

## **AVALIAÇÃO DE FOSFATASE ALCALINA E CREATININA NO LÍQUIDO AMNIÓTICO DE ÉGUAS COM PLACENTITE**

**ALINE EBELING VIANA<sup>1</sup>; ILUSCA SAMPAIO FINGER<sup>2</sup>; DÉBORA NICARETTA MATTEI<sup>2</sup>, NATANE MIRANDA SARAIVA<sup>2</sup>; CARLOS EDUARDO WAYNE NOGUEIRA<sup>2</sup>; BRUNA DA ROSA CURCIO<sup>3</sup>**

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

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – [ilusca-finger@hotmail.com](mailto:ilusca-finger@hotmail.com) ; [deboramattei@hotmail.com](mailto:deboramattei@hotmail.com) ; [natanesaraiva@hotmail.com](mailto:natanesaraiva@hotmail.com) ; [cewn@terra.com](mailto:cewn@terra.com)

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

### **1. INTRODUÇÃO**

A região sul do Brasil apresenta grande concentração da criação de equinos da raça Puro Sangue Inglês. Por ser um importante segmento econômico torna-se fundamental o reconhecimento dos principais problemas que comprometem esta criação, assim como o desenvolvimento de ferramentas que aumentem a produtividade da atividade. O período gestacional caracteriza um momento crítico, pois qualquer distúrbio ocorrido durante a gestação ou no parto pode resultar no comprometimento da saúde do potro, ocasionando prejuízos aos criadores.

As condições que contribuem para perdas em gestações avançadas incluem agentes infecciosos, anormalidades fetais ou placentárias, anormalidades estruturais e doenças sistêmicas da gestante (MACPHERSON, 2007). Uma das principais causas que ocasionam a perda de gestação está associada à placentite que, em éguas, normalmente ocorre por infecção ascendente via cervical. A placentite ascendente representa mais de 30% dos partos prematuros e mortes neonatais dentro das primeiras 24h de vida (McKINNON, 2009). O diagnóstico desta enfermidade pode ser realizado através da observação do aspecto e da quantidade de secreção vaginal, desenvolvimento de lactação durante a gestação e pela utilização da ultrassonografia (LE BLANC et al, 2004).

Com a avaliação obstétrica da égua durante a gestação e no pós-parto, torna-se possível reconhecer fatores que comprometem a gestação e a viabilidade do feto e do neonato. Na ausência de sinais clínicos precoces de placentite, a análise direta do líquido amniótico apresenta-se como uma forma precisa de diagnóstico de infecção (BOBITT & LEDGER, 1978).

A análise do líquido amniótico é utilizada para compreender o processo bioquímico que envolve a unidade feto-placentária, desta forma é possível avaliar a viabilidade fetal. O líquido amniótico reflete o estado materno fetal tanto por sua composição como pelo seu volume, tendo importância na boa evolução da gestação (DERTKIGIL et al., 2005). Estudos realizados em líquido amniótico de éguas da raça Puro Sangue Inglês demonstraram que as enzimas e eletrólitos presentes no líquido variam de acordo com a idade gestacional (CURCIO et al., 2012) e éguas com placentite clínica apresentam diferença na composição bioquímica do líquido amniótico (FINGER et al., 2012).

O objetivo deste estudo é determinar a utilização da fosfatase alcalina e da creatinina como possíveis marcadores bioquímicos no líquido amniótico de éguas.

## 2. METODOLOGIA

Este estudo foi realizado em um criatório de cavalos da Raça Puro Sangue Inglês, localizado no município de Bagé, latitude 31°34'48.54" e longitude 54°11'06.38".

Foram utilizadas trinta e seis éguas gestantes entre 5 e 21 anos de idade. Os animais tiveram acompanhamento da gestação durante todo o período gestacional, através de ultrassonografia transretal, utilizando transdutor linear de 5MHz.

As éguas foram divididas em dois grupos: o grupo de éguas que apresentou quadro clínico de placentite (n=5), sendo que estas demonstraram desenvolvimento precoce do úbere, lactação precoce, secreção vulvar e presença de placentite supurativa na avaliação histopatológica. E o grupo de éguas sadias (n=31), sem alterações clínicas durante a gestação e sem alterações histopatológicas na placenta. As coletas de líquido amniótico foram realizadas através de seringas de 20mL e agulhas 40x12 estéreis pelo método de amniocentese, através de punção direta da vesícula amniótica, no momento em que a bolsa amniótica foi exposta na primeira fase do parto.

O material foi imediatamente transferido para tubos falcon® de 15 mL e após, congelado e estocado em freezer sob temperatura de - 20°C para posterior avaliação. As amostras foram descongeladas em recipiente contendo água e gelo em ambiente refrigerado com temperatura controlada. Após a descongelação foi realizada uma centrifugação refrigerada a 5°C a 2500rpm durante 20 minutos para a formação do *pellet* de células e separação do excesso de muco. Uma alíquota de 1mL, foi retirada para avaliação da creatinina e fosfatase alcalina (Kits Celm ou Katal) compatíveis com o equipamento FC-280.

Para análise estatística foi realizado o teste Two Sample T test para a comparação das variáveis entre os grupos, sendo considerado nível de significância  $P < 0.05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os partos acompanhados foram eutócicos e os potros nasceram a termo. O tempo de gestação foi em média de  $345.32 \pm 11.47$  dias para o grupo de éguas sadias e  $335.20 \pm 11.47$  dias para o grupo de éguas com placentite ( $P = 0.09$ ).

Os valores de fosfatase alcalina e creatinina de acordo com os grupos de estudo estão listados na Tab. 1.

**Tabela 1** - Média±Desvio Padrão e coeficiente de variação (CV) para os marcadores bioquímicos no líquido amniótico de éguas sadias e éguas com placentite. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos ( $P < 0.05$ ).

Variável	Placentite Clínica		Sadias	
	Média±S.D	CV	Média±S.D	CV
Fosfatase Alcalina (UI/L)	31±5.14 <sup>a</sup>	16.6	30.45±14.91 <sup>b</sup>	49.00
Creatinina (g/dL)	2.88±0.86 <sup>a</sup>	29.81	5.11±3.30 <sup>b</sup>	64.63

A variação na concentração de vários componentes bioquímicos do líquido amniótico pode ter uma relação significativa com a saúde fetal (KOCHHAR, et al., 1997).

A maturidade renal pode ser avaliada através da dosagem de creatinina presente no líquido amniótico coletado no momento do parto (WILLIAMS et al., 1992). O rim fetal é afuncional durante o seu período de formação, porém sua contribuição no final do processo de maturação fetal é importante para a sobrevivência do conceito (LUMBERS et al., 1985). Desta forma, os níveis superiores de creatinina no líquido amniótico das éguas sadias refletem a maturação do sistema urinário de potros neonatos saudáveis. Corroborando com o observado por WILLIAMS et al (1993), em que o aumento na concentração de creatinina no líquido amniótico reflete a maturação do sistema urinário no neonato equino.

O estudo realizado em ovelhas sem alterações gestacionais por PRESTES et al. (2001), comprovou que os valores de creatinina no líquido amniótico aumentaram conforme a evolução da gestação.

A fosfatase alcalina está correlacionada com a maturidade fetal, formação óssea fetal e principalmente, com a função renal (HAHNEMANN, 1974), pode ocorrer um aumento da atividade da enzima devido à maturação avançada do intestino, fígado, ossos e rins fetais, a entrada direta de células descamadas da mucosa intestinal no líquido amniótico ou eventual passagem de matéria fecal durante o processo de nascimento (WILLIAMS et al., 1993).

De acordo com o estudo realizado por KOCHHAR et al., (1997) a concentração de fosfatase alcalina foi significativamente maior no líquido amniótico de éguas que sofreram dificuldade no parto, em comparação as éguas de parto normal. O aumento nos níveis de atividade da enzima pode estar relacionado ao estresse fetal ocorrido durante a gestação das éguas que apresentavam alterações inflamatórias na placenta. Em humanos recém-nascidos, as concentrações anormais de fosfatase alcalina no líquido amniótico estão associadas a doenças renais fetais, aberrações cromossômicas e fibrose cística (WILLIAMS et al., 1993).

#### 4. CONCLUSÕES

Baseado nos dados obtidos neste trabalho conclui-se que a fosfatase alcalina encontra-se elevada e a creatinina reduzida na dosagem no líquido amniótico de éguas com placentite. Sugerindo que podem ser utilizados como marcadores bioquímicos da presença de placentite em éguas a termo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOBITT, J.R.; LEDGER, W.J. Amniotic fluid analysis: its role in maternal neonatal infection. **Obstetrics & Gynecology**, v.51, p.56-62, 1978.

CURCIO, B.R; FINGER, I.S; HAETINGER,C; FEIJÓ, L.S; De VITTA, B; PRESTES,N.C; ALVARENGA, F.L; NOGUEIRA,C.E.W. Avaliação da osmolaridade do líquido amniótico em éguas da raça Puro Sangue Inglês – Dados Preliminares. **Resumos XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**.p.595,2012.

DERTKIGIL, M.S; CECATTI, J.G; CAVALCANTE, S.R; BACIUUK, E.P; BERNARDO, A.L. Líquido Amniótico, atividade física e imersão em água na gestação. **Ver. Bras. Saúde Mater.Infant.** Vol.5, n4,p.403-410, 2005.

FINGER, I.S; HAETINGER,C; FEIJÓ,L.S; De VITTA, B; PRESTES,N.C; NOGUEIRA,C.E.W; CURCIO,B.R. Estudo do líquido amniótico em éguas da raça Puro Sangue Inglês – Dados Preliminares. **Anais XIII Conferência Anual da Abreveq.**p.232,2012.

HAHNEMANN, N., SORENSON, S.A. Studies on alkaline phosphatase in amniotic in fluid. **Acta Obstet. Gynaecol. Scand.**, v.53, p.15-22, 1974.

Kochhar, H.P.S., Simran, P.S., Nanda, A.S., Ripudaman Kaur, Comparative Biochemical indices of fetal fluids in normal foaling and stressful delivery in Indian thoroughbred mares. **Journal of Equine Veterinary.** Vol 17, Number 4, 1997.

LE BLANC M. M., MACPHERSON M., SHEERIN P.: Ascending Placentitis: What We Know About Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. **Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, vol 50, p. 1417-1204, 2004.

LUMBERS, E.R., SMITH, F.G., STEVENS, A.D. Measurement of net transplacental transfer of fluid to the fetal sheep. **J. Physiol.**, v. 364, p.289-99, 1985.

MACPHERSON, M.L. Identification and management of the high-risk pregnant mare. **Proceedings of the American Association of Equine Practice**, v.53, p.293-304, 2007.

McKINNON, A.O. Maintenance of pregnancy. **Proceedings of the Annual Resort Symposium of the American Association of Equine Practitioners**, v.11, p.81-117, 2009.

PRESTES, N.C., CHALHOUB, M.C.L., LOPES, M.D., TAKAHIRA, R.K. Amniocentesis and biochemical evaluation of amniotic fluid in ewes at 70, 100 and 145 days of pregnancy. **Small Rum. Res.**, v.39, p.277-281, 2001.

WILLIAMS, M. A. et al. Amniotic fluid analysis for ante-partum foetal assessment in the horse. **Eq. Vet. J.**, v. 24. n.3, p.236-238, 1992.

WILLIAMS, M. A. et al., Biochemical characteristics of amniotic and allantoic fluid in late gestational mares. **Theriogenology**, v. 40, n. 6, p. 1251-1257, 1993.