenesis of white line disease: anatomical perspective. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON LAMENESS IN RUMINANTS**, 12., 2002, Orlando. Anais eletrônicos. 2002;
- RUSSELL, A. M.; ROWLAND, G. J.; SHAW, S. R.; WEAVER, A. D. Survey of lameness in British dairy cattle. **Vet. Rec.**, v.111, p.155–160, 1982;
- ŠOSTAR-TURK, S.; SIMONIČ, M.; PETRINIĆ, I. Wastewater treatment after reactive printing. **Dyes and Pigments**, v. 64, n. 2, p. 147-152, 2005;
- SOMERS, J.G.C.J.; FRANKENA, K.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E.N.; METZ; J.H.M.B. Prevalence of claw disorders in Dutch dairy cows exposed to several floor systems. **J. of Dairy Sci.** v.86, p.2082–2093, 2003;
- WILDMAN, E.E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E. AND BOMAN, R. L. A Dairy Cow Body Condition Scoring System and Its Relationship to Selected Production Characteristics. **J. of Dairy Sci.**, v.65, p. 495-501, 1982.