

PARAOXONASE COMO PREDITORA DA SAÚDE UTERINA PÓS PARTO DE VACAS LEITEIRAS

KRAUSE, ANA RITA TAVARES¹; MONTAGNER, PAULA¹, BRAUNER, CASSIO CASSAL¹; SCHNEIDER, AUGUSTO¹; DEL PINO, FRANCISCO AUGUSTO BURKLET¹; PFEIFER, LUIZ FRANCISCO MACHADO^{1,2}

¹Universidade Federal de Pelotas – Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária/NUPEEC - anaritak@hotmail.com
²EMBRAPA CPAF/RO - luizufpel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Após o parto, as vacas leiteiras podem apresentar uma contaminação bacteriana no útero que pode persistir por até 3 semanas. A partir desta contaminação uma minoria acaba desenvolvendo alguma patologia do trato reprodutivo, que podem levar a alterações clínicas, como febre, diminuição da produção de leite, anorexia e apatia (Leblanc et al., 2011). Bactérias patogênicas frequentemente persistem causando doença uterina, uma das principais causas de infertilidade do rebanho bovino (Sheldon et al., 2006). Fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento de infecção uterina pós-parto incluem retenção de membranas fetais, distocia, parto gemelar, cetose, deslocamento do abomaso, hipocalcemia e aumento do número de lactações (Mcdougall et al., 2011).

A inflamação do endométrio sem sinais de doença sistêmica após 21 dias do parto é chamada de endometrite, podendo ser clínica ou subclínica. A forma clínica é caracterizada pela presença de secreção contaminada (purulenta) de origem uterina, e a subclínica necessita de técnicas de diagnóstico para confirmar a patologia, como lavagem uterina de baixo volume, ou escova citobrush. Nas duas técnicas se faz a contagem de células polimorfonucleadas (PMN) em esfregaço da amostra. A proporção de PMN detectada tem sido proposta como forma diagnóstica para endometrite, mas sempre relacionadas com o desempenho reprodutivo subsequente, onde altas contagens de PMN são associadas com baixo desempenho (Mcdougall et al., 2011).

O processo do parto de vacas é caracterizado pela participação aguda de várias proteínas da inflamação, que podem produzir um estresse oxidativo exagerado. Este processo estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias pelas células do sistema imune, que por sua vez atua no fígado, induzindo a produção de proteínas de fase aguda positivas (que aumentam sua concentração), como a haptoglobina, e prejudicando a produção das proteínas negativas (concentração reduzida), como a paraoxonase (PON) (Fleck, 1989; Gruys et al., 1998). A concentração de PON é influenciada pelo estado de saúde, dieta e fatores ambientais (Costa et al., 2003), portanto as alterações fisiológicas do período de transição das vacas leiteiras podem afetar as concentrações de PON.

Baseado nessas considerações, o objetivo deste trabalho foi avaliar a relação da PON no período pré e pós-parto como um preditor da saúde uterina em vacas leiteiras.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 15 vacas multíparas, da raça Holandês, com $3,27 \pm 0,12$ lactações, produção média de $24,64 \pm 5,28$ litros de leite por dia na lactação anterior (305 dias) e com peso médio de 600 kg, de um rebanho comercial localizado no município de Rio Grande/RS ($32^{\circ}16'S$, $52^{\circ}32'O$). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFPel, estando registrado sob o código 4551, e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado por todos os participantes.

Coletas de sangue foram realizadas nos dias -21, -14, -7 e -3 pré-parto, no dia do parto e nos dias 3, 6, 9, 16, 23 e 30 pós-parto. Imediatamente após a coleta, o sangue foi centrifugado a 3000rpm durante 15 minutos, o soro separado e congelado a $-80^{\circ}C$. As análises de PON foram feitas através de espectrofotometria cinética, utilizando um kit comercial (Zeptometrix Corporation, Buffalo, USA).

Foi realizada citologia uterina através de lavado uterino de baixo volume, de acordo com Gilbert et al. (2005), aos 37 ± 4 dias pós-parto. Foram utilizados 20 ml de solução fisiológica, introduzidos no interior do útero através de pipeta de inseminação equina estéril. Após breve massagem uterina (10 segundos), por meio de uma seringa de 60 ml, era retirado o restante do líquido (2 a 6 ml), armazenado em tubos de ensaio, refrigerados e processados em citocentrífuga até 6h após a coleta. Foram confeccionadas lâminas com o lavado, coradas com panótico rápido e realizada a leitura para contagem de células PMN.

Com a finalidade de investigar a relação entre PON e contagem de PMN, a partir da média da contagem (34%), as vacas foram divididas em dois grupos, acima (grupo Alto) e abaixo (grupo Baixo) da média de células PMN. As análises estatísticas foram realizadas pelo pacote estatístico NCSS 7.0 (2005). Os dados foram submetidos a ANOVA com medidas repetidas e o teste de Tukey foi utilizado para comparação de médias ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não houve diferença ($P=0,42$) da concentração de PON entre os grupos de alta e baixa contagem de PMN, bem como na interação grupo período ($P=0,44$) (Figura 1).

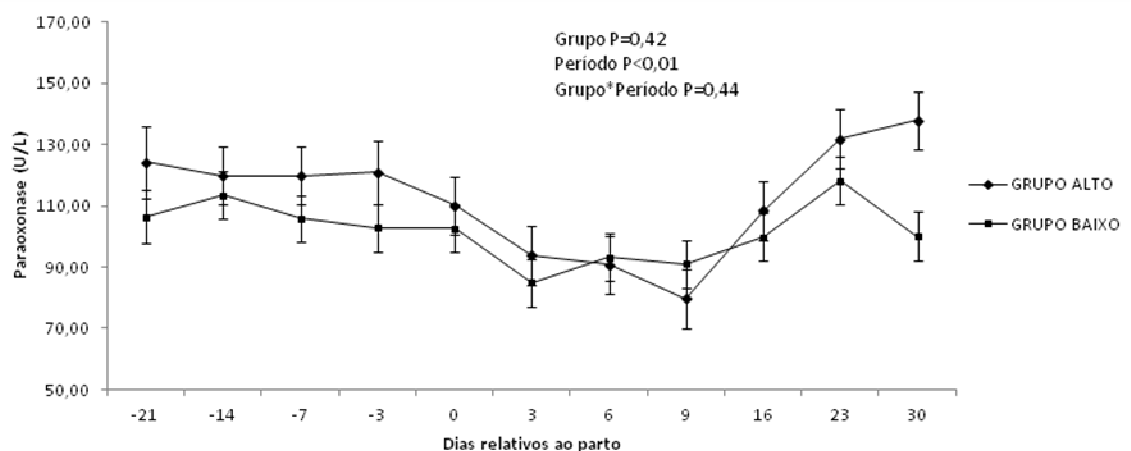


Figura 1: Média das concentrações séricas de PON durante o período pré e pós-parto em vacas com Alto (acima de 34%) e Baixo (abaixo de 34%) de PMN na citologia endometrial.

Houve efeito ($P < 0,001$) do período sobre a concentração da PON em todos os animais, observou-se uma redução da PON no pós-parto recente, nos dias 3, 6 e 9 pós-parto as concentrações de PON foram menores comparadas ao pré-parto e aos dias 23 e 30 pós-parto (Figura 2). A redução de PON imediatamente após o parto pode estar ligada a fatores característicos do período de transição de vacas leiteiras. A mobilização de gordura, redução da ingestão de matéria seca, crescimento do terneiro no terço final da gestação e início da lactação e o estresse oxidativo causado pelo processo inflamatório que se estabelece no pós-parto são exemplos dos fatores que influenciam as concentrações de PON (Turk et al., 2005).

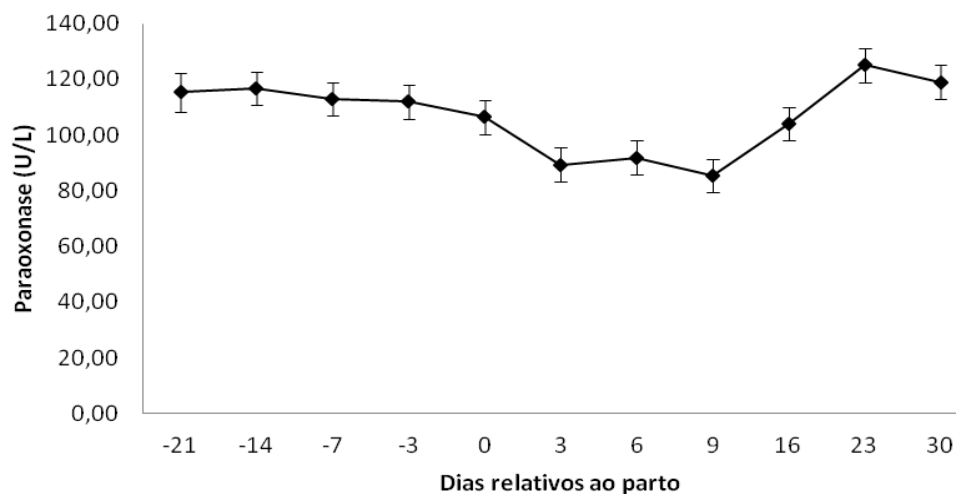


Figura 2: Média das concentrações de PON de todas as vacas ao longo do período pré e pós-parto.

Durante o período de transição, a maioria das vacas leiteiras têm a capacidade de se adaptar as alterações fisiológicas que este período exige, porém o limiar entre estado fisiológico e patológico pode ser facilmente ultrapassado (Drackley et al., 2001; Bobe et al., 2004), e condições inflamatórias favorecem a ocorrência de patologias, como a endometrite (Kato, 2002; Drackley et al., 2005), com reflexos negativos importantes sobre a eficiência reprodutiva pós-parto.

Vários autores (Gilbert et al., 2005; Barlund et al., 2008 e Galvão et al., 2009) estabeleceram, para diagnóstico de endometrite subclínica, a contagem de PMN acima de 8% em lavado uterino de baixo volume, entre 28 e 41 dias pós parto. De acordo com essa classificação, 87% (13/15) das vacas avaliadas neste estudo apresentavam endometrite subclínica. Resultado semelhante foi descrito por Bossaert et al. (2012), que além dos casos de endometrite, encontrou uma redução significativa na PON após o parto.

4. CONCLUSÕES

Neste estudo, a concentração de PON não pode ser utilizada como indicativo de doença uterina pós-parto, já que não diferiu entre os grupos de alta e baixa contagem de PMN. Porém, sua concentração demonstra ser reduzida no pós-parto recente, confirmando a previsão de condição inflamatória no pós-parto de vacas leiteiras.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARLUND, C. S.; CARRUTHERS, T.D.; WALDNER C. L.; PALMER, C. W. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. **Theriogenology**, 69, p. 714-723, 2008.
- BOBE, G.; YOUNG, J.W.; BEITZ, D.C. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 87, p. 3105-3124, 2004.
- COSTA, L.G.; RICHTER, R.J.; LI, W.F.; COLE, T.; GUIZZETTI, M.; FURLONG, C.E. Paraoxonase (PON 1) as a biomarker of susceptibility for organophosphate toxicity. **Biomarkers**, 8, p. 1-12, 2003.
- DRACKLEY, J.K.; OVERTON, T.R.; DOUGLAS, G.N. Adaptations of glucose and longchain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, 84, p. 100-112, 2001.
- DRACKLEY, J.K.; DANN, H.M.; DOUGLAS, G.N.; GURETZKY, N.A.J.; LITHERLAND, N.B.; UNDERWOOD, J.P.; LOOR, J.J. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. **Italian Journal of Animal Science**, 4, p. 323-344, 2005.
- FLECK, A. Clinical and nutritional aspects of changes in acute phase proteins during inflammation. **Proc. Nutr. Soc.**, 48, p. 347-354, 1989.
- GALVAO, K. N.; FRAJBLAT, M.; BRITTIN, S.B.; BUTLER, W.R.; GUARD, C.L.; GILBERT, R.O. Effect of prostaglandin F_{2α} on subclinical endometritis and fertility in dairy cow. **Journal of Dairy Science**, 92, 4906-4913, 2009.
- GILBERT R.O., S.T. SHIN, C.L. GUARD, H. N. ER & M. FRAJBLAT. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, 64, p.1879-88, 2005.
- GRUYS, E.; TOUSSAINT, M.J.M.; LANDMAN, W.J.M.; TIVAPASI, M.; CHAMANZA, R.; VAN VEEN, L. Infection, inflammation and stress inhibit growth: mechanisms and non-specific assessment of the processes by acute phase proteins. *Diseases in Farm Animals*, Wageningen Press, p. 72-87, 1998.
- KATOH, N. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. **Journal of Veterinary Medical Science**, 64, p. 293-307, 2002.
- LEBLANC, S.J.; OSAWA, T.; DUBUC, J. Reproductive tract defense and in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, 76, p. 1610-1618, 2011.
- MCDUGALL, S.,; HUSSEIN, H.; ABERDEIN, D.; BUCKLE, K.; ROCHE, J.; BURKE, C.; MITCHELL, M.; MEIER, S. Relationships between cytology, bacteriology and vaginal discharge scores and reproductive performance in dairy cattle. **Theriogenology**, 76, p. 229-240, 2011.
- SHELDON, I.; LEWIS, G.; LEBLANC, S.; GILBERT, R. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, 65, p. 1516-1530, 2006.
- TURK, R.; JURETIC, D.; GERES, D.; TURK, N.; REBIK, B.; SIMEON-RUDOLF, V.; ROBIC, M.; SVETINA, A. Serum paraoxonase activity in dairy cows during pregnancy. **Res. Vet. Sci.**, 79, p. 15-18, 2005.