

VALOR PREDITIVO DE PON1 E MMP2 NO DIAGNÓSTICO DE LAMINITE SUBCLÍNICA EM VACAS DA RAÇA HOLANDÊS DURANTE O PERÍODO TRANSICIONAL

PREDICTIVE VALUE OF PON1 AND MMP2 TO THE DIAGNOSTIC OF SUBCLINICAL LAMINITIS IN HOLSTEIN COWS DURING THE TRANSITIONAL PERIOD

BARBOSA, A. A.; LUZ, G. BSCHWEGLER. E. ; CORREA, M. N.; DEL PINO, F. A. B.; ROSA, F. T.; WESCHENFELDER, M. M.; XAVIER, E. G.; PEREIRA, R. A.; MARTINS, C. F.

Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)
Faculdade de Veterinária - Universidade Federal de Pelotas – UFPel
nupeec@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/nupeec

Palavras-chave: Proteína de fase aguda, casco e bovinos leiteiros.

Área de concentração: Sanidade de bovinos leiteiros

1.0 INTRODUÇÃO

A produção leiteira enfrenta consideráveis perdas econômicas devido a problemas relacionados ao casco dos animais tanto na fase de desenvolvimento quanto na sua vida produtiva (Blowey, 2008). Dentre as afecções podais, a laminite é considerada a principal causa de prejuízos em bovinos leiteiros sendo definida como a inflamação das lâminas da parede do casco que causa degeneração e necrose (Smith, 2006; Nicoletti, 2004).

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. Proteínas como a paraoxanase e enzimas como as metaloproteinases apresentam-se como possíveis preditores da laminite.

A paraoxanase (PON1) é uma proteína de fase aguda negativa que tem seus níveis sanguíneos reduzidos em resposta a citocinas liberadas durante a inflamação (Bionaz et al., 2007). Eventos que danificam as camadas celulares de lipopolissacarídeos e o estresse oxidativo levam à redução da atividade plasmática da PON1. Entretanto, muito do que se sabe sobre a PON1 e sua relação com as doenças baseia-se em estudos envolvendo humanos e camundongos, justificando a necessidade de extrapolar estes conhecimentos também para bovinos (Farid et al., 2013).

As metaloproteinases são enzimas envolvidas no processo de remodelação da matriz extracelular degradando principalmente as proteínas da família do colágeno. A metaloproteína 9 (MMP9) é uma das mais reativas quando se trata de laminite. Sendo que, quando o animal apresenta a enfermidade, a MMP9 estimula a destruição da membrana basal do casco, comprometendo a estrutura e a produção de queratinócitos, resultando numa separação da interface dermo-epidérmica lamelar que caracteriza o quadro de laminite (Katwa et. al 1999).

O objetivo deste estudo foi avaliar se a paraoxanase (PON1) e a metaloproteína 9 (MMP9) podem servir como preditores para a ocorrência da laminite subclínica.

2.0 MATERIAL E MÉTODOS

COLETA DE AMOSTRAS

O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira comercial do sul do Brasil (32°16'S, 52°32'O). Foram utilizadas 17 vacas, multíparas, da raça Holandês, com produção média de 30,67±5,39 litros de leite aos 70 dias em lactação (DEL), com 656,89±92,6 Kg de peso vivo (PV), manejadas do dia -14 pré-parto até 23 dias pós-parto e ordenhados duas vezes ao dia com intervalo de 12 horas. Os animais foram categorizados em dois grupos, de acordo com as lesões associadas à laminite subclínica: Grupo Com laminite, compreendendo os animais que apresentaram duas ou mais lesões associadas à laminite; e o Grupo Sem laminite, animais com ausência ou presença de no máximo uma lesão associada.

A sensibilidade, especificidade e acurácia dos marcadores estudados como preditores de afecções podais foram calculadas usando a estimativa de máxima verossimilhança de uma curva de resposta do operador binormal a partir de dados de classificação categórica. Já a análise estatística usada para a definição dos valores de P foi medidas repetidas no programa Statistics.

ANÁLISE LABORATORIAL

As concentrações de PON foram analisadas por espectrofotometria utilizando kit comercial (Zeptomatrix® Corporation, Buffalo, NY, EUA) durante os dias 14, -7, 0, 3 e 9.

Para as análises das metaloproteinases, as amostras foram encaminhadas para o MammalianNutriPhysioGenomicsLaboratory do Departamento de Ciência Animal da Universidade de Illinois (Urbana, IL, USA). As concentrações da MMP9 foram determinadas durante os dias -14, -7, 0, 3 relativos ao parto, através do método Elisa (MMP-2 Kit e MMP-9 Kit, NovateinBiosciences, Cambridge, MA, USA).

3.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Apesar de existir uma tendência ($p=0,07$) da MMP9 ser maior nas vacas com laminite durante o período transicional, tanto a PON quanto a MMP9 não diferiram entre os grupos (figura 1). Tal tendência se aproxima do que encontrou Belknap (2010) onde cita a importância da MMP9 na fisiopatologia da pododermatite asséptica. Além disso os resultados de acurácia, sensibilidade e especificidade da MMP9 no pré parto de 52.9%, 58.3% e 40% respectivamente foram relevantes, indicando que, provavelmente tenha papel fundamental no processo desencadeador da laminite. Já esse mesmo metabólito no pós parto apresenta acurácia de 29,4%; sensibilidade de 25%; especificidade de 40%, portando não possuindo significativa relevância como avaliado no pré parto para o diagnóstico preditivo da enfermidade.

A PON1 tanto pós parto quanto pré parto mostrou-se (acurácia 58.8%; sensibilidade 50%; especificidade 80%; pós parto/ pré parto, acurácia 52.9%; sensibilidade 50%; especificidade 60%) como um importante marcador biológico apresentando informações relevantes da predição da ocorrência de

laminite subclínica em bovinos de leite durante todo o período de transição. Resultado esse que vai ao encontro do que encontrou Bionaz em um estudo feito em 2007 onde detectou que a PON1 é um importante biomarcador para enfermidades de bovinos de leite encontrando valores de significativa relevância para acurácia em infecções uterinas e doenças podais, porém necessitando de mais estudos devido ao que cita Boseart em 2012 onde comenta que o período de transição, independentemente da faixa e incidência da doença, é um período de aumento do stress, principalmente metabólico, sendo assim aumentando de qualquer forma os níveis séricos de proteínas de fase aguda.

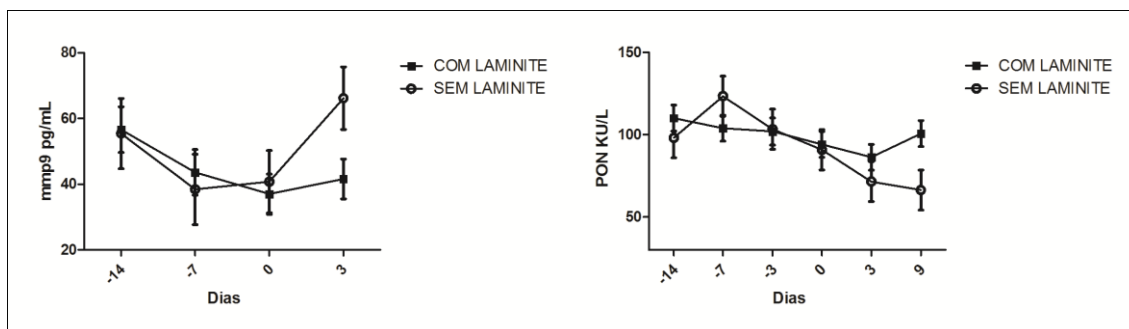


Figura 1. Níveis séricos de PON1 (a direita) e de MMP9 (a esquerda) em vacas com e sem laminitite durante o período de transição ($p>0,05$).

4.0 CONCLUSÕES

APON1 poderá ser mais um marcador para detecção precoce de laminitite subclínica devendo-se levar em conta a possibilidade da associação de mais de um biomacador no diagnóstico, aumentando a acurácia e a credibilidade do resultado preditivo. Já a MMP9 não apresentou elevado valor preditivo à afecções podais durante o período transicional.

5.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Belknap J.K. 2010. Black walnut extract: an inflammatory model. *Vet. Clin. North Am., Equine Pract.* 26(1):95-101

BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 90, 1740–1750. 2007.

BLOWEY R.W. Claudicação. In: ANDREWS, A.H. *Medicina bovina: doenças e criação de bovinos.* 2.ed. São Paulo: Roca, 2008. p.362-384

FARID, A. S.; HONKAWA, K.; FATH, E. M.; NONAKA, N.; & HORII, Y. Serum paraoxonase-1 as biomarker for improved diagnosis of fatty liver in dairy cows. *BMC veterinary research.* 9(1), 73. 2013.

KATWA, L.C.; JOHNSON, P.J.;GANJAM, V.K.; KREEGER, J.M.; MESSER, N.T. Expression of endothelin in equine laminitis. *Equine Veterinary Journal.* v.31, n.3, p.243 – 247, 1999.

SMITH, B.P. *Medicina Interna de Grandes Animais.* 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. 1728 pg.

